

酸化チタンの触媒作用を用いたフリーラジカル発生方法の開発

久野木 克典

明海大学大学院 歯学研究科

歯学専攻

(指導：横瀬 敏志 教授)

Novel Method of Free Radical Generation Method Using the Catalysis of Titanium Oxide

Katusnori KUNOKI

Meikai University Graduate School of Dentistry

(Mentor: Prof. Satoshi YOKOSE)

要 旨

本研究の目的は、酸化チタンの触媒作用によるフリーラジカルの発生が通電により生じることを確認し、その抗菌作用が将来的な根管治療の発展に寄与することである。スライドガラス、ステンレスワイヤーに対しディップコーティング法にて酸化チタンをコーティングした。フリーラジカルの発生を確認するために、メチレンブルー溶液にチタンコーティングした材料を浸漬し、350nmの紫外線照射及び3V, 100 μ Aの通電をそれぞれ3時間から16時間行い吸光度を測定した。さらに*E. faecalis*を含む菌液に対して同様に通電した。光照射及び通電した酸化チタンコーティング材はメチレンブルーの色素を脱色しフリーラジカルの発生が確認できた。また、通電によって酸化チタンコーティング材は抗菌作用を示すことが明らかとなった。これらの結果は通電法によっても酸化チタンは光触媒と同じ作用を示し、フリーラジカルを発生することが示され、光が届かない根管治療への応用の可能性が示唆された。

索引用語：酸化チタン, 光触媒, フリーラジカル, 吸光度測定, 根管治療

欄外表題：酸化チタンの触媒作用とフリーラジカル

Abstract

The aim of this study is to confirm the producing of free radicals by photocatalyst of titanium dioxide (TiO_2) by turning electricity (3V, $100\mu\text{A}$) and ultraviolet (UV, 350nm) irradiation. The each slide glass or stainless steel wire was coated the TiO_2 by dip coating method. The TiO_2 coated material had been immersed into the methylene blue (MB) solution, and performed UV (16h) irradiation or turning electricity (3h). After the treatments, the MB solution was analyzed by using absorption spectrometer (O.D. 650nm). In addition, antibacterial effect of photocatalyst of TiO_2 turned electricity was examined by using culture system of *E. faecalis*. Decolorization of MB could be apparently recognized in TiO_2 coated materials which treated with both UV irradiation and turning electricity. Antibacterial effects could be also recognized TiO_2 coated materials which were turned electricity. These results indicated that free radical could be induced by not only UV irradiation, but also turning electricity for TiO_2 coated materials. It concludes that the method of turning electricity of TiO_2 coated material can be useful treatments for disinfection of root canal where UV irradiation is impossible to reach, and that the study can contribute the development of adjunctive methods of endodontics in the future.

Key words: titanium dioxide (TiO_2), photocatalyst, free radical, absorption spectrometer, root canal treatment

緒言

1972年に酸化チタンの電極に無通電状態でも、光照射することで電気分解が起こることが発見され、酸化チタンに光触媒作用があることが確認された¹⁾。その後、光触媒効果を利用するために酸化チタンをコーティングした材料が様々な分野で利用されている。酸化チタンの表面には価電子帯と呼ばれる電子に満たされた領域と、伝導帯と呼ばれる電子が少ない領域がある。この領域の間にはバンドギャップと呼ばれる領域があり、価電子帯から伝導帯に行くほどエネルギーが大きくなる。このバンドギャップを超えるエネルギーを持った光が吸収されると電子が価電子帯から伝導帯へ移動して励起電子となる。この時に価電子帯には電子が抜けた穴、正孔が形成される。通常の水中や空気的环境下では、励起電子は酸化チタン表面にある酸素と反応する還元作用でスーパーオキシド (O_2^*) が形成される。一方、正孔には水から電子が移動する酸化作用によってヒドロキシルラジカル (HO^*) が形成される。酸化チタンの光触媒作用はこの励起電子と正孔による、還元と酸化作用によって生じたフリーラジカルによる作用と考えられている²⁻⁴⁾。その作用としては有機質の分解、殺菌消毒や色素分解などがあり、これらは、空気清浄機⁵⁾、道路反射鏡⁶⁾などにも使用されている。さらに、近年では酸化チタンが生体に対して為害作用がないことから⁷⁾、白色顔料として化粧品に利用されるだけでなく、カテーテルなどの医療機器などの様々な製品に応用されている⁸⁾。

一方、歯科領域では、酸化チタンの光触媒による抗菌作用が義歯の洗浄剤⁹⁾、歯の漂白^{10,11)}、インプラントのフィクスチャー表面へのコーティング^{12,13)}材などに臨床応用されている。これらの酸化チタンの光触媒による抗菌作用は、生成されるフリーラジカルであるスーパーオキシドやヒドロキシルラジカルによるものであり、塩素やオゾンなど

より強力な酸化作用を有し、抗菌作用の主軸を担っている^{4,14)}。このような背景のもと、手用ファイルを使用した機械的根管清掃と次亜塩素酸ナトリウムを用いた根管洗浄を行っている根管治療を考えた場合、酸化チタンの強力な抗菌作用を根管治療へ応用が可能ではないかと考えた。しかし、酸化チタンの光触媒にはエネルギーの高い紫外線領域の波長を有する光照射が必要になり、特殊な環境である根管内に光を照射する工夫が必要となる。近年、酸化チタンの光触媒を光の到達性の低い口腔内という環境で応用するうえで、興味深い研究結果が報告された。光照射による酸化チタン表面で誘導される光触媒作用

を、光の代わりに超音波や電流を利用することで光を照射した場合とほぼ等しく、フリーラジカルを発生させることができる¹⁵⁻¹⁷⁾。特に、酸化チタンをコーティングしたチタン電極と白金電極の間に通電することによって Photoelectrochemical circuit system を構築でき、フリーラジカルの発生を確認している^{16,17)}。この通電方法は、すでに歯ブラシへの臨床応用がなされており、歯垢の除去効果が通常の歯ブラシと比較して増加していることが報告^{18,19)}されており、これらの事実は酸化チタンが光の届かない根管内への応用にも十分可能であることを示している。

そこで今回の実験では、酸化チタンの根管治療への応用発展のために、通電法に着目し、ステンレススチールワイヤーに酸化チタンをコーティングしてフリーラジカルの発生状態を紫外線照射と通電法にて比較検討し、酸化チタンの根管治療への応用のための基礎的知見を得ることを目的とした。

材料と方法

1. 酸化チタンのコーティング

使用した酸化チタンは一般に市販されている光触媒酸化チタンコーティング剤溶液 ST-K211（アナターゼ型二酸化チタン，石原産業，大阪）を使用した。コーティングする材料として切片作製用スライドガラス（松浪ガラス工業社、大阪）、矯正歯科用ステンレスワイヤー（太さ 0.016mm、オーソデントラム、東京）とし、これらに対してコーティングを行った。

コーティングの過程を Fig. 1 に示す。コーティング方法はディープコーティング法²⁰⁾を応用して、コーティングする材料を ST-K211 溶液に 10.0mm/sec で浸漬し、10 秒間溶液内に保持して 10mm/sec で引き上げて乾燥する行程を 5 回繰り返した後 200°C で 10 分間加熱した。この過程を 2 回繰り返す、チタン実験群とした。また、対照材料として ST-K211 溶液の代わりに 70%エタノールに浸漬して加熱し、コントロール群とした。

2. 光触媒作用の確認

チタンコーティング後の材料に対する、酸化チタンの光触媒作用を確認するために、50ml のメチレンブルー（0.02%，富士フィルム和光純薬、大阪）を入れたプラスチックシャーレにチタンコートしたスライドガラスとコントロールのスライドガラスを浸漬し紫外線照射（波長 352nm アズワン 大阪）を行った。照射後、16 時間で色素濃度を目視と分光光度計を用いて 0. D. 650nm にて吸光度を計測した。なお、各群試料数は 3 とした。

3. 通電によるフリーラジカルの発生の確認

ステンレスワイヤーに対して上記の方法で ST-K211 をコーティングしチタン電極としてマイナスに接続した。この時の電極には 10 本のステンレスワイヤーを束にして使用した。プラスの電極には注射針(18G、テルモ社、東京)を用いてチタン実験群の電気回路とした(Fig. 2)。対照群の電気回路として、マイナスの電極にチタンをコーティングしていないステンレスワイヤー束を用いた。電源には歯科用イオン導入装置(PYO-CURE : ナルコーム社)を用いて 3V, 100 μ A の直流電気を通電した。0.01%のメチレンブルー溶液 1.5ml をサンプリングチューブに入れ、実験群ではチタンをコーティングした電極と注射針を挿入し、それぞれマイナスとプラスに接続して通電した。対照群ではチタンコーティングしていない電極と注射針を挿入して同様に通電した。通電開始して 3 時間後に試料を採取して、色調変化を目視並びに分光光度計にて測定した。なお、各試料数を 3 とした。

4. コーティング材の酸化チタンの触媒作用における抗菌作用

使用した抗菌作用に対する実験系は増田らの方法²¹⁾に従った。すなわち使用した細菌は根尖病巣に関連する *E. faecalis* (American Type Culture Collection BAA-2128™) を Brain Heart Infusion (BHI) 培地 (Sigma Aldrich, USA) にて 37°C、24 時間培養し、その後 1.5ml の BHI 培地で菌数を 2×10^5 個に調整し、チタンコーティングしたステンレスワイヤー電極を用いたチタン実験群(Ti-Coat)とチタンコーティングしていない電極を用いた対照群(No-Coat)に対してそれぞれ 3 時間室温にて通電した。通電後、菌液を 100 μ l 採取し BHI 寒天プレートに播種して 24 時間培養後コロニー数を数えた。なお、各試料数を 3 とした。ポジティブコントロール(Cont)として電極を使用しない菌液を同様に培地に播種した(Fig. 3)。

5. 経時的残留フリーラジカルの測定

通電によって発生した、フリーラジカルが通電を止めてからどの程度残留するかを調べるために、4-アミノアンチピリン²²⁾を用いた測定キットパックテストオゾン（共立理化学研究所、神奈川）を用いて、指示書通りに比色試験を行った。3時間の通電を停止してから 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 分後にそれぞれ残留フリーラジカルをキットで測定した。なお、各試料数を 3 とした。

6. 統計処理

2群間の比較にはMann-Whitney U-test、3群以上の比較ではKruskal Wallis H-testにて検定後、Mann-Whitney U-test with Bonferroni correctionを行なった。結果は平均値±標準偏差(SD)で示し、 $p < 0.05$ にて有意差を検定した。

結果

Fig. 4 には酸化チタンをコーティングしたスライドガラスを、0.01% メチレンブルー溶液に浸漬して紫外線を16時間照射した時の色調変化を示す。(a)の右側にはチタンコーティングしたスライドガラス、左側にはチタンコーティングなしのスライドガラスを浸漬したシャーレを示す。それぞれのメチレンブルー溶液をサンプルチューブに採取したものを(b)に示す。目視でも確認できるほど色素が薄くなっているのがわかる。(c)にはその溶液を0. D. 650nmで測定した結果を示す。チタンコーティングしたスライドガラスでは光触媒効果が確認できた。

Fig. 5にはチタンコーティングしたステンレスワイヤーに通電を行い、フリーラジカルの発生を確認した結果を示す。(a) には左からチタンをコーティングしていないワイヤー(No-Coat)、右はチタンコーティングしたワイヤー(Ti Coat)に通電を3時間行なったメチレンブルー溶液を示す。(b)はこれらの色素を0. D. 650nmで測定した吸光度を示す。チタンコーティングした電極では明らかに色が薄くなり、吸光度もコーティングしていないワイヤーと比較してチタンコーティングしたワイヤーに通電した溶液の方が有意に低い値を示した。

Fig. 6には細菌に対する通電による酸化チタンの抗菌作用を示す。(a)にはBHI寒天培(b)にはコロニー数の数を示す。菌液に通電を行わないCont群及びチタンをコーティングしていないワイヤーで菌液に通電したNon-Coat群と比較してチタンをコーティングしたワイヤーで菌液に通電したTi群ではコロニー数が激減した。また、Cont群と比較してNon-Coat群では有意にコロニー数が減少した。

Fig. 7にはチタンコーティングしたステンレスワイヤーに3時間通電し、発生したフリーラジカルの濃度を経時的に測定した結果を示す。通電により発生したフリーラジカルは通電停止直後から減少し、30分後にはほぼゼロを示した。

考察

酸化チタンの光触媒作用は光の照射によって電子の移動による酸化還元反応によってフリーラジカルが発生し^{1,2,3)}、有機質の分解や抗菌作用が多方面で応用されている^{23,24)}。さらに酸化チタンは生体に対して安全性の高い材料で化粧品や食品にも使用されている^{7,24)}。この酸化チタンが示す触媒作用は主に波長380nm以下の紫外線のエネルギーによるものであり^{1,2,3)}、この波長は太陽光に含まれる波長であることから、触媒作用には自然光もしくは紫外線光源からの照射が必要となる。しかしながら、根管治療においては根管内への光の照射は大きな障害になる。根管治療については根管内を機械的な拡大と化学的な洗浄、消毒を行い無菌的な環境を整えるが、複雑な根管形態や側枝の存在がより確実に根管内を無菌化するために従来の根管治療に加えて更なるadjunctiveな治療法も重要となっていることから貼薬以外の方法が模索されている。そこで今回我々は酸化チタンの触媒作用の根管治療への応用に着目した。その場合、酸化チタンの触媒作用を発生させるための光照射が必要になるが、これまでに光以外のエネルギー源でもフリーラジカルが発生することが確認されており、そのエネルギー源として超音波¹⁵⁾や通電^{16,17)}が利用されている。これらの方法は根管治療に酸化チタンを応用する上で有効な方法となる。特に通電法は根管長測定やイオン導入法などが歯科治療で行われていることから応用可能な方法になり得ると考える。そこで本実験の目的である根管治療への臨床応用するための通電による酸化チタン触媒作用の基礎的な知見を得ることは、酸化チタンの触媒作用の臨床応用をさらに発展することに繋がり、意義の高いものである。

酸化チタンの触媒作用を発揮させる為には、基材に対して酸化チタンをコーティングする必要があるが、いくつかの方法²⁰⁾があるが、本実験では比較的簡易にできるディップ

法を採用した²⁰⁾。ディップ法では浸漬速度と引き上げ速度が皮膜の形成に影響をおよぼすことから本実験ではKato et al.の報告²⁵⁾を参考にした。本研究に使用した酸化チタンST-K211はコーティング専用開発された酸化チタンでより触媒作用が強いとされているアナターゼ型である²⁶⁾。ガラス、セラミック、ステンレス、アクリルなどへのコーティングが可能で、200°Cから500°Cで加熱することによってより強固なコーティングが出来る。しかし、500°Cを越えるコーティングを行うと、結晶構造がアナターゼ型からルチル型に変換することが知られている²⁷⁾。本実験ではディップ法に加えて、200°Cで加熱しており、コーティングされた材料にはアナターゼ型のチタンがコーティングされていると考えられる。アナターゼ型はルチル型に比較して光触媒作用が強くフリーラジカルであるスーパーオキシドとヒドロキシルラジカルが効率よく産生できると報告²⁷⁾されていることから、本実験で使用しているチタンコーティングした材料もアナターゼ型のチタンによる光触媒作用によりフリーラジカルを発生していると考えられる。事実、メチレンブルーにチタンをコーティングしたスライドガラスを浸漬して350nmの紫外線照射実験では確実に色素が脱色されることから光触媒作用によるフリーラジカルの発生を確認できた。

光以外のエネルギー源として注目した通電法であるが、Kim et al.¹⁷⁾は酸化チタンをコーティングした電極を陰極にし、白金電極を陽極として通電と同時に陽極に光照射するphotochemical circuit systemを構築した。これらの電極をエチルメルカプタン溶液に浸漬して通電(3V、270 μ A)と光照射を行ったところ、フリーラジカルが発生しメチルカプタンが酸化分解されて二酸化炭素が発生した。光照射のみに比較して通電を併用すると約2倍のフリーラジカルの発生が可能であった。これは光だけの励起電子と正孔の形成が通電によってより亢進したものとする。さらに興味深いことに通電(3V、110

μA) のみで、光照射しなくとも二酸化炭素が生じていた。しかしその作用は通電と光照射の併用に比較して約20%の作用であったが、通電のみでもフリーラジカルが発生することが確認できた。本研究でもこの方法を用いて実験を行ってオリ、光照射を伴わない実験系であり、価電子帯での正孔が生じていないことから、酸化電流は流れないと考えられる。すなわちヒドロキシルラジカルが発生していない可能性がある。しかし、通電によって電子は半導体である酸化チタンから溶液に流れており還元電流だけが流れている。そのため酸素分子に励起電子と反応したスーパーオキシドが発生しており、これが酸化作用を示していることが考えられる。本実験でも3V, 100 μA の通電でメチレンブルーの脱色がなされたのは還元電流によって生じたスーパーオキシドの作用であると考えられる。

抗菌作用についても通電のみで明らかにその効果が確認できた。これはフリーラジカルの発生が光を併用した場合に比べて弱いものであるが、抗菌作用としては期待が出来る結果であった。作用機序はスーパーオキシドと考えられるが、根尖病巣に関連する *E. faecalis*²¹⁾ の抗菌作用が確認できたことは根管治療に酸化チタンの触媒作用が応用可能であることを示している。しかし、通電時間が3時間と長いことから今後、抗菌作用については電圧、電流、電極の素材と通電時間の関係をもっと追求してゆく必要がある。

通電によって発生したフリーラジカルの発生がどのくらい持続しているかを4-アミノアンチピリンの比色法で確認したところ、通電停止後10分から急に減少した。この結果は発生したフリーラジカルであるスーパーオキシドの残留は早期に減少することが明らかとなった。本系の溶液には有機質などは存在しない溶液であることから、実際の臨床応用ではさらにフリーラジカルの消失は早いと考える。これまでにオゾン水やフリーラジカルを発生させた溶液を根管治療に応用する方法^{24, 28)}も報告されているが、持続的

にフリーラジカルを発生させることが出来る本通電方法は根管治療にも有用であることが示された。

結論

本研究結果から酸化チタンをコーティングした電極に通電することによってフリーラジカルを発生することが出来た。さらに抗菌作用も確認できた。これらの結果は今後酸化チタンの通電法は光の届かない根管治療に大変有用な方法であることが示唆された。今後さらに通電方法や酸化チタンをコーティングする基材の選択など更なる研究が必要と考える。

謝辞

本研究を行うにあたり、ご指導いただいた明海大学歯学部保存治療学分野 横瀬敏志教授、歯周病学分野 申基喆教授、クラウンブリッジ補綴学分野 藤沢政紀教授、歯科生体材料学分野 日比野靖教授に感謝いたします。また、支援をいただいた保存治療学分野の教室員の皆様に感謝いたします。

参考文献

- 1) Fujishima A and Honda K: Electrochemical photolysis of water a semiconductor electrode. *Nature* **238**, 37-38, 1972.]
- 2) 大谷文章：光触媒の原理. In：光と界面がおりなす新しい化学の世界. 橋本和仁, 有限会社クバプロ, 東京, 14-17, 2008
- 3) 埜田博史：光触媒技術の開発と応用 ―持続可能な環境浄化技術の産業化―. *Synthesiology* **1**, 287-295, 2008
- 4) 渡部俊也, 砂田香矢乃, 橋本和仁：酸化チタンの光触媒反応を利用した抗菌作用. *無機マテリアル* **6**, 532-540, 1999
- 5) 藤嶋 昭、菱沼光代、窪田吉信：光触媒の医学・医療への応用 実用化の現状および可能性を探る～光触媒のによる院内感染の防止および空気清浄化-. *Mebio* **17**, 94-102, 2000.
- 6) Wang R, Hashimoto K, Fujishima A, Chikuni M, Kojima E, Kitamura A, Shimohigoshi M, Watanabe T: Light-induced amphiphilic surfaces. *Nature* **388**, 431-432, 1997.
- 7) 埜田博史：光触媒の材料開発と産業応用及び国際標準化. *J. Vac. Soc. Jpn.* **49**, 238-242, 2006
- 8) 藤嶋昭：光触媒の医学応用. *麻酔* **52** 増刊, 15-24, 2003.
- 9) 長谷博子, 松下調子, 明田喜仁, 大八木薫博, 熊谷崇行, 野浪亨: 二酸化チタン光触媒による義歯洗浄にかんする研究～第一報 色素を用いたモデル実験-. *歯科材料器械* **23**, 16-20, 2004.
- 10) 野浪 亨：二酸化チタン光触媒と安全性試験. *歯科審美* **13**, 251-255, 2001.
- 11) 木村 大: 二酸化チタン配合漂白剤の生活歯漂白法. *日歯保存誌* **48**, 187-255,

2001.

12) Ito S, Takebe J: Longitudinal observation of thin hydroxyapatite layers formed on anodic oxide titanium implants after hydrothermal treatment in a rat maxilla model. *Prosthodont Res Pract* **7**, 82-88, 2008.

13) 堀紀雄, 木本克彦, 鈴木丈夫, 山田将博, 小川隆広: 自然放置下におけるチタン表面の化学性状の変化がタンパク質吸着能に及ぼす影響. *日ロインプラント誌* **22**, 97-105, 2008.

14) 吉川敏一: フリーラジカルの医学. *京府医大誌* **120**, 381-391, 2011

15) 荻野千秋: 酸化チタン粒子のバイオ応用. *生物工学会誌* **90**, 110-114, 2012

16) Matsuoka M, Kamegawa T, Rakhmawaty D, Kitano M, Wada K, Anpo M: Photocatalytic Decomposition of Lactic Acid in Water on a Photoelectrochemical Circuit System Consisting of a Rod-type TiO₂ Electrode and Silicon Solar Cell. *Top Catal* **47**, 162-165, 2008

17) Kim T. H., Saito M, Matsuoka M, Tsukada S, Wada K, Anpo M: Photocatalytic oxidation of ethanethiol on a photoelectrochemical circuit system consisting of a rod-type TiO₂ electrode and a silicon solar cell. *Res Chem Intermed* **35**, 633-642, 2009

18) Kazi A. R., Nishimura M, Matsumura S, Omar M.M. Rodis, Shimono T: Inhibition of the adhesive ability of *Streptococcus mutans* on hydroxyapatite pellet using a toothbrush equipped with TiO₂ semiconductor and solar panel. *Pediatric Dental Journal* **20**, 16-21, 2010

- 19) 吉峰正彌, 小倉喜一郎, 大木亜悠子, 村田侑加, 藤川瑞穂, 鴨井久博, 和崎佳子: 光触媒を内蔵した太陽電池付音波振動歯ブラシの臨床効果. ライフケアジャーナル 4, 1-9, 2013
- 20) 加藤一実: 酸化チタン光触媒の開発と環境・エネルギー分野への応用展開. 技術情報協会, 東京, 67-73, 1997
- 21) 増田宜子, 坂上 宏, 門倉 弘志, 山崎 崇秀, 長谷川 彰彦, 横瀬敏志: クマザサ葉アルカリ抽出液(ササヘルス®)とダイオードレーザーを用いた光線力学療法による抗菌効果に関する基礎的研究. 日歯内療誌 40, 20-25, 2019
- 22) 慶田雅洋, 伊藤誉志男, 外海泰秀, 鈴木英世, 小川俊次郎, 長谷川敬彦, 田中慶一, 近藤雅臣, 藤井正美: 食品中の過酸化水素の微量測定法について. 日本農芸化学会誌 55, 483-489, 1981
- 23) 藤嶋 昭, 橋本和仁, 渡部俊也: 第3章 なぜ光触媒効果を実現するのか. In: 光触媒のしくみ. 日本実業出版社, 東京, 64-82, 2000.
- 24) 近内理代, 五味一博, 八島章博, 大島朋子: 光照射後に遮光下に置いた酸化チタンのラジカル生成による抗菌作用と有機質除去作用. 日歯保存誌 54 (1) , 1-9, 2011
- 25) Kato K, Tsuzuki A, Torii Y, Tada H, Kato T, Butsugan Y:

Morphology of thin anatase coatings prepared from alkoxide solutions containing organic polymer, affecting the photocatalytic decomposition of aqueous acetic acid. J Mater. Sci. **30**, 837-841, 1995

26) 赤沼正信, 田中大之, 片山直樹, 柿本雅史, 田村吉史, 富永一哉: 酸化チタン溶射皮膜の抗菌効果. 北海道立工業試験場報告 299, 31-38,

27) 古南 博, 大谷文章: はじめての電気化学計測～基礎とノウハウ 光触媒の調整法. DENKI KAGAKU **66**, 996-1003, 1998

28) 山田博仁, 内山真紀子, 細矢明宏, 中村浩彰, 山本昭夫, 笠原悦男: Ozony Tron[®]の歯内療法処置への応用 —オゾンの感染根管治療に対する殺菌効果について—. 日歯保存誌 **50**, 657-663, 2007

Figures

Fig.1

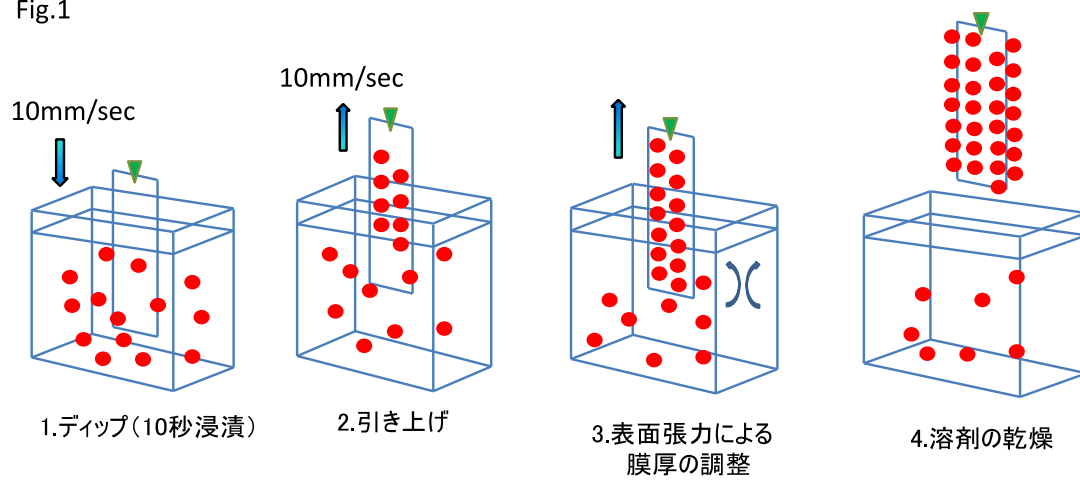


Fig.2

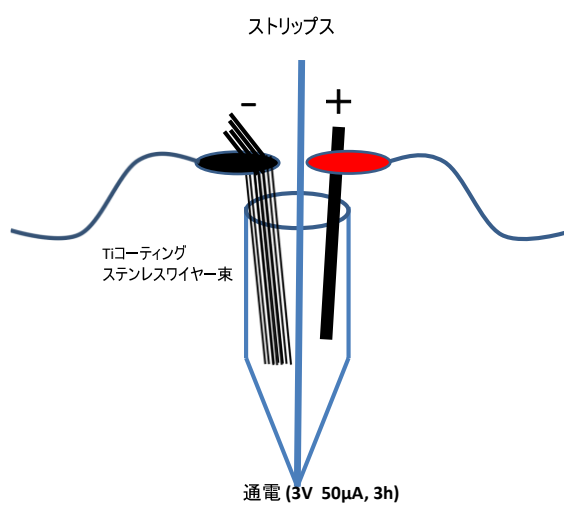


Fig.3

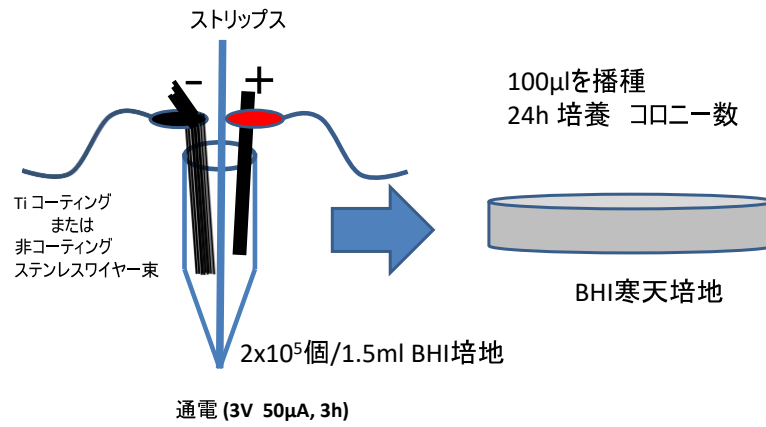


Fig.4

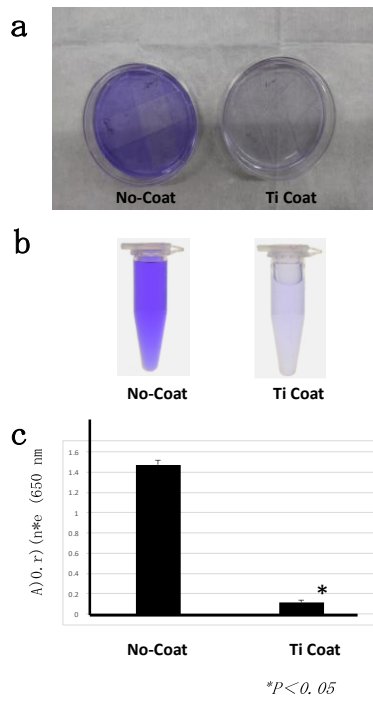
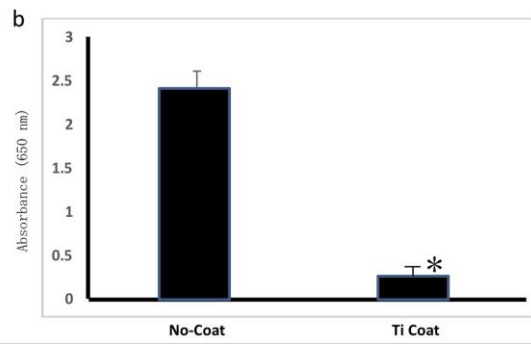
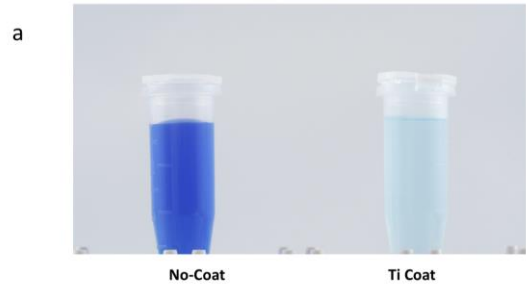
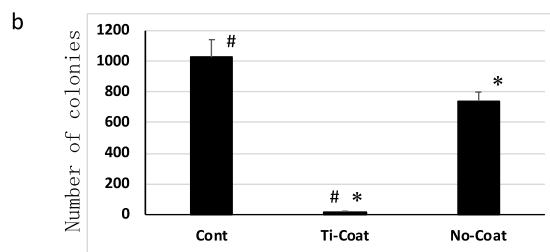
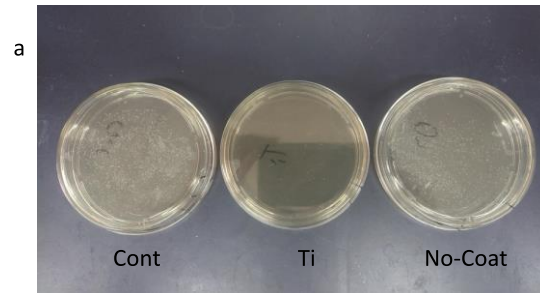


Fig.5



* $P < 0.05$

Fig.6



* $P < 0.05$ VS Cont

$P < 0.05$ VS No-Coat

Fig.7

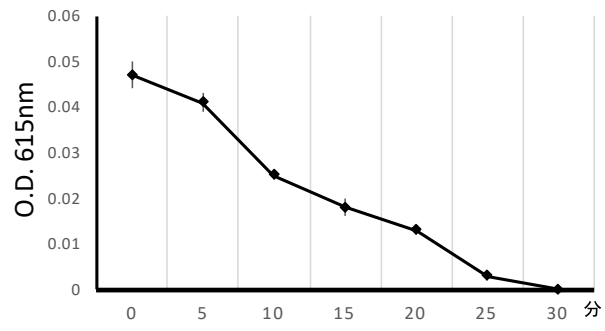


Figure legends

Fig 1 The schema summarized dip coating method .

Fig 2 The schema shows the method of turning electricity on the TiO₂ coated rode in the methylene blue(MB) solution.

Fig 3 The schema shows the method of turning electricity on the TiO₂ coated rode in the brain-heart infusion (BHI) medium solution containing *E. faecalis* and method of cultivating its solution on the BHI agar plate.

Fig 4 The color changing of MB solution received ultraviolet irradiation with normal slide-glass (No-Coat) or TiO₂ coated slide-glass (Ti Coat) (A and B).

The graph (C) shows absorbance of each MB solution of No-coat or Ti Coat group measured by O. D. 650 nm.

*P<0.05 vs No-coat TiO₂ materials.

Fig5 The color changing of MB solution turned electricity with normal stainless steel wires (No-Coat) or TiO₂ coated stainless steel wires(Ti Coat) (A).

The graph shows absorbance of each MB solution of No-coat or Ti Coat group

(B). *P<0.05 vs No-Coat.

Fig6 BHI medium solution containing *E. faecalis* turned electricity with each normal stainless steel wire (No-Coat) or TiO₂ coated stainless steel wire (Ti Coat) was cultured on BHI agar plate (A).

The number of counting colonies of each plate(B).

Cont indicates the BHI medium solution containing *E. faecalis* without turning electricity.

*P<0.05 vs control, #P<0.05 vs No-coat.

Fig7 The time course changings of free-radical concentration since the electrical power stopped.