

大気圧プラズマ照射による大腸菌と酵母の不活化機序

Inactivation Mechanism of *E.coli* and *S.Cerevisiae* Irradiated by Atmospheric Plasmas.

○眞弓 尚大¹、林 信哉¹、井上 麻美²、田代 康介²、久原 哲²、柳生 義人²

(1.九大総理工、2.九大農、3.佐世保高専)

○Takahiro Mayumi¹, Nobuya Hayashi¹, Asami Inoue², Kousuke Tashiro², Satoshi Kuhara², Yoshihito Yagyu³ (1. Kyushu Univ., 2. Faculty of Agriculture, Kyushu Univ., 3. NIT, Sasebo College.)

E-mail: mayumi@aes.kyushu-u.ac.jp

1. 研究背景及び目的

プラズマによる殺菌法は、有害物質の残留がなく高速、常温滅菌が可能な方法として注目されている。しかし、プラズマによって菌が不活化されるメカニズムやプラズマ中の殺菌因子については十分に解明されていない[1,2]。

原核生物である大腸菌と真核生物である酵母は、染色体 DNA を保護する核膜や代謝を行う細胞小器官の有無から、プラズマによる不活化プロセスの差異が予想される。本研究ではこれら微生物の不活化プロセスを解明し比較検討を行うことで、プラズマによる菌の不活化メカニズムを解明することを最終的な目的とする。本研究では、出芽酵母及び大腸菌に対して異なるガスを用いた大気圧プラズマジェットを照射することで菌の不活化に影響する活性種を明らかにする。また、プラズマ中の活性種および PBS へプラズマを照射した際の生成物を調べ、不活化原因の検討を行った。

2. 実験方法

プラズマ源には誘電体バリア放電によるプラズマジェットを使用した。周波数 10kHz の高周波電源を使用し、印加電圧を 4.6 kV 一定とした。放電ガスとして、Ar、Air 及び O₂ を使用し、ガス流量を 3 L/min で一定とした。プラズマジェットの先端部から検出されたオゾン濃度は、Ar、Air、O₂ の順に 10 ppm、100 ppm、270 ppm であった。プラズマは 3 mL のリン酸緩衝生理食塩水(PBS)に加えた大腸菌及び酵母に照射した。プラズマ照射後の菌は寒天培地で培養し、生成されたコロニー数を計測した。

3. 実験結果及び考察

図 1 に各種プラズマ照射後の菌の生残曲線を示す。大腸菌の菌数は O₂、Air、Ar の順に減少している。表 1 において PBS 中の活性酸素種濃度は Ar プラズマにおいて最も高く、O₂ プラズマにおいて最も低い値を示しており、生残数との相関が見られない。酵母の菌数は O₂、Ar、Air の順に減少している。表 1 より酵母においても大腸菌と同様に PBS 中の活性種濃度と生残数に相関性が見られず、本研究で測定された PBS 中の活性種は菌の不活化に殆ど寄与していないことが考えられる。しかし、どちらの菌においても、O₂ プラズマにおいて最も生残数が減少していることから不活化要素として、短寿命な活性酸素種による影響が考えられる。

表 1 PBS 中に生成された活性種 (30 分照射)

	Ar plasma	Air plasma	O ₂ plasma
O ₃ [ppm]	5	5	3
NO ₂ [ppm]	20	8	0
NO ₃ [ppm]	250	75	0
H ₂ O ₂ [ppm]	30	5	1

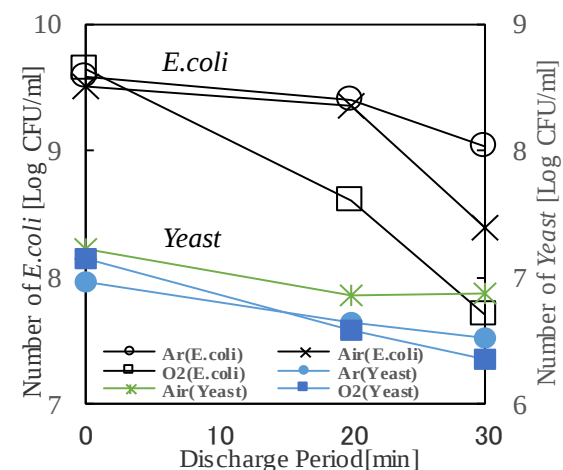


図 1 大腸菌と酵母のプラズマ照射後の生残曲線

ラズマにおいて最も生残数が減少していることから不活化要素として、短寿命な活性酸素種による影響が考えられる。

コロニー数から算出した酵母の殺菌率は大腸菌と比較して低く、真核生物は原核生物と比較して不活化に高い耐性を持つことが分かる。酵母と大腸菌の構造的な違いとして酵母の DNA が核膜によって保護されていることがあげられる。DNA への影響が小さいために、大腸菌よりも不活化率が低くなった可能性が考えられる。

今後は遺伝子発現解析等を用いて、より詳細な生体反応を測定し、不活化要素の特定を行う。

参考文献

- [1] T.Watanabe: Sterilization by Electrical Discharges and Plasmas, Journal of Plasma and Fusion Research 75 (1999) 651-658.
- [2] M.Nagatsu: Plasma sterilization, Journal of Plasma and Fusion Research 83 (2007) 601-606.