プラズマ殺菌のメカニズム解析を目的とした過硝酸とアミノ酸の反応性の評価

Evaluation of the reactivity between peroxynitric acid and amino acids for the analysis of the mechanism of plasma disinfection

阪大工 [1]，大阪技術研 [2]　○横山 高史 [1]，宮崎 慎也 [1]，井川 聡 [2]，北野 勝久 [1]

Osaka Univ. [1], ORIST [2], ◦Takashi Yokoyama[1], Shinya Miyazaki[1], Satoshi Ikawa[2], Katsuhisa Kitano[1]

E-mail: yokoyama@ppl.eng.osaka-u.ac.jp

大気圧低温プラズマを用いた液相中の殺菌に関する研究が広く行われている。本研究室では、菌懸濁液の pH を酸性に調整することで、中性条件と比較し、プラズマ照射の殺菌効果を 100 倍以上に高める低 pH 法を開発した[1]。速度論に基づく殺菌速度の解析などにより、低 pH 法の殺菌因子は細胞内に侵入した HOO ラジカルであること[2]、プラズマを照射した純水の分析から、HOO ラジカルの前駆体として過硝酸が関わっていることを明らかにしてきた[3]。また、細胞内に侵入した活性種は生体高分子と反応すると考えられており、これまで、プラズマ照射が酵素やアミノ酸に与える影響を評価してきた。その結果、プラズマ照射によって酸化された酵素の立体構造が変化し、酵素活性が低下していることや[4]、アミノ酸の種類によってプラズマ照射による化学修飾の受けやすさが異なっており、20 種類の天然アミノ酸のうち、メチオニン(Met)、システイン(Cys)、トリプトファン(Trp)、フェニルアラニン(Phe)、チロシン(Tyr)が特に酸化されやすいことを明らかにしてきた[5]。しかしながら、プラズマ照射によって過硝酸以外に、オゾンや過酸化水素、OH ラジカル、ペルオキシナイトライトなど、様々な活性種が同時に液中に供給されるため、殺菌に直接関与する活性種の影響だけを評価することは困難であった。

そこで本研究では、化学合成した過硝酸を用いることで、他の活性種の持ち込みを低減し、過硝酸とアミノ酸に限定した反応系を構築し、過硝酸とアミノ酸の反応を解析することで、低 pH 法を用いたプラズマ照射による殺菌メカニズムの解明を試みた。化学反応を速度論的に解析するため、過硝酸にアミノ酸を添加した際の過硝酸の減少速度を定量的に評価した。過硝酸の定量は、実験に用いたアミノ酸の物性に応じて、吸光度による測定と発色試薬による比色定量を使い分けた。その結果、4 種類のアミノ酸（Met、Cys、Trp、Tyr）と過硝酸の反応が確認されたが、Phe を含むその他のアミノ酸は過硝酸とほとんど反応しなかった。このことから、低 pH 法における殺菌に関わるアミノ酸の酸化は上記 4 種類のアミノ酸のいずれかと考えられた。今後、反応速度論に基づいてアミノ酸の酸化と殺菌の解析を行い、より詳細な低 pH 法の殺菌の機序について調べていく。

参考文献

[1] S. Ikawa, *et. al.*, Plasma Process. Polym., **7**, pp.33 (2010). [2] E. Takai, *et. al.*, J. Phys. D: Appl. Phys., 46, 295402 (2013). [3] S. Ikawa, *et. al.*, J. Phys. D: Appl. Phys., 49, 425401 (2016). [4] E. Takai, *et. al.*, Plasma Process. Polym., **9**, pp.77 (2012). [5] E. Takai, *et. al.*, J. Phys. D: Appl. Phys., 47, 285403 (2014).