

環境・生命 工学専攻	学籍番号	D085802	指導 教員	水野 彰
申請者 氏名	中島 知子			

論文要旨 (博士)

論文題目	低温プラズマジェット照射による細菌不活化機構に関する基礎研究
------	--------------------------------

(要旨 1, 200 字程度)

大気圧低温プラズマは、生体組織への直接処理による新規医療技術などの新たなプラズマ応用を可能とした。本研究では、プラズマ医療に貢献可能な知見を得ることを目的に、大腸菌 (*Escherichia coli*) のプラズマ感受性に関わる因子の分析、ならびにプラズマ処理と薬品の併用による細菌不活化効果の促進に取り組んだ。プラズマ源として、アルゴンあるいはヘリウムガスを流した管の開放部付近でバリア放電を発生させて生成した低温プラズマジェットを用いた。これらのガスは準安定状態の寿命が長くかつ高いため、管の外にジェット状に射出されることができ、空気中の酸素や水分を解離しラジカル類など反応性の高い化学種を生成する。これによる化学的活性と電磁界等により生体との相互作用が発生し、致命的、非致命的両方の様々な細胞応答が誘起される。本研究では低温プラズマジェット照射 (プラズマ処理) 時の細菌不活化効果の特性を調べ、特に (1) 鉄イオン添加による細菌不活化効果の増幅、(2) 被処理物に残留する細菌不活化効果、および (3) 細菌の生育条件の感受性への影響、について実験的検討を行った。その概要は以下の通りである。

(1) 反応場となる大腸菌浮遊液への第一鉄イオン源 (硫酸第一鉄) の添加が低温プラズマ処理による大腸菌不活化効果へ及ぼす影響を測定した。第一鉄イオンは、低温プラズマにより生成される過酸化水素を水酸化物イオンおよび、強力な酸化力を有するヒドロキシルラジカルに分解する。そのためこれの添加により酸化分解効果を増幅し、不活化効果の増大が可能と考えた。結果、不活化効果の増大が確認されたが、効果が最大となる硫酸第一鉄濃度は反応場への空気混入量等の処理条件により著しく変動した。

(2) プラズマ処理を受けた寒天培地および蒸留水が大腸菌不活化効果を有することを見いだした。この残留性の不活化効果はプラズマ処理により生成される代表的な化合物である過酸化水素および硝酸では再現されず、またプラズマ処理を停止してから数十分程度で消失した。このことから、残留性の不活化効果の要因としてオゾンが考えられる。

(3) 細菌の生育条件による低温プラズマ感受性への影響評価では、生育条件として増殖経過の時期 (培養時間)、あるいは生育温度 (培養温度) を変えた大腸菌を調製し、プラズマ感受性を比較した。結果、増殖状態の推移期 (増殖準備期から対数増殖期、および、対数増殖期から定常期) にプラズマ感受性が低下することが確認された。これらの内、対数増殖期から定常期への移行における感受性増大は、定常期初期に特異的に生じる細胞膜透過能の低下が関与している可能性が考えられる。また、生育温度による感受性への影響も確認された。19、28、37、40、および 43°C で培養した大腸菌を用いて培養温度の影響を評価した結果、至適生育温度の 37°C においてプラズマ感受性は最小となり、低温および高温はいずれも感受性を増大させた。他の研究にて、パルス電界感受性についても類似の傾向が確認されている。これより、本研究で観察された培養温度によるプラズマ感受性の変化においては、プラズマが供給する要素の内電界が重要な働きをしていた可能性が高いといえる。

year month day
2013 Feb. 25th

Environment and Life Engineering Department		ID	D085802
Name	Tomoko Nakajima		

Advisor	Akira Mizuno
---------	--------------

A b s t r a c t

Title	Basic research on bacterial inactivation effect of cold plasma jet
-------	--

(800 words)

Atmospheric cold plasma enabled novel plasma applications, such as new medical treatment by direct exposure to living tissue. In present study, with the aim of contribution to the novel plasma medical technology, investigations to factor of plasma sensitivity and a trial to enhancement of inactivation effect by combination use with a chemical were carried out, using *Escherichia coli* (*E. coli*) as bacterial samples. Cold plasma jets were used as plasma sources. They were generated by barrier discharge near the ends of the tubes which is injected helium or argon. Metastable states of molecules of these gases are long-lived and have high energy. Therefore it can be released to air and generates active radicals by dissociation of oxygen and water in air. The chemical activity and electromagnetic action interacts with living body, and induce various cell answers, both lethal and non-lethal. In present study, experimental investigation about (1) enhancement of inactivation by ferrous iron, (2) residual bacterial inactivation effect of subjects, and (3) effect on plasma sensitivity of bacteria by its growth condition, were carried out.

(1) Change on plasma sensitivity of *E. coli* caused by addition of ferrous iron (ferrous sulfate) was evaluated. Ferrous iron disproportionate hydrogen peroxide to hydroxide ion and hydroxyl radical with strong oxidation power. Hydrogen peroxide is a common product of plasma treatment. From these, enhancement of oxidation power, namely bacterial inactivation effect by addition of ferrous iron was expected. In result, it is observed that ferrous sulfate in appropriate concentration enhances bacterial inactivation. Though, the appropriate concentration varied greatly depending on condition, such as amount of air around reaction field.

(2) In investigation about residual effect, it is observed that both agar medium and distilled water immediately after plasma treatment have bacterial inactivation effect. The effect was not reproduced by comparable concentrations of hydrogen peroxide and nitric acid, which are typical products of plasma treatment. Ozone is considered as main factor of the effect according to its disappearance in several minutes to several hours.

(3) In effect on plasma sensitivity of bacteria by its growth condition, growth phase (time of cultivation) and growth temperature (temperature at cultivation) were evaluated separately. In evaluation of growth phase effect, plasma sensitivity of *E. coli* in various growth phases were measured. In result, decreases of sensitivity were observed around transitions between these growth phases. Among them, the decrease around the transition between exponential phase and stationary phase is highly considered to be caused by the specific decrease of cell membrane permeability around early stationary phase. In evaluation of growth temperature effect, *E. coli* was cultivated at 19, 28, 37, 40, and 43°C, and plasma sensitivity of them were compared. In result, *E. coli* cultivated in 37°C, optimum growth temperature, showed lowest sensitivity. Namely, both lower and higher growth temperature increased sensitivity. There is a paper which reports that sensitivity of *E. coli* to pulse electric field increased by both higher and lower growth temperature namely is similar to the trend in plasma sensitivity. Therefore, it can be considered that electric field has critical role in the plasma jet treatment, aside from reactive species.