

コロナ放電による気中浮遊菌の除菌と 接地電極板上の殺菌メカニズム

谷野 孝徳*, 宮崎 中*, 古橋 拓也**, 大嶋 孝之*.¹

(2014年9月8日受付; 2014年11月3日受理)

Elimination of Airborne Microorganism by Corona Discharge Plasma and Analysis of Microorganism Inactivation Mechanism Trapped on Graded Electrode

Takanori TANINO*, Ataru MIYAZAKI*, Takuya FURUHASHI** and Takayuki OHSHIMA*.¹

(Received September 8, 2014; Accepted November 3, 2014)

Elimination of airborne microorganism by corona discharge was investigated using *Staphylococcus epidermidis* as the model airborne microorganism. Significant decrease of airborne *S. epidermidis* number compared to that of natural attenuation without corona discharge plasma was detected. The living cell number of *S. epidermidis* trapped on graded electrode plate was almost title of decreased airborne *S. epidermidis*. Several applied voltage waveforms, DC positive, DC negative, DC superimposed pulse and rectangular wave, were used to generate corona discharge plasma. In all applied voltage waveforms, airborne *S. epidermidis* was eliminated. But the elimination was depended on consumed energy and there was no difference between applied voltage waveforms. Damages to the cell-surface and genomic DNA microorganisms spread and dried on graded electrode by the exposure of corona discharge were also investigated. Damage to cell-surface was investigated using fluorescently labeled yeast. Decrease of fluorescence localized yeast cell-surface that suggests damage to cell-surface was observed. Damage to genomic DNA was investigated by polymerase chain reaction using *S. epidermidis* genomic DNA as the template. The resulted weak band strength of PCR products using corona discharge plasma exposed *S. epidermidis* suggested damage of genomic DNA by corona discharge.

1. はじめに

我々が通常生活する空気環境において 1 m^3 あたり 1,000 から 10,000 個程度存在する¹⁾ とされる微生物の除去・不活性化といった制御技術は、食品製造施設や医療施設などの専門的施設における作業環境の安全性・確実性を担保する上で極めて重要である。近年では微生物の制御技術は専門施設における利用に加え、我々により身近な住環境におけるカビやウイルスなどの制御を目的とし、家庭用の空調・空気清浄機などへの応用も注目されている。微生物を除去・不活性化させるための設備・機器ではフィルターを用いた微生物の空気環境からの捕捉に加え、捉えた微生物の二次飛散による汚染ならびにフ

ィルター上での微生物増殖によるフィルターの汚染と低寿命化を防止するために殺菌技術の併用が好ましいと考えられている。空気環境に漂う微生物の殺菌技術としては従来から用いられてきた紫外線 (UV) の照射や薬剤を用いた殺菌手法に加え、近年では静電気技術である放電技術を用いた手法が注目され既に国内各電機メーカーからもストリーマ放電などの放電現象を応用した空気清浄機などが発表されている。放電技術による微生物の殺菌は放電現象によって生成する活性種、荷電粒子、紫外線 (UV) が関与する現象であると考えられており、原理的には多剤耐性菌を含む広い範囲の微生物に効果を有すると考えられる。また薬剤と異なり残留性が無いことから、新たな耐性菌を創出してしまう懸念が無いことも利点として挙げられる。我々は空気環境に存在する微生物の除菌・殺菌技術の開発を目的として、コロナ放電に着目した。コロナ放電は放電とともに発生する電流量が数 μA 程度と非常に小さいため消費エネルギーが小さく、比較的静音であることから家庭用の空調・空気清浄機などへの応用も容易であると考えられる。

本研究では家庭用機器への応用を視野に入れコロナ放電を用いた気中に浮遊する微生物の除菌についての評価を行った。具体的にはコロナ放電を発生させるために用いる電源の電圧波形が除菌効果に与える影響について、

キーワード: corona discharge plasma, inactivation, *Staphylococcus*

* 群馬大学大学院工学研究科環境プロセス工学専攻
(〒376-8515 群馬県桐生市天神町 1-5-1)

Department of Chemical and Environmental Engineering,
Graduated School of Engineering, Gunma University, 1-5-1,
Tenjin-cho, Kiryu city, Gunma, 376-8515, Japan

** 三菱電機株式会社住環境研究開発センター
(〒247-8501 神奈川県鎌倉市大船 5-1-1)

Living Environment System Laboratory, Mitsubishi
Electric Corporation 5-1-1, Ofuna, Kamakura city,
Kanagawa, 247-8501, Japan

¹ tohshima@gunma-u.ac.jp

電気用品安全法の基準内で家庭用電化製品に使用が適している 7 kV 以下の電圧において調査を行った。またコロナ放電による微生物の殺菌作用メカニズムを明らかにするため、アース電極板状に塗布した細胞の表層ならびに DNA への損傷の有無の調査を行った。

2. 実験方法・手順

2.1 電源

本研究ではコロナ放電を発生するために数種の電源を用いて図 1 に示す 6 種の電圧波形を生じさせた。

直流正極 7 kV の電圧 (図 1a)、ならびに直流負極 4 kV の電圧 (図 1b)、ならびに直流正極 4 kV に加え 4 kV のパルス波形が重畳した直流パルス電圧 (図 1c) を発生させるためそれぞれ三菱電機社製の家庭用電化製品 (ルームエアコン、空気清浄機) に搭載されている電源を用いた。ピーク電圧 6 kV の矩形波電圧 (図 1d, e, f) は、ファンクションジェネレーター (NF 回路設計ブロック株式会社製 FUNCTION SYNTHESIZER 1915) で波形を規定し、高圧電源 (松定プレジジョン社製 HCO-10B2) を接続し出力した。矩形波の Duty は 5% (図 1d)、50% (図 1e)、90% (図 1f) に設定した。

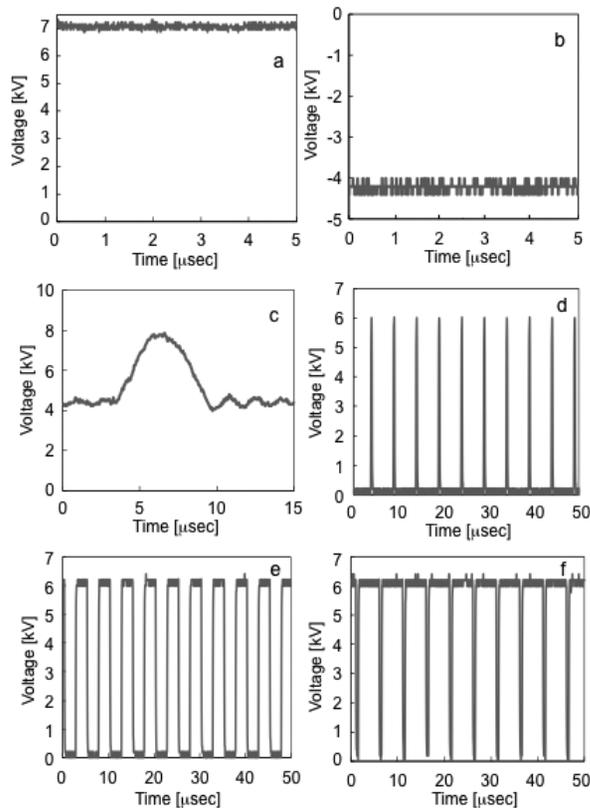


図 1 コロナ放電発生時の電圧波形; 直流正極 (a)、直流負極 (b)、直流重畳パルス (c)、矩形波 duty 5% (d)、矩形波 duty 50% (e)、矩形波 duty 90% (f)。

Fig.1 Voltage waveforms of corona discharge plasma; DC positive (a), DC negative (b), DC pulse (c), rectangular wave duty 5% (d), 50% (e), 90% (f).

(図 1e), 90% (図 1f) に設定した。またコロナ放電発生時に流れる電流は、アース電極下流に設置した 1 kΩ の抵抗にかかる電圧をテスター (三和電機計器株式会社 CD-710C) で計測しオームの法則より求めた。直流正極 7 kV の電圧、直流負極 4 kV の電圧、直流正極 4 kV に加え 4 kV のパルス波形が重畳した直流パルス電圧、ピーク電圧 6 kV の矩形波電圧それぞれを用いた時の電流値はそれぞれ 2.5×10^{-6} 、 -8.0×10^{-6} 、 11.3×10^{-6} 、 9.1×10^{-6} A であった。

2.2 殺菌対象微生物の調製

本研究では気中に浮遊させる除菌対象として、ブドウ球菌 *Staphylococcus* 属に属し多剤耐性菌・日和見感染菌として問題となる黄色ブドウ球菌とは近縁種でありながらヒトへの病原性の心配が無く拡散防止措置 P1 レベルの実験室で取り扱うことが可能である表皮ブドウ球菌 *S. epidermidis* (NBRC 100911) を用いた。表皮ブドウ球菌は、寒天培地上で十分に増殖し、下記の簡便な手順で夾雑物が少ない表皮ブドウ球菌懸濁液を調整できる。表皮ブドウ球菌を表皮ブドウ球菌培養用寒天培地 (ペプトン 1% (w/v)、酵母エキス 0.2%、 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.1%、寒天末 1.5%) 上に植菌し 37℃ で 20 時間培養した。これに滅菌済み蒸留水を 5 ml 添加し、寒天培地表面の表皮ブドウ球菌を懸濁した後、滅菌済みガーゼを用いたろ過により寒天培地の断片を取り除いたものを試料とした。

またコロナ放電が微生物細胞表層に与える損傷の調査には清酒酵母協会 7 号を用いた。清酒酵母はエタノール発酵性が高いため、実験系へのエタノールの混入を防ぐために酵母を YPD 培地 (ペプトン 2%、酵母エキス 1%、グルコース 2%) を用いた好気条件下 37℃ で 16 時間培養後、遠心分離し培養液と菌体を分離し洗浄を行った。洗浄の具体的な手法は分離した菌体を滅菌済み蒸留水に懸濁することで菌体を洗浄し、再度遠心分離することで菌体を回収した。本操作を 2 回行ったものを試料として用いた。

2.3 浮遊菌除菌試験に用いた実験装置ならびに実験操作

表皮ブドウ球菌を浮遊させる空間として容量 196 L のアクリル製ボックス (563×483×731 mm) を用いた。アクリルボックス内にコンプレッサー式ネブライザ (オムロン株式会社 NE-C28) を設置し、これを用い上記で調製した表皮ブドウ球菌懸濁液をアクリルボックス内に噴霧した。噴霧した菌体をアクリルボックス内に拡散するためにファン (STYLE ELECTRONICS 889B10-W) をアクリルボックスの中央に設置した。コロナ放電を発生させるための 0.3 mmφ ステンレス製針電極と 10×10 mm

ステンレス製アース電極板を電極間距離 10 mm となるように設置したユニット (図 2a) はファンの下ボックス中央に設置し, 各電極は電線を介しそれぞれアクリルボックス外にて電源と接続または接地した。アクリルボックスの上部からエアポンプ (東京デオドラント株式会社 AirPump JP-500) により内部の気体を 2 L/min の流量で吸引し, インピンジャー (柴田化学株式会社 ミゼットインピンジャー-G-1 型) 内に封入した生理食塩水にトラップした後アクリルボックスへの循環を行うことで浮遊菌体の回収を実施できる環境を構築した (図 2b)。

浮遊菌体の回収と放電試験は下記の手順で行った。ファンを稼働後, ネブライザーを用い菌体懸濁液 2 ml を 5 分間かけて噴霧した。ファンは試験中常に稼働させている。噴霧した菌体がアクリルボックス内に十分行き渡らせるため 2 分間放置した後, ポンプを 5 分間稼働しインピンジャー内の生理食塩水 5 ml に浮遊菌体を回収した。この回収したサンプルを処理時間 0 分のサンプルと定義した。次に電源から種々の電圧を電極に印加しコロナ放電を発生させた。コロナ放電発生開始から 5 分後再びポンプを 5 分間稼働し浮遊菌体を回収し, これを処理時間 10 分のサンプルと定義した。以降同様の操作を繰り返し, 各処理時間のサンプルを回収した。

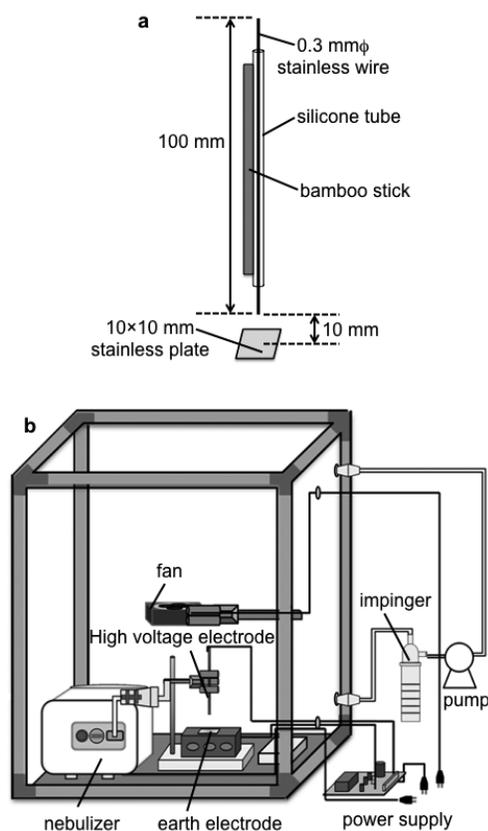


図 2 放電ユニット (a) ならびに実験装置 (b) の模式図
Fig.2 Schematic of discharge unit (a) and experimental setup (b).

2.4 放電による微生物細胞損傷の調査

細胞の表層と細胞内の DNA に着目し, コロナ放電による微生物細胞の損傷について微生物を固体表面に塗布した状態で放電に暴露させることで調査を行った。具体的には酵母では 4×10^5 Colony Formation Unit (CFU) に, 表皮ブドウ球菌では 4×10^6 CFU に調製した微生物懸濁液 40 μ l を 10×10 mm のステンレス板上に滴下, 3 時間風乾し, これをアース電極としてコロナ放電を発生させることで菌体の放電への曝露を行い, 蒸留水で洗い流すことにより菌体を回収し各損傷を調査した。

細胞表層の損傷の調査は走査型電子顕微鏡 FE-SEM (日本電子株式会社製 JSM-7401F) により観察を行った。また, 細胞表層を蛍光物質により標識した酵母細胞を用いて分子・微細構造レベルでの損傷についても調査を行った。実験操作はすべて可能な限り遮光状態にて実施した。酵母細胞表層の蛍光標識には酵母細胞表層に多数存在するハイマンノース型糖鎖を特異的に認識する Jack Bean 由来レクチン Con A^{2,3)} をフルオレセインイソシアネート (FITC) により蛍光標識した Con A-FITC を用いた。放電への曝露・菌体の回収の後, 蛍光の減衰を蛍光顕微鏡 (ニコン社製 TE-2000U) ならびに蛍光分光光度計 (島津製作所社製 RF-5300PC) を用いて測定した。

DNA の損傷は表皮ブドウ球菌を用い調査を行った。表皮ブドウ球菌ゲノムにコードされるヒートショックプロテインをコードする遺伝子 HSP60 ならびに HSP104 をターゲットとし, それぞれ (5'-GGGGACGGTACA ACTACAGC-3', 5'-GTCACCTGCAGCCCCTACTT-3') ならびに (5'-ACAACTTCAATGGAACAACAATCA-3', 5'-ACAGTTCAACAGCACGGTCA-3') のプライマーセットを用い Takara Taq (タカラバイオ株式会社製) をポリメラーゼとして用いた Polymerase Chain Reaction (PCR) により増幅を実施した。グラム陽性菌表皮であるブドウ球菌は熱により容易に溶菌することから, PCR の鋳型としてゲノムを用いるためにブドウ球菌懸濁液を PCR 反応系へ用いた。PCR 産物をそれぞれ電気泳動法にて分析することでコロナ放電によるゲノム DNA への損傷を調査した。

3. 実験結果および考察

3.1 コロナ放電による空中浮遊表皮ブドウ球菌の除菌

一定の空間内にネブライザーを用いて噴霧し浮遊させた表皮ブドウ球菌に対するコロナ放電の除菌効果を確認した (図 3a, b)。コロナ放電を発生させない場合においてもアクリルボックス壁面への付着や底面への落下による自然減衰により, 空間内に浮遊する生菌数は 30 分後に

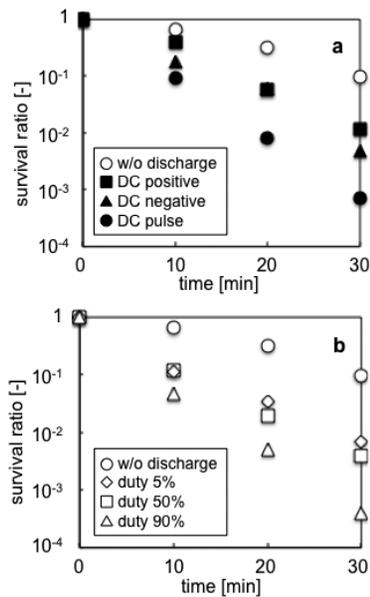


図3 直流または直流重畳パルス (a) または矩形波 (b) 電源を用いたコロナ放電による表皮ブドウ球菌の除菌
 Fig.3 Time course of airborne *S. epidermidis* elimination by corona discharge plasma using DC and DC pulse (a) or rectangular waves (b) as applied voltages.

は1桁程度減少することを確認した。一方で、コロナ放電を発生させた場合においてはいずれの電圧波形を用いた場合においても、発生させない場合と比較して浮遊する生菌数の有意な減少が確認された。中でも直流重畳パルスと Duty 90%の矩形波を印加した場合に最も減少効果が高く30分の処理によりおよそ3桁の減少が確認された。

この3桁の減少の原因としてはコロナ放電による殺菌効果、および電気集塵と同様コロナ放電により発生した荷電粒子の浮遊菌体への付着によりアース電極板ならびにアクリルボックス内壁への集積の和により生じていることが考えられる。コロナ放電が発生する針電極の近傍直下にあるアース電極上への集積の可能性が最も高く、コロナ放電による殺菌も期待できる。

そこで直流重畳パルスを用いた場合について、30分の処理後のアース電極板上に存在する生菌数の測定を行い、減少した全生菌数との比較を行った (図4)。

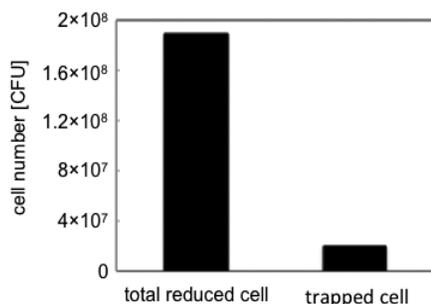


図4 生菌率の減少に占めるアース電極への集塵効果
 Fig.4 Effect of precipitation on decrease of living cell.

その結果アース電極に集積されていた生菌数は減少した生菌数のおよそ10%程度であった。コロナ放電による殺菌効果により一部は殺菌されていると考えられるので、死菌体を含めると浮遊菌全体の1割以上はアース電極へ集積していることが明らかとなった。またこの際アクリルボックス内のオゾン濃度は我々が所有するオゾン濃度計 (ダイレックス社製 MODEL 1700) の検出限界 0.01 ppm 以下であり、ヒトの嗅覚に感知されるような濃度のオゾンによる通常のオゾン殺菌は起こっておらず、荷電粒子や電子衝突に起因する殺菌が起こっていると考えられる。

浮遊菌体への除菌効果は直流電圧と比較して直流重畳パルスが大きく、矩形波の中では Duty の大きい順、つまりは高電圧を印加している時間が長い順に効果が大きかった。この結果より除菌効果は消費エネルギーに密接に影響されていることが推測される。そこで処理時間10, 20, 30分の各時点での除菌効果を消費エネルギーに対してプロットしたものを図5に示す。このグラフよりコロナ放電による気中浮遊菌の除菌において除菌効果

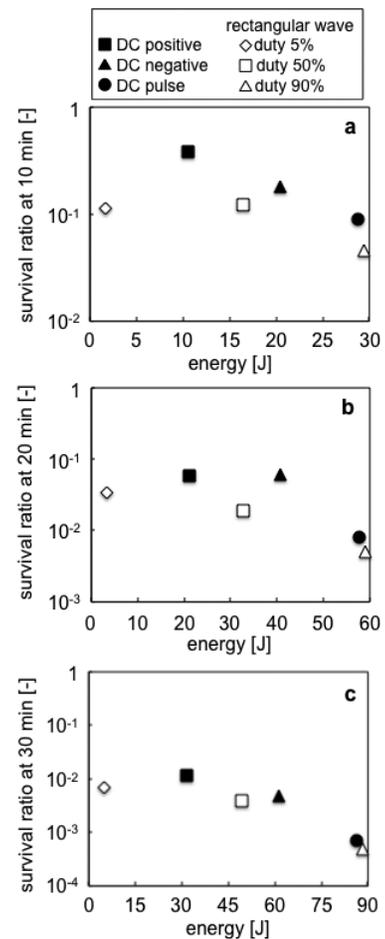


図5 消費エネルギーが表皮ブドウ球菌除菌効果に及ぼす影響: 処理時間 10 (a), 20 (b), 30 (c) 分.
 Fig.5 Effect of consumed energy on airborne *S. epidermidis* elimination at 10 (a), 20 (b) and 30 (c) min.

は消費エネルギーに依存し、印加電圧波形には影響されないことが示された。以上の結果より、以下の実験では商用利用に適した規格を有し出力が高く短時間での除菌が可能である直流重畳パルス電源を用いて実験を行った。

3.2 コロナ放電による細胞表層の損傷

ステンレス板上に塗布した酵母細胞に対して FE-SEM 観察を実施し、コロナ放電処理の有無による固体表面上に付着した細胞の外観の変化の調査を行った。強力なコロナ放電に暴露させることで *Penicillium expansum* の芽胞に顕著な損傷が生じることが報告されている⁴⁾。FE-SEM 観察の結果を図 6 に示す。いずれの SEM 画像においても細胞の輪郭をはっきりと確認され、夾雑物に細胞が埋まっていないことが確認される。また 6 時間のコロナ放電処理を行った細胞の FE-SEM 観察画像 (Fig. 6b) はコロナ放電処理を行っていない細胞 (Fig. 6a) と比較して外観の大きな変化は確認されず、本系で用いたような弱いコロナ放電処理では細胞が大きく破損することは無いことが確認された。

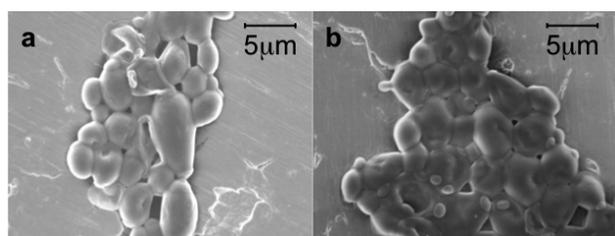


図 6 FE-SEM 観察による細胞損傷の確認：コロナ放電処理有 (a)、コロナ放電処理無 (b)。

Fig.6 Scanning electron microscopic analysis of yeast cells without (a) and with (b) corona discharge plasma exposure.

次に FITC 標識したレクチン Con A により予め細胞表層を蛍光標識した酵母を用いて SEM 観察では確認できないコロナ放電による微生物細胞表層の分子・微細構造レベルでの損傷の有無を調査した。酵母細胞表層にはハイマンノース型糖鎖修飾を受けたタンパク質が多数局在しており、レクチン Con A はこのハイマンノース型糖鎖を認識し結合する。コロナ放電への暴露により予め蛍光標識した酵母細胞の蛍光強度低下が確認されれば、細胞表層に局在したレクチン、蛍光色素、細胞表層タンパク質、糖鎖などの分子や構造が損傷を受けていることが明らかとなる。直流重畳パルス電源として蛍光標識した酵母細胞へのコロナ放電処理を実施した。コロナ放電処理前後の蛍光標識酵母の蛍光顕微鏡写真を図 7 に示す。コロナ放電処理前の酵母の蛍光顕微鏡写真では酵母細胞の輪郭に緑色蛍光が局在していることが確認され、細胞

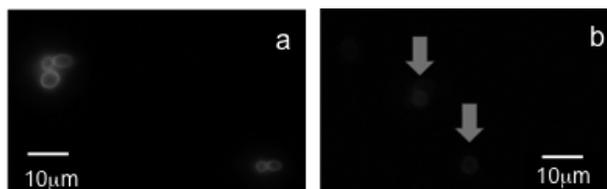


図 7 コロナ放電処理の前 (a)、後 (b) の細胞表層蛍光標識酵母の蛍光顕微鏡写真。

Fig.7 Fluorescence microscopic analysis of cell-surface fluorescence stained yeast cells before (a) and after (b) corona discharge plasma exposure.

表層に Con A-FITC が結合していることが確認される (図 7a)。一方、3 時間のコロナ放電処理後の酵母の蛍光顕微鏡写真では、酵母細胞の輪郭に局在している緑色蛍光が弱まっていることが観察された (図 7b)。この結果よりコロナ放電への暴露により酵母細胞表層に存在する FITC、Con A ならびに細胞表層タンパク質が損傷を受けていることが確認され、コロナ放電は微生物細胞表層構造へ損傷を与えることが示された。

Con A-FITC 標識酵母細胞の蛍光強度の減衰について他の殺菌技術、オゾンならびに UV への曝露について調査を行いコロナ放電への暴露と比較を行った。オゾンへの曝露はオゾン濃度 1,700 ppm のオゾンを用い流量 0.5 l/min で 1 時間曝露を行うことで実施した。また、コロナ放電によって生じる UV が蛍光強度の減衰に与える影響についても調査を行った。UV 処理は蛍光標識固体表面上に塗布した酵母細胞を石英セルに密封したのち高電圧針電極 - アース板電極間距離と同距離の場所に設置することで UV への曝露を 3 時間行った。それぞれの処理を行った酵母細胞の蛍光強度測定結果を図 8 に示す。オゾン処理では 1 時間の処理後の細胞では蛍光は確認できなかつた。オゾンによる微生物の殺菌には細胞の表層である細胞膜の破壊が大きく影響していることが明らか

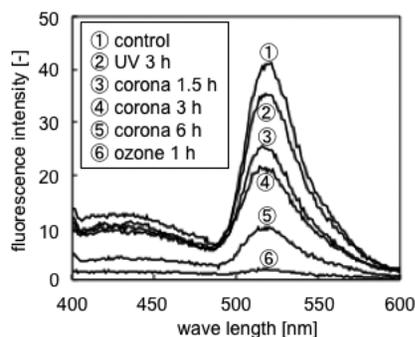


図 8 コロナ放電、オゾン、UV への曝露による細胞表層蛍光標識酵母の蛍光強度の変化。

Fig.8 Change of fluorescence intensity of cell-surface stained yeast cells after corona discharge plasma, ozone and UV exposure discharged plasma.

となっており⁵⁾, 酵母細胞の場合にも同様に細胞表層に損傷が起きたため蛍光が消失したものと考えられる. UV への曝露では蛍光強度の減衰が確認されたものの同じ処理時間である3時間のコロナ放電処理を行ったものに比べ減衰の程度は小さかった. このことよりコロナ放電による細胞表層に修飾した蛍光の減衰は放電とともに生じる UV への曝露の効果は小さく, その大部分が放電によって生じる活性種によるものであることが示唆される. 石英ガラスにより活性種・荷電粒子を遮断し UV への曝露のみでは寒天培地上の微生物に対し殺菌効果はほとんど確認されなかったという報告もあり⁶⁾, UV は殺菌にあまり関与しないこと, 活性種の大部分が極めて短寿命であることを考えると殺菌対象が放電空間を通過するあるいはアース電極上へ効率的に集積することが殺菌効果を発揮するための大きな因子となっていることが示唆され, 今後気体の流れの制御を考慮に入れた検討が必要だと考えられる.

コロナ放電による蛍光強度の減衰と殺菌効果の相関を調べるため, 各処理時間後の蛍光強度の減衰と殺菌された細胞数それぞれについて初期値に対する比の比較を行った (図9). 蛍光強度の減衰と殺菌率には相関があるものの, いずれの処理時間においても蛍光強度の減衰率に比べ殺菌率は大きくなり単純な線形の相関は成り立たないことが確認された. この結果より殺菌のメカニズムとして単純に細胞の表層から均一な損傷が生じ, その結果に比例して殺菌が引き起こされるというメカニズムは否定される. 殺菌が引き起こされるメカニズムとしては細胞の表層からの損傷に加え, 細胞の機能を喪失させる局所的な表層の損傷や DNA など代表される細胞内物質の損傷などもその原因の一部として考えられる.

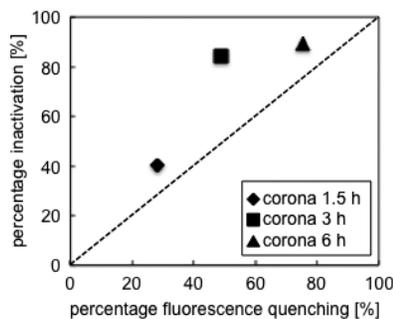


図9 蛍光減衰率と殺菌率の比較
Fig.9 Comparison between fluorescence quenching and inactivation.

3.3 コロナ放電によるDNAの損傷

表皮ブドウ球菌を用いコロナ放電による固体表面上に付着した微生物細胞に内包されている DNA への損傷を

ゲノム DNA を鋳型とした PCR を行い産物を電気泳動により解析することで調査した (図10).

コロナ放電への曝露は3時間行った. HSP60 をターゲットとした PCR において, 無処理の表皮ブドウ球菌ゲノム DNA を鋳型とし PCR を行った反応液を用いた電気泳動結果 (図10 レーン2) では, 特異的な DNA 断片の増幅を示す明瞭なバンドが確認され, マーカー (図10 レーン1, 6) との比較により DNA 断片のサイズは900 bp 程度であることから PCR によりプライマー設計通りに特異的に増幅が行われていることが確認された. 一方でコロナ放電処理を行った表皮ブドウ球菌ゲノム DNA を鋳型とした場合 (図10 レーン3) では PCR による特異的な増幅は確認されなかった. また, HSP104 をターゲットとした場合においても HSP60 をターゲットとした場合ほどではないものの PCR 産物を用いた電気泳動結果に差異が確認された. 無処理の表皮ブドウ球菌ゲノム DNA を鋳型とした場合 (図10 レーン4) に比べ, コロナ放電処理を行った表皮ブドウ球菌ゲノム DNA を鋳型とした場合 (図10 レーン5), PCR による特異的な DNA 断片の増幅が減少していた. これらの結果は, コロナ放電処理を行ったサンプルでは鋳型として PCR により増幅可能な無傷のゲノムが減少したために生じていると考えられ, コロナ放電によりゲノム DNA に損傷が生じることが示唆された. 培養液中のヒト細胞へ誘電体バリア放電 (DVD) を照射した際には中性活性種により DNA の損傷が引き起こされるとの報告もあり⁷⁾, 本研究で観察された固体表面上の微生物の DNA の損傷についても同様に中性活性種の関与が示唆される.

3.2 および 3.3 の実験結果より, コロナ放電曝露による細胞損傷は外部から均一かつ一様に分解されているわけではなく, 外表面の蛍光が観察される状態でも内部の

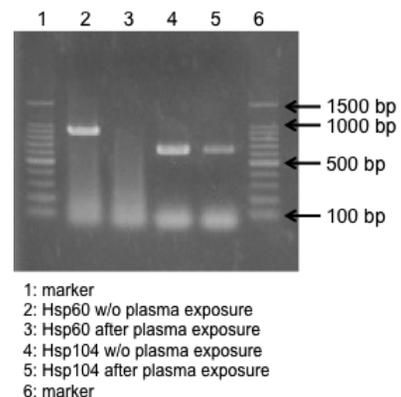


図10 コロナ放電による表皮ブドウ球菌内包 DNA の損傷の調査
Fig.10 Analysis of damage to genomic DNA of *S. epidermidis* by corona discharge.

DNA が損傷していることが確認された。まず細胞表層の一部が破壊され、DNA を含む内容物の分解も進行すると考えられるが、殺菌のメカニズムについてはさらに検討が必要である。

4. 結言

コロナ放電を用いた閉鎖空間内における気中浮遊菌に対する除菌効果の検討と、コロナ放電への曝露による微生物細胞の損傷について微生物細胞表層と細胞内に内包されている DNA に着目した調査を行い、以下の結果を得た。

- (1) コロナ放電を発生させることにより気中浮遊菌は有意に減少し、コロナ放電により気中浮遊菌を十分に除菌可能であることが明らかとなった。また電気集塵的にアース電極に集積された菌数は減少した菌のうち少なくとも 10% 以上であることが示された。
- (2) コロナ放電による気中浮遊菌への除菌効果は消費エネルギーに依存し、印加する電圧波形には影響されないことが明らかとなった。
- (3) 蛍光色素を用いて細胞表層を標識した酵母を用い、コロナ放電により微生物の細胞表層構造が損傷を受けることを示した。
- (4) 蛍光強度の減衰率と殺菌率にはおよそその相関があるものの殺菌率の方が高くなる傾向があることから、細胞表層の損傷と殺菌の間には単純な線形の相関は成り立たないことが明らかとなった。
- (5) コロナ放電処理を実施した表皮ブドウ球菌ゲノムを鋳型とした PCR とその産物の電気泳動解析により、コロナ放電により微生物細胞に内包される DNA に損傷を与えることが示唆された。

参考文献

- 1) 石松維世, 安倍太喜, 福田和正, 石田尾徹, 谷口初美, 保利一: 職場における浮遊微生物濃度の測定細菌叢の解析. 産業衛生学雑誌, **49** (2007) 39
- 2) I. J. Goldstein, C. M. Reichert and M. A. Misaki: Interaction of concanavalin a with model substrates. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **234** (1974) 283
- 3) J. M. Rini: Lectin structure. *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* **24** (1995) 551
- 4) S. Y. Ye, X. L. Song, J. L. Liang, S. H. Zheng and Y. Lin: Disinfection of airborne spores of *Penicillium expansum* in cold storage using continuous direct current corona discharge. *Biosyst. Eng.* **113** (2012) 112
- 5) B. Thanomsab, V. Anupunpisit, S. Chanphetch, T. Watcharachaipong: Effects of ozone treatment on cell growth and ultrastructural changes in bacteria. R. Poonkhum and C. Srisukonth: *J. Gen. Appl. Microbiol.* **48** (2002) 193
- 6) Z. Machala, L. Chladekova and M. Pelach: plasma agents in bio-decontamination by dc discharges in atmospheric air. *J. Phys. D:Appl. Phys.* **43** (2010) 222001
- 7) S. Kalghatgi, C. M. Kelly, E. Cerchar, B. Torabi, O. Alekseev, A. Fridman, G. Friedman and J. Azizkhan-Clifford: Effects of non-thermal plasma on mammalian cells. *Plos ONE* **6** (2011) e16270