

小特集 大気圧非熱プラズマを活用した環境保全技術の新展開

6. 大気圧下でのプラズマ放電により生成された正極性および負極性のクラスターイオンによる空気浄化技術

西川 和 男

シャープ株式会社 PCI・LED 推進本部 プラズマクラスター機器事業部 第三技術部

(原稿受付：2013年1月29日)

我々は放電を用いて空気中の水分子と酸素分子を電離し、空気中に正極性と負極性のクラスターイオンを放出することにより、浮遊菌を除去する技術を開発した。本章では、本技術によるクラスターイオンの生成メカニズム、菌の抑制効果のメカニズムを紹介するとともに、実空間試験において実証されたクラスターイオンの効果について報告する。

Keywords:

plasma, cluster ion, inactivation, airborne bacteria, airborne virus, attached bacteria, attached virus

6.1 はじめに

近年、空気環境の悪化が問題となっている。例えば化学物質による空気環境の汚染による生体への影響として揮発性有機化学物質によるシックハウス症候群や、住環境の変化によるハウスダストやダニアレルゲンによって生じるアレルギー症などが課題となっている。また、ウイルスなどに起因する問題としては、新型インフルエンザウイルスの世界的な流行などが安全な生活を脅かしている。

このような状況から、人々の空気環境への関心が非常に高まってきており、優れた空気浄化技術の検討が各方面で進められている。その中で、我々は放電を用いて空気中の水分子と酸素分子を電離し、空気中に正極性と負極性に帯電したクラスターイオンを放出することにより、浮遊する細菌を除去する技術（プラズマクラスターイオン技術）を開発した。本技術の原理、菌の活動停止メカニズムおよび、菌に対する除去性能を検証したので、以下に詳細を報告する。

6.2 イオン発生特性

開発したクラスターイオン発生装置は、2本の電極を有し、電圧をかけ空気中の水分子と酸素分子を電離したのちに、分解し水素のプラスイオンと酸素のマイナスイオンを放出する[1] (図1)。これらのイオンは空気中の水分子の付着などによりクラスター状のプラスイオン ($\text{H}_3\text{O}^+(\text{H}_2\text{O})_n$) とマイナスイオン ($\text{O}_2^-(\text{H}_2\text{O})_n$) になり空気中に放出される。

図2と図3はクラスターイオン発生装置直後の雰囲気ガスを質量分析した結果を示している。周期的に観測されるスペクトルの間隔は水分子の質量に相当し、核となるイオンの周囲に水分子が複数付着した構造であることを示して

いる (図4)。

大気圧中では、荷電粒子は短時間で再結合を起こすが、このようなクラスター構造を持たせることで、水分子が取り囲んでエネルギー的に安定化をもたらし状態になることが知られている[2]。典型的には数秒から数十分の寿命を

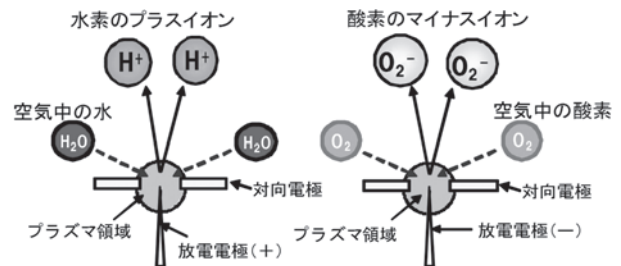


図1 クラスターイオン発生機構。

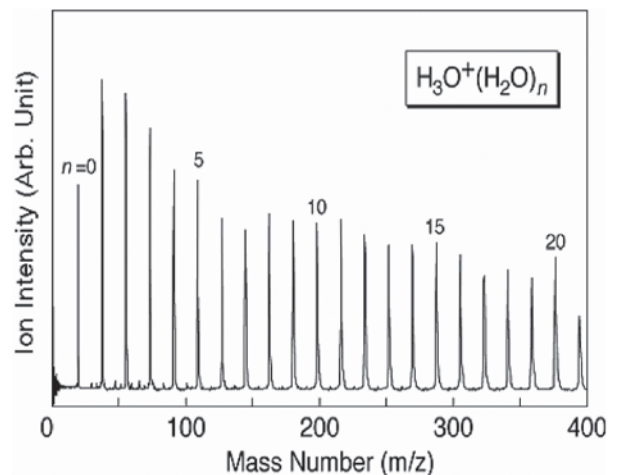


図2 正極性クラスターイオンの質量分析結果。

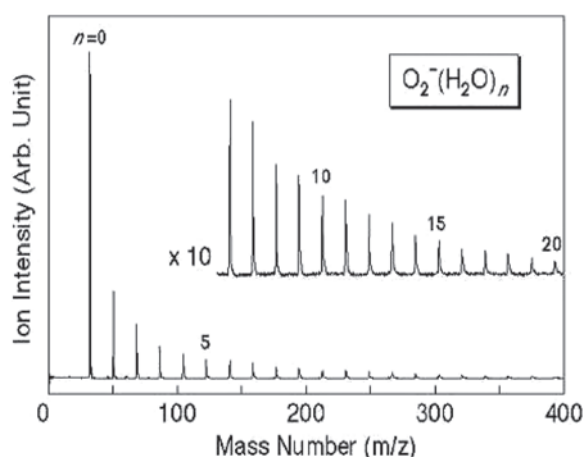


図3 負極性クラスターイオンの質量分析結果.

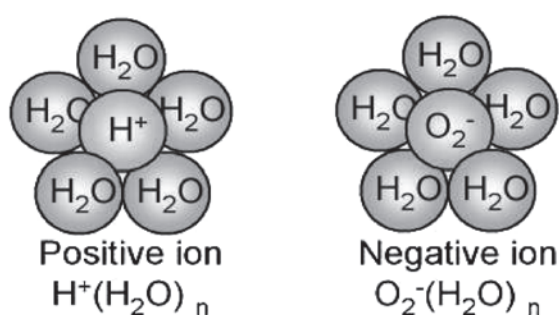


図4 クラスターイオンの構造.

持つため、室内の隅々まで送風により到達させることができる。

本方式の空気浄化技術は、上記クラスターイオンが浮遊する空気中の細菌に結合し、そこで生じたOHラジカルの脱水素作用により細菌が破壊され、滅菌する機構を利用したものである[3]。

空气中に放出された正負のクラスターイオンは、菌の表面を取り囲み、オキソニウムイオン (H_3O^+) とスーパーオキシドアニオン (O_2^-) が、 $\text{H}_3\text{O}^+ + \text{O}_2^- \rightarrow 3 \cdot \text{OH}$ のように反応することにより、酸化機能が強いOHラジカル（ヒドロキシルラジカル）に変化する。OHラジカルは菌の表面タンパク質から水素を抜き取り、表面タンパク質を破壊する[4]（図5）。

また、本方式で用いるイオンは、自然界に存在するものと同種のもので、皮膚や眼、遺伝子などに対し安全性試験も行っている。

6.3 空気浄化特性

6.3.1 バクテリア抑制効果

クラスターイオンによる除菌効果を検証するため、通気性を有するアクリル製ボックス（21×14×14 cm）内部でイオン発生を行い、その作用を分析した。サンプルとしては、ガラス表面または寒天培地にバクテリアや抽出色素（体積4×200 μL ）、試薬等を塗布したものを使用した。

まず、スーパーオキシドアニオン (O_2^-) の存在を調べるために、WST-1 試薬：2-(4-Iodop-henyl)-3-(4-nitrophenyl)-5

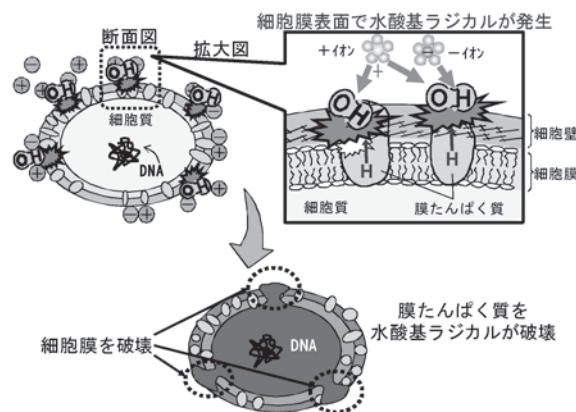


図5 菌の活動制御メカニズム.

-(2,4-disufophenyl)-2H-tetrazolium ナトリウム塩の変化を観察した。この物質は、 O_2^- により WST-1-formazan に変化し、WST-1-formazan は波長 438 nm の吸収率変化で検出できる。試験条件として、最終濃度が 0.01 M になるように WST-1 を 5×100 aliquot の希釈蒸留水に溶かした条件で行った。

また、OHラジカルの存在を検証するため、過酸化水素検出法を実行した。具体的には、Horse Radish Peroxidase (HRP) と Amplex Red を用いて、Amplex Red を最終濃度が 0.01 M になるよう 5×100 aliquot のリン酸塩緩衝液を溶かし、OHラジカルの存在により過酸化水素がスーパーオキシドアニオンに変換することを利用して検出を行った。図6にその結果の一例を示している。これにより正負両イオンから OHラジカルが生成していることが確認された。

クラスターイオン照射によるバクテリアへの影響を調べるために、細胞中のタンパク質量を一次元 Sodium Dodecyl Sulfate (SDS) 電気泳動法および二次元 SDS 電気泳動法によって分析した。具体的には、培養後、洗浄を行い、イオン処理し、懸濁液を凍結解凍のサイクルを3回繰り返し、11000 g で遠心分離を行った後に上澄みをゲルにのせる方法をとった。抽出緩衝液の組成は以下になっている。

1D-SDS PAGE: Tris-HCl, pH 7,

2% SDS, 5 mM EDTA, 1mM PMSF,

2D-SDS : 8 M 尿素, 2 %CHAPS,

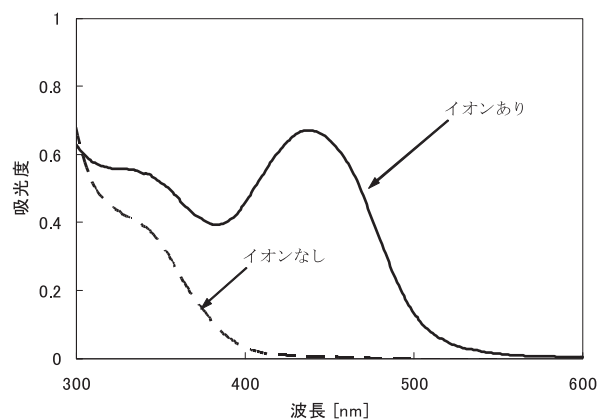


図6 クラスターイオンにより生成されたOHラジカルの検出結果.

50 mM DTT, 0.2% Biolyte ampholytes

また、等電点電気泳動を pH 3 ~10のグラジエントをかけ、2次元-SDSを行った。ゲルを取り込んだ後、ゲルはコマシーブルー染色液で染色し、密度分布を画像解析した。特定の分子量のタンパク質の存在を表す電気泳動のバンドは DIADEM ソフトウェア (version 8.0, National Instruments, Austin, USA) を用いて見積もった。

クラスターイオン照射後、膜浸透性の変化が観察された。このことは細菌の膜脂質やタンパク質が破壊されたことによると考えられ、不活性化された可能性が高い[5]。

図7-1は細菌の膜タンパク質の分析結果の一例を示したものである。クラスターイオン照射によりタンパク質を表すピークが減少しタンパク質が分解されていることがわかる。一方、図7-2は細菌の細菌内部のタンパク質の分析結果の一例を示したものである。細菌内部のタンパク質はクラスターイオン照射ではタンパク質を表すピークの変化がみられず、タンパク質は変化していないことがわかった。

また、カロテノイドやメラニンのような細胞に存在する物質はフリーラジカルを除去する性質をもつことが知られており、酸化ストレスから細胞を保護する性質を持っている[6]。今回、クラスターイオン照射により微生物の細胞から抽出した色素でも、特有の化学修飾が起こることが観測された(図8)。これは、クラスターイオンが細菌表面に存在する色素と直接反応している可能性を示している結果となった。

クラスターイオン照射後の細菌内部の DNA の変化を調べるため、Qiagen社の抽出キットを用いて微生物の細胞か

ら DNA を抽出した。5 μ l の DNA を 1% のアガロースゲル (0.5 $\times$ TBE 緩衝液, 10 V/cm) で電気泳動させ、その後、SYBR Green I 染色液 (BioRad) で染色し、UV 照射機 (バイオラド社) で映像化した。結果の一例を図9に示している。アガロースゲル電気泳動によってクラスターイオンによる細菌の DNA のフラグメント化 (分断) はなかった。

6.3.2 浮遊バクテリア抑制効果

31 m³ (約 8 畳 $\times$ 高さ 2.4 m) の試験空間に、大腸菌を浮遊させ、クラスターイオンを放出した。その後、試験空間内の空気中の菌数を測定した。結果の一例を図10に示している。クラスターイオン濃度 25,000 個/cm³を保つことで約 14分後に 99%除菌効果が得られた。

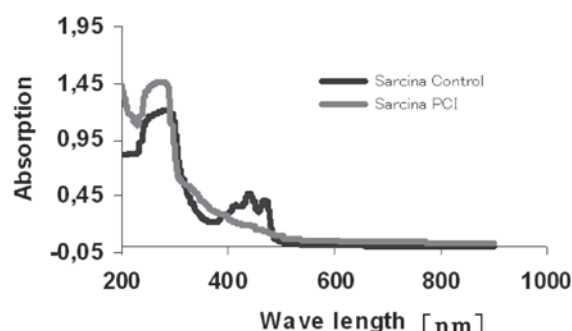


図8 バクテリアから抽出した色素のラジカル反応による光吸収の変化 (1時間照射)。

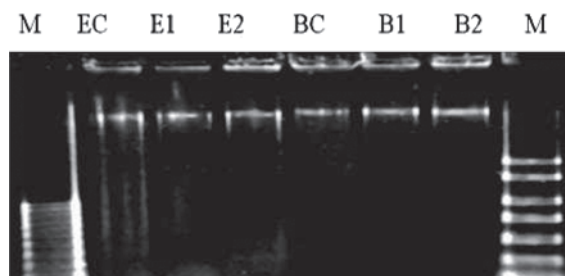
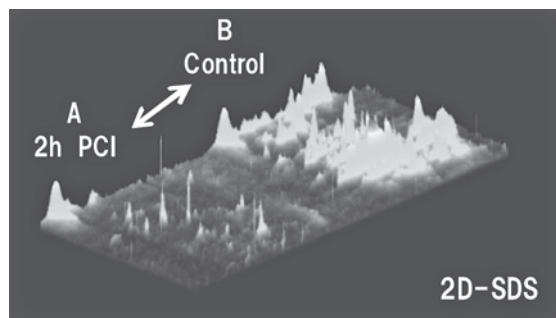
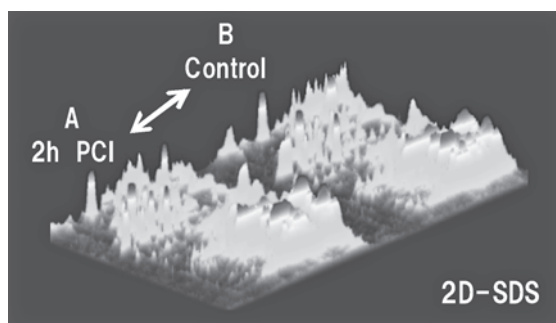


図9 イオン照射後の抽出 DNA の電気泳動結果。
略語：M-分子量マーカー、ECとBCはそれぞれEnterococcusとBacillusのPCI未照射のDNA
・E1、B1はそれぞれ2時間PCI照射後のDNA
・E2、B2はそれぞれ8時間PCI照射後のDNA



7-1 菌表面タンパク質分析結果



7-2 菌内部タンパク質分析結果

図7 菌のタンパク質の分解結果。
A) イオン (PCI) を 2 時間照射した細胞膜タンパク質。
B) イオン未照射の細胞タンパク白質。

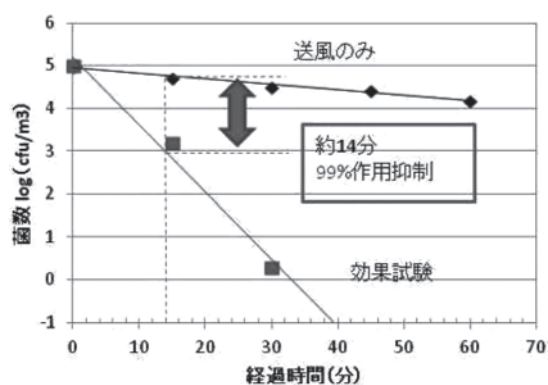


図10 浮遊バクテリア抑制効果試験結果。

6.3.3 浮遊カビおよび付着カビ減少効果

6.3.2小節同様の31 m³ (約8畳)の試験空間に、カビとしてクラウドスポリウムを浮遊させ、クラスターイオンを放出した。その後、試験空間内のカビ数を測定した。結果を図11に示している。クラスターイオン濃度25,000個/cm³を保つことで、菌数がほぼ等しい開始約30分から83分での2つの実験の比較で、83分後に空気中に浮遊しているカビの濃度が99%減少した。

カビの付着性に対するクラスターイオンの効果を調べるために、20 m³ (約5畳×高さ2.4 m)の試験空間にクラウドスポリウムを付着させた塩ビ板を置き、クラスターイオンを放出し、3日後にカビ発育面積を照射の有無で比較した(図12)。クラスターイオン濃度25,000個/cm³を保つことで菌系の発育面積が約半分となり付着カビの増殖抑制効果が得られた。

6.3.4 浮遊ウイルス抑制効果

浮遊ウイルスへのクラスターイオンの照射効果を調べるために、25 m³ (約6畳、高さ2.4 m)の試験空間に、H1N1型インフルエンザウイルスを浮遊させ、クラスターイオンを放出した。その後、試験空間内のウイルスを回収し、ウイルスのTCID₅₀法により感染力価を測定した。クラスターイオン濃度25,000個/cm³を保つことで66分後にウイルスの感染力価が99%減少した。

同様の条件で風量を1.5 m³/分としたHEPAフィルタ(High Efficiency Particulate Air Filter)での浮遊ウイルス抑制効果試験では、自然減衰(機器なし)を除いたウイルス数の減少が1/100になる時間は97分かかることがわかった。ここではさらに、HEPAフィルタによる除去に加

え、室内のクラスターイオン密度を7,000個/cm³に保つことで81分間で同レベルの減衰が可能になったことがわかった。さらにHEPAフィルタとクラスターイオン濃度2,5000個/cm³を保つことで、1/100減衰の時間は46分に短縮できることがわかった。

6.3.5 付着ウイルス抑制効果

前述の25 m³の試験空間内に、H3N2またはH1N1型インフルエンザウイルスを付着させたガーゼ布を吊るし、クラスターイオンを放出した。一定時間後、ガーゼ布を回収し、ウイルス感染力価を測定した。クラスターイオン濃度25,000個/cm³で、H3N2型インフルエンザの感染力価を約

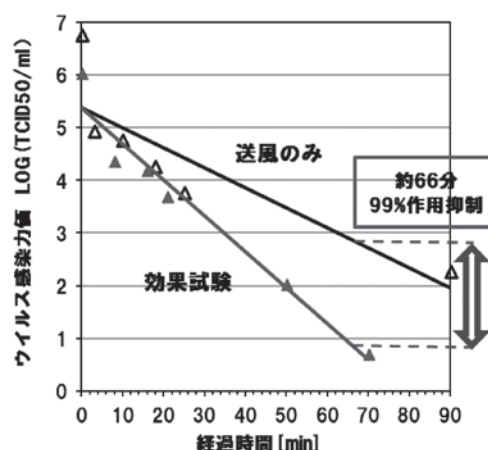


図13 浮遊 H1N1 型インフルエンザウイルス抑制効果試験結果。

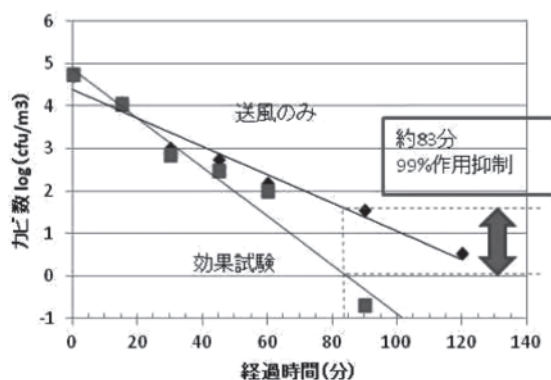


図11 浮遊カビ除去効果試験結果。

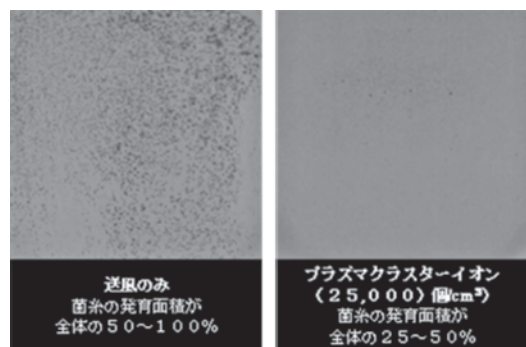


図12 付着カビ抑制効果試験結果。

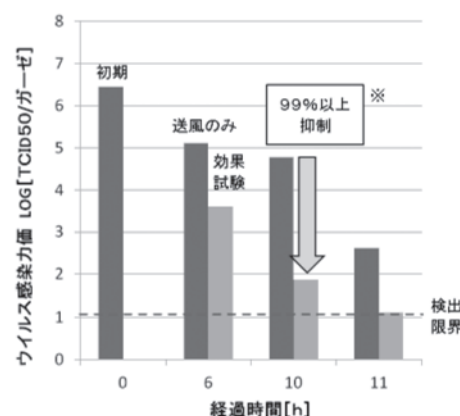


図14 付着 H3N2 型インフルエンザウイルス抑制効果試験結果。

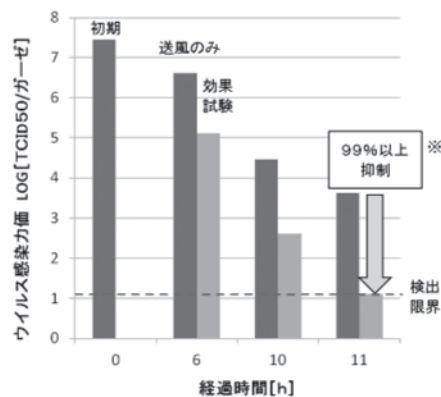


図15 付着 H1N1 型インフルエンザウイルス抑制効果。

10時間で送風のみと比べ1/100に、H1N1型インフルエンザの感染力価を約11時間で送風のみと比べ1/100になることが観測された (図14, 15)。

6.4 おわりに

正負クラスターイオンを用いる空気浄化技術を開発し、実空間での効果をバクテリア、カビ、ウイルスなどで滅菌効果を確認した。今後は空気環境の浄化のためにイオンの高濃度化の開発も進めていく。

参考文献

- [1] K. Nishikawa and H. Nojima, Int. Conf. Plasma Science, 379 (2003).
- [2] 中江 茂：エアロゾル研究 2, 111 (1987).
- [3] H. Yagi and K. Nishikawa, Bactericidal Effects of Positively and Negatively Charged Cluster Ions by Plasma Generated Discharge at Atmospheric Pressure, The Institute of Electrical Engineers of Japan (IEEJ), August 2007.
- [4] I. Digel *et al.*, Medical & Biological Engineering & Computing 43, 800 (2005).
- [5] I. Digel *et al.*, Int. Symp. Cellular Engineering and Nanosensors, 1004 (2004).
- [6] 吉川敏一他：活性酸素・フリーラジカルのすべて-健康から環境汚染まで- (2009年, 丸善株式会社)。
- [1] K. Nishikawa and H. Nojima, Int. Conf. Plasma Science,