

課題番号 : F-14-NU-0049  
 利用形態 : 機器利用  
 利用課題名(日本語) : プラズマ照射済み環境下での細菌活性に関する研究  
 Program Title (English) : Study on the activity of bacteria on surface after plasma irradiation  
 利用者名(日本語) : 磯貝 司, 上坂 裕之  
 Username (English) : T. Isogai, H. Kousaka  
 所属名(日本語) : 名古屋大学大学院工学研究科  
 Affiliation (English) : Graduate School of Engineering, Nagoya University

## 1. 概要(Summary)

自然界にある多くの細菌は、物体の表面に付着した状態で存在し、活動している。そのような細菌が引き起こす問題として、食品の腐敗、金属腐食の促進などがある。大気圧プラズマは、細菌に対する直接照射による殺菌効果を有する。しかし、プラズマ照射後の表面における細菌の増殖能に対する照射条件の影響については十分な検討がなされていない。そのため、本研究では、大気圧プラズマを細菌の付着表面の一つである標準寒天培地に対して照射し、その後、枯草菌(*Bacillus subtilis*)の培養によって形成されるコロニーを観察することによって、大気圧プラズマ表面処理が細菌の増殖能に及ぼす影響を検討した。

## 2. 実験(Experimental)

### ・利用した主な装置

蛍光バイオイメージング装置一式

### ・実験方法

本研究では、大気圧プラズマ表面処理装置を用いてプラズマ化した Ar ガスを寒天培地に照射した。その後、枯草菌を含む菌液をプラズマ照射した寒天培地表面に塗布し、培養することで、プラズマ照射時間が枯草菌のコロニー数増加率に及ぼす影響を検討した。Fig.1 に示すように、control と比較して 300sec の照射を受けた寒天培地では、コロニーの 8 割が発現するまでの時間  $t_g$  が 18 時間から 26 時間へとおよそ 60% 増加した。

以上のような差は細菌の呼吸活性の抑制によってもたらされた可能性があると考えた。そこで CTC (5-Cyano-2,3-ditolyl-2H-tetrazolium chloride) 試薬を用いて 24 時間培養後の枯草菌の呼吸活性を調べた。CTC を適切な濃度(5.0 mmol/L)以下にして寒天培地に添加すると、細菌の呼吸に伴う電子伝達系の作用により、CTC formazan (CTF) に還元される。CTC が蛍光するため蛍光バイオイメージング顕微鏡により CTC 量による濃淡差の二次元像が得られる(Fig.2)。

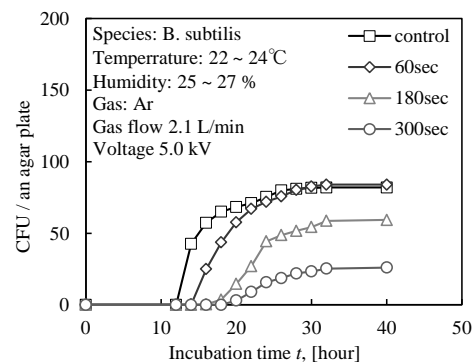


Fig. 1 Number of countable colony after bacteria seeding on nutrient agar medium after plasma irradiation.

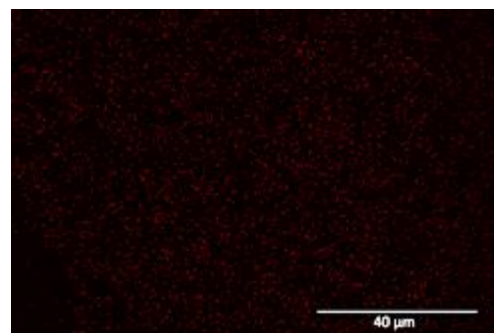


Fig. 2 Microscopic image of bacteria after treatment with CTC reagent, obtained by a fluorescence bio-imaging microscope.

## 3. 結果と考察(Results and Discussion)

Fig.2 の蛍光像中の赤い点が CTCF の存在を示している。しかしながら像内の赤色輝度の平均値を求めたところ、プラズマ照射時間による際は見られなかった。そのことよりプラズマ照射時間に伴って枯草菌のコロニー数増加率が減少した(Fig.1)要因は、呼吸活性の抑制ではないと考えられた。

## 4. その他・特記事項(Others)

なし。

## 5. 論文・学会発表(Publication/Presentation)

なし。

## 6. 関連特許(Patent)

なし。