

## プラズマを利用した滅菌効果について

常翔学園高等学校

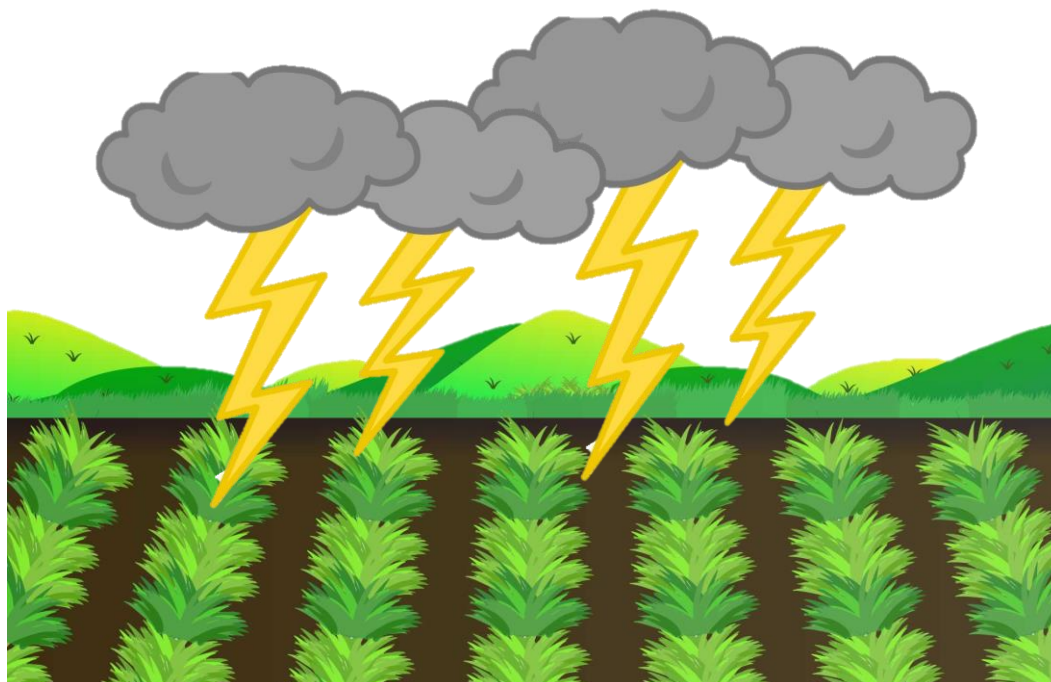
生島和弥・近藤颯音・後藤結愛

指導教員：長田昭義・眞銅雅子・勝浦英吾

### 研究概要

本研究では対象を植物にして実験を行った。植物を滅菌させる方法としては主にオートクレーブ、フィルター滅菌、紫外線による滅菌、プラズマを利用した滅菌などがある。その中で、大気中で発生できる DBD（誘電体バリア放電）プラズマを照射して滅菌する方法を利用した。プラズマを利用するメリットとしては、大気中で発生できる他に有毒な薬剤を使用せず、人にも環境にも安全に短時間で滅菌でき、エアレーション（空気にさらすこと）の必要がないなど多くある。プラズマの何が滅菌に関与している可能性があると考えられるものは、粒子エネルギー・熱エネルギー・オゾンの効果がある。

滅菌効果があるのは様々な研究で明らかにされているが、プラズマの何が植物に関与して滅菌させているのか明らかではないため、本研究では身近な野菜の種子に対して実験を繰り返し、プラズマを利用した滅菌の実現を目指した。



## 1. 緒言

植物種子をプラズマで滅菌し長期間保存することで、清浄な環境での植物育成ができる（種子について菌を育成環境に持ち込まない）種子は世界中で輸出入されているので、ある土地で発生している種子の病気を他の土地に持ち込まないようにするなどを実現する技術を開発することを目指す。

## 2. 方法

- ①ベビーリーフの種子（小林種苗会社、ルロググリーン）を天秤ではかりとりプラスチック製のシャーレに入れた。
- ②プラズマ照射用アクチュエータ（PA）は、円形アクリル（内径 36 mm、外形 40 mm、長さ 30 mm）の内側に 4 本と 8 本の矩形銅電極（4 本 PA、8 本 PA）を作製した。
- ③プラスチック製の密閉容器の中に②と①を入れ、プラズマを発生させた。このとき、プラズマと種子は 1mm 離して照射した。
- ④種子を容器から取り出し、精製水 10g といっしょにプラスチックバッグに入れてすりつぶした。すりつぶした溶液を原液（濃度 1）とし、これを精製水で希釈して濃度を 1/10 と 1/100 とした試液を用意した。
- ⑤④の試液をそれぞれ 1g マイクロピペットで計りとり、微生物検出培地（MC-Media Pad 一般生菌用）に塗って、恒温装置内に入れて 36°C で 48 時間培養した。
- ⑥培養完了後に培地上に赤いスポット（点）として出現したコロニーを数えた。

照射実験では、プラズマ照射は 3 つの方法で実験した。ベビーリーフの種の質量とプラズマの照射時間を変化させ、種をすりつぶしてできた液体を蒸留水で 1/10 と 1/100 に希釈し、対照実験を繰り返すことでその傾向を調べた。

照射実験 1～3 の条件

|      |         |           |
|------|---------|-----------|
| 実験 1 | 2.0g の種 | 照射時間 15 分 |
| 実験 2 | 0.2g の種 | 照射時間 5 分  |
| 実験 3 | 0.2g の種 | 照射時間 15 分 |

### 3. 結果

合計と1マスにおける平均とコロニー密度を計算した。

実験1 2.0gの種 15分プラズマ照射

| 希釈した濃度         | 1/10      | 1/100     |
|----------------|-----------|-----------|
| プラズマ有<br>8本 PA | 4.27 個/マス | 2.6 個/マス  |
|                | 64 個/g    | 39 個/g    |
| プラズマ無          | 4.68 個/マス | 3.12 個/マス |
|                | 58.2 個/g  | 39 個/g    |

実験2 0.2gの種 5分プラズマ照射

| 希釈した濃度         | 1/10      | 1/100     |
|----------------|-----------|-----------|
| プラズマ有<br>8本 PA | 2.28 個/マス | 1.88 個/マス |
|                | 285 個/g   | 230 個/g   |
| プラズマ有<br>4本 PA | 2.2 個/マス  | 0.6 個/マス  |
|                | 275 個/g   | 75 個/g    |
| プラズマ無          | 1.2 個/マス  | 0.44 個/マス |
|                | 150 個/g   | 55 個/g    |

実験3 0.2gの種 15分プラズマ照射

| 希釈した濃度         | 1/10      | 1/100     |
|----------------|-----------|-----------|
| プラズマ有<br>8本 PA | 2.12 個/マス | 1.36 個/マス |
|                | 265 個/g   | 170 個/g   |
| プラズマ有<br>4本 PA | 1.72 個/マス | 0.96 個/マス |
|                | 215 個/g   | 120 個/g   |
| プラズマ無          | 1.6 個/マス  | 0.84 個/マス |
|                | 200 個/g   | 105 個/g   |

#### 4. 考察

増加量よりも減少量に注目して、実験1より計測した数値から種子2gに15分照射したことで、濃度が1/10、1/100どちらも合計とコロニー密度は増加したが、1マスにおける菌の量は少なくなった。加えて、1/100のプラズマ有無と1/10プラズマ無のコロニー密度が等しい。

実験1でプラズマを照射したことによる効果ははっきりとは見られなかった。理由として、種子の量が多く重なっていたためプラズマが十分に全てにあたっていなかったものと考え、実験2では種子の量を減らした。計測した数値から0.2gに5分照射したことで、濃度が1/10、1/100どちらもプラズマにあてることで合計・コロニー密度・1マスにおける菌の量は増加した。8本PAの合計は急激に増えた。4本PAから8本PAにすると合計・コロニー密度・1マスにおける菌の量が増加した。

実験1と実験1より2gから0.2g、照射時間を15分から5分に条件を変えると、プラズマ無からプラズマ有での合計・コロニー密度・1マスにおける菌の量の大きさの差が大きくなり、以下のことが分かった。

- ・15分から5分にしたら滅菌効果が減った。
- ・4本PAと8本PAでは、4本の方が滅菌効果が高かった。
- ・同じ照射時間の実験で、0.2gよりも2gの方がプラズマ無→プラズマ8本に連れての菌の増加量が小さい。

実験2と実験3より、計測した数値から照射時間を5分から15分に増やすことで菌の量が多くなる。照射時間を5分から15分に変えたことで、菌のプラズマ無→プラズマ4本→プラズマ8本になるにつれての増加量は小さくなる。

3つの実験から照射時間を5分から15分に条件を変えた時よりも、0.2gから2gに変えた時の方が増加量は大きい。