

一般セッション(口頭講演) | 8 プラズマエレクトロニクス：8.4 プラズマライフサイエンス

■ 2023年9月21日(木) 13:00 ~ 16:00 | ■ A601 (熊本城ホール)

■ [21p-A601-1~11] 8.4 プラズマライフサイエンス

柳生 義人(佐世保高専)、田中 宏昌(名大)

◆ 奨励賞エントリー

13:00 ~ 13:15

[21p-A601-1] 大気圧プラズマ複数回照射による口腔がん細胞の不活化効果

○(M1)河内 泰志¹、林 信哉¹、合島 玲央奈²、山下 佳雄² (1.九州大総理工、2.佐賀大医)

◆ 奨励賞エントリー

13:15 ~ 13:30

[21p-A601-2] 大気圧酸素プラズマ照射によるEL-4 T細胞のサイトカイン放出特性調査

○(M1)竹下 大貴¹、林 信哉¹、合島 玲央奈²、山下 佳雄² (1.九州大総理工、2.佐賀大医)

◆ 奨励賞エントリー

13:30 ~ 13:45

[21p-A601-3] 大気圧酸素プラズマ照射によるマクロファージ活性化特性

○小高 沙織¹、林 信哉¹、合島 玲央奈²、山下 佳雄² (1.九大総理工、2.佐賀大)

◆ 奨励賞エントリー

13:45 ~ 14:00

[21p-A601-4] プラズマ・パルス電場によるヒトT細胞への高効率遺伝子導入

○及川 和起¹、佐々木 渉太¹、金子 俊郎¹ (1.東北大院工)

◆ 奨励賞エントリー

14:00 ~ 14:15

[21p-A601-5] 電気穿孔法を用いた細胞膜への細孔形成におけるDNAの影響

○(M2)津留崎 佳乃¹、渡邊 優喜¹、沼野 利佳¹、栗田 弘史¹ (1.豊橋技科大)

◆ 奨励賞エントリー

14:30 ~ 14:45

[21p-A601-6] 農産物への大気圧プラズマ照射による殺菌性能と素材適合性の評価

○(M1)中山 大輔¹、林 信哉¹ (1.九大総理工)

◆ 奨励賞エントリー

14:45 ~ 15:00

[21p-A601-7] 大気圧グロープラズマ処理によるカルボキシメチルセルロース溶液の粘度変化

○(M2)岡本 和真¹、前林 正弘¹、志水 元亨¹、加藤 雅士¹、堀 勝²、伊藤 昌文¹ (1.名城大、2.名大工)

◆ 奨励賞エントリー

15:00 ~ 15:15

[21p-A601-8] 大気圧グロープラズマを用いたリグニン分解生成物の分析

○(M2)大橋 龍一¹、岩田 直幸²、加藤 大志¹、西川 泰弘¹、志水 元亨¹、加藤 雅士¹、堀 勝²、伊藤 昌文¹ (1.名城大、2.名古屋大)

15:15 ~ 15:30

[21p-A601-9] 質量分析を用いたプラズマ照射DMPOの分子修飾解析

○史 合平¹、奥村 賢直¹、Pankaj Attri¹、山下 大輔¹、鎌滝 晋礼¹、山下 尚人¹、板垣 奈穂¹、古閑 一憲¹、白谷 正治¹ (1.九大シス情)

◆奨励賞エントリー

15:30 ~ 15:45

[21p-A601-10] 大気圧低温空気プラズマジェット照射後のタマネギのポリフェノール含有量の増加現象

○(B)大橋 孝一¹、十川 竜太郎²、橋村 寧々²、向井 理恵²、川上 烈生¹ (1.徳島大理工、2.徳島大生物資源)

15:45 ~ 16:00

[21p-A601-11] プラズマ処理によるイチゴ果実中のアントシアニン合成活性化の解析

○橋爪 博司¹、松本 省吾¹、三田 薫¹、小嶋 美紀子²、竹林 由美子²、阿部 明子¹、水野 寛子¹、坪田 憲紀¹、湯浅 元気³、東野 里江³、田中 宏昌¹、石川 健治¹、伊藤 昌文⁴、北野 英己¹、大熊 隆之⁵、広末 庸治³、榊原 均¹、前島 正義¹、水野 正明¹、堀 勝¹ (1.名古屋大、2.理研CSRS、3.富士通クライアントコンピューティング株式会社、4.名城大、5.幸田町企画部企業立地課)

大気圧プラズマ複数回照射による口腔がん細胞の不活化効果

Inactivation Effect of Atmospheric Pressure Plasma Multiple Times Irradiation on Oral Cancer Cells

九大総理工¹ °(M1)河内 泰志¹, 林 信哉¹, 合島 玲央奈¹, 山下 佳雄¹

Kyushu Univ.¹, °Yasuyuki Kochi¹, Nobuya Hayashi¹, Reona Aijima¹, Yoshio Yamashita¹

E-mail: kochi.yasuyuki.585@s.kyushu-u.ac.jp

1. 研究背景及び目的

近年、細胞への酸素プラズマ照射によるアポトーシス誘導に関する報告がなされており、大気圧非熱平衡プラズマの照射が新たながん治療法として注目されている¹⁾。しかしながら、最適なプラズマ照射法をはじめ、アポトーシス誘導メカニズムなど、まだ未解明な点が多い。本研究では、酸素プラズマを口腔がん細胞 HSC-3 に複数回照射することでアポトーシスの促進を試みた。酸素プラズマを 15 秒連続照射、二度の 7.5 秒照射、三度の 5 秒照射する場合、照射時間は同じであるがアポトーシスが誘導されるタイミングが異なると想定される。そこで、適切なタイミングで照射を行うことで、効果的にアポトーシスを誘導することが可能であることを示す。加えて、細胞の不活化において、細胞に影響を与える活性種の同定及び不活化メカニズムの解明を試みた。

2. 実験方法

本研究ではトーチ型 DBD プラズマ源を用いた。本装置は長さ 100 mm、外径 4 mm、内径 3 mm のガラス管内に高压電極としてステンレスメッシュを挿入し、外側に接地電極として銅テープを巻いたものである。管内に O₂ ガス(流量 0.3 sccm)を流入し、高周波電圧をメッシュ電極に印加することでプラズマを生成した。印加電圧を 3.0-5.0 kV、プラズマ照射時間を 5 s とした。トーチ先端から 96-well plate 底までの距離を 15 mm とした。また、5 秒間のプラズマ照射により細胞の位置での温度が 37 °C を超えないことを確認した。各ウェル内にがん細胞を 1.0×10⁵ 個/well の濃度で撒いた後、インキュベータ内で 24 時間培養し、培地を除去した状態でプラズマを照射した。その後新たな培地を入れて再び 24 時間培養し、生残細胞数を試薬 Cell-Counting-Kit-8 にて測定した。なお、酸素ガスのみを細胞に照射し、細胞が乾燥死していないことを確認した。

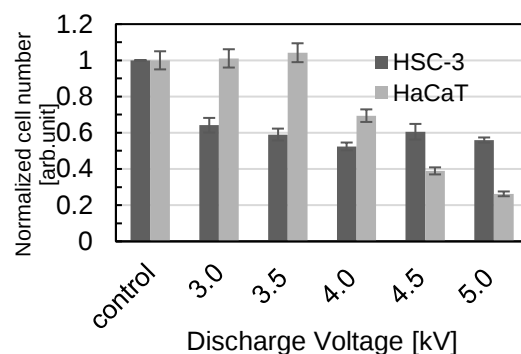


Fig.1 各印加電圧における 24 時間後の生残細胞数.

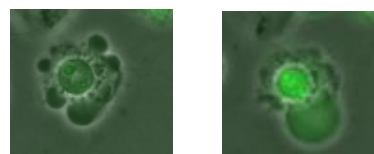


Fig.2 プラズマ照射直後(左)と二時間後(右)のカスパーゼ活性の様子.

3. 結果と考察

がん細胞と正常細胞にプラズマを照射した結果を Fig.1 に示す。得られた結果は、酸素ガスを 5 秒間照射したものを control として規格化した。横軸が放電電圧、縦軸が細胞生存率である。がん細胞 HSC-3 に関しては、放電電圧の値の関わらず約 58%前後の生存率となっている。一方、正常細胞 HaCaT の細胞生存率は、放電電圧 3.0 kV と 3.5 kV において低下は見られなかった。細胞を顕微鏡観察したところ、放電電圧 3.0 kV ではアポトーシスによる細胞の不活化が多く確認され、5.0 kV ではネクロシスによる細胞の不活化が多く確認された。また、プラズマの照射時間を変化させたとところアポトーシスが誘導されるタイミングに差が生じていることが確認できた (Fig.2)。照射時間の違いにより、細胞に到達する活性種総量が異なり、アポトーシス誘導経路が異なることが原因であると考えられる。

1) N Hayashi, Y Miyamaru, R Aijima, and Y Yamashita, IEEE TPS, 47, 1093-1099 (2019)

大気圧酸素プラズマ照射による EL-4 T 細胞のサイトカイン放出特性調査

Investigating Cytokine release characteristics of EL-4 T cells

irradiated with atmospheric oxygen plasma

九大総理工¹, 佐賀大医², (M1)[○]竹下 大貴¹, 林 信哉¹, 合島 怜央奈², 山下 佳雄²

Kyushu Univ.¹, Saga Univ.², [○]Daiki Takeshita¹, Nobuya Hayashi¹,

Reona Aijima², Yoshio Yamashita²

e-mail: hayashi.nobuya.056@m.kyushu-u.ac.jp

1. 研究背景および研究目的

T 細胞は細胞性免疫の中心的な役割を担っている。胸腺で成熟したナイーブ CD4⁺T 細胞は、抗原提示細胞が放出するサイトカインの刺激を受け、Th1 細胞または Th2 細胞に分化する。アレルギー等の免疫疾患は、この Th2 細胞が優勢となり生体内の免疫バランスが崩れることによって生じる。既存の治療法として免疫抑制剤（ステロイド）が主に用いられているが、Th2 細胞だけでなくすべての免疫細胞の活性を抑制するという問題点がある。副作用が少なく Th1 細胞または Th2 細胞への分化を制御することが必要とされている。本研究では mouse T 細胞である EL-4 に、大気圧酸素プラズマ照射した際に Th1 細胞または Th2 細胞からのサイトカイン放出特性を明らかにすることを目的とする。

2. 実験装置及び実験方法

本研究で用いたトーチ型 DBD プラズマ源は、長さ 100 mm、外径 4 mm、内径 3 mm のセラミック管内に高圧電極としてステンレスメッシュを挿入し、外側に接地電極として銅テープを巻いたものである。この装置に酸素ガスを 0.6 slm で流入させ、交流高電圧を印加しプラズマを生成した。初期細胞密度を 2.5×10^5 cells/ml となるように調整した細胞懸濁液を 100 μ l ずつ分注した 96-well plate を設置し、懸濁液面にプラズマを照射した。照射時間を 10s-40s、生成されるプラズマ中の気相オゾン濃度を 35, 100 ppm とした。また、トーチ先端から各 well 内の懸濁液面までの距離を 12 mm とした。照射後、24 時間培養を行い、試薬で細胞数を計測した。また、プラズマ照射による分化誘導の確認のため、ELISA 法により Th1 細胞が放出するサイトカインである IFN- γ と Th2 細胞が放出するサイトカインである IL-4 の産生量を測定した。

3. 実験結果及び考察

プラズマによる T 細胞の活性化を確認するために、図 1 にプラズマ照射 24 時間後の細胞数を示す。プラズマ未照射を control 群とし、control 群を基準に細胞数を規格化した。気相オ

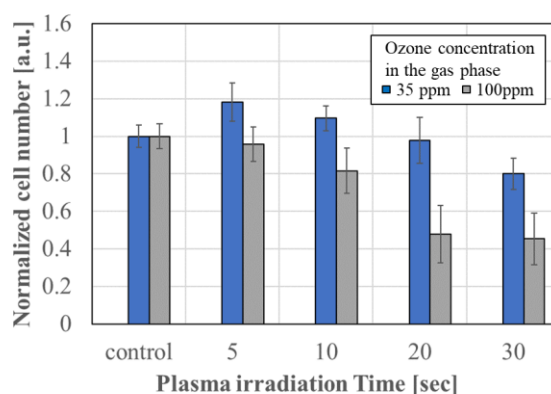


図 1 細胞数のプラズマ照射時間依存性

ゾン濃度が 35 ppm のとき、照射時間 5 秒で細胞数は約 1.2 倍、10 秒で 1.1 倍となり、5 秒以降は照射時間とともに細胞数が減少した。また、気相オゾン濃度が 100 ppm のとき細胞は増加することなく 5 秒から徐々に減少した。気相オゾン濃度 35 ppm, 100 ppm のいずれも照射時間が長くなるとともに酸化障害による細胞の不活化効果が強く現れたと考えられる。よって、比較的低い気相オゾン濃度 (35 ppm) でかつ短時間 (5 秒, 10 秒) のプラズマ照射により、細胞数が増加することから、このとき T 細胞が感作され、活性化されることが分かった。したがって、細胞数を増やすためには、気相オゾン濃度の CT 値は 200 程度が最適である。一方で、500 を超える気相オゾン濃度の CT 値は細胞に酸化障害を与えたと考えられる。

プラズマ照射による T 細胞の分化特性を調査するために、T 細胞の Th1/Th2 比を調べている。予備実験から、酸素プラズマ照射により T 細胞からの IFN- γ の放出量増加が生じ Th1 細胞への分化が生じる場合と、Th2 細胞が放出するサイトカインである IL-4 の産生量が顕著に増加する場合とが見出された¹⁾。つまり、酸素プラズマを利用することで Th1 細胞または Th2 細胞への分化を制御できる可能性がある。Th1 細胞/Th2 細胞への詳細な分化特性は現在模索しているところである。

1) N. Hayashi, Y.S.Subaedah *et al.*, R. Aijima, Y. Yamashita, Japanese Journal of Applied Physics, 59, (2020)

大気圧酸素プラズマ照射によるマクロファージ活性化特性

Macrophage Activation Characteristics by Irradiation with Atmospheric Oxygen Plasma

九大総理工¹, 佐賀大医² ○小高沙織¹, 林 信哉¹, 合島怜央奈², 山下佳雄²

Kyushu Univ.¹, Saga Univ.² ○Saori Kodaka¹, Nobuya Hayashi¹,
Reona Aijima², Yoshio Yamashita²

e-mail: hayashi.nobuya.056@m.kyushu-u.ac.jp

1. 研究背景および研究目的

従来のがん治療法は身体への負担が大きいなどデメリットがある。近年、第4の治療法として免疫療法が注目されている。その中で、プラズマが細胞に与える効果に関する研究が行われている。本研究では、免疫細胞の中でも、細菌や死細胞を食作用により取り込み、その抗原を T 細胞に提示する重要な役割を持つマクロファージに着目し、大気圧酸素プラズマが増殖能力および食作用に与える効果を明らかにすることを目的とした。

2. 実験装置及び実験方法

本研究ではトーチ型 DBD プラズマ源を用いた。長さ 100 mm, 外径 4 mm, 内径 3 mm のセラミックス管内に高圧電極としてステンレスメッシュを挿入し、外側に接地電極として銅テープを巻いた。このプラズマ源に酸素ガスを 0.6 slm で流入させ、交流高電圧を印加しプラズマ照射を行った。印加電圧はガス流出口のオゾン濃度が 50, 25, 10 ppm となるように、約 3.8, 3.6, 3.5 kV とした。プラズマ照射時間は 10 s から 60 s の範囲で変化させ、トーチ先端から 96-well plate 液面までの距離を 12 mm に固定した。各ウェル内に初期細胞密度 1×10^4 cells/well に調整した懸濁液を 100 μ l ずつ分注した後、インキュベータ内で 24 時間培養し、プラズマを照射した。その後 22 時間培養した後に細胞数を生細胞数アッセイ試薬を用いて測定した。食作用は、各ウェルに粒径 0.2 μ m の蛍光粒子を与えた後に蛍光顕微鏡で測定した。

3. 実験結果及び考察

はじめに、プラズマ照射による細胞増殖効果を調べた。照射時間 0 秒をコントロール群として細胞数を規格化した結果を図 1 に示す。オゾン濃度 50 ppm ではいずれの照射時間でも細胞数が減少した。25 ppm では照射時間 40 秒まで増加し、細胞数は最大で約 1.2 倍となった。10 ppm では 20 秒において最大で約 1.3 倍となり、それ以降の照射時間でも control よりも細胞数は多い結果が得られた。オゾン濃度 50 ppm において細胞数が減少したのは、活性酸素量が過多となり酸化障害による細胞の不活化効果が顕著であるためと考えられる。このことから細

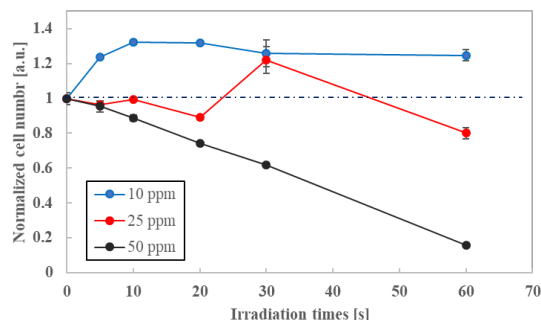


図 1 細胞数のプラズマ照射時間依存性

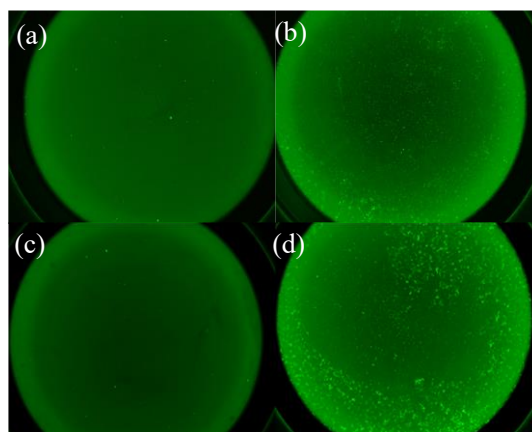


図 2 食作用のプラズマ照射有無と経過時間の関係. (a) control, 0 h, (b) control, 24 h, (c) 40s, 0 h, (d) 40s, 24 h.

胞増殖には低濃度、長時間のプラズマ処理が適していると考えられる。

次に、プラズマ照射による食作用の促進を調べた。control とオゾン濃度 10 ppm で 40 秒間プラズマを照射したマクロファージに、それぞれ蛍光粒子を与え培養した。培養開始から 0 時間と 24 時間経過したときの蛍光顕微鏡画像を図 2 に示す。0 時間では蛍光粒子が一面に広がっている状態であるが、24 時間ではマクロファージに貪食された蛍光粒子が発する輝点が見られる。プラズマを照射した場合、24 時間後の輝点の数が増加しており、プラズマ照射によりマクロファージの貪食活性が向上したと考えられる。以上より、プラズマ照射により細胞数が増加し、食作用の向上が見られたことから、酸素プラズマによりマクロファージが活性化された可能性が明らかとなった。

プラズマ・パルス電場によるヒト T 細胞への高効率遺伝子導入

Highly Efficient Gene Transfer into Human T Cells

by Composite Method with Plasma and Pulsed Electric Field

東北大院工

○及川 和起, 佐々木 渉太, 金子 俊郎

Grad. Sch. of Eng., Tohoku Univ.

○ Kazuki Oikawa, Shota Sasaki, Toshiro Kaneko

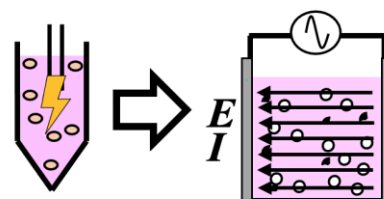
E-mail: kazuki.oikawa.q4@dc.tohoku.ac.jp

近年, iPS細胞の作成をはじめとして, 再生医療や遺伝子治療の発展需要に伴い, 高効率・高細胞生存率を両立する遺伝子導入方法が求められている. 特に, 血液中の細胞である血球細胞への遺伝子導入は, 体外で遺伝子導入を実施するEx vivo法が適用でき, 血液がんや血液・免疫系の疾患治療のみならず, 抗がん剤の感受性予測法の開発といったバイオマーカー応用へと貢献することから極めて重要とされている. しかしながら, 従来の遺伝子導入法において, 接着細胞と比較して, 血球細胞における導入効率は概ね低い傾向にあり, 実用上の大きな障壁となっていた. これに対し, 我々の研究グループはこれまでに, 培養液中で放電させる液中プラズマと10 μ s以下の短パルス電場を組み合わせたプラズマ・パルス電場複合法を開発し, 接着細胞 (MCF-7) において, 80%程度の遺伝子導入効率を達成してきた. そこで本研究では, 血球細胞の一種であるヒトT細胞 (Jurkat) へも適用させるべく, 様々な条件下で遺伝子導入実験を行った.

実験は液中プラズマ放電とパルス電場印加処理の重畳によって行なった (図1). 液中プラズマ放電では, 充電電圧 $V_{in} = 1.3$ kV, パルス幅 $T_p = 100$ μ s の高電圧パルスを細胞懸濁液中のタンダステン電極に印加することでプラズマを10回生成した [1]. またパルス電場印加処理では, パルス幅が数 μ s程度の短パルス電場を, 平行平板電極に印加した. プラスミドDNAとしては緑色蛍光タンパク質をコードしたpAc-GFP1C1を使用し, 処理の直前に細胞と混和した. 処理24~48h後の細胞のGFP蛍光をフローサイトメーターによって解析した.

図2に液中プラズマ・パルス電場処理を行なった際の遺伝子導入結果を示す. 液中プラズマ・パルス電場複合法の条件を最適化することにより, 42.2%という高い遺伝子導入効率を達成した. 講演では, 活性種や電気刺激の定量結果とともに, 高遺伝子導入効率に重要な作用因子を議論する.

[1] R. Honda, S. Sasaki, K. Takashima, M. Kanzaki, T. Sato, and T. Kaneko, Jpn. J. Appl. Phys. **59**, 040904 (2020)



液中プラズマ放電 短パルス電場印加

図1. プラズマ・パルス電場複合法.

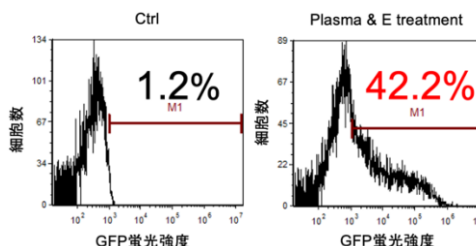


図2. 未処理 (左) ・複合処理 (右) における遺伝子導入結果.

電気穿孔法を用いた細胞膜への細孔形成における DNA の影響

Influence of DNA on cell membrane pore formation using electroporation

豊橋技科大 ○(M2)津留崎 佳乃, 渡邊 優喜, 沼野 利佳, 栗田 弘史

Toyohashi Univ. of Tech. ○Yoshino Tsurusaki, Yuki Watanabe, Rika Numano, Hirofumi Kurita

E-mail: tsurusaki.yoshino.qq@tut.jp

エレクトロポレーション (electroporation : EP) は、ナノ秒からマイクロ秒単位で数 kV/cm の電場を細胞に対して印加することで、細胞膜に穿孔が生じる現象である。細胞膜が修復可能な可逆的 EP は遺伝子導入法として、細胞膜を修復不能にする非可逆的 EP は食品加工プロセスやがん治療に応用される。

本研究室では、比較的安価な直流高電圧電源を利用し、油中液滴の静電的操作を応用した導入法を開発した。油中に対向するように設置した電極間に細胞と DNA を内包する液滴を滴下し、直流高電界を印加することで遺伝子導入を行う電気的手法である^[1,2]。この独自に開発した EP 技術による外来遺伝子導入機構を解析する過程で、EP を行い 24 時間培養した後の細胞生存率は EP 時の細胞懸濁液中の DNA の有無で異なり、DNA 存在下でのみ細胞生存率が顕著に低下することを見出した。その要因として、DNA 存在下での EP に伴う細胞内分子の細胞外への顕著な漏出と細胞膜の再シール抑制が示唆された。本研究では、DNA が EP に伴う細胞内容物漏出へ及ぼす影響を検討した。

実験装置は電子回路用ピンヘッドとプリント基板を用いて作製した。あらかじめカルセイン-AM で染色したヒト白血病 T 細胞由来細胞株 Jurkat 及び蛍光タンパク質遺伝子を有するプラスミド DNA (pDNA) を含む細胞懸濁液を、HEPES 緩衝液 (導電率 0.18 S/m) を用いて調製し、絶縁油で満たした装置に液滴を滴下

し高電圧を印加した。高電圧印加後の細胞を回収し、フローサイトメーターを用いて細胞外へのカルセイン漏出を測定した。

Fig. 1(a)に示すように、pDNA 無しの場合、電圧印加の有無でカルセイン漏出に大きな変化がなかったのに対し、pDNA 有りの場合、電圧印加未処理の細胞群と比較し、電圧印加処理を施した細胞群においてカルセイン漏出が顕著に生じた (Fig. 1(b))。これらの結果は、pDNA が電気穿孔に伴う細胞膜への細孔形成を促進し、細胞生存率低下を誘発することを示唆している。

講演では、DNA 量や形状、長さがカルセイン漏出へ及ぼす影響についても報告する予定である。

参考文献

- [1] H.Kurita, et al., *PLOS ONE*, **10** (2015) e0144252
- [2] H.Kurita, et al., *Biochem, Biophys. Rep.*, **8** (2016) 81-88

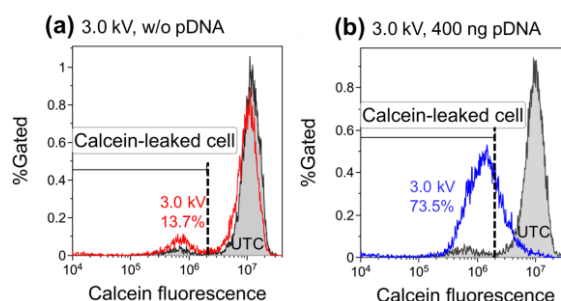


Fig. 1 Measurement of calcein leakage stimulated by short-circuiting with and without plasmid DNA. Jurkat cells were treated with short-circuiting via the droplet.

農産物への大気圧プラズマ照射による殺菌性能と素材適合性の評価

Evaluation of bactericidal performance and enhancement of antioxidant activity by atmospheric pressure plasma irradiation for agricultural products

九大総理工¹, °中山大輔¹, 林 信哉¹

°Daisuke Nakayama¹, Nobuya Hayashi¹,

e-mail: hayashi.nobuya.056@m.kyushu-u.ac.jp

1. 研究背景および研究目的

近年、果実・野菜などの生鮮食品の輸出手段として海上輸送が検討されているが、野菜・果実の収穫後に使用されるポストハーベスト農薬は日本向けには禁止されており、農産物長期保存のための有効な方法が存在しないのが現状である。プラズマ照射による農産物の殺菌は薬剤と異なり残留性がなく人体に無害であることから近年研究が数多く行われている。本研究では、複数の農産物を用い大気圧プラズマの殺菌特性を明らかにするとともに、素材へのプラズマ適合性を検討する。

2. 実験装置及び実験方法

プラズマ生成装置は、容器底部に沿面放電電極を設置したものを用いた。容器内には、空気を攪拌するためのファンを設置し、沿面放電により生成したオゾンを対象物に作用させる構造である。また原料ガスとして大気圧の空気をを用い、一定の濃度に保たれたオゾンを使用し殺菌を行った。オゾン濃度が一定になるまでは、サンプルへのオゾンの影響を避けるために、サンプルをケースで覆い、オゾンが飽和した状態でケースを開放しオゾン処理を開始した。照射時間を30分まで5分刻みに変更し、殺菌評価を行った。次にサンプル表面の菌を35℃、24時間の条件で培養する。その後分光光度計を用いてそれぞれの照射時間での培養液の生残菌による濁度を測定、また赤外分光光度計を用いサンプル表面のダメージを測定し、殺菌性能の評価を行った。

3. 実験結果及び考察

図1にミニトマト表面へのプラズマ照射時間と生残菌数に比例する24時間培養後の培養液濁度との関係を示す。プラズマ照射時間とともに吸光度が速やかに低下するのがわかる。長時間のプラズマ照射にも関わらず濁度が0にならないのは、オゾンに対する耐性菌が存在する可能性を示唆している。

また図2にプラズマ処理直後のトマト表面の赤外吸収スペクトルを示す。プラズマを5-15分間照射しても典型的なクチクラのスペクトルを維持しており、副生成物の発生は見られない。図2から得られたクチクラの成分のピーク

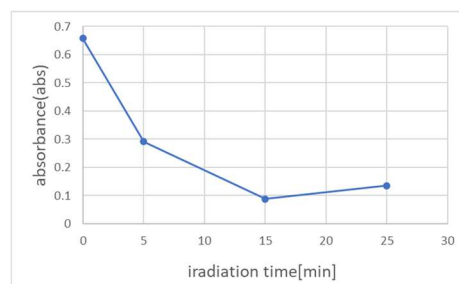


図1: ミニトマトの培養液濁度と照射時間依存性

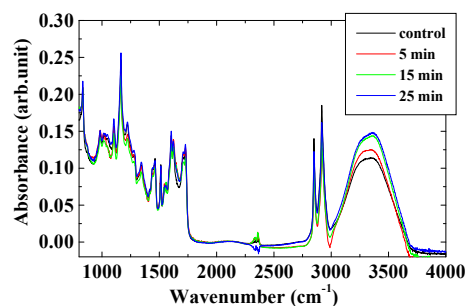


図2: プラズマ処理したミニトマト表面の赤外スペクトル

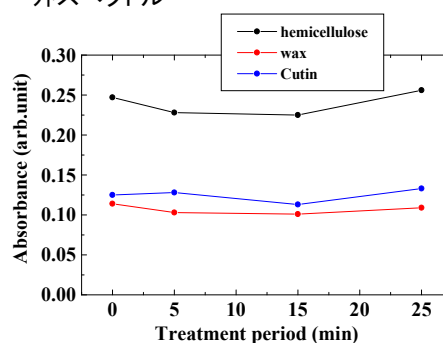


図3: ミニトマトの培養液濁度と照射時間依存性

ク高の処理時間依存性を図3に示す。トマト最表面に存在するワックスとクチンはプラズマ照射による変化が僅少であることが分かる。一方で、クチクラに隣接した層内のヘミセルロースは、最大8%程度減少していることが分かった。微量の活性酸素がクチクラの層を透過している可能性がある。プラズマ処理後のトマトを長期間保存した後の表面組成変化については講演に譲る。

大気圧グロープラズマ処理によるカルボキシメチルセルロース溶液の粘度変化

Viscosity changes of carboxymethyl cellulose solution using atmospheric pressure glow plasma treatment

名城大¹名古屋大², ○(M2)岡本和真¹, 前林正弘¹, 志水元亨¹, 加藤雅士¹, 堀勝², 伊藤昌文¹

○Kazuma Okamoto¹, Masahiro Maebayashi¹, Motoyuki Shimizu¹, Masashi Kato¹,

Masaru Hori², Masafumi Ito¹

(1. Meijo Univ., 2. Nagoya Univ.)

E-mail: 223427009@ccmailg.meijo-u.ac.jp

1. はじめに

持続可能な社会の実現のため、稲藁、麦藁、廃材といったリグノセルロース系バイオマスの利用が注目されている。これらはセルロース、ヘミセルロース、リグニンが強固に絡むため、バイオエタノール生産過程での前処理は重要である。しかし、前処理の主流な方法は酸・アルカリを用いた化学的手法であり、耐酸・アルカリ装置を必要とし、中和工程を含む廃液処理の環境負荷が高いことから、その代替手法が求められている。

そこで、我々は環境負荷の低減が見込まれる非平衡大気圧プラズマ技術を使用した、酸素ラジカル処理をカルボキシメチルセルロース(CMC)に行うことで粘度低下が起き、セルラーゼによる分解速度が約2倍に向上することを報告してきた。[1]

しかしながら、酸素ラジカル処理は Ar や O₂ などのガスが必要なことから、ガスコストの低減を目的に大気圧下で空気によるグロープラズマを生成可能な装置(Ambient-air glow discharge, AAGD)を開発した。[2]

本研究ではCMC懸濁液のAAGD処理による粘度変化を調査し、AAGD処理の有効性を評価した。

2. 実験方法

1 wt%のCMC溶液に対し、距離 8.5 mm、ピーク電圧 2.5 kV、入力電力 25 W としてプ

ラズマ照射を行った。サンプル回収時に蒸発量分のDI水を加えた 1.1 ml の試料をレオメータにより直径 60 mm コーン、コーン角度 1°1'1"を用いて、せん断速度 200 /s、プレート温度 30.0 °Cとして粘度測定を行った。

3. 実験結果

図1にプラズマ照射したCMC溶液の粘度変化の結果を示す。

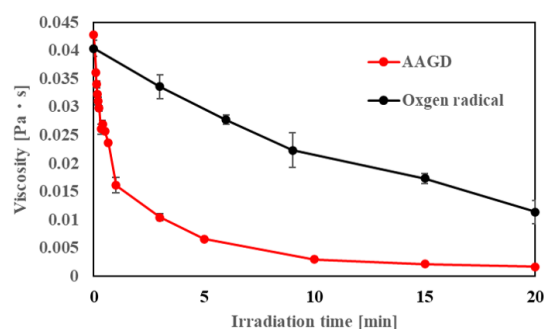


図1 AAGD処理によるCMC溶液の粘度変化
横軸は照射時間、縦軸は測定した粘度の値を示している。20分の酸素ラジカル処理で、粘度は0.011Pa・sまで低下したのに対し、AAGDでは3分の処理で粘度は0.011Pa・sとなることがわかった。今後は雰囲気制御した際の調査を行い、分解の解明を進めていく予定である。

謝辞

この研究の一部は、JSPS 科研費(22H01213)の支援を受けた。

参考文献

- [1] K. Sakai, et al., Biotechnol Biofuels 10, 290 (2017).
- [2] V. Gamaleev, et al., Appl. Sci., 9, 3505 (2019).

大気圧グロープラズマを用いたリグニン分解生成物の分析

Analysis of lignin degradation products irradiated with ambient-air-glow discharge

名城大¹名古屋大², °(M2)大橋龍一¹, 岩田直幸², 加藤大志¹, 西川泰弘¹, 志水元亨¹, 加藤雅士¹
堀勝², 伊藤昌文¹

°Ryuichi Ohashi¹, Naoyuki Iwata², Hiroyuki Kato¹, Motoyuki Shimizu¹, Yasuhiro Nishikawa¹,
Masashi Kato¹, Masaru Hori², Masafumi Ito¹
(1.Meijo Univ., 2.Nagoya Univ.)

E-mail: 223427006@ccmailg.meijo-u.ac.jp

1. はじめに

近年、非食用の廃材などを用いたバイオエタノール生産は、持続可能な社会を実現するための方法として期待されている。木材の細胞は、糖が、成分の3割を占める難分解性のリグニンと絡み合っており構成されている。現在、これらの分解に酸やアルカリ性の薬品が用いられているが、廃液を抑制する代替手法が求められている。[1]

近年、我々は大気圧下で空気を用いて液体を連続処理できる大気圧空気グロー放電 (Ambient-air glow discharge: AAGD) 装置を開発し、装置やランニングコストの低減が見込めることを報告してきた。[2]

本研究では、リグニン分解の代替手法として AAGD の可能性を評価するために、リグニンモデル化合物 (guaiacylglycerol- β -guaiacyl ether, GGE) を含む溶液を用いてのプラズマ反応及び分解産物を分析した。

2. 実験手法

GGE は DI で 2mM に調整した。5ml の GGE 溶液に浸したリング電極を用いて、大気中に露出した針電極と液面との 8.5 mm の間に AAGD プラズマを発生させた。陰極と陽極の間に、2.5 kV (60 kHz) の高電圧、入力電圧 25 W を印加し放電を発生させた。処理時間は 5 分とした。HPLC 装置に逆相カラムを取り付け、HPLC 測定及び反応産物の分取を実施した。分取したサンプルを LCMS と NMR 分析を用いて反応産物の推定を行った。

物の推定を行った。

3. 実験結果及び考察

GGE の分解及び反応産物は波長 220 nm で測定した HPLC 分析により確認された。反応産物の一つをフェニルカラムより再度分離を行うと複数の物質が確認された。図 1 に示される LCMS の結果から、反応産物の中に GGE の分子量 (320.34 g/mol) よりも大きい分子量 (656.27 m/z) を持つ物質が存在した (Peak A)。

更に、この物質に対し ¹H 及び ¹³C での NMR 分析を行ったところ GGE のシグナルと近いシグナルが確認された。これらの結果から、プラズマ処理により GGE が分解されその過程で GGE の重合が引き起こされることが示唆された。

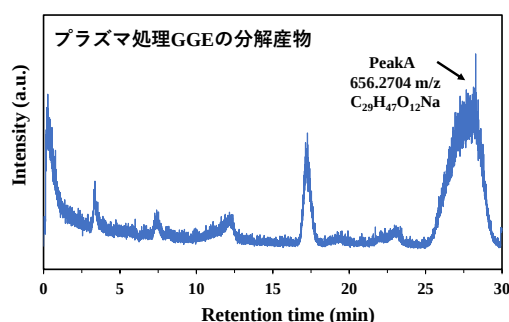


図 1 プラズマ処理 GGE の分解産物における LCMS 測定結果

謝辞

この研究の一部は JSPS 科研費 22H01213 と 19H05462 の支援を受けた。

参考文献

- [1] Y. Cao, *et al.*, J. Agric. Food Chem. **68**, 451-460, (2020).
- [2] V. Gamaleev, *et al.*, Appl. Sci **9**, 3505 (2019).

質量分析を用いたプラズマ照射 DMPO の分子修飾解析

Analysis of Molecular Modification of Plasma-irradiated DMPO using Mass Spectrometry

九大シス情¹、[○]史合平¹、奥村賢直¹、Pankaj Attri¹、

山下大輔¹、鎌滝晋礼¹、山下尚人¹、板垣奈穂¹、*古閑一憲¹、白谷正治¹

Kyushu Univ.¹, [○]Heping Shi¹, Takamasa Okumura¹, Pankaj Attri¹,

Daisuke Yamasita¹, Kunihiro Kamataki¹, Naoto Yamasita¹, Naho Itagaki¹, Kazunori Koga¹,
Masaharu Shiratani¹

E-mail: *koga@ed.kyushu-u.ac.jp

非熱平衡大気圧プラズマ（以下、プラズマ）照射により誘導される植物応答が注目を集めている[1, 2]。この機序解明には、プラズマ照射により種子内に導入される活性種の定量評価法の創成が重要である。これまでに我々は長寿命のプラズマ起因活性種として発芽誘導効果を有する硝酸イオン NO₃⁻の種子内導入量の極微量定量測定法を提案した[3]。ここでは、種子内プラズマ起因短寿命活性種の極微量定量測定法の創成を目指し、プラズマ照射したスピントラップ剤の分子修飾変動を解析した。

種子へのプラズマ照射による植物応答誘導の実績を有する Scalable Dielectric Barrier Discharge (SDBD)プラズマを・OH のスピントラップ剤としてよく用いられている 5,5-ジメチル-1-ピロリニウム-N-オキシド(DMPO; C₆H₁₁NO)水溶液に照射した[1-3]。10 ng/μL に調整した DMPO 水溶液 50 μL を石英板に滴下し、SDBD 電極下に置いた。DMPO 溶液—電極間距離は 5 mm とした。13 kVpp および周波数 9.6 kHz の電圧を SDBD 電極に印加しプラズマを 3 分間連続的に発生させた。プラズマ照射後、サンプルを回収し、質量分析を行った。Fig. 1 は ESI (+)モードで得た 110-140 m/z における mass スペクトルである。Control と比較して、Plasma では 114 m/z が減少する。面積はそれぞれ、Control では 572445 ± 20428, Plasma では 119795 ± 6216 (au) となった(n=3)。分子量 113.16 の DMPO は負に帯電した O 原子を持つため、ESI(+)では H 付加体 [M+H]⁺となり、この mass は 114 m/z と予想できる。つまり Plasma における 114 m/z の面積の減少は、SDBD プラズマ照射による DMPO の分解を示唆する。一方、Plasma には Control にみられないイオンが出現する。この結果は、プラズマ照射による DMPO の分子修飾を示唆する。今後、DMPO・OH adducts や断片化された分子の解析を行う予定である。

謝辞 本研究は科研費 JP22K03586, JP19K14700, JP19H05462, JP20H01893, JP20K14454, JP21H04451, A-STEP JPMJTR20RU、プラズマバイオコンソーシアム、サポイン事業による支援を受けた。

参考文献

- [1] P. Attri et al., Processes 8(8), 1002 (2020).
- [2] P. Attri et al., Agronomy 12, 1–22 (2022).
- [3] T. Okumura et al., Sci. Rep. 12, 12525 (2022).

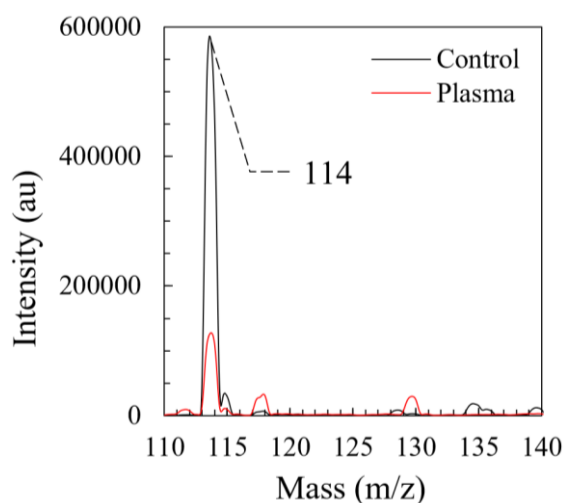


Fig. 1. Mass spectrum of DMPO without plasma (Control) and with plasma irradiation (Plasma) in three replicates.

大気圧低温空気プラズマジェット照射後の タマネギのポリフェノール含有量の増加現象

Enhanced Polyphenol Content in Onions after Atmospheric-Pressure Low-Temperature Air Plasma Jet Irradiation

徳島大理工¹, 徳島大生物資源²

○(B) 大橋 孝一¹, 十川 竜太郎², 橋村 寧々², 向井 理恵², 川上 烈生¹

Department of Science and Engineering, Tokushima Univ.¹,

Department of Bioscience and Bioindustry, Tokushima Univ.²

○Koichi Ohashi¹, Ryutaro Sogawa², Nene Hashimura²,

Rie Mukai², Retsuo Kawakami¹

E-mail: awd123@ee.tokushima-u.ac.jp

1. 背景と目的

運動不足や偏った食生活を起因とする生活習慣病が社会問題化している。一つの対策として、食品栄養成分の摂取を促す予防医療が注目されている。我々は、大気圧低温空気プラズマ照射による収穫野菜の栄養成分増量化現象に着目し研究を行っている。

昨年度、大気圧低温空気プラズマジェット照射により、タマネギ可食部中心でミネラル成分であるカリウム含有量が増加することを報告した[1]。しかしながら、機能性成分であるポリフェノールは十分にわかっていなかった。

本研究は、大気圧低温空気プラズマジェット照射により、タマネギ可食部のポリフェノール含有量が増加したことを報告する。特に、タマネギを3つの部位に分け、各部位のポリフェノール含有量の変化に着目し分析を行った。

2. 実験方法

本研究室で開発した大気圧低温空気プラズマジェット装置内のジェットノズルから1 cm 離れたサンプルステージにタマネギを置いた。6 L/minの空気を流しチャンバー内ガス圧を10⁴ Paにし、最大7 kVのバイポーラインパルス波を印加し空気プラズマを生成させた。タマネギ側面とその反対面の2箇所に、低温空気プラズマを局所的に照射させた。照射面積は約7 mm²であった。照射後、0～3日と期間を変化させて暗室内で貯蔵した。貯蔵後、皮をむいたタマネギをouter part, middle part, inner partの3つに部位に分け、ポリフェノール含有量をフォーリンチオカルト法により評価した。

3. 結果と考察

大気圧低温空気プラズマジェットを照射し3日間貯蔵した場合、タマネギ中のポリフェノール

含有量は未照射の場合と比べどの部位も増加した (Fig. 1)。特に、照射時間の増加と共にポリフェノール含有量は増加した。

空気プラズマを30分照射した直後（貯蔵無し）のタマネギのポリフェノール含有量は増加しなかった。また、減圧し空気ガスのみを30分照射し3日間貯蔵した場合も増加しなかった。これらの結果から、ポリフェノール含有量の増加は、エレクトロポレーションでなく、空気プラズマジェットにより導入された活性酸素種および窒素種 (RONS) が寄与することを示す。

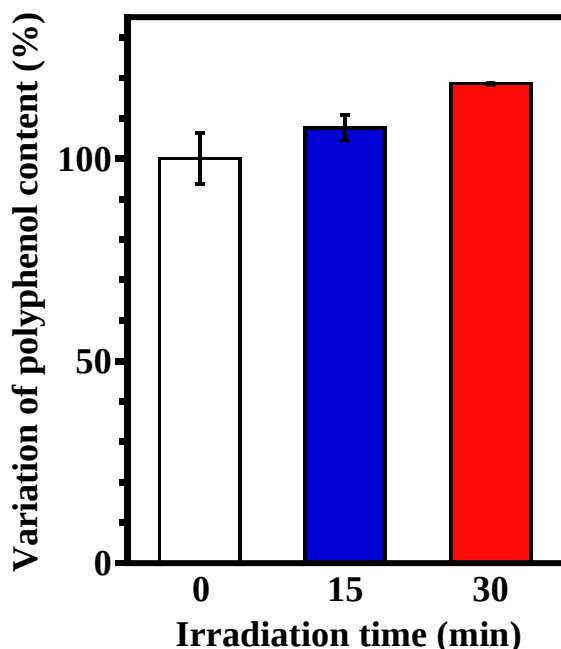


Fig. 1. Variation of polyphenol content in the outer portion of onion irradiated with the air plasma jet for a various irradiation time.

参考文献

[1] 松村 拓海, 十川 竜太郎, 橋村 寧々, 大橋 孝一, 向井 理恵, 川上 烈生, 第83回秋季応用物理学会学術講演会, p. 07-042.

プラズマ処理によるイチゴ果実中のアントシアニン合成活性化の解析

Up-regulation of anthocyanin synthesis in strawberry fruit with plasma treatment

¹名古屋大,²理研 CSRS,³富士通クライアントコンピューティング株式会社,⁴名城大,⁵幸田町企画部企業立地課
 °橋爪博司¹, 松本省吾¹, 三田 薫¹, 小嶋美紀子², 竹林由美子², 阿部明子¹, 水野寛子¹, 坪田憲紀¹,
 湯浅元氣³, 東野里江³, 田中宏昌¹, 石川健治¹, 伊藤昌文⁴, 北野英己¹,
 大熊隆之⁵, 広末庸治³, 榊原 均¹, 前島正義¹, 水野正明¹, 堀 勝¹,
¹Nagoya Univ., ²RIKEN CSRS, ³Fujitsu Client Computing Limited, ⁴Meijo Univ., ⁵Kota Town
 °H. Hashizume¹, S. Matsumoto¹, K. Sanda¹, M. Kojima², Y. Takebayashi², A. Abe¹, H. Mizuno¹,
 K. Tsubota¹, G. Yuasa³, S. Tohno³, H. Tanaka¹, K. Ishikawa¹, M. Ito⁴, H. Kitano¹, T. Okuma⁵,
 Y. Hirose³, H. Sakakibara¹, M. Maeshima¹, M. Mizuno¹, and M. Hori¹

E-mail: hashizume@plasma.engg.nagoya-u.ac.jp

1. はじめに

当グループではイネ、イチゴなど作物の実際の栽培における低温プラズマの有効性について検討してきた。^{1,2)} イチゴ生産農家内でイチゴ苗の栽培とともに定期的にプラズマ処理を行うことにより、果実中のアントシアニン蓄積量が増加することが明らかとなり、さらに果実の硬度が保たれ流通での品質保持にも有効であると示唆された。³⁻⁵⁾ アントシアニンはイチゴの赤み成分で高い抗酸化活性を呈する。本研究では果実の成熟過程において生理的な解析を交えて活性化の機序を解析した。

2. 実験方法

愛知県西尾市のイチゴ生産農家ハウス (キングファーム) で本試験を行った。イチゴ苗 (品種: 紅ほっぺ) 定植後、施肥など通常と同じ栽培を進めながら定期的に苗へのプラズマ処理 (苗へのプラズマ直接照射およびプラズマ活性化乳酸ナトリウム溶液 (Plasma-activated sodium lactate, PAL) の灌水処理) を行った。PALの対照として乳酸ナトリウム液 (SL) および蒸留水を灌水する処理区を設けた。

3. 実験結果および考察

各処理区における第3花房の第2花序の未熟果 (果実長 21 ± 1 mm) にタグ付けし、その後の果実成長・成熟を観察した。17日後ではPAL処理区で果実新鮮重が増加しており(図1a), アントシアニン含量は直接照射区, PAL処理区いずれも2倍以上増加した(図1b)。すなわちプラズマ処理により果実成熟特に着色が活性化されることが示された。本講演では果実成熟過程の生理に基づく解析結果を報告する。

謝辞

本研究は内閣府地方創生推進交付金事業, 富士通クライアントコンピューティング株式会社ならびにJSPS科研費 (JP19H05462)の支援により行われた。

参考文献

- 1) Hashizume et al., Plasma Process Polym., **18**, 2000181, (2021).
- 2) Hashizume et al., Free Radical Research, **57**, (2023).
- 3) 堀 勝ほか, 第 66 回応用物理学会春季学術講演会, 11a-W611-10, (2019).
- 4) 橋爪博司ほか, 第 80 回応用物理学会秋季学術講演会, 20p-E306-14, (2019).
- 5) 橋爪博司ほか, 第 70 回応用物理学会春季学術講演会, 15p-PA02-12, (2023).

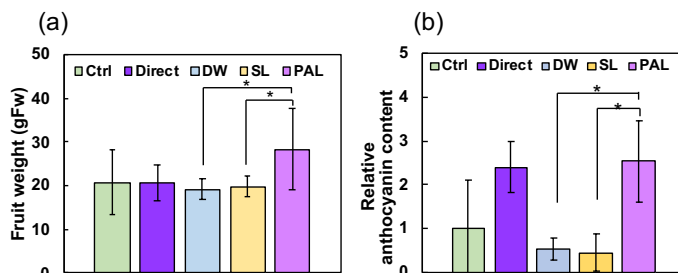


Fig. 1 In tagged after 17 days, (a) fresh weight of fruit and (b) relative anthocyanin contents to those in control on the basis of fresh weight. $p < 0.05$ is indicated by*.