

論文

放電プラズマにより生成したクラスターイオンを用いた 気中ウイルス不活化技術

Airborne Viruses Inactivation with Cluster Ions Generated in a Discharge Plasma

西川 和 男*
Kazuo Nishikawa

野 島 秀 雄*
Hideo Nojima

要 旨

大気圧下でのプラズマ放電により生成したクラスターイオンを用いた空気浄化技術を開発した。空気中のインフルエンザウイルスに対するクラスターイオンの効果を、MDCK細胞によるプラーク法および赤血球凝集反応法により調べた。この結果、これらのイオンによる気中インフルエンザウイルスの不活化効果を見出した。開発したイオン発生素子から生成したイオンをインフルエンザウイルスに作用させるとMDCK細胞への感染率が大きく低下することが認められた。さらに、ポリオウイルスおよびコクサッキーウイルスについてもイオン作用により細胞感染率の大きな低下を確認した。

An indoor air purification technology using cluster ions generated in an atmospheric discharge plasma has been developed. We have investigated effects of cluster ions on some sorts of viruses with the plaque method using MDCK cells and the hemagglutination test. The infection rate of influenza viruses in MDCK cells has been drastically reduced under an ambience of cluster ions generated by a developed discharging device. This means those cluster ions inactivate influenza viruses in air. Other test results also showed that those cluster ions significantly suppressed the infection activity of polio viruses or coxsackie viruses.

まえがき

近年、大気環境汚染や住環境の高気密化に伴い、空気中の有害分子や浮遊細菌を取り除き、健康で快適な環境を作りたいという要望がますます強くなっている。このため、空気中での放電プラズマを応用して、化学反応性の強いオゾンやラジカル¹⁾を生成し、空気環境を浄化する研究が活発に行われている。一方、医学の分野ではウイルス感染予防ワクチンや抗生物質の研究が盛んに行われている^{2) 3)}。特に、空気感染するインフルエンザウイルスは感染疾患として世界的にも大きな問題となっている。このため、気中ウイルス感染予防技術の研究開発は極めて重要である。我々は、これまで大気圧下での放電プラズマにより生成した正極性と負極性のクラスターイオンを用いて気中浮遊の細菌や真菌の不活化効果やタバコ煙中の有害物質除去効果を見出している^{4~6)}。

今回、気中ウイルスに注目して、開発したイオン発生素子から、大気圧下での放電プラズマにより生成した $H^+(H_2O)_m$ 正極性クラスターイオンおよび $O_2^-(H_2O)_n$ 負極性クラスターイオンについて、気中ウイルスの不活化効能の検証実験を行った結果、正と負のクラスターイオンの相互作用によって気中ウイルスが大きく不活化でき、空気環境の浄化効果があることを見出した。そして、この効能を応用した新規概念の気中ウイルス不活化技術である空気環境浄化技術の開発に成功した。本論文では、開発したイオン発生素子より生成された正極性および負極性クラスターイオンの気中ウイルス不活化特性について報告する。

1. 実験装置および方法

1・1 イオン発生素子

開発したイオン発生素子の写真およびイオン発生電

* A1229 プロジェクトチーム

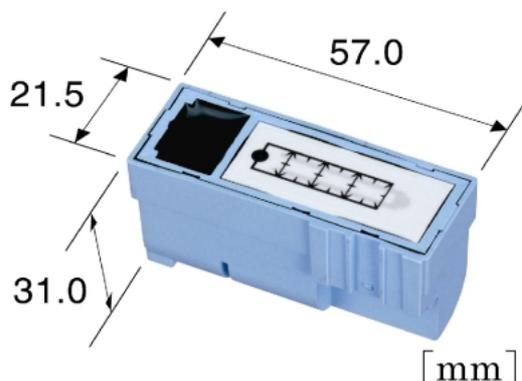


写真1 イオン発生素子の写真
Photo 1 Photograph of the ion generation device.

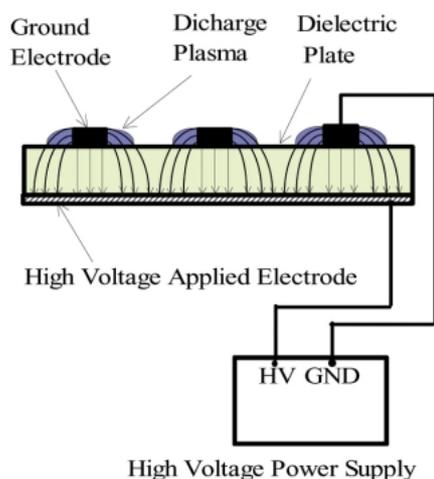


図1 イオン発生電極の断面図
Fig. 1 Schematic cross sectional diagram of ion generation device.

極の断面図をそれぞれ写真1, 図1に示す。平板状誘電体の表面に電極を形成し、交流高電圧を印加することによって、表面にプラズマ放電状態を形成する。放電プラズマによって大気中の分子にエネルギーを付与すると、分子の電離や解離が起こる⁷⁾。

開発したイオン発生素子は、放出電子のエネルギーを単色ビームとなるように揃え、大気中の各分子に与えるエネルギーを約5eVになるように印加電圧を設定したことを特徴としている。

1・2 正および負イオンの測定

イオン濃度は、ゲルディエンコンデンサーとよばれる二重同心円筒法⁸⁾による、空気イオンカウンタ(株式会社ダン科学:83-1011B)⁹⁾を用いて測定した。

イオン種の同定は飛行時間分解型質量分析装置により正および負イオンの質量スペクトル(図2, 3)を測定した。正イオンは水素イオン H^+ が生成されて、その周りに水分子が配位した構造をもつ $H^+(H_2O)_m$ (m

は自然数)のクラスターイオン、負イオンは酸素分子イオン O_2^- が生成されて、その周りに水分子が配位した構造をもつ $O_2^-(H_2O)_n$ (nは0および自然数)のクラスターイオンであった。その他のイオン種の生成は見られなかった¹⁰⁾¹¹⁾。図4はイオン発生素子より生成された正・負クラスターイオンの模式図を示す。

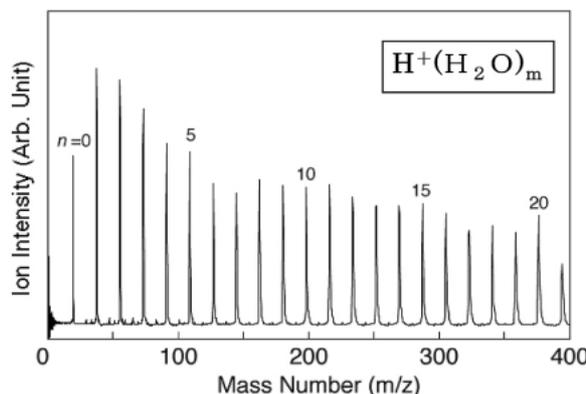


図2 正イオンの質量スペクトル
Fig. 2 Mass spectrum of positively charged ions.

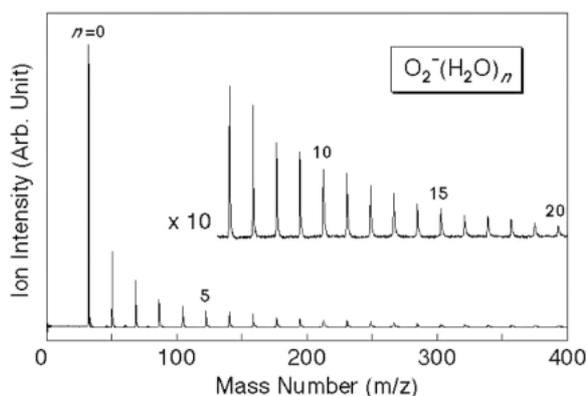


図3 負イオンの質量スペクトル
Fig. 3 Mass spectrum of negatively charged ions.

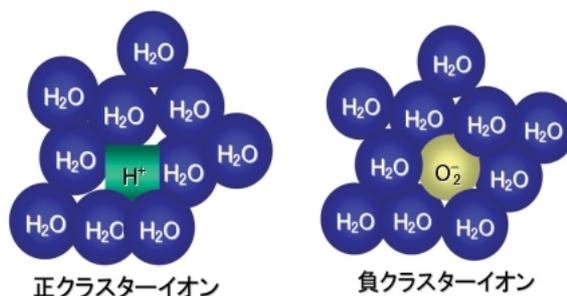


図4 正・負クラスターイオン模式図
Fig. 4 Model of positively and negatively charged cluster ions generated by the developed device.

1・3 ウイルス試験装置

図5はウイルス試験装置の概略図を示す。イオン発生素子を長さ200mm、外径60mm（イオン濃度2千個/cm³場合のみ外径170mm）の亚克力製円筒管に設置した。円筒管の一方にウイルスを噴霧するためのアトマイザーを、もう一方にウイルス採取のためにインピンジャーを備え付けた。

1・4 ウイルス試験方法

試験では、インフルエンザウイルス A (H1N1) A/PR8/34, ポリオウイルス I Sabin (Lsc. 2ab) およびコクサッキーウイルス B6を用いた。ウイルス溶液を10ml入れたアトマイザーを円筒管試験装置の一端に取り付けた。もう一方に、リン酸緩衝液を10ml入れたインピンジャーを取り付けた。エアコンプレッサから風速4m/s（イオン濃度2千個/cm³場合のみ風速0.4 m/s）の空気を円筒管内に通過させ、ウイルスを噴霧させ、円筒内のイオン発生素子の上を通過させた。噴霧量は3.0 ml, 噴霧速度0.1 ml/minで設定した。イオン発生素子を動作させない場合をコントロールとして、イオン発生素子を動作させた場合のウイルス量と比較した。イオン濃度は正・負イオンそれぞれ20万個/cm³, 10万個/cm³, 5万個/cm³, 5千個/cm³および2千個/cm³で試験を行った。円筒管を通過した空気はインピンジャーにより採取速度10 l/minで30分間採取した。イオン濃度は円筒管試験装置吹出し部より距離10cmで測定した。空気は温度18±1℃, 湿度43±2%RHに保った。

1・5 ウイルス測定方法

インピンジャーで採取したウイルス量を測定した。インフルエンザウイルスの測定方法はMDCK細胞を用いたプラーク法と赤血球凝集反応法で行った。ポリオウイルスとコクサッキーウイルスはHeLa細胞を用いたプラーク法で行った。

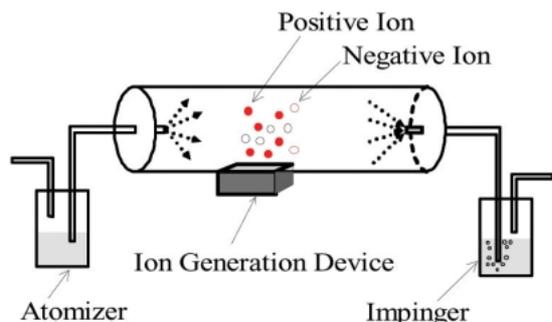


図5 試験装置の概略図

Fig. 5 Schematic diagram of the test apparatus.

2. 実験結果および考察

2・1 インフルエンザウイルスの不活化効能

図6はイオン濃度によるインフルエンザウイルスのプラーク形成数の割合を示す。測定はMDCK細胞を用いたプラーク法を用いた。イオン発生素子に作用させていないコントロール場合のプラーク数を100%として、イオン濃度20万個/cm³, 10万個/cm³, 5万個/cm³, 5千個/cm³および2千個/cm³をインフルエンザウイルスに作用させると、99.5%, 97%, 96%, 95%および90%のプラーク数の低下が確認された。このとき、オゾン濃度は0.005ppm以下であった。また、イオン濃度100個/cm³以下、オゾン濃度0.005ppmの場合ではプラーク数の減少は確認されなかった。これらの結果より、正と負イオンを気中のインフルエンザウイルスに作用させるとインフルエンザウイルスの細胞感染能力が不活化することが確認された。

写真2はイオンを作用させたインフルエンザウイルスと作用させないインフルエンザウイルスを接種したMDCK細胞の写真を示す。イオンを作用させたインフルエンザウイルスを接種した場合には、ウイルスがイオンにより不活化されているため、細胞に感染ができず、細胞は正常な形態を保っている（左写真）。イオンを作用させていないインフルエンザウイルスを接種すると細胞に感染が起これ、細胞が破壊されている（右写真）。

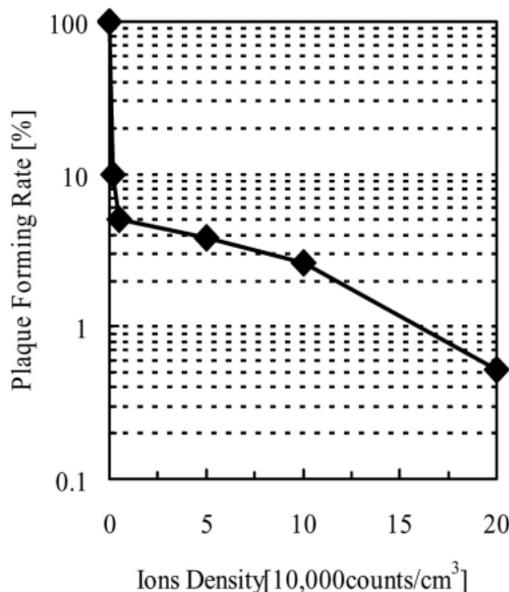
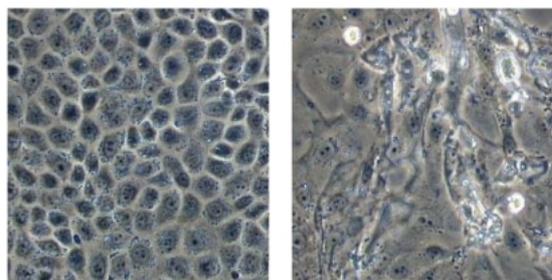


図6 イオン濃度によるインフルエンザウイルスのプラーク形成数の割合

Fig. 6 Influenza virus plaque forming rate by the plaque method using MDCK cells.

2・2 ポリオウイルスおよびコクサッキーウイルスの不活化効能

図7はイオン濃度によるポリオウイルスのプラーク形成数の割合を示す。測定はHeLa細胞を用いたプラーク法を用いた。イオン発生素子を作用させていない場合のプラーク数を100%とした場合、イオン濃度20万個/cm³、10万個/cm³および5万個/cm³のイオンをポリオウイルスに作用させると、99.6%、99.5%および99.2%のプラーク数の低下が確認された。このとき、オゾン濃度は0.005ppm以下であった。

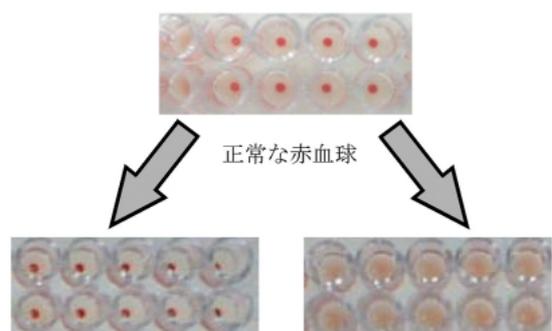


イオンを作用させたインフルエンザウイルスを接種。
[ウイルス感染なし]

イオンを作用させないインフルエンザウイルスを接種。
[ウイルス感染により細胞が破壊]

写真2 MDCK細胞を用いたインフルエンザウイルスによる細胞変性効果

Photo 2 Efficacy evaluation against influenza virus test of viral infection in madin-darby canine kidney (MDCK) cells.



正常な赤血球

イオンを作用させたインフルエンザウイルスを接種。
[赤血球との反応なし]

イオンを作用させないインフルエンザウイルスを接種。
[赤血球が膠着]

写真3 インフルエンザウイルスを接種した赤血球の形態観察
Photo 3 Observation the mode of red blood corpuscle vaccinated with influenza virus.

写真3はイオンを作用させたインフルエンザウイルスと作用させないインフルエンザウイルスの赤血球凝集反応の写真を示す。中央に窪みがある容器に赤血球を入れると中央に集まる性質を示す(上写真)。イオンを作用していないインフルエンザウイルスを赤血球に接種するとウイルス表面にあるタンパク質により赤血球が凝集され、赤血球が中央に集まってなくなる(下右写真)。イオンを作用させたインフルエンザウイルスを赤血球に接種しても、ウイルスによる赤血球の凝集は起こらず、正常な赤血球と同様な性質を示した(下左写真)。イオンをインフルエンザウイルスに作用させると、ウイルス表面のタンパク質の機能を不活化することが確認された。

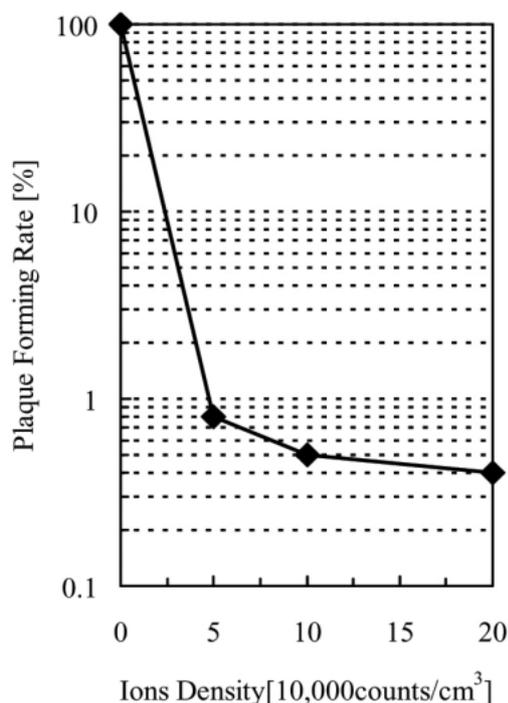


図7 イオン濃度によるポリオウイルスのプラーク形成数の割合

Fig. 7 Polio virus plaque forming rate by the plaque method using HeLa cells.

図8はイオン濃度によるコクサッキーウイルスのプラーク形成数の割合を示す。測定はHeLa細胞を用いたプラーク法を用いた。イオン発生素子を作用させていない場合のプラーク数を100%とした場合、イオン濃度20万個/cm³、10万個/cm³および5万個/cm³のイオンをコクサッキーウイルスに作用させると、98.9%、97.4%および96.7%のプラーク数の低下が確認された。このとき、オゾン濃度は0.005ppm以下であった。

これらの結果より、正と負イオンを気中のポリオウイルスおよびコクサッキーウイルスに作用させることにより細胞感染能力を不活化させる効能が確認された。

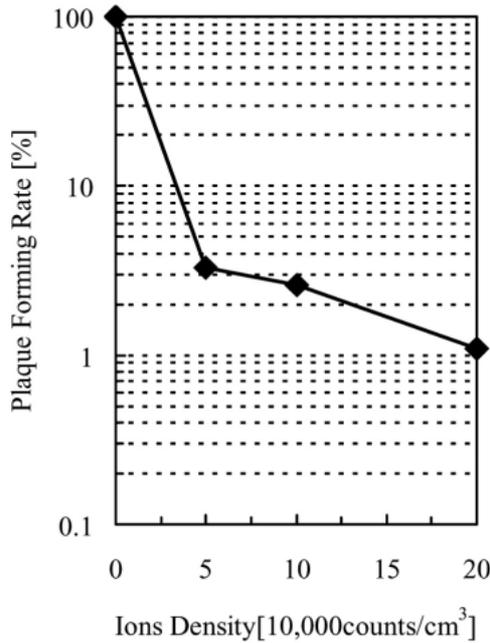


図8 イオン濃度によるコクサッキーウイルスのプラーク形成数の割合

Fig. 8 Cocksackie virus plaque forming rate by the plaque method using HeLa cells.

2・3 クラスタイオンによるウイルス不活化モデル

これまで述べたように、開発したイオン発生素子から発生した正極性および負極性クラスタイオンによる気中ウイルスの不活化効能を実証した。図9は正・負クラスタイオンによる気中インフルエンザウイルス不活化モデルを示す。気中ウイルスにクラスタイオンが衝突して、ウイルスを取囲み、正極性クラスタイオン $H^+(H_2O)_m$ (m は自然数) と負極性クラスタイオン $O_2^-(H_2O)_n$ (n は0および自然数) がウイルスの表面上で反応して非常に反応性が高い活性種が生成される。生成される活性種としてOHラジカル、 HO_2 および H_2O_2 が考えられる。これらの活性種はウイルス表面のタンパク質と反応してタンパク質を変性するものと考えられる。インフルエンザウイルスでは、表面の突起したタンパク質ヘマグルチニンをクラスタイオンにより変性させる。ヘマグルチニンは赤血球を凝集させる働きや細胞感染時の触手の役割を果たす。イオンによりヘマグルチニンを変性させるため、インフルエンザウイルスが不活化されると考えられる。

むすび

開発したイオン発生素子より生成された正および負イオンによる気中ウイルス不活化特性について調べた。その結果、次の諸点が明らかになった。

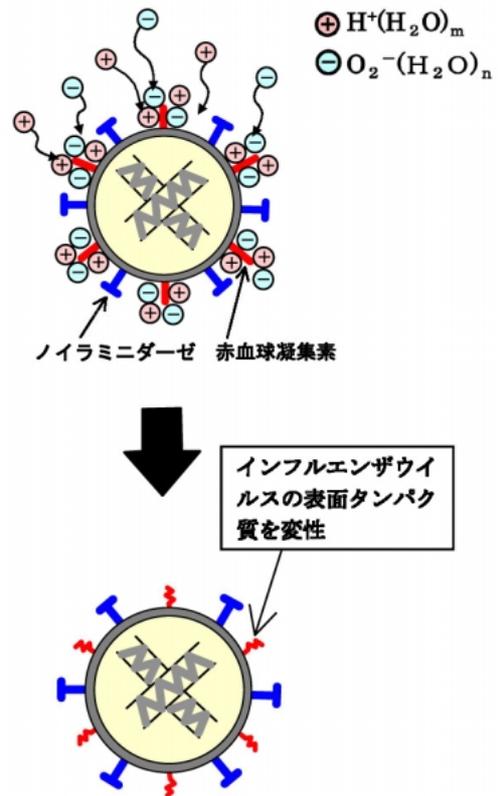


図9 ウイルスの不活化モデル

Fig. 9 Model for inactivation of infection capacity from viruses.

(1) 正と負のクラスタイオンにより気中インフルエンザウイルスの不活化効能が得られることがプラーク法によって確認された。

(2) 正と負のクラスタイオンによりインフルエンザウイルス表面にある細胞感染触手機能を有するヘマグルチニンを破壊していることが赤血球凝集反応法によって確認された。

(3) 正と負のクラスタイオンにより気中のポリオウイルスおよびコクサッキーウイルスについても不活化効能が得られることが確認された。

今回、開発した正・負クラスタイオンを用いた空気浄化技術は、気中ウイルス不活化に対して優れた特徴を示しており、空調機器（エアコン、空気清浄機、除湿機、加湿器、ファンヒータ）、サイクロンクリーナおよび冷蔵庫に搭載して実用化に成功した。今後、さらなる幅広い応用展開が期待できる。

謝辞

気中ウイルス試験において、財団法人北里環境科学センターの青木氏および黒田氏に御協力頂きましたので、ここに感謝致します。

参考文献

- 1) 小田哲治ほか, “放電による環境対策技術の将来”, 応用物理学会誌, 69, pp. 263-289 (2000).
- 2) 南嶋洋一, 水口康雄, 中山宏明, “現代微生物学入門”, pp. 48-67, 南山堂, (1987).
- 3) 清水文七, “ウイルスがわかる”, pp. 129-187, 講談社, (1996).
- 4) K. Nishikawa, H. Nojima, Jpn. J. Appl. Phys. 40, L835-L836, (2001).
- 5) K. Nishikawa, H. Nojima, "Air Purification Effect of Cluster Ions Generated by Plasma Discharge at Atmospheric Pressure", pp.699-700, PSS-2001/SPP-18, (2001).
- 6) K. Nishikawa, H. Nojima et al., "Development of Novel Air Purification Technology Using Ions Generated by Discharge Plasma", to be published in, HB2003, (2003).
- 7) 電気学会放電ハンドブック出版委員会編, “放電ハンドブック”, pp. 400-417, オーム社, (1998).
- 8) 北川信一郎, 河崎善一郎, 三浦和彦, 道本光一郎, “大気電気学”, pp. 45-61, 東海大学出版会, (1996).
- 9) 秋山正, クリーンテクノロジー, 8, pp. 54-56, (1997).
- 10) 西川和男, 野島秀雄, “プラズマにより生成したクラスターイオンを用いた空気浄化技術”, 82, pp. 11-15, シヤープ技報, (2002).
- 11) K. Nishikawa, H. Nojima, "Air Purification Technology by means of Cluster Ions Generated by Discharge Plasma at Atmospheric Pressure", to be published in, ICOPS2003, (2003).

(2003年5月27日受理)