

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 13 日現在

機関番号：12608

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25420245

研究課題名(和文)イオン衝撃二次電子銃による大面積電子ビームの発生と滅菌への応用

研究課題名(英文) Pulsed electron beam generation and bacterial sterilization using secondary electron emission gun

研究代表者

渡邊 正人 (WATANABE, Masato)

東京工業大学・総合理工学研究科(研究院)・助教

研究者番号：20251663

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、パルス電子ビームによる滅菌技術の確立を目指した。まず、イオン衝撃二次電子銃を構築し、発生する電子ビームの各種特性を調べた。特に、照射に伴う吸収線量の絶対値を計測できるシステムを構築した。次に、滅菌実験により、電子ビームの照射周波数を増加させると殺菌効果は向上し、処理時間を大幅に短縮できることを明らかにした。また、電子ビーム照射により生成されるラジカルが、殺菌効果の向上に寄与していることを明らかにした。さらに、細菌表面の観察により、電子ビーム照射による芽胞のコアの損傷が、菌の死滅の原因であることがわかった。以上の結果より、電子ビーム照射が滅菌の有効な手法であることを示した。

研究成果の概要(英文)：In this research, a low-energy secondary emission electron gun using wire ion plasma source was developed. The characteristics of secondary electron beam were investigated in order to achieve main objective, which is to realize the sterilization using pulsed electron beams. The electron dose per unit time was also observed by film-type dosimeter, and it was confirmed to increase at the higher repetition rate. The sterilization experiments were conducted using bacteria called *Bacillus Pumilus* which is the biological indicator of radiation sterilization. It is found that the inactivation effect is intensified by increasing the repetition rate of the electron beam irradiation. Furthermore, morphological damage to the bacteria is observed by Field Emission-Scanning Electron Microscope. It is observed that the damage are caused by radial effects that it is attributed to electron beam irradiation.

研究分野：プラズマ工学

キーワード：電子ビーム イオン衝撃 滅菌 プラズマ

1. 研究開始当初の背景

食品の腐敗防止や使用後の医療器具に用いられている滅菌法として、オートクレーブ等の加熱処理や線による放射線照射、過酸化水素水を用いた薬剤処理が広く用いられている。しかしながら、熱による変質・変形の問題、残留薬剤による人的・環境汚染問題、滅菌時間の長時間化等様々な問題が見られる。このような諸問題の解決を目指して、プラズマ技術の滅菌処理への適用が注目されているが、現在まで有効な手段が確立されていない。

2. 研究の目的

本研究は、プラズマの応用研究の一環として、パルス電子ビームによる滅菌技術の確立のため、滅菌処理に最適なイオン衝撃二次電子銃を中心とする滅菌システムを構築することを研究目的とする。研究期間内に、小型電子ビーム発生装置の構築、陰極板の可動化による電子ビームの面積積化、電子ビームによる滅菌メカニズムの解明、滅菌に寄与するラジカル種の同定、滅菌処理プロセスの最適化、バイオリジカルインジケータによる電子ビーム滅菌の一般的評価を行う。

本装置による滅菌処理法が確立され、小型の汎用滅菌処理装置として実用化されることになれば、現在非常に大規模な滅菌システムを使用している医療機関や企業等に導入することで、滅菌プロセスの効率化、低コスト化が図られ、社会的にも大きな貢献が期待できる。

3. 研究の方法

(1) 図1にイオン衝撃二次電子銃の構造を示す。イオン衝撃二次電子銃はイオン衝突から得られる二次電子を利用したパルス電子ビーム源で、イオンの発生源となるワイヤ・イオン・プラズマ源、二次電子放出と電子の加速を担う陰極板を備えた真空チャンバー、対象物の処理を行う電子ビーム照射部で構成される。イオン衝撃二次電子銃の特徴として、ワイヤ・イオン・プラズマ源をパルス放電させることによってイオン電流密度の瞬時値を増大させ、パルス電子ビームのピーク出力を増大させることができること、真空チャンバー内の陰極板はイオンビームの引き出しと電子ビームの加速という2つの役割を同時に果たすため、装置が比較的単純かつ小型であること、ワイヤ・イオン・プラズマ源の細線陽極の軸方向長さがビーム幅となるため、広範囲かつ均一なシート状の電子ビームを得ることが可能であることが上げられる。

(2) 大気圧中で電子ビームを照射するために、真空チャンバーと電子ビーム照射部の間に電子透過窓が設置されている。電子透過窓はアルミニウム製のハニカム支柱と高分子フィルムから構成され、本研究では高分子フィルムとして厚さ 12 μm の PET 基材にシリカ

を蒸着したガスバリアフィルム(三菱樹脂製テックバリア VX)を用いた。本装置で、陰極板印加電圧を-100 kV とした場合、大気中で得られる電子ビームのエネルギーは 64.3 keV となった。また、電子透過窓の直上には、大気圧処理チャンバーが設置されている。滅菌実験では、ここに処理対象とする菌を塗布したプレートを設置し、大気圧の環境下で電子ビームを照射して殺菌実験を行う。

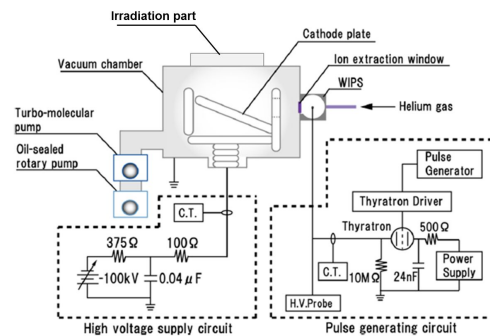


図1 イオン衝撃二次電子銃

4. 研究成果

(1) 電子ビーム分布の測定

本実験では、他の線量計と比べて紫外線に対する感度が極めて小さく室内光で利用できる利便性、フィルムを任意の形に切断できる柔軟性から、吸収線量測定にガフクロミック線量計 (ASHLAND 社, HD-V2) を使用した。まず 27 mm × 10 mm の大きさの Gaf 線量計を電子透過窓の中心に設置し、電子透過窓からビームの照射方向に 5 mm 間隔で 50 mm までの位置に設置して照射実験を行った。これにより、繰り返しパルス周波数を増加させたときの電子ビームの空間分布を求めた。なお、イオン衝撃二次電子銃の陰極板印加電圧は -100 kV とした。図2に各繰り返しパルス周波数のときの電子ビームの空間分布の様子を示す。これより、繰り返しパルス周波数の増加に伴って、吸収線量は増加している。しかし、y 軸方向のビーム幅や z 方向へのビームの進入長は、各パルス周波数で一定であり、同様のビーム形状をしていることが確認できる。これは、ビームの飛程は電子の加速電圧によって決まるため、パルス照射によってビームの飛程は変化しないことが言える。また、繰り返しパルス照射によって、ビームの電流量は比例的に増加したためビームの形

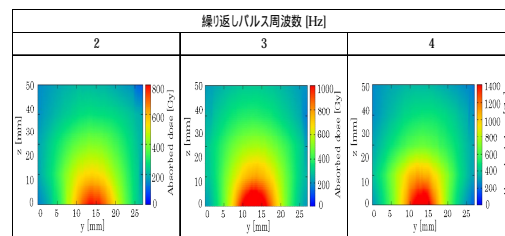


図2 電子ビームの空間分布

状の変化が見られなかったことが示唆される。

(2)滅菌実験

滅菌実験には電子ビーム照射の対象菌として *Bacillus pumilus* を使用した。*Bacillus pumilus* は芽胞形成菌の一種であり、放射線滅菌の指標菌である。芽胞形成菌の特徴として、分裂増殖が困難な環境になると芽胞と呼ばれる特殊な構造を形成する。芽胞は熱や乾燥、消毒薬に強い抵抗性を示し、放射線に対しても強い耐性をもつ。実験では、*Bacillus pumilus* を寒天培地上に 10^4 CFU となるように塗布し、電子線を照射した。各繰り返しパルス周波数で電子線を 1 kGy 刻みで照射し、8 kGy まで照射した。繰り返しパルス周波数 2 Hz と 8 Hz 時におけるそれぞれの吸収線量の時のコロニー数の変化の観測写真を図 3 に示す。また、各繰り返しパルス周波数の吸収線量の変化に対するコロニー生存率の変化を図 4 に、各繰り返しパルス周波数の変化に対する D 値の比較を図 5 に示す。

各繰り返しパルス周波数で電子線照射を行った結果、図 4 の生残曲線より、吸収線量を増加させるにつれコロニー数が減少していることが確認できる。また図 5 より、繰り返しパルス周波数の増加に伴い、D 値が減少していることが分かる。各繰り返しパルス周波数での D 値は、2 Hz 時は 2.83 kGy、4 Hz 時は 2.70 kGy、8 Hz 時は 2.63 kGy であった。この D 値は、実験の環境、例えば、培地の成分などによって変化するものであるが、一般的に *Bacillus pumilus* の D 値は、約 1.4~2.3 kGy であり、乾燥状態であれば約 3 kGy となっている。今回の実験では、照射前、そして電子線照射後に 2~3 時間培地表面を十分に乾燥させ、培養したため先行研究より少し高い D 値となったことが考えられる。また、殺菌効果は単位時間当たりの線量率に依存しないという報告があるが、本結果より繰り返しパルス周波数を増加させるに伴って D 値は減少している。一般的な定義では無菌性保証水準(SAL) 10^{-6} となる時に滅菌となるので、滅菌に必要な吸収線量は D 値を 12 倍して、繰り返しパルス周波数が 2 Hz のときは約 34.0 kGy、8 Hz のときは約 31.6 kGy である。この結果より、各繰り返しパルス周波数での滅菌所要時間を求め比較すると、2 Hz 時は約 1 分 34 秒であるのに対し、8 Hz 時は約 22 秒

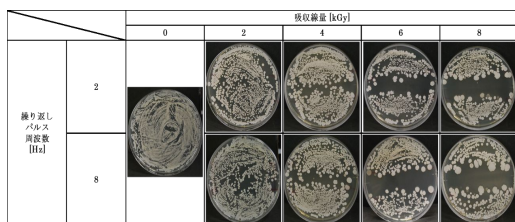


図 3 各繰り返しパルス周波数における *Bacillus pumilus* 観測写真

であり、滅菌時間を約 1 分 12 秒短縮することが出来たことになる。以上の結果より、イオン衝撃二次電子銃の繰り返しパルス周波数を増加させると殺菌効果は向上し、滅菌時間の大幅な短縮が可能となることが分かった。

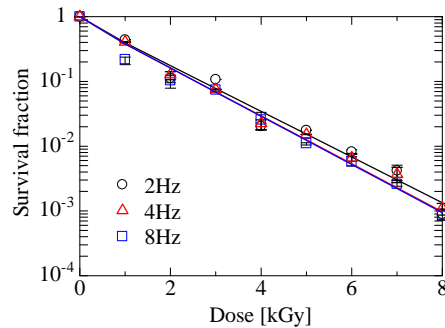


図 4 吸収線量の変化に対する *Bacillus pumilus* の生残曲線

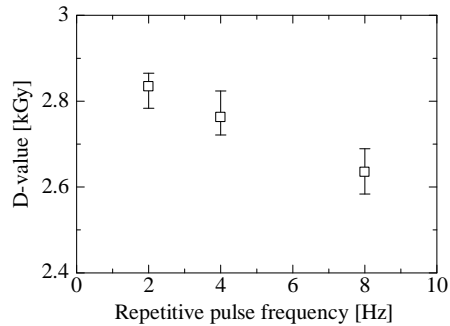


図 5 各繰り返しパルス周波数での D 値の比較

(3)FE-SEM による菌の観察

菌の観察は東京工業大学すずかけ台分析支援センターの電界放射型走査電子顕微鏡(日立ハイテクノロジーズ社製 S-5500)を使用した。図 6 に電子線未照射の試料の様子を、図 7 に電子線照射後の試料の様子を示す。図 7 より、イオン衝撃二次電子銃による電子線の照射によって、細菌表面に穴があげられることが確認され、高エネルギー電子線照射を行った先行研究と同様な傾向が得られた。この要因として、イオン衝撃二次電子銃の電子線照射によって芽胞内の水分子が放射線分解され、ラジカルを生成することによって、DNA 鎖だけでなく細胞にも物理的な損傷を与えたのではないかと考えられる。また、図 7 では、電子線照射によって、芽胞殻だけでなくコアの部分にも損傷を与えていることが確認できる。これによって、芽胞は完全に不活性化されており、イオン衝撃二次電子銃のような低エネルギー電子加速器での照射であっても、菌に対する吸収線量を確保することが出来れば、高エネルギー電子加速器を用いた場合と同様の殺菌能力を持つことが可能

となる。また、全ての菌に同様な外的損傷が見られなかったのは、ラジカルが生成される位置、また電子の当たり方により、損傷の程度が異なるからであると推定される。

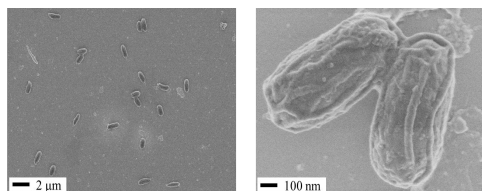


図6 電子線未照射のFE-SEM画像

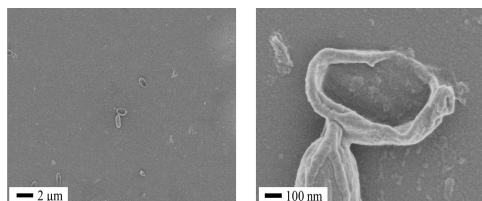


図7 繰り返しパルス周波数2 Hzで10 kGy照射後のFE-SEM画像

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 6 件)

村田洸一、渡邊正人、堀田栄喜、イオン衝撃二次電子銃の高繰り返し動作特性 電気学会研究会資料(プラズマ研究会 PST-13-130~146)、査読無、2013、33-37

佐藤駿、村田洸一、渡邊正人、堀田栄喜、二次電子銃の繰り返しパルス動作特性と滅菌応用、平成26年電気学会全国大会講演論文集、査読無、Vol.1、2014、150-150

佐藤駿、村田洸一、渡邊正人、堀田栄喜、イオン衝撃二次電子銃の滅菌応用、平成26年度電気学会基礎・材料・共通部門大会、査読無、2014、30-30

村越貴成、佐藤駿、渡邊正人、堀田栄喜、イオン衝撃二次電子銃による芽胞形成菌の不活性化実験、平成27年電気学会全国大会講演論文集、査読無、Vol.1、2015、123-123

村越貴成、渡邊正人、堀田栄喜、イオン衝撃二次電子銃の滅菌応用のための性能評価、平成27年度電気学会基礎・材料・共通部門大会、査読無、2015、326-326

村越貴成、渡邊正人、堀田栄喜、パルス型二次電子銃の高繰り返しパルス動作に

よるバクテリアの不活性化実験、プラズマ・核融合学会第32回年会予稿集、査読無、Vol.1、2015、24pD03P

[学会発表](計 6 件)

村田洸一、渡邊正人、堀田栄喜、イオン衝撃二次電子銃の高繰り返し動作特性、電気学会プラズマ研究会、2013年11月23日、愛知県名古屋市

佐藤駿、村田洸一、渡邊正人、堀田栄喜、二次電子銃の繰り返しパルス動作特性と滅菌応用、平成26年電気学会全国大会、2014年3月18日、愛媛県松山市

佐藤駿、村田洸一、渡邊正人、堀田栄喜、イオン衝撃二次電子銃の滅菌応用、平成26年度電気学会基礎・材料・共通部門大会、2014年8月22日、長野県長野市

村越貴成、佐藤駿、渡邊正人、堀田栄喜、イオン衝撃二次電子銃による芽胞形成菌の不活性化実験、平成27年電気学会全国大会、2015年3月26日、東京都世田谷区

村越貴成、渡邊正人、堀田栄喜、イオン衝撃二次電子銃の滅菌応用のための性能評価、平成27年度電気学会基礎・材料・共通部門大会、2015年9月18日、石川県金沢市

村越貴成、渡邊正人、堀田栄喜、パルス型二次電子銃の高繰り返しパルス動作によるアの不活性化実験、プラズマ・核融合学会第32回年会、2015年11月24日、愛知県名古屋市

6. 研究組織

(1) 研究代表者

渡邊 正人 (WATANABE, Masato)
東京工業大学・大学院総合理工学研究科・助教

研究者番号：20251663

(2) 研究分担者

堀田 栄喜 (HOTTA, Eiki)
東京工業大学・大学院総合理工学研究科・教授

研究者番号：70114890

(3) 連携研究者

なし

(4) 研究協力者

なし