

令和 6 年 6 月 12 日現在

機関番号：82626

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K03527

研究課題名(和文)低温大気圧プラズマ照射による溶液中帯電粒子の輸送制御

研究課題名(英文)Transport control of charged particles in liquid by treatment using cold atmospheric plasma

研究代表者

清水 鉄司(Shimizu, Tetsuji)

国立研究開発法人産業技術総合研究所・エレクトロニクス・製造領域・研究グループ長

研究者番号：70803881

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：低温大気圧プラズマによる生化学効果を制御するためには、プラズマ照射に伴う液中帯電粒子の輸送理解が重要である。本研究ではアルブミンを液中粒子として用い、プラズマによる凝集現象を観察した。針電極・アルブミン溶液間で放電プラズマを生成し、プラズマ処理を行った。一連の実験の結果、プラズマにより生成される紫外光、熱の凝集に対する寄与は少ないことが示唆された。また、液面に対して電子や負イオンが照射される条件ではアルブミンの凝集は観察されなかったのに対し、正イオンが照射される条件でアルブミンは凝集した。アルブミンの凝集には、正の荷電粒子の液面への堆積が重要であることが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究において、アルブミン凝集には液面への正イオン照射が重要であることが分かった。これは、液中帯電粒子のプラズマによる輸送理解につながり、プラズマ医療分野における精細制御技術へと展開可能と考えられる。また、このアルブミン凝集は、プラズマによる止血機構の理解に重要である。さらにこの発見は、コロイド溶液を用いる化学反応制御プロセスにおける反応理解や新たな制御技術への展開などにつながり、新規材料合成分野への貢献も考えられる。

研究成果の概要(英文)：It is important to understand the charged chemical species in liquid to control the biological effect using cold atmospheric plasmas. In this study, albumin was used as the charged species in liquid and the aggregation by plasma was observed. From the series of experiments, it was suggested that the contribution of UV light and thermal effect from the plasma discharge to the aggregation was small. When the electrons and negative ions were irradiated to the albumin solution, no aggregation was observed. On the other hand, the aggregation was clearly seen when the positive ions were deposited on the surface of albumin solution. It was shown that the deposition of positive ions was an important key for the albumin aggregation.

研究分野：プラズマ応用

キーワード：大気圧プラズマ プラズマ医療 液中帯電粒子 たんぱく 凝集

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年、大気圧環境下で低温プラズマを生成する技術の研究開発が進んだ結果、大気圧プラズマを用いた医療分野への応用研究が加速している。この分野において、低温大気圧プラズマは頻繁に溶液に対して照射される。例えば、創傷処置や止血のためのプラズマ処理では、一般に傷表面などが血液などの体液で覆われているため、プラズマは初めに液体と接触する。そのため、プラズマによる作用機序の理解には、プラズマ照射に伴う液中の粒子の輸送過程を理解することが重要である。また、ほかのプラズマの医療応用研究において、プラズマによる溶液活性化が挙げられる。これはプラズマの患部に対する間接照射で、初めにプラズマを純水などの液体に対して照射し、その後プラズマ照射を行った溶液を患部に供与するなどして医療目的に利用する。プラズマ照射溶液は、通常の溶液と異なる機能が付加されており、飲料水の殺菌や、がん細胞のアポトーシス誘導などの報告がこれまでにある。また、遺伝子やたんぱくの細胞内への導入も行われている。

現状でこれらのプラズマによる医療効果は、主に溶液中に生成される活性種により議論されている。プラズマ生成により気相で活性種が生成され、それが液中へと輸送・反応し、液中でOHなどの短寿命活性種からH₂O₂などの長寿命活性種まで様々な分布する。これらの活性種が生体物質に作用することにより、医療効果の説明が行われてきた。しかしながら、例えばプラズマによる止血技術の中に、活性種による化学反応だけでは説明が難しい現象があった。プラズマ止血の作用メカニズムとして、血液中の血小板およびアルブミンをはじめとするたんぱくの凝固がある。たんぱくの凝固に関して、液中に生成される活性種だけで説明することが難しく、荷電粒子の関与など電気的作用が議論されている状態であった。

2. 研究の目的

本研究の目的は、低温大気圧プラズマ照射を用いた溶液中の電荷を持つ粒子の輸送メカニズムの理解である。この理解から、プラズマ照射による帯電粒子輸送制御技術へと展開する。これは、プラズマ医療研究において、液面および液中における化学反応の理解のために非常に重要である。

本研究では、プラズマ照射にともなう粒子の挙動から、その挙動メカニズムを検討・理解する。溶液中の粒子としてアルブミンを本研究では用いた。アルブミンは血中のたんぱくの一つで、アルブミン分子はpH7の液体中で負に帯電している。先行研究により、プラズマ照射によりアルブミンが凝集する条件があることが分かっていた。アルブミンを溶解した溶液に対してプラズマ照射を行い、凝集のダイナミクスなどを測定することにより、電荷をもつ粒子挙動に対するプラズマの寄与を議論した。

3. 研究の方法

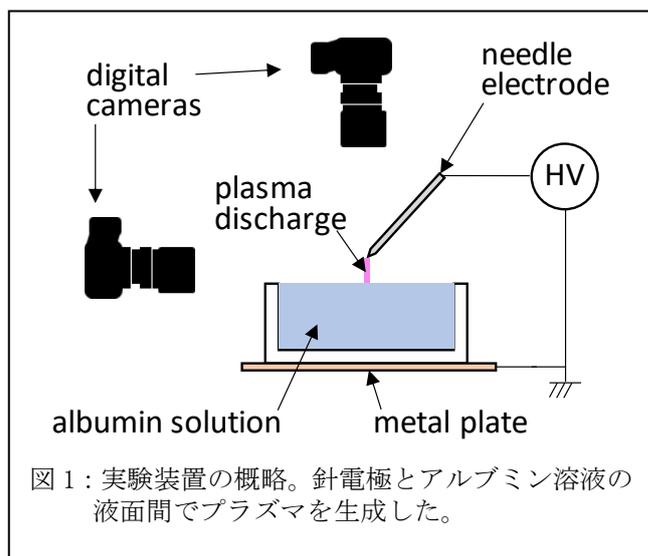


図1に本研究で用いた主な実験装置の概要を示す。接地した金属電極上にアルブミン溶液の入った石英製のシャーレを設置した。アルブミン溶液は純水とアルブミン粉末を用いて生成し、アルブミン濃度は50 mg/mlとした。また、シャーレの容量は7 mlであった。なお、このアルブミン濃度は、血液中の濃度とほぼ等しい。

液面の上方にタングステン製針電極を、針電極・液面間距離が1 mmとなるように設置した。後述する上方向からの撮影のため、針電極は傾けて設置した。針電極に高電圧アンプにより昇圧した交流もしくは直流の電圧を印加することにより、針電極・液面間で放電プラズマを生成した。この際、外部からガスの供給は行っておらず、空気プラズマの生成が行われた。交流電圧を

用いてプラズマ照射を行った際は、2.2 kVpp、周波数1 kHzの矩形波を用いた。また、直流放電プラズマを生成した際には、接地した白金電極を溶液中に挿入し、針電極には正負ともに2 kVの高電圧を印加しプラズマ生成を行った。

液面および液中の凝集の様子などを記録するために、図1に示すようにシャーレの上方向および横方向からデジタルカメラを用いて観察した。記録した動画から、アルブミン凝集の様子などをPCを用いて解析した。などフレームレートは25-30 fpsである。

プラズマ照射により液中で活性種が生成されるため、溶液の化学組成が変化することが考えられる。それに伴いpHが変化するとアルブミンの持つ電荷量も変化する。プラズマ照射に伴う

アルブミン溶液の化学変化及びアルブミン電荷量を検討するため、プラズマ処理の前後で、アルブミン溶液の pH を測定した。また、プラズマ生成のために印加している電圧および電力（電流）を高電圧アンプのモニタおよびオシロスコープを用いて観察した。

4. 研究成果

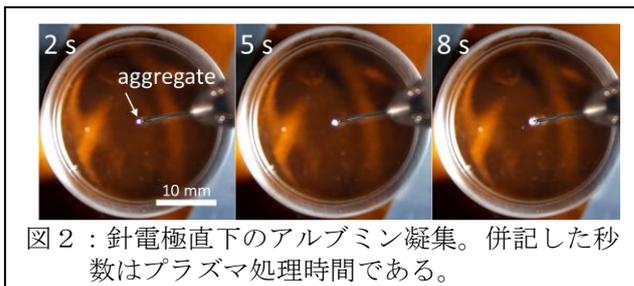


図 2：針電極直下のアルブミン凝集。併記した秒数はプラズマ処理時間である。

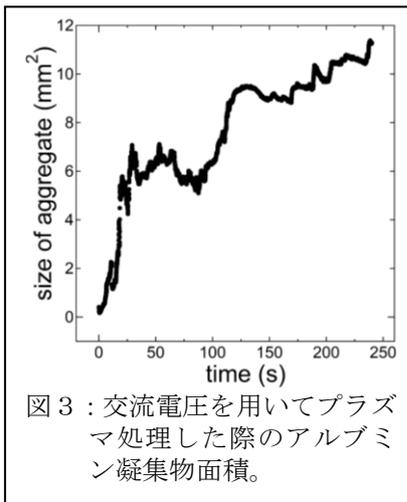


図 3：交流電圧を用いてプラズマ処理した際のアルブミン凝集物面積。

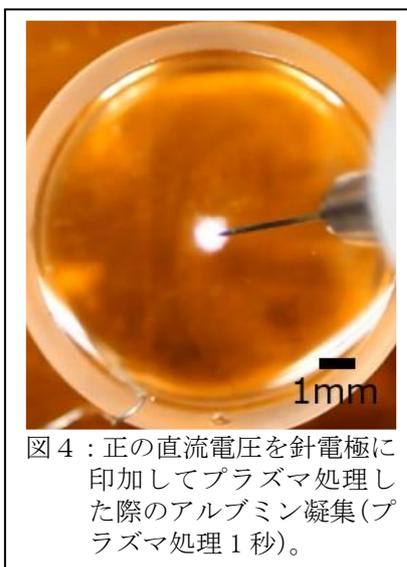


図 4：正の直流電圧を針電極に印加してプラズマ処理した際のアルブミン凝集（プラズマ処理 1 秒）。

図 2 に針電極に交流電圧を印加した際のアルブミン凝集の様子を示す。この時の投入電力は約 30 mW 程度であった。プラズマの接触している液面上で、プラズマ照射開始直後から白色のアルブミン凝集が観察された。プラズマ照射初期は、ほぼプラズマ照射点を中心に対象に凝集物の成長が確認された。測定した動画からアルブミン凝集物の輪郭をコンピュータ上で処理して、その面積を求めた。

凝集物面積の時間発展を図 3 に示す。プラズマ処理開始後約 25 秒までは、ほぼ線形的に面積が増大した。その後、凝集物面積の成長速度が低下した。

このプラズマ処理におけるプラズマから液面へ到達する因子として、荷電粒子、化学的活性種、紫外光、熱などが挙げられる。ここで紫外光に関しては、波長が 300–400 nm 付近の窒素分子および OH から発光が観察された。これまでの研究でこれらの紫外域における発光は凝集に対してほぼ寄与がないことが分かっている。また、プラズマ照射の前後で、液中の pH に変化はほぼなく、常に 7.0 であった。つまり、アルブミンは本実験では液中で常に負に帯電していた。

ヘリウムプラズマジェットを用いたアルブミン凝集に関する先行研究で、プラズマ照射の際の荷電粒子の影響が示唆された。この影響をより詳細に検討するため、電流 5 mA の直流放電によるプラズマ生成を試みた。針電極に負の電圧を印加した場合、放電維持電圧は -300 V であった。プラズマと生成している液面上には何も観察されず、挿入した白金電極からは泡の生成があった。これは、グロー放電電解である。

針電極に正の電圧を印加すると、放電維持電圧 400 V で直流放電プラズマが形成された。プラズマ処理開始直後からプラズマと接触する液面でアルブミン凝集が観察された。図 4 に示すように、アルブミン凝集物はプラズマ接触部を中心としてほぼ円形であった。照射 1 秒で約直径 1 mm 程度の大きさになった。直中放電プラズマのほうが上記交流放電プラズマと比べ投入電力が 1 桁以上大きい。そのため、アルブミン凝集物の成長速度が大きくなったと考えている。印加電圧が負の場合と同様に、挿入した白金電極からガス生成が観察された。この時のガスは、ガス検知管によって、水素であることが確認されている。

さらに、正の直流放電時に放電部を局所的にアルゴン雰囲気にして実験を行った。空気プラズマとほぼ同様にアルブミン凝集が観察されたため、少なくとも窒素系活性種のアルブミン凝集に対する寄与は少ないと考えられる。

熱のアルブミン凝集に対する影響を観察するため、アルブミン溶液に最高 150 °C に熱したステンレス製ヒータを挿入した。ステンレス製ヒータ表面に気泡が発生し、溶液が気化する様子が観察されたが、アルブミン凝集は確認できなかった。

針電極を陽極とした場合の投入電力は 2 W であり、陰極とした場合は 1.5 W であった。プラズマ生成への投入電力はほぼ同じであり、また 2 つの放電よりほぼ同じ発光スペクトルを観測した。この結果から、気相中生成される活性種の種類および分布はほぼ同じと考えている。そのため、針電極の極性によりアルブミン凝集の様子が変化したことは、荷電粒子の関与が重要であると思われる。

本実験ではプラズマ照射により pH の変化はほぼなかった。しかしながら、針電極を陽極としたプラズマ処理においては、プラズマと接触する液面には正イオンが照射されるため、局所的に酸性になる可能性がある。酸性になるとアルブミンの電荷量は小さくなりやがて正に帯電するようになる。この局所的 pH 分布の形成がアルブミン凝集と強い関連があると考えている。現在、アルブミン凝集の様子をより詳細に検討するため、高速度カメラを導入し実験を始めた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Shimizu Tetsuji, Kikunaga Kazuya, Kato Susumu, Sakakita Hajime	4. 巻 117
2. 論文標題 Potential formation on floating metal plate treated by low-temperature atmospheric pressure plasma jet	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Electrostatics	6. 最初と最後の頁 103715 ~ 103715
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.elstat.2022.103715	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Shimizu Tetsuji, Fukui Takahiro, Sakakita Hajime	4. 巻 61
2. 論文標題 Albumin aggregation using low-temperature atmospheric pressure helium plasma jet in argon and air atmosphere	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Applied Physics	6. 最初と最後の頁 S11016 ~ S11016
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.35848/1347-4065/ac6413	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計15件（うち招待講演 3件 / うち国際学会 7件）

1. 発表者名 Tetsuji Shimizu, Yuukei Ishihara, Hajime Sakakita
2. 発表標題 Albumin aggregation by atmospheric pressure plasma discharge using needle electrode
3. 学会等名 25th International Symposium on Plasma Chemistry (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Tetsuji Shimizu, Yuukei Ishihara, Hajime Sakakita
2. 発表標題 Albumin agglomeration by cold atmospheric plasma between needle electrode and surface of albumin solution
3. 学会等名 International Conference on Phenomena in Ionized Gases ICPIG XXXV (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Yuukei Ishihara, Tetsuji Shimizu, Hajime Sakakita
2. 発表標題 Protein aggregation driven by atmospheric pressure plasma between needle electrode and surface of albumin solution
3. 学会等名 Global Plasma Forum in Aomori (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 石原 悠景、清水 鉄司、榊田 創
2. 発表標題 低温大気圧プラズマによるタンパク質の凝集機構に関する研究
3. 学会等名 第84回応用物理学会秋季学術講演会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 清水 鉄司、石原 悠景、榊田 創
2. 発表標題 大気圧放電による溶液中アルブミンの凝集
3. 学会等名 第71回応用物理学会 春季学術講演会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 清水 鉄司、石原 悠景、榊田 創
2. 発表標題 Protein Aggregation by Atmospheric Pressure Discharge Produced between Needle Electrode and Surface of Albumin Solutuion
3. 学会等名 第33回日本MRS年次大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 清水鉄司
2. 発表標題 低温大気圧プラズマ照射による細胞運命の制御 創傷処置の臨床試験から
3. 学会等名 第83回応用物理学会秋季学術講演会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Tetsuji Shimizu, Kazuya Kikunaga, Hajime Sakakita
2. 発表標題 Charge-up of Metal Plate Treated by Low-Temperature Atmospheric Pressure Helium Plasma Jet
3. 学会等名 2022 MRS SPRING MEETING & EXHIBIT（国際学会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 清水 鉄司、福井貴大、榊田 創
2. 発表標題 Aggregation of Albumin by Low-Temperature Atmospheric Plasma Treatment in different atmosphere
3. 学会等名 第32回日本MRS年次大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 清水 鉄司、菊永 和也、加藤 進、榊田 創
2. 発表標題 低温大気圧プラズマに処理による帯電とアルブミン凝集との関係
3. 学会等名 第39回 プラズマ・核融合学会 年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Tetsuji Shimizu
2. 発表標題 Flow formation in gas and liquid by cold atmospheric plasmas
3. 学会等名 5th Asia Pacific Conference on Plasma Physics (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Tetsuji Shimizu
2. 発表標題 Flows induced by low-temperature atmospheric pressure plasmas
3. 学会等名 4th International Symposium on Advanced Plasma Science and its Applications for Nitrides and Nanomaterials (ISPlasma2022) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 福井 貴大、清水 鉄司、榊田 創
2. 発表標題 Effect of surrounding gas on aggregation of albumin using low-temperature atmospheric pressure plasma jet
3. 学会等名 The 42nd International Symposium on Dry Process (DPS2021) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 清水 鉄司、山田大将、藤原 正純、加藤 進、池原 謙、榊田 創
2. 発表標題 Agglomeration and Dissolution of Albumin Induced by Low-Temperature Atmospheric Pressure Helium Plasma Jet
3. 学会等名 第31回日本MRS年次大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 福井 貴大、清水 鉄司、榊田 創
2. 発表標題 低温大気圧プラズマジェットによるアルブミン凝集現象への雰囲気ガスの効果
3. 学会等名 第38回プラズマ・核融合学会年会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	榊田 創 (Sakakita Hajime) (90357088)	国立研究開発法人産業技術総合研究所・エレクトロニクス・製造領域・研究部門付 (82626)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------