不活性ガスを用いたプラズマソースイオン注入
(PSII) 法による滅菌プロセス*渡邊 悟志^{*1}・比羅岡鉄兵^{*2}・本田 諭^{*2}
田中 武^{*2}・高木 俊宜^{*2}・吉田 光宏^{*3}

(受理2002年11月25日, 掲載決定2003年3月1日)

Sterilization Process by Plasma Source Ion Implantation Using Inactive Gas*

Satoshi WATANABE^{*1}, Teppei HIRAOKA^{*2}, Satoshi HONDA^{*2},
Takeshi TANAKA^{*2}, Toshinori TAKAGI^{*2} and Mitsuhiro YOSHIDA^{*3}^{*1}Electronic Engineering, Graduate School of Engineering, Hiroshima Institute of Technology,
2-1-1 Miyake, Saeki-ku, Hiroshima 731-5193, Japan^{*2}Department of Electronic Engineering, Hiroshima Institute of Technology,
2-1-1 Miyake, Saeki-ku, Hiroshima 731-5193, Japan^{*3}Mitsubishi Heavy Industry, Ltd., Hiroshima Research Center,
6-22, 4-Chome, Kan-On-Shin-Machi, Nishi-ku, Hiroshima 733-8553, Japan

(Received November 25, 2002, Accepted March 1, 2003)

Plasma source ion implantation (PSII) with high negative pulsed voltage applied to the workpiece is demonstrated as an effective low-temperature sterilization technique for three-dimensional work pieces. Using an N₂ or Ar gas plasma and a pulsed voltage of -5 to -16 kV (10 μ s pulse width, 900 pps), the method is shown to reduce the number of active *Bacillus Pumilus* spores by 3~5 log colony forming units after 1~5 min exposure.

1. はじめに

最近, 病院や歯科医院等で使用される医療器具や容器数が増加しているため, より安全で迅速な滅菌プロセスが, ますます必要になってきている。現在, 医療器具用の小型滅菌装置として, 高圧蒸気や, 酸化エチレン, ホルマリン等の化学物質を使用した装置がある。しかし, 高圧蒸気を利用した滅菌では, 熱による医療器具の変形や器具表面の酸化が生じる恐れがある。また, 酸化エチ

レンやホルマリンは人体に影響を及ぼす化学物質であり, 滅菌後に化学物質を除去する処理も必要である。一方, 近年高周波 (13.56 MHz) を用いた減圧下の過酸化水素中の放電を用いた滅菌では, 処理時間が50~90分必要である¹⁻³⁾。

プラズマソースイオン注入 (PSII) 法は, プラズマに浸された試料に, 負の高圧パルス電圧を印加する表面改質法である。複雑形状を有する試料の近辺に形成されるイオンシース幅を低減させる。その結果, イオンシースが複雑形状試料表面に沿い, イオンがイオンシース電界により試料表面に注入される。PSII 法は, 複雑形状を有する試料表面処理方法として有効な手法として有望視されている⁴⁾。

本研究では, 不活性ガスを用いた PSII 法において, 生成されたイオンのエネルギーを利用した滅菌プロセス

* 平成14年10月18日 第43回真空に関する連合講演会で発表

^{*1} 広島工業大学大学院工学研究科電子工学専攻 (〒731-5193 広島市佐伯区三宅 2-1-1)^{*2} 広島工業大学工学部電子工学科 (〒731-5193 広島市佐伯区三宅 2-1-1)^{*3} 三菱重工業機広島研究所 (〒733-8553 広島市西区観音新町 4 丁目 6-22)

Fig. 1 Experimental apparatus.

の研究を行った。

2. 実験装置・方法

本研究で使用した装置の概略図を Fig. 1 に示す。本装置のチャンバーサイズは高さ450 mm，幅590 mm，奥行き470 mm である。SUS 製電極は接地されたチャンバーから絶縁され，チャンバーの中心に設置されている。チャンバー内を 7.0×10^{-4} Pa まで排気し， N_2 ガスまたは Ar ガスを導入しガス圧を 2~7 Pa として処理を行った。石英ガラスに付着乾燥させた芽胞菌 (*Bacillus pumilus*) 菌をステンレススチール (SUS) 製電極上に置き，負の高圧パルス電圧のみを印加し滅菌処理を行った。印加電圧は -5~16 kV，パルス幅 $10 \mu s$ とし，滅菌処理時間は 1~5 分とした。

今回用いた *Bacillus pumilus* は，バチルス属で，芽胞を形成する菌であり，その芽胞は耐熱性がある。そのため，種々の滅菌処理で生き残る可能性が高いため，この *Bacillus pumilus* を指標菌として用い，滅菌性能を評価した。滅菌処理後の *Bacillus pumilus* 菌を希釈培養し，発生コロニー数から生き残り菌数を測定した。また，滅菌処理前後の菌の表面状態を走査型電子顕微鏡 (SEM) で観察した。

3. 実験結果・考察

3.1 プラズマ滅菌結果

PSII 法を用いた *Bacillus pumilus* 菌の滅菌性能を評価するために， N_2 ガスを用いた滅菌処理後の菌の希釈培養結果を Fig. 2 に示す。滅菌処理前の試料からは約 2.3×10^6 個の菌が検出された。PSII 法を用いた滅菌処理において，真空中に試料を放置した効果を調べるために，真空中に40分放置した結果，生き残り菌数は，約 2.3×10^6 個であり，滅菌処理を行っていない場合と同程度であった。これらの結果から，真空中に入れるだけでは滅

Fig. 2 Number of survivors for untreated, vacuum, and treated by PSII.

菌できないことが明らかになった。ガス圧 7 Pa，高圧パルス電圧 -9 kV，8 A で 1 分の滅菌処理を行った結果，生き残り菌数は $5.7 \times 10^2 \sim 1.2 \times 10^3$ 個まで減少し，PSII 法による滅菌処理により生き残り菌数は 3~4 桁減少した。PSII 法における滅菌は，高圧パルスを印加したときに発生するイオンおよびラジカルが，基板上の菌に衝突することにより，菌が滅菌されたと考えられる。滅菌性能を向上させるために，処理時間を 5 分に増加させると，生き残り菌数は $1.8 \times 10^1 \sim 1.2 \times 10^2$ 個まで減少し，1 分処理時に比べると菌の数は約 1 桁減少したが，滅菌処理の単位時間あたりの滅菌数は減少した。このことから滅菌性能は滅菌初期が大きく，その後減少する可能性が示された。さらに滅菌性能を向上させるために，高圧パルス電圧を増加させた。ガス圧を 7 Pa から 2.2 Pa に減少させることにより，印加電圧は -9 kV から -16 kV に増加できた。-16 kV，5 A で 1 分の処理を行った場合，生き残り菌数は $1.5 \times 10^2 \sim 1.7 \times 10^2$ 個となり，-9 kV 処理時に比べ生き残り菌数は約 $1/8 \sim 1/3$ に減少した。また，生き残り菌数のばらつきも 1 桁から約 20% に減少した。プラズマのみで 40 分処理した場合の生き残り菌数は約 10^2 である。高圧パルス電圧の増加により，滅菌数が増加し，PSII 法を用いた滅菌は，主に生成されたイオンが，表面および表面近傍の菌の衝突により菌が滅菌されていることが示唆された。また，PSII 法において通常用いられている数 kV から 10 数 kV の電圧を用いることにより，生成されたイオンが膜中に注入されることにより，塗布された膜中の菌の滅菌が示唆され，その結果ばらつきが抑制されたと考えられる。

PSII 法を用いた滅菌において，用いたガスの効果を

Fig. 3 Number of survivors for untreated and treated by PSII.

調べるために、N₂ ガスの代わりに Ar ガスを用いて滅菌処理を行った結果を Fig. 3 に示す。Ar ガスを用い、ガス圧 6.2 Pa、高圧パルス電圧 -5 kV、4.5 A で 4 分の処理を行った場合、生き残り菌数は滅菌処理前に比べ 5 桁減少し、N₂ ガスを用いた場合と同程度の滅菌性能であることが示された。これらのことから、PSII 法による滅菌は、高圧パルス電圧により加速されたイオンが菌と衝突することにより起こっていると考えられる。

医療器具等の滅菌に本方式を応用するために、試料を遮蔽物、ここではシャーレに蓋をして N₂ ガスで滅菌処理を行った。生き残り菌数は、 $3.7 \times 10^1 \sim 1.1 \times 10^3$ 個と PSII 法により滅菌されていることが明らかになったが、生き残り菌数のばらつきが遮蔽物の無い場合に比べて大きくなった。このことから、試料の遮蔽物の有無が滅菌性能を大きく変化させる可能性があることが示された。

3.2 表面状態変化

滅菌処理前の試料の SEM 画像 (5000 倍) を Fig. 4 に、N₂ ガスを用い、ガス圧 7 Pa、高圧パルス電圧 -9 kV、8 A で 5 分の処理を行ったサンプルの SEM 画像 (5000 倍) を Fig. 5 に示す。2 枚の画像から滅菌処理の有無による菌密度 (一定面積内の菌数) の変化は特に見られないことから、本方式による滅菌は、菌の飛散による見かけ上の滅菌ではなく、胞子の不活性化あるいは死滅による滅菌であることが考えられる。

高速イオンの物理的ダメージを観察するために 1 万倍で観察した SEM 画像を Fig. 6 及び Fig. 7 に示す。2 枚の画像の比較から、滅菌処理による胞子の破壊は観察されず、滅菌処理前と同じ形状であることが観察された。詳細に観察すると、滅菌処理前では菌表面に皺がある

Fig. 4 SEM micrographs (5,000×) of untreated sample.

Fig. 5 SEM micrographs (5,000×) of treated sample.

Fig. 6 SEM micrographs (100,000×) of untreated spores.

が、滅菌処理後は皺が無くなり、表面が滑らかになっていることが観察された。以上から、本方式による滅菌は、菌の胞子の破壊を引き起こす局所的な熱や真空中の静電気により死滅しているのではなく、イオンやラジカルにより死滅していると考えられる。

Fig. 7 SEM micrographs (100,000×) of treated spores.

4. ま と め

PSII法を用いることにより短時間で滅菌が行えた。印加電圧を高くすることにより滅菌性能が向上したこと、ガスをArにしても滅菌できたことから、PSII法を

用いた滅菌はイオンと菌の衝突による滅菌であることが示唆された。

高速イオンにより生き残り菌数のばらつきが減少したこと、遮蔽物により生き残り菌数のばらつきが増加したことから、PSII法を用いた滅菌プロセスにおいて滅菌対象物の遮蔽物を考慮することで、滅菌性能をさらに向上できることが示唆された。今後は、高周波放電を用いたPSII法のみでなく、大気圧放電、各種放電形式も検討して行きたいと思います。

〔文 献〕

- 1) K. Kelly-Wintenberg, A. Hodge, T. C. Montie, L. Deleanu, D. Sherman and J. ReeceRoth: J. Vac. Sci. Technol., **A17** (1999) 1539.
- 2) M. Moisan, J. Barbeau, S. Moreau, J. Pelletier, M. Tabrizian and L'H. Yahia: International J. of Pharmaceutics, **226** (2001) 1.
- 3) S. Moreau, M. Moisan, M. Tabrizian, J. Barbeau, J. Pelletier, A. Ricard and L'H. Yahia: J. of Appl. Phys., **88** (2000) 1166.
- 4) J. R. Conrad: J. Appl. Phys., **777** (1987) 62.