

琉球大学学術リポジトリ

[総説] ガスプラズマ滅菌技術の最新動向

メタデータ	言語: 出版者: 琉球医学会 公開日: 2015-12-28 キーワード (Ja): キーワード (En): nitrogen gas plasma, sterilization, bovine serum albumin, influenza virus 作成者: 豊川, 洋一, 作道, 章一, Toyokawa, Yoichi, Sakudo, Akikazu メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12000/0002016868

ガスプラズマ滅菌技術の最新動向

豊川 洋一, 作道 章一

琉球大学医学部保健学科生体代謝学分野

Recent advances in gas plasma technology for sterilization

Yoichi Toyokawa and Akikazu Sakudo

Laboratory of Biometabolic Chemistry, School of Health Sciences,
Faculty of Medicine, University of the Ryukyus

本総説は第1回琉球医学会優秀論文賞受賞(作道章一)を記念し、記述したものである。

ABSTRACT

Plasma, the fourth state of matter after solid, liquid and gas, is generated by the input of a sufficient amount of energy into a gas. This input of energy liberates free electrons from atoms or molecules and the resulting ions and electrons coexist in the plasma. Gas plasma technology takes advantage of these highly reactive species and is particularly well suited to several industrial applications such as surface modification, microfabrication and thin-film synthesis. Furthermore, recent advances have revealed that gas plasma is also useful in the field of medicine such as sterilization procedures. Our studies have shown that plasma sterilization is applicable to bacteria, viruses or other pathogens, which are inactivated *via* oxidation and degradation of biological molecules such as proteins, lipids and DNA. In this review, we will introduce the latest advances in plasma sterilization technology together with the results of our recent studies and then go on to discuss the potential future applications of this emerging methodology. *Ryukyu Med. J.*, 33 (1~3) 9~16, 2014

Key words: nitrogen gas plasma, sterilization, bovine serum albumin, influenza virus

はじめに

物質はエネルギーが上昇するにともない運動が激しくなり、固体から液体、さらに気体へと、その状態が変化していく。プラズマは“第4の物質の状態”と呼ばれ、気体へ磁場や熱などを加え物質のエネルギーをさらに上昇させた時に得られる状態である。その時、原子および分子から電子が飛び出し電子とイオンに分かれる電離状態となる。したがってプラズマは電子とイオンなどの荷電粒子が自由に飛び回った集合体のことである^{1,2)}(Fig. 1)。電離状態であるにもかかわらず、プラズマは電氣的に中性を示す。また通常の気体とは異なり導電性を有し、そのため電磁界と相互作用を行

うなどの特性も示す¹⁾。我々の身近にはいろいろなプラズマが取り巻いている。稲妻は大気中に高い電圧が加えられてプラズマが発生し、絶縁体である大気(気体)の性質が破壊されて電流が流れる現象(気体放電)である。また、太陽は我々の身近にある最大のプラズマの塊である。その表面から吹き出す太陽風や、その中の自由電子が地球磁場によって捉えられ、北極あるいは南極で大気中の分子と衝突し刺激されて発光する現象であるオーロラもプラズマの一種である。宇宙の99%以上はプラズマ状態で存在しており、自然の状態では極めてありふれた物質の状態であるといえることができる。

プラズマは電氣的に中性を示すが、その中では電子とイオンが自由に動き回っているため、電場や磁場を

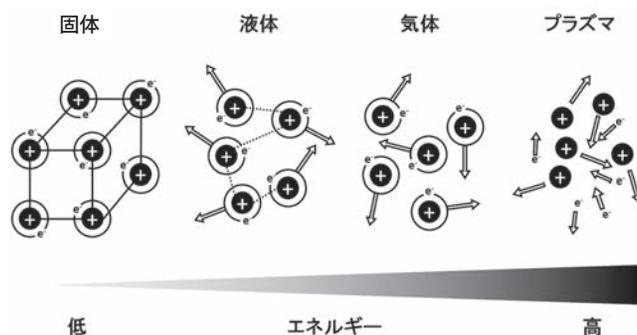


Fig.1 Schematic presentation of four fundamental states of matter.

物質の状態である固体、液体、気体およびプラズマの模式図を示す。物質が固体の状態では構成原子（分子）が強い力で結合しており、その結果、安定で定まった形と体積を持つ。液体では、原子の格子振動が原子あるいは分子の結合する力よりも大きくなり、分子間力を残したまま、構成粒子が互いに影響し合う状態になる。その結果、物質はその構造が変わりうる状態となり、液相を示す。気体の状態では、原子あるいは分子は高いエネルギーを持ち、分子間力の影響は極めて小さくなる。その結果、粒子は空間を自由に動き回る。気体の状態において、構成粒子は原子や分子の状態であるが、ここにさらにエネルギーが加わることで、原子が陽イオンと電子に別れ（電離）、これらが自由に運動する状態となる。この状態をプラズマという。

加えることで、個々の粒子を加速させたり、制御したりすることが可能である。またプラズマ中の粒子は高いエネルギー状態にある。これらの特徴から、プラズマを利用した技術は身近なところから工業的な技術利用まで広く活用されている。蛍光灯の光はプラズマの光源利用の代表的なものである。また、超高密度集積回路 (IC) の製造現場においては、スパッタリング（薄膜形成）やエッチング（微細加工）のプロセスでプラズマが用いられている。さらに材料の表面にプラズマ処理を行うことで、その表面特性を改質することができる³⁾。さらに、医療分野での応用も進められており、プラズマを利用したアルゴンプラズマ (APC) 凝固法が医療現場で広く実践されている⁴⁾。また、近年医療器具への低温滅菌法としてプラズマ技術が注目を集め、研究が盛んに進められている。そこで、本総説では、著者らがやってきた研究成果を中心に、ガスプラズマを用いた滅菌技術の研究を紹介したい。

プラズマによる滅菌とその作用機序

様々なフィールドで広く活用され、日々進歩を遂げているプラズマプロセス技術の中でも、プラズマを利用した滅菌技術の研究・開発についてはこれまでに多く報告されており、医療分野以外の一般的な衛生管理の分野では、すでに実用化もされている^{4,5)}。しかし、プラズマ処理によって各種細胞や微生物が滅菌、殺菌されるという結果は数多く報告がされているものの、どのようなメカニズムで殺菌されるのかについては十分に解析されていないのが現状である。我々はこれ

までに、静電誘導 (SI) サイリスタ電源を用いた窒素 (N_2) プラズマ生成装置 (BLP-TES No. 1; 日本ガイシ株式会社) を用い (Fig. 2), ウシ血清アルブミン (BSA) とインフルエンザウイルス対し N_2 ガスプラズマ処理 (0.5 気圧, 1.5 kpps; kilo pulses per seconds, N_2 ガス置換下) を行ってきた。その諸性質の変化を解析することで、プラズマ処理がこれらに及ぼす影響を詳細に分析した^{6,7)}。

滅菌水に溶解させた BSA をカバーガラス上で乾燥させ、これを BLP-TES No. 1 で N_2 ガスプラズマ処理を行った。フーリエ変換赤外分光法によって BSA 蛋白質の二次構造を解析した結果、 N_2 ガスプラズマ 30 分処理後では α -ヘリックスの構成比が 0 分処理と比べ 22.18% から 28.06% へ増加する傾向が見られた。また、 β -ターンの構成比が 30.57% から 22.89% まで減少する傾向を示した (Fig. 3)。一般的に、蛋白質が変性を起こす要因の一つとして温度の変化が考えられる。また、プラズマ生成時には熱が発生する場合があることが知られている⁸⁾。そこで、BLP-TES No. 1 稼働時の温度の変化をケミカルインジケータを用いて測定した。その結果、装置稼働 7.5 分で 55 ~ 60°C, 15 分で 60 ~ 65°C, 30 分で 60 ~ 65°C まで上昇することがわかった。プラズマ処理による BSA 蛋白質の二次構造の構成比の変化が熱変性によるものかどうかを検証するために、BSA を 37 ~ 85°C の各温度で 30 分間熱処理を行い、それぞれの処理温度における蛋白質の二次構造の構成比の変化を解析した。その結果、処理温度の上昇とともに β -シートの構成比が増大したが、 α -ヘリックスは減少した。この結果から、 N_2 ガスプラズマによる BSA 蛋白質の二次構

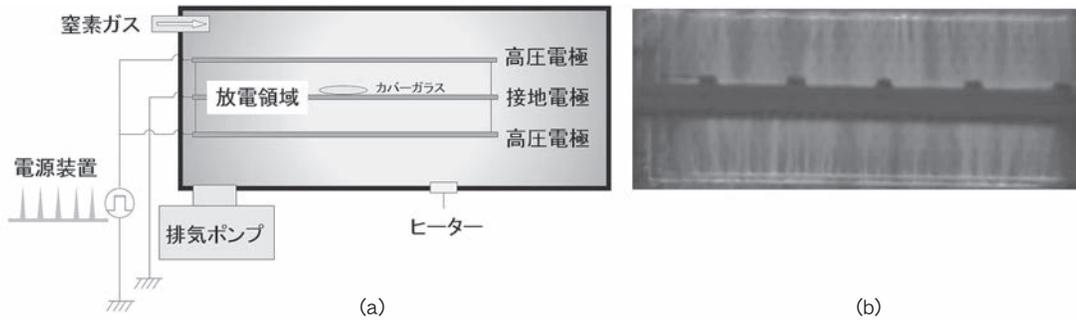


Fig. 2

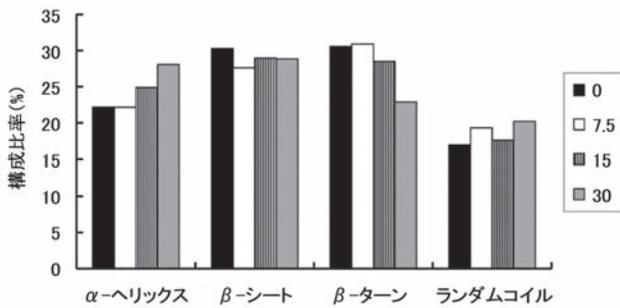


Fig. 3

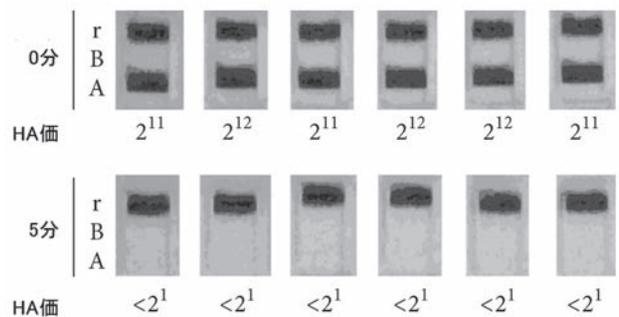


Fig. 4

Fig. 2 Experimental setup for N₂ gas plasma production.

a) N₂ ガスプラズマ発生装置 (BLP-TES-No. 1, 日本ガイシ株式会社) の模式図および b) N₂ ガスプラズマ発生時の装置内電極部の写真. 高压電極-接地電極間の距離は 50mm に設定した. 装置内部の上方および下方に設置された 2 本の高压電極 (計 4 本) の中央部に, 接地電極をエリア上 (95 mm × 165 mm) に 15 本設置した. N₂ ガスプラズマは N₂ ガス 10 L/min の流入量かつ 0.5 気圧の条件下で発生させた. 本装置電源として, 静電誘導 (SI) サイリスタ電源を用いた. 文献 7), Figure 1 より改変後引用.

Fig. 3 Analysis of secondary structure of N₂ gas plasma-treated bovine serum albumin (BSA) by Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR).

ウシ血清アルブミン (BSA) を各処理時間 (0, 7.5, 15, 30 分) および 1.5 kpps (kilo pulse per second) の条件で N₂ ガスプラズマ処理後, BSA 中の Amide I 領域を IR スペクトルのカーブフィッティングおよびフーリエセルフデコンボリューション法によって解析を行った. その結果, プラズマ処理後では α-ヘリックス構造の構成比率が上昇し, β-ターン構造は減少した. 文献 6), Figure 5 より改変後引用.

Fig. 4 Inhibition of the proliferation of influenza virus in embryonated eggs by N₂ gas plasma.

インフルエンザ A ウイルス (A/PR/8/34) 感染奨尿液 (3.16 × 10¹⁴ TCID₅₀/mL; 1mL あたりの 50% 組織培養感染価量) をカバーガラス上で乾燥後, BLP-TES-No. 1 にて N₂ ガスプラズマ処理を行った (1.5 kpps, 5 min). プラズマ処理後, 乾燥サンプルを回収し有精鶏卵に感染させた. 鶏卵は 48 時間培養した後, 奨尿液を回収しインフルエンザ感染奨尿液を得た. 奨尿液中のインフルエンザウイルスの検出はイムノクロマトグラフィー (エスプライン® インフルエンザ A&B-N, 富士レジオ株式会社) を用いて行った. さらに, 感染奨尿液の HA 値の測定も行った. 図に示された A, B のラインは, それぞれインフルエンザ A ウイルスおよび B ウイルスのヌクレオプロテイン (NP) を示す. r はリファレンスラインを示す. インフルエンザウイルスは N₂ ガスプラズマ 5 分処理 (1.5 kpps) で不活化された. 文献 7), Figure 2 より改変後引用.

造の構成比の変化は, プラズマ生成時の温度の上昇以外の要素の影響が大きいことが示された.

次に, N₂ ガスプラズマがウイルスに与える影響を解析するために, インフルエンザウイルスを BLP-TES No. 1 に供し N₂ ガスプラズマ処理を行った. インフルエンザ A ウイルス (A/PR/8/34)(3.16 × 10¹⁴ TCID₅₀; 50% 組織培養感染価量) を 5 分間 N₂ ガスプラズマ (0.5 気圧, 1.5 kpps, N₂ ガス充满下) で処理

した後, サンプルを 11 週齢の有精鶏卵の奨尿液に接種し 37℃, 48 時間保温することでウイルス感染奨尿液を調整した. これをイムノクロマトグラフィーに供し, インフルエンザウイルスヌクレオプロテイン (NP) の検出を行った (Fig. 4). その結果, N₂ ガスプラズマ未処理サンプル群においては NP が検出されたのに対し, 5 分処理では NP は検出されなかった. ヘマグルチニン (HA) 値の測定も行った結果, プラズマ処理サ

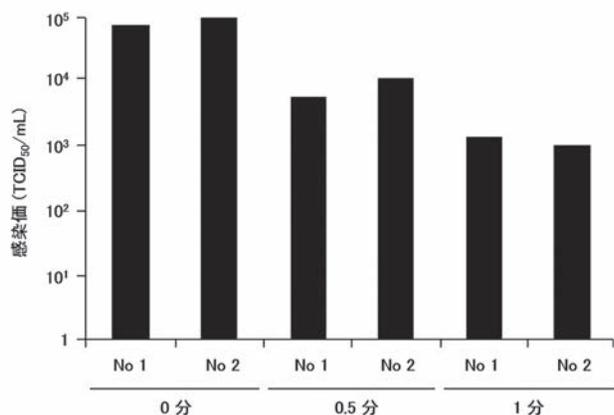


Fig. 5

Fig. 5 Decrease in viral titer of influenza virus by N₂ gas plasma.

インフルエンザ A ウイルス (A/PR/8/34) 感染尿液をカバーガラス上で乾燥させ、BLP-TES-No.1 を用いて N₂ ガスプラズマ処理を各処理時間行った (1.5 kpps; 0, 0.5 および 2 分). 処理サンプルをメイディン・ダービー・イヌ腎臓 (Madin-Darby Canine Kidney; MDCK) 細胞に感染させ、72 時間培養を行った. 乾燥サンプルは各々 2 スポット回収し測定を行った (No. 1 および No. 2). 文献 7), Figure 3 より改変後引用.

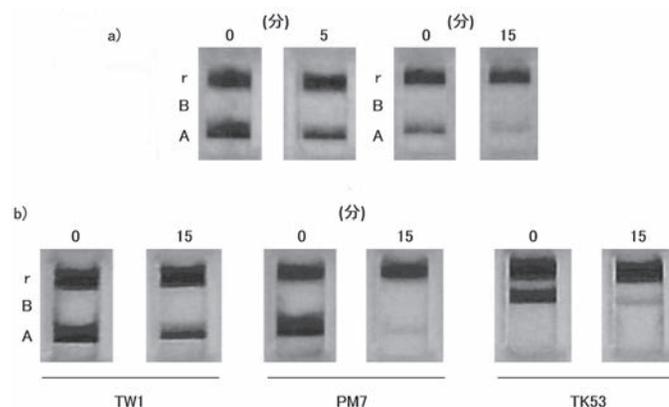


Fig. 6

Fig. 6 Effect of N₂ gas plasma on nucleoprotein (NP) of influenza virus type A and B.

(a) インフルエンザ A ウイルス (A/PR/8/34) 感染尿液 (3.16×10^{14} TCID₅₀/mL) および (b) 精製インフルエンザウイルスをイムノクロマトグラフィー (エスプライン[®] インフルエンザ A&B-N) を用いて検出した. 各サンプルはそれぞれカバーガラス上で乾燥させたのち、BLP-TES-No.1 を用いて N₂ ガスプラズマ (1.5 kpps) で各時間処理を行った. 処理済みサンプルは滅菌水で回収し、イムノクロマトグラフィーに供した. 図に示された A, B のラインは、それぞれインフルエンザ A ウイルスおよび B ウイルスのヌクレオプロテイン (NP) を示す. r はリファレンスラインを示す. 精製インフルエンザ A ウイルスとして H1N1 型 TW1 (A/Taiwan/1/86) 株, H3N2 型 PM7 (A/Panama/2007/99) 株を用いた. 精製インフルエンザ B ウイルスとして TK53 (B/Tokio/53/99) 株を使用した. 文献 7), Figure 4 より改変後引用.

ンプル群では値が減少した. さらに、Madin-Darby Canine Kidney (MDCK) 細胞へのウイルス感染試験を行ったところ、未処理サンプル群では TCID₅₀/ml が $7.5 \sim 10 \times 10^4$ を示したのに対し、1 分処理では $1.0 \sim 1.3 \times 10^3$ まで減少する傾向が見られた (Fig. 5). これらの結果から、インフルエンザ A ウイルスは N₂ ガスプラズマ処理でウイルスの感染価が減少する傾向が見られた. 次に、N₂ ガスプラズマ処理がウイルス蛋白質に及ぼす影響をイムノクロマトグラフィーによって解析した (Fig. 6). その結果、インフルエンザ A ウイルス感染尿液中から検出された NP は 5 分および 15 分の N₂ ガスプラズマ処理によって分解する傾向が見られた. さらに各種精製インフルエンザウイルスにおいても、15 分間の N₂ ガスプラズマ処理で NP が減少する傾向が見られた. また、インフルエンザ B ウイルス (B/Gifu/2/73) を 5 分間 N₂ ガスプラズマ処理した後、Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA) 法による NP の定量を行った結果においても、未処理群と比べ NP は 1/6 以下まで減少した. N₂ ガスプラズマ処理がインフルエンザウイルス蛋白質に与える影響をさらに詳細に解析するために、インフルエンザ A ウイルス感染尿液を N₂ ガスプラズマで処理したのち (0, 15, 30 分), SDS-ポリアクリ

ルアミドゲル電気泳動 (PAGE) (クマシーブリリアントブルー; CBB 染色法) に供し、インフルエンザウイルス蛋白質の解析を行った (Fig. 7). その結果、インフルエンザ A ウイルス感染尿液中のみ検出されたウイルス由来と推察される蛋白質のバンド (Fig. 7(a)) は、プラズマ処理時間の経過とともに消失した (Fig. 7(b)). これらの結果から、N₂ ガスプラズマ処理はウイルス蛋白質を変性させることが推察された. また、N₂ ガスプラズマ処理がウイルスのゲノム RNA に及ぼす影響についても解析を行うため、インフルエンザウイルスの主要蛋白質であるマトリックス蛋白質 (M1)、非構造蛋白質 (NS)、HA およびノイラミニダーゼ (NA) をコードするゲノム RNA 領域をターゲットに Polymerase Chain Reaction (PCR) を行った (Fig. 8). 解析の結果、プラズマ処理時間の経過とともに、これらの遺伝子の増幅量は減少することが示された. これらの結果から、N₂ ガスプラズマ処理はウイルスのゲノム RNA にも作用を及ぼしていることが示唆された. N₂ ガスプラズマ処理がインフルエンザウイルスの形態に与える変化を観察するために、プラズマ処理 (5 分, 1.5 kpps) 後のインフルエンザ A ウイルスを走査型電子顕微鏡 (SEM) を用い観察を行った (Fig. 9). その結果、プラズマ処理後のウイルスにおいては、プラ

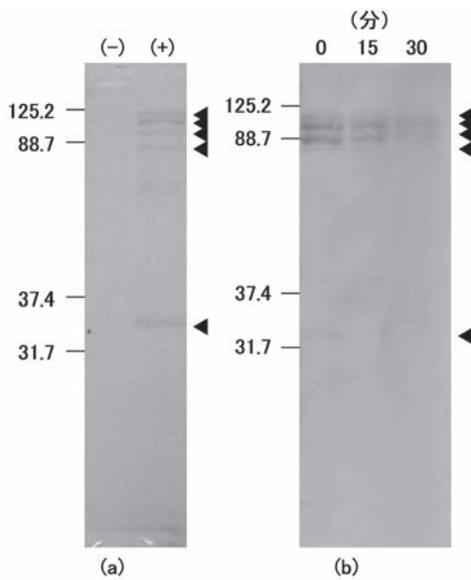


Fig. 7

Fig. 7 Degradation of influenza virus-infection induced proteins by N₂ gas plasma treatment.

(a) インフルエンザ A ウイルス (A/PR/8/34) 感染尿 (+) および非感染尿 (-) を SDS- ポリアクリルアミドゲル電気泳動 (PAGE) に供し、クマシーブリリアントブルー (CBB) で染色した結果を示した。(b) インフルエンザウイルス感染尿を N₂ ガスプラズマ処理で各時間 (0, 15 および 30 分) 処理した後、ウイルス由来蛋白質を含む尿中の蛋白質を確認するために、各サンプルを SDS-PAGE に供した。その結果、15 分および 30 分プラズマ処理したサンプルでは、コントロール (0 分処理) と比較してウイルス由来蛋白質の量が減少することが明らかとなった。図の矢印は、インフルエンザウイルスの感染後に尿中に産生が確認された蛋白質のバンドを示した。文献 7), Figure 6 より改変後引用。

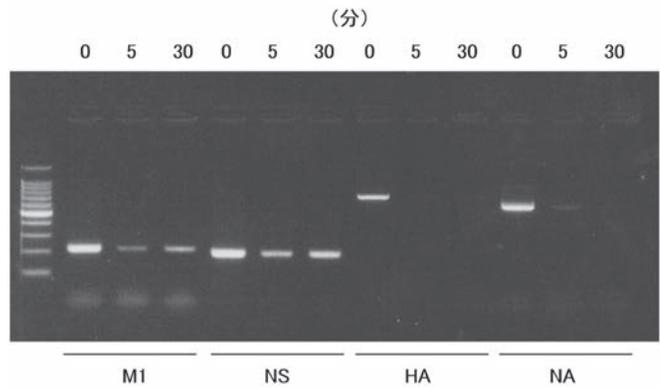


Fig. 8

Fig. 8 N₂ gas plasma treatment causes damage to viral genomic RNA.

インフルエンザ A ウイルス (A/PR/8/34) 感染尿を N₂ ガスプラズマ (1.5 kpps) で各時間 (0, 5, 30 分) 処理を行った。プラズマ処理後、各処理サンプルからインフルエンザウイルスのゲノム RNA を抽出し、cDNA を調整した。これをテンプレートとし PCR を行うことで、N₂ ガスプラズマがウイルスのゲノム RNA に及ぼす影響の解析を行った。M1 はウイルスマトリックス蛋白質遺伝子、NS はウイルス非構造蛋白質遺伝子、HA はヘマグルチニン遺伝子、NA はノイラミニダーゼ遺伝子に対するプライマーセットを用い PCR を行ったことを示す。文献 7), Figure 8 より改変後引用。

ズマ未処理ウイルスで見られたウイルス粒子同士を結びつけている繊維上の物質が破壊されていたほか、ウイルス粒子自身の収縮や膜融合が観察された。

著者らの研究により、BSA に N₂ ガスプラズマ処理を行うことでその二次構造の構成比率の変化を解析した。その結果、熱処理での蛋白質の変性だけでは説明ができないような二次構造の変化が起こったことが明らかとなった。また、インフルエンザウイルスを N₂ ガスプラズマ処理した結果、ウイルスの感染価が低下する傾向が見られた。さらに、ウイルス蛋白質やゲノム RNA の減少がプラズマ処理時間の経過とともに認められた。ウイルス粒子の電子顕微鏡観察では、N₂ ガスプラズマ 5 分処理でも明らかな形態変化が確認された。これらの結果から、プラズマ処理により、ウイルス表面にもエンベロップ膜やエンベロップ蛋白質が分解や損傷を受けたことが、ウイルスの感染価減少を引き起こした要因の一つと考えられる。また、プラズマ生成時の典型的な特徴として、熱の発生とともに、紫外線または各種酸化物質やラジカルの産生が挙げら

れる⁹⁾。これらの要素がウイルスの感染価低下に寄与している可能性もあり、今後詳細な解析が必要である。

まとめ

著者らの研究により、N₂ ガスプラズマ処理により蛋白質は熱変性とは異なる形で構造変化することが示された。また、N₂ ガスプラズマ処理によりウイルス蛋白質やゲノム RNA の分解や損傷、さらにウイルス粒子の表面構造の変化が引き起こされ、その結果として、インフルエンザウイルスは感染価が低下したものと考えられた。今回の結果は、N₂ ガスプラズマはインフルエンザウイルスに対し有効な滅菌法として示すことができた。今後は、一般的に滅菌が難しいとされるノンエンベロップウイルスのノロウイルスなどに対し N₂ ガスプラズマ処理を行い、それらが不活化できるのか解析が必要である。医療現場では、応用の可能性について検討するために、医療器具に対しプラズマ

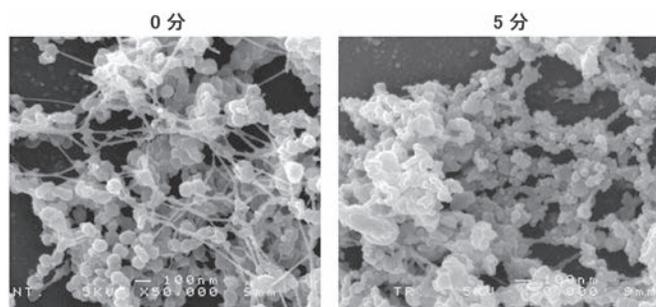


Fig. 9

Fig. 9 Changes in morphology of influenza virus after treatment with N_2 gas plasma.

奨尿液中のインフルエンザ A ウイルス (A/PR/8/34) をカバーガラス上で乾燥後、BLP-TES-No. 1 を用いて N_2 ガスプラズマ (1.5 kpps, 5 分) 処理を行った。プラズマ未処理サンプル (0 分) を比較対象とし、5kV、倍率 50,000 倍の条件で走査電子顕微鏡法 (SEM) によるウイルスの形態観察を行った。文献 7)、Figure 7 より改変後引用。



Fig. 10

Fig. 10 Potential future applications of plasma sterilization technology.

プラズマ滅菌技術の現状と将来展望について示した。医療器具等に対する滅菌処理としてのみならず、農業分野においては農作物の殺菌消毒が可能なプラズマ滅菌装置の開発や、プラズマを利用した環境浄化技術に応用されることが期待される。

処理を行い、実際にウイルスが不活化できるのかさらなる検討が求められる。

プラズマ発生時に利用されるガスはアルゴン、ヘリウム、窒素などの不活化ガス、あるいは酸素、水素や過酸化水素などの反応性の高いガスなどが用いられる。さらにこれらの気体が混合されて用いられる場合もある。プラズマ生成時に使用するガスの選定は、使用環境やプラズマ発生能力、反応性などを考慮すべき中で最も条件が検討しやすい要素である。プラズマ滅菌においては過酸化水素低温ガスプラズマ装置が広く用いられているが、化学裂傷事故の報告もあり¹⁰⁾、反応性の低い不活化ガスでの滅菌法の開発が求められる。そのようななか、著者らの研究グループは窒素ガスを用いたウイルスや細菌の不活化効果について報告しており¹¹⁾、他のガス種での不活化効果との比較検討が求められる。また、空気を利用したプラズマ滅菌技術の研究も進めている。

「プラズマ医療」と呼ばれている研究分野は近年、世界的にも急激な広がりを見せている。特にプラズマ処理による医療部材の表面改質や、プラズマによる滅菌の研究は盛んに研究が進められている⁴⁾。医療機器や医療器具として用いられているものの中には、フィルムが複雑なものや熱に弱い材質で形成されているもの、消毒に用いられる有機溶剤に耐性の低いものなどがある。ガスプラズマは低温かつ乾燥または低湿度状態での滅菌が可能であり、これらに対し有効であるか

今後検討していく必要がある。また、医療の分野にとどまらず、生活環境を浄化する技術への応用も進んでいる (Fig. 10)。例えば、プラズマ生成装置と空調機と組み合わせ、大気中にイオンを放出することで大気中の細菌やウイルスを不活化させることを謳った各種家電が販売されている。しかし、それらにおけるプラズマの発生の有無や効果および作用メカニズムについては不明な点が多く、詳細な解析が求められる。農業分野においては、農作物の殺菌、消毒について、日本国内ではポスト・ハーベスト農薬が認められておらず、収穫後に有効に農産物を殺菌、消毒する方法がない。収穫後の殺菌処理法としてプラズマ技術が利用できることが期待され、今後検討が求められる。このようにプラズマ滅菌技術は今後も幅広い分野での応用や活用が期待される。

謝辞

本総説執筆にあたり、農林水産省「農林水産業・食品産業科学技術研究推進事業」、生物系特定産業技術研究支援センター（生研センター）「イノベーション創出基礎的研究推進事業」および公益財団法人飯島藤十郎記念食品科学振興財団学術研究助成の支援を受けた。

文献

- 1) 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 上巻, オーム社, 東京, 1998.
- 2) プラズマ・核融合学会(編): カラー図解 プラズマエネルギーのすべて, 日本実業出版社, 東京, 2007.
- 3) Lieberman M. A. and Lichtenberg A. J.: プラズマ/プロセスの原理 第2版, 堀 勝, 佐藤久明, 丸善株式会社, 東京, 2010.
- 4) 浜口智志: プラズマ医療におけるプラズマ生体相互作用. プラズマ・核融合学会誌 87:696-703, 2011.
- 5) 作道章一(編著): 食と健康の高安全化 - 殺菌、滅菌、消毒、不活化、有害物除去技術 -, S&T 出版, 東京, 2012.
- 6) Sakudo A., Higa M, Maeda K, Shimizu N, Imanishi Y. and Shintani H.: Sterilization mechanism of nitrogen gas plasma: induction of secondary structural change in protein. *Microbiol Immunol.* 57: 536-542, 2013.
- 7) Sakudo A., Shimizu, N., Imanishi Y. and Ikuta K.: N₂ Gas Plasma Inactivates Influenza Virus by Inducing Changes in Viral Surface Morphology, Protein, and Genomic RNA. *Biomed Res Int.* 2013: doi:10.1155/2013/694269, 2013.
- 8) 山下佳雄, 木戸淳太, 後藤昌昭, 林 信哉: 酸素ラジカルを用いた低温プラズマ滅菌装置の滅菌特性と歯科用バーに対する滅菌性能. *日本口腔科学会雑誌* 61:16-23, 2012.
- 9) 佐藤岳彦: 大気圧非平衡プラズマ流による滅菌システムの開発. *日本機械学会誌* 110: 472 2007.
- 10) 若林ゆかり, 久保田早苗, 室 大輔: 過酸化水素低温ガスプラズマ滅菌装置による化学熱傷事故の検討. *医療機器学* 83:94-97, 2013.
- 11) 柳生義人, 作道章一, 三沢達也, 西岡輝美, 高井雄一郎: ガスプラズマを用いた農産物の殺菌技術. 食品分野における非加熱殺菌技術, 株式会社エヌ・ティー・エス, pp.167-178, 東京, 2013.