

無電極放電プラズマ光による 次世代水殺菌処理システムの研究開発 (第2報)

富士工業技術センター・山梨大学大学院医学工学総合研究部ワイン科学研究センター^{*1}
渡辺 誠・尾形 正岐・高柳 勉^{*1}・鈴木 俊二^{*1}

Research and Development of Water Sterilize System by Electrodeless Discharge Plasma Emission (2nd Report)

Fuji Industrial Technology Center, Interdisciplinary Graduate School of Medicine and
Engineering & The Institute of Enology and Viticulture, University of Yamanashi^{*1}

Makoto WATANABE, Masaki OGATA, Tsutomu TAKAYANAGI^{*1} and Syunji SUZUKI^{*1}

要 約

無限長マイクロ波線路構造により、従来のマイクロ波利用の装置に比ベシンプルな構成と操作性を実現した実用型の水殺菌用マイクロ波励起空気プラズマ光照射装置を製作し、各種微生物に対する効果や最適処理条件などの基本性能および殺菌原理などについて検討を行った。検討した殺菌装置において、 10^7 オーダーの大腸菌懸濁液を1パス処理したとき99.99%以上の殺菌が可能な最大処理能力は、マイクロ波出力1500W、真空度40Paの条件で19.4t/日であった。本殺菌装置を組み込んだソバもやし栽培システムを製作してその効果を検討した結果、栽培系外からの微生物汚染に対して 10^3 オーダーの菌数軽減効果が認められた。

Abstract

The water sterilization device that used electrodeless discharge plasma emission was developed. The developed device had a simple structure and operativeness. The development device was able to process the suspension of *E.coli* at the level 10^7 cfu/ml by 19.4t a day by the sterilization efficiency of 99.99% or more (power output of micro wave:1500W, vacuum of plasma chamber: 40Pa).The buckwheat sprouts cultivation system which used the developed device was constructed.The cultivation system reduced pollution of the microorganism from the outside to 1/1000.

1. 緒 言

多くの産業分野や生活施設において、微生物汚染のない良質な水が求められている。加熱殺菌は、最も基本的な殺菌方法であるが、熱エネルギーの消費や、熱に不安定な水中の成分の変質に問題を有している。また、塩素殺菌に代表される薬剤による殺菌法は、異臭やトリハロメタンなどの有害物質の生成、さらには耐性菌やクリプトスポリジウムといった耐性の原虫などによる汚染リスクといった問題を抱えている。昨今、こうした問題を回避する対策として、オゾン殺菌や殺菌灯による殺菌法が注目されているが、オゾン殺菌においては、余剰オゾンの除去管理、殺菌灯においては、多数本の殺菌灯の定期的交換などそれぞれ課題を有している。そこで本研究では、無電極放電方式のマイクロ波励起による空気プラズマ光の殺菌性に注目し、これを利用した新規水殺菌装

置の実用化を目指した装置の製作と、その基本性能および応用分野への適応性について検討を行った。従来のマイクロ波プラズマ発生装置は、導波管や整合器からなる立体回路で形成され操作も煩雑であるが、今回製作した装置は、無限長線路構造により、プラズマチャンパー部にマグネトロンを直結したシンプルな構成と操作性を実現可能である¹⁾。本殺菌装置の応用分野としては、前報²⁾において養魚用水の殺菌について検討を行い、魚病細菌の殺菌効果を確認しているが、本報においては、ソバもやし栽培における栽培水の殺菌処理の効果について検討を行った。もやしは、一般に豆・麦類・蕎麦などの種子を水に浸漬して発芽させたもので、調理材料として広く利用されている。加えて、もやしは低カロリーで、ビタミンCが豊富に含まれており、栄養バランスの取れた食材として注目されている。もよしの栽培は28~40℃、湿度80~90%という高温・多湿の環境下で行うことか

ら、栽培中の微生物増殖による問題が生じやすい。もやしの製造工程において発生する一般的な細菌として、*Pseudomonas*属、*Enterobacteriaceae*属、*Acinetobacter*属、*Moraxella*属、*Flavobacterium*属などが同定されている³⁾。我々は、前報⁴⁾においてソバもやし栽培中に観られる微生物の増殖とフローラを測定し、16S rRNAの部分塩基配列の解析により*Escherichia*属、*Enterobacter*属、*Pantoea*属を同定した。これらの菌の存在に加えて、もやしの生育を阻害する植物病原菌の増殖による生育不良や人にとって有害な食中毒菌などの混入は、もやし栽培上の大きな懸念である。プラズマ水殺菌システムを用いてもやし栽培水を効率的に殺菌できれば、このような微生物汚染を軽減できるとともに、循環型のプラズマ水殺菌システムとすれば水使用量を節約できると期待される。本研究では、プラズマ水殺菌システムを利用した循環型ソバもやし栽培システムを構築し、ソバもやし栽培中に混入した微生物排除をモデル実験として、プラズマ水殺菌システムを利用した循環型ソバもやし栽培システムの有効性を検討した。

2. 実験方法

2-1 殺菌装置の基本性能の検討

実験には、プラズマチャンバーの容積や処理管形状、最大マイクロ波出力のそれぞれ異なる4種類の殺菌装置(表1)を適宜用いた。また、殺菌試験には、表2に示した微生物を用い、液体培養後の菌液を6,000g×20min、4℃で遠心分離した後、0.8%NaCl滅菌水で所定の菌濃度に希釈して殺菌試験用の処理液とした。但し、バチルス菌(芽胞)は、市販の溶液をそのまま希釈して用いた。殺菌処理前後の生菌数は、10倍希釈列を作成し、2%寒天を添加した各菌用培地での寒天平板混釈法により計測した。

2-2 処理液中の無機イオンへの影響の検討

プラズマ光処理による水中の無機イオンへの影響の有無を調べるため、 Na^+ 、 NH_4^+ 、 K^+ 、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} の各種陽イオンを含む蒸留水500mlおよび F^- 、 Cl^- 、 NO_3^- 、 PO_4^{3-} 、 SO_4^{2-} の各種陰イオンを含む蒸留水500mlを、それぞれストレート長多管装置を用いて真空度100Pa、マイクロ波出力450W、流速0.5L/minの条件で循環処理を行い、一定時間毎にサンプリングした。サンプリングした試料は、イオンクロマトグラフによりそれぞれの成分の濃度を定量した。なお、本殺菌装置で循環処理を行う場合には、処理管の出口側に冷却管を配し、処理液の水温が上昇することを抑えた。以後の実験においても、循環処理を行う場合には同様の処置を講じている。

表1 殺菌試験に用いた殺菌装置の一覧

処理管構造	処理管サイズ (mm)	プラズマチャンバーサイズ(mm)	最大マイクロ波出力 (W)
ストレート長多管	$\phi=8$, L=500, ストレート管×6本	$\phi=46$, L=500	450
ストレート短多管	$\phi=8$, L=300, ストレート管×6本	$\phi=46$, L=300	450
ストレート単管	$\phi=16$, L=200, ストレート管×1本	$\phi=46$, L=200	450
U字管クロス	$\phi=12$, L=1000, U字管×2本	$\phi=46$, L=370	1500

表2 殺菌試験に使用した微生物の一覧

試験菌	培地組成 (1Lあたり)	培養温度(℃)
大腸菌 <i>Escherichia coli</i> NBRC 3972	polypepton 10g yeast extract 2g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1g	30
黄色ブドウ球菌 <i>Staphylococcus aureus</i> NBRC 12732	polypepton 10g yeast extract 2g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1g	30
サルモネラ菌 <i>Salmonella enterica</i> NBRC 3313	polypepton 10g yeast extract 2g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1g	30
腸球菌 <i>Enterococcus faecalis</i> NBRC 12946	polypepton 5g glucose 5g yeast extract 5g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5g	37
ビブリオ菌 <i>Vibrio parahaemolyticus</i> NBRC 12711	polypepton 10g yeast extract 2g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5g 人工海水 750ml	30
バチルス菌 栄研器材(株) 枯草菌芽胞液LK1000	polypepton 10g yeast extract 2g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1g	30

2-3 光触媒併用技術の検討

光触媒担持材としては、(株)光触媒研究所の光触媒ガラスビーズBL2.5BおよびL2.5DXをそれぞれ用い、ストレート単管装置の処理管内にこれらのビーズを充填して試験を行った。被処理液には、0.05mMローダミンB水溶液1Lを用い、真空度200Pa、マイクロ波出力450W、流速0.5L/minの各条件で循環処理を行い、一定時間毎にサンプリングして濃度の変化を分光光度計で測定した。また、対照として、テイカ(株)製の光触媒粉末PMT-600を被処理液に0.1%添加して同様に処理を行った。

2-4 殺菌原理の検討

10^7 オーダーの大腸菌NBRC3972の懸濁液をストレート短多管装置により1パス処理(マイクロ波出力450W、真空度100Pa、流速2L/min)を行い、処理後の菌液を試験管に分注し、15Wの蛍光灯(距離7cm)により一定時間照射したときの生菌数について計測することで、光回復の有無を調べた。

本装置から発生するプラズマ光の波長および強度は、(株)相馬光学製の紫外・可視用小型マルチチャンネル分光器S-2400を用い、プラズマチャンバー終端部近くのプラズマ点灯確認用の小穴($\phi=2$ mm)からの光により測定した。

2-5 ソバもやし栽培への応用検討

ソバもやし栽培試験には、タキイ種苗(株)の長野県産信州大そばを用いた。種子は、3時間水に浸漬後、水気をとり1昼夜、4℃、暗室で保存してから、栽培トレーあたり100mlを供試した。この種子を栽培トレーのネット上に均一に蒔き、約600mlの栽培水をトレーに加えた。栽培水に種子が接触しないことを確認した後、20-25℃の条件下で栽培を開始した。もやしの全長が10cm程度の大きさになったところで蛍光灯を照射し、24時間光照射下で栽培を続けた。

殺菌装置とソバもやし栽培系を組み合わせ、栽培水を自動的に排水し、これを殺菌処理して再度供給する自動化装置を製作した(図1参照)。

本栽培システムの動作手順は以下の通りである。

- ①栽培水は設定時間ごとに排水され、その都度プラズマ水殺菌システムで殺菌される。
- ②殺菌された栽培水は貯蓄タンクに送られ、栽培水として再利用される。
- ③貯蓄タンクからシャワーが噴霧される。
- ④栽培トレーを洗浄するための洗浄水が供給される。
- ⑤シャワー水、洗浄水はプラズマ水殺菌システムに送られ、殺菌された後、貯蓄タンクに送られ、栽培水として再利用される。
- ⑥栽培水が供給される。

表3は、本栽培システムにおける実験で設定したトレー水の基本交換条件である。なお、接続する殺菌装置は、ストレート短多管装置を用い、マイクロ波出力450W、真空度100Pa、流速0.5L/minの条件で操作を行った。

外部からの汚染菌に対する効果を検討するため、GFP (Green Fluorescent Protein) 発現プラスミド pGLO (BIO-RAD) を大腸菌 *Escherichia coli* HB101 K-12株に形質転換し、得られた形質転換体をモニター菌として用いた。モニター菌は、栽培システムを用いて定期的にトレー水の交換と殺菌を行っているソバもやしの栽培系に対して、播種5日後、栽培トレーあたり1×10³個を水交換操作が終了した直後に接種した。モニター菌のGFP生産大腸菌の検出は、モニター菌の接種から5日ないし6日目の栽培水をサンプリングして10,000倍に希釈し、その100μlをGFP検出プレート(100μg/mlアンピシリン、6mg/ml L (+)アラビノース含有LB寒天培地)に塗付し、37℃で24時間培養後、プレートに長波長UVを照射することで確認をした。サンプリングのタイミングは次の栽培水交換が始まる1時間前に揃えた。なお、終始水交換なしで同様の栽培を行ったものを対照としてモニター菌量および出現した全細菌数を比較した。

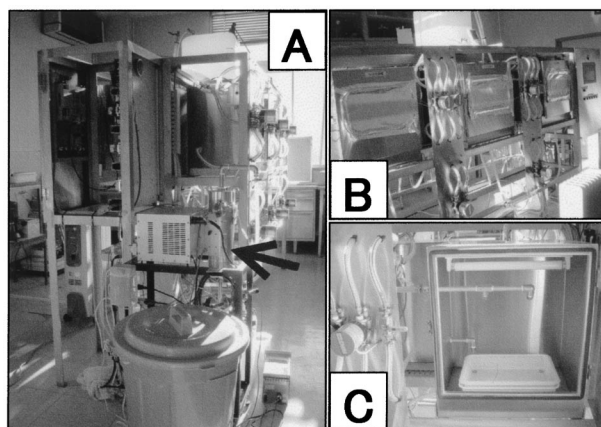


図1 プラズマ水殺菌システムを利用した循環型ソバもやし栽培システム

- (A) プラズマ水殺菌システムを利用した循環型ソバもやし栽培システムの全体像。矢印はプラズマ水殺菌システムを指す。ソバもやし栽培システムと直結し、栽培水のプラズマ水殺菌が行えるよう構築した。
- (B) ソバもやし栽培システムの全体像。6個の独立した栽培装置を設置し、6個の異なる栽培条件(給水、排水、シャワー散布など)で並列して栽培できるシステムとした。
- (C) ソバもやし栽培システムの中。シャワー用のノズル2基と蛍光灯を設置した。

表3 ソバもやし栽培システムにおける水交換の条件

栽培水の交換フロー	内 容
①散水前排水	栽培トレー中の水の排水 (20秒)
②シャワー散布	ソバもやしの洗浄 (60秒)
③洗浄水供給	栽培トレーの洗浄 (550ml)
④排水	トレー洗浄用に供給した水の排水 (60秒)
⑤供給	栽培水の供給 (550ml)

*水交換の回数(周期)は、実験により任意に設定可能。

ソバもやし栽培により栽培水中に蓄積する溶解成分に対する本殺菌処理の影響を検討するため、水交換なしで栽培を行ったトレーの水500mlをストレート長多管装置により、マイクロ波出力450W、真空度100Pa、流速0.5L/minの条件で循環処理し、一定時間毎にサンプリングを行った。サンプリングした栽培水は、フォーリン・チオカルト法⁵⁾によりカテキン換算としてのポリフェノール量を定量した。また、同様の処理条件で、カテキンの水溶液(約2mg/100ml)を処理した場合についても検討を行った。

3. 結果

3-1 殺菌装置の基本性能の検討

表4に10⁷オーダーの大腸菌懸濁液を99.99%以上殺菌可能な各プラズマ光殺菌装置の処理流速を示した。U字

管クロス装置は、最大マイクロ波出力が1500Wと大きい
ため、高真空で安定なプラズマ光点灯が可能である
ことから、最も処理能力が大きく、13.5L/minの流速が
可能であった(19.4t/日)。表5は、ストレート長多管
装置を用い、マイクロ波出力450W、真空度100Pa、流
速2L/minの処理条件で、大腸菌懸濁液の菌濃度を
変えたときの殺菌効果を比較した結果である。同じ
流速で処理した場合、処理液の初発菌濃度が低下
すると殺菌効率は高くなった。10⁶オーダーでは、
流速2L/minで殺菌効率100%となり、流速を4L/min
まで上げて99.99%以上の殺菌効率が得られた。但
し、10⁵より菌濃度を下げても、流速を4L/minより
更に上げて殺菌効率99.99%以上の値を得ることは
できなかった。

表4 各プラズマ光殺菌装置における10⁷オーダーの大腸菌を99.99%以上殺菌可能な最大処理量の比較

処理管構造	マイクロ波出力 (W)	真空度 (Pa)	処理量 (L/min)	処理前の生菌数 (cfu/ml)	処理後の生菌数 (cfu/ml)
ストレート長多管	450	100	2.00	2.7×10 ⁷	2.8×10 ²
ストレート短多管	450	100	1.50	1.5×10 ⁷	6.9×10 ²
ストレート単管	450	200	0.25	3.9×10 ⁷	2.0×10 ³
U字管クロス	1500	40	13.50	5.8×10 ⁷	1.8×10 ²

表5 大腸菌懸濁液の初発菌濃度の違いによる殺菌効率の比較

処理前の生菌数 (cfu/ml)	処理後の生菌数 (cfu/ml)	殺菌効率 (%)
1.3×10 ⁸	3.5×10 ⁴	99.973
7.3×10 ⁷	2.7×10 ³	99.996
4.6×10 ⁶	0	100.000

表6は、ストレート長多管装置を用いて、マイクロ波
出力450W、真空度100Paの条件で各種試験菌を99.99%
以上殺菌可能な最大処理量について比較した結果である。
試験した菌の中では、黄色ブドウ球菌は比較的殺菌され
難く、大腸菌やサルモネラ菌に比べ1パスあたりの処理
時間が2倍程度必要であった。なお、バチルス菌(芽胞)
は、用いた市販の試験菌濃度の制限から、他の菌と比べ
処理前の菌濃度が10⁴オーダーと低い条件で試験を行っ
ているが、99.99%以上の殺菌効率を得るには、流速を
黄色ブドウ球菌と同程度に遅くする必要があった。

3-2 処理液中の無機イオンへの影響の検討

図2、図3は、各種陽イオンおよび陰イオン濃度とプラ
ズマ光処理時間との関係を示したものである。陽イオン、
陰イオンともにプラズマ光処理による濃度の変化はほと
んど認められなかったことより、本法による殺菌処理に
よって、水中の無機イオン成分が変化する可能性は少な
いものと考えられる。

表6 各種試験菌に対する殺菌効果の比較

試験菌	処理流速 (L/min)	処理前の菌濃度 (cfu/ml)	処理後の菌濃度 (cfu/ml)	殺菌効率 (%)
大腸菌	2.0	2.7×10 ⁷	2.8×10 ²	99.999
黄色ブドウ球菌	1.0	3.0×10 ⁷	2.6×10 ²	99.999
サルモネラ菌	2.0	1.1×10 ⁷	1.2×10 ²	99.999
腸球菌	1.5	9.8×10 ⁶	1.1×10 ²	99.999
ビブリオ菌	1.5	4.5×10 ⁶	1.5×10 ²	99.997
バチルス菌(芽胞)	1.0	2.3×10 ⁴	0	100.000

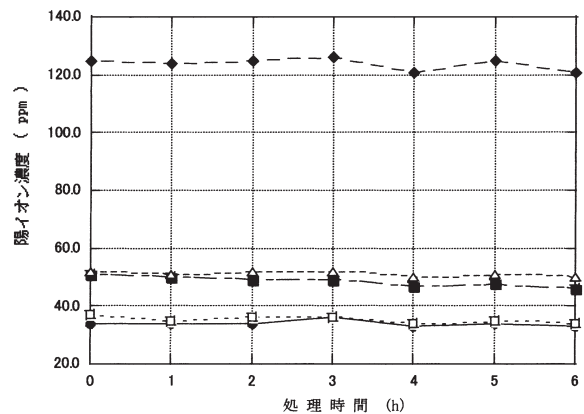


図2 陽イオン混合溶液のプラズマ光殺菌処理による処理時間と濃度の関係

● : Na⁺, ■ : NH₄⁺, ◆ : K⁺, △ : Mg²⁺, □ : Ca²⁺

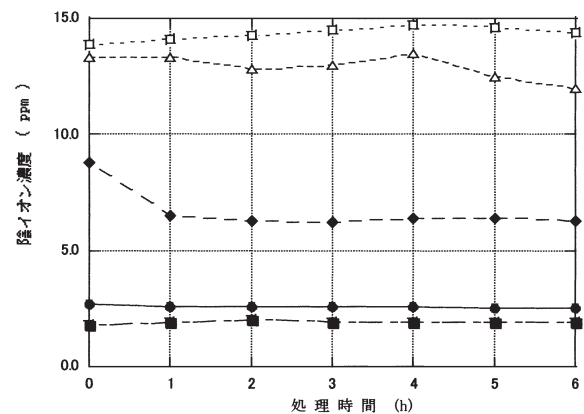


図3 陰イオン混合溶液のプラズマ光殺菌処理による処理時間と濃度の関係

● : F⁻, ■ : Cl⁻, ◆ : NO₃⁻, △ : PO₄³⁻, □ : SO₄²⁻

3-3 光触媒併用技術の検討

プラズマ光処理に光触媒粉末を併用したときのロー
ダミンB色素の分解を図4に示した。また、光触媒ビー
ズBL2.5BおよびL2.5DXを併用して同様の実験を行っ
た結果を図5、図6にそれぞれ示した。光触媒ペース
トL2.5DXは、処理時間3hまでの比較結果から、粉末と

ほぼ同程度の分解性能を有していた。従って、処理管内に光触媒を保持させながら効率的に液体処理ができる可能性が示された。しかしながら、光触媒ビーズL2.5DXを処理管に充填して大腸菌懸濁液を1パス処理した場合と、触媒なしで同様の処理を行った場合の殺菌効果を比較した結果では、光触媒併用の有効性を認めることはできなかった。

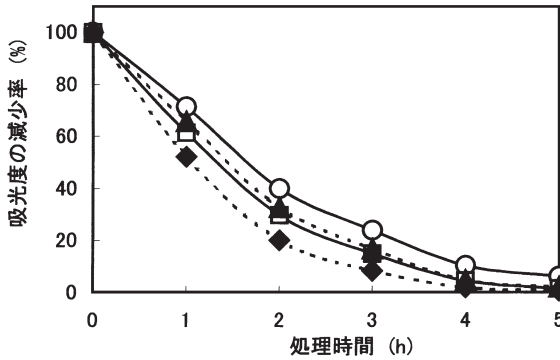


図4 プラズマ光+光触媒粉末処理における処理時間とローダミンB色素の吸光度減少率の関係

○ : A197, □ : A256, ▲ : A354, ◆ : A550

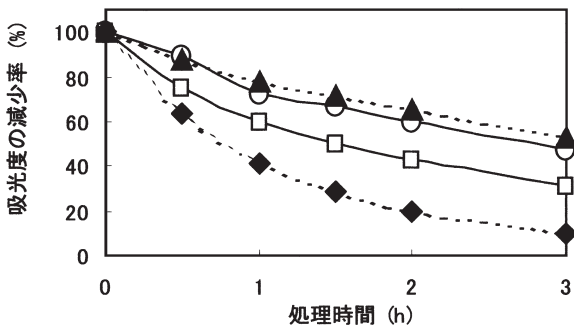


図5 プラズマ光+光触媒 (BL2.5B) ビーズ処理における処理時間とローダミンB色素の吸光度減少率の関係

○ : A197, □ : A256, ▲ : A354, ◆ : A550

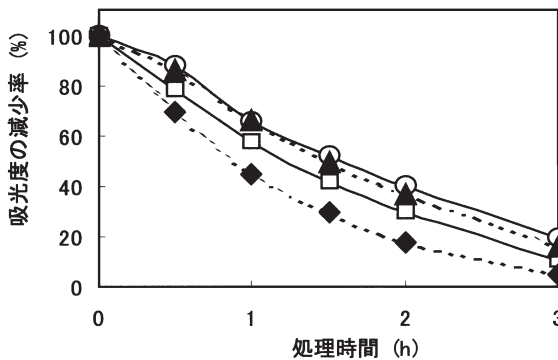


図6 プラズマ光+光触媒 (BL2.5DX) ビーズ処理における処理時間とローダミンB色素の吸光度減少率の関係

○ : A197, □ : A256, ▲ : A354, ◆ : A550

3-4 殺菌原理の検討

表7は、殺菌処理後の大腸菌懸濁液に、至近距離での蛍光灯を一定時間照射したときの光回復について検討した結果である。殺菌処理により生菌数が 10^7 から 10^4 オーダーまで減少した大腸菌懸濁液は、蛍光灯の光を照射することで 10^6 オーダーまで回復する現象が示された。光回復は、殺菌灯による紫外線殺菌において観察される現象^{6) 7)}であることから、本法においても、殺菌灯と同様な殺菌原理が関与していることが示された。

表7 殺菌処理後の大腸菌懸濁液への蛍光灯照射による光回復現象の確認試験

蛍光灯照射時間 (h)	生菌数 (cfu/ml)
0.0	1.1×10^4
0.5	1.3×10^6
1.0	2.1×10^6
1.5	2.2×10^6
2.0	2.0×10^6

図7は、マイクロ波出力1500W、真空度40Paの条件で運転中のU字管クロス装置からの発光を分光器により測定した結果である。本装置では、200~400nmの測定範囲において、殺菌灯で有効とされる254nm付近の波長を含む多数の波長の光が照射されていることが確認できる。

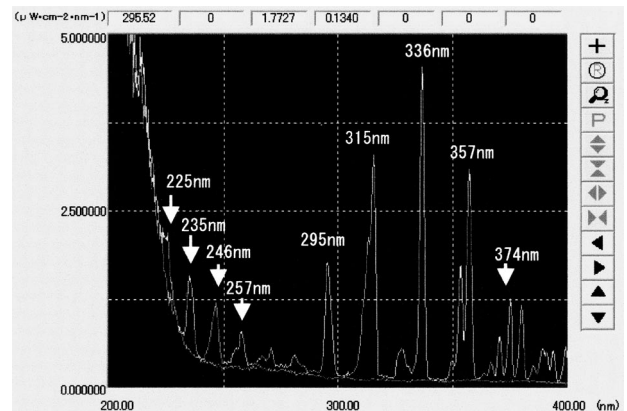


図7 プラズマ光殺菌装置からの光の分光分析

図8は、真空度40PaのU字管クロス装置において、マイクロ波出力を変えたときに検出される代表的な各波長の光の強度変化についてプロットした結果である。また、図9は、U字管クロス装置において、マイクロ波出力を1500Wで固定し、真空度を変化させて同様に各波長の強度をプロットしたものである。本殺菌装置では、マイクロ波出力と真空度がそれぞれ高い程、殺菌効率も高くなる傾向が示されているが、分光測定においてもこれに相関した結果が得られた。

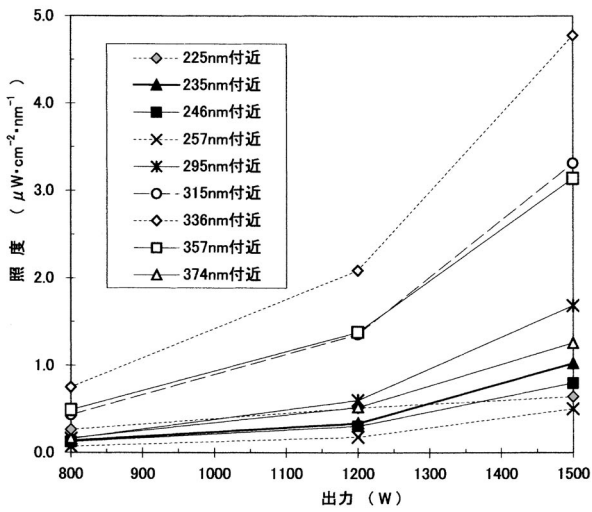


図8 マイクロ波出力とプラズマ光の発光強度の関係

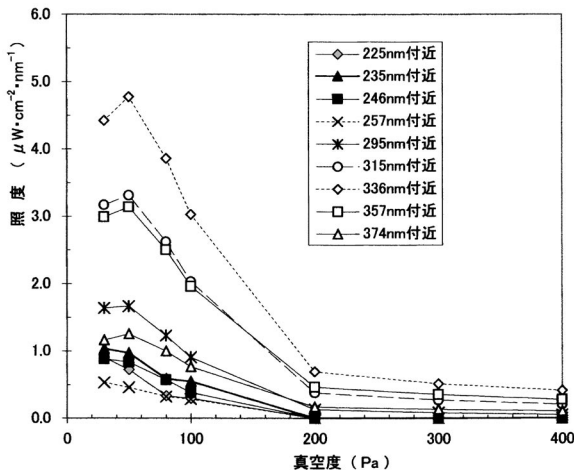


図9 真空度とプラズマ光の発光強度の関係

3-5 ソバもやし栽培への応用検討

微生物混入モデルを構築するためには、ソバの種子に初めから付着している細菌（種子付着細菌）が有していない形質をモニター菌に付与する必要があった。アンピシリン耐性能、カナマイシン耐性能、あるいはβ-galactosidase生産能を付与した大腸菌をモニター菌に用いたところ、種子付着細菌もまた同形質を持っており、これらのモニター菌を特異的に選抜することは不可能であった。ソバ種子付着細菌は長波長UV下において自家蛍光を示すことがなかったことから、GFP生産大腸菌をモニター菌として利用できる可能性が考えられた。pGLOを組み込んだ大腸菌をソバもやし栽培水中に接種し、6日後に栽培水から再分離を試みたところ、GFP生産大腸菌の存在を特異的に確認した(図10)。以上の結果より、ソバ種子の播種5日後にGFP生産大腸菌を接種し、その5日ないし6日後に栽培水を回収することにより、もやし栽培中に混入した微生物の動向を確認できる微生物混入モデルを確立した。

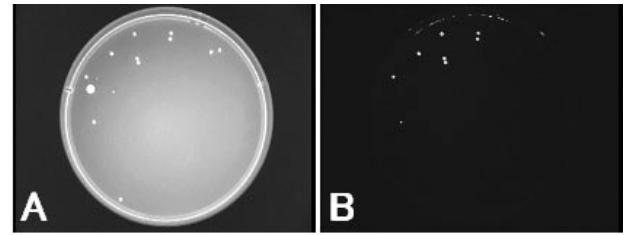


図10 微生物混入モデルに用いたGFP生産大腸菌の検出例

- (A) 白色光下での観察 (コロニー20個)
- (B) 長波長UV照射下での観察 (GFP生産大腸菌11個)

微生物混入モデルを用いてソバもやし栽培システムの有効性を検討した結果、1日1回24時間周期の水交換では、水無交換区に比べモニター菌の数は半数程度しか減少しなかった(表8)。しかしながら、プラズマ殺菌して直ぐの栽培水からはモニター菌は全く検出されなかったことから、1) モニター菌で汚染した栽培水を栽培トレー内から完全に排除できなかった、あるいは、2) ソバもやし、特に根に付着したモニター菌を洗い流すことができなかった、ことがモニター菌を高率に排除できなかった原因であると考えられた。そこで、1日に行う水交換の回数を2回(12時間周期)、3回(8時間周期)とし、同様の実験を行った。その結果、1日2回水交換で1乗、3回水交換で2乗オーダーのモニター菌排除効果が認められた(表8)。栽培水中の全アンピシリン耐性細菌数は、水交換の回数に関わらず、水交換による大きな影響を受けなかったことから、本栽培システムを用いても種子付着細菌数を減らすことは困難であると思われた。以上の結果から、ソバもやし栽培中に混入した微生物を排除するシステムとして、また水使用量軽減システムとして、プラズマ水殺菌システムを利用した循環型ソバもやし栽培システムの有効性は伺えたが、この栽培条件では期待されたほどの排除効果は認められなかった。

表8 プラズマ水殺菌システムを利用した循環型ソバもやし栽培システムの有効性の検討

	栽培水 (cfu/ml)	
	全細菌数*	GFP生産大腸菌数
水無交換	2.02×10 ⁶	7.27×10 ⁴
1日1回水交換	1.94×10 ⁶	3.77×10 ⁴
1日2回水交換	1.38×10 ⁵	5.63×10 ³
1日3回水交換	1.67×10 ⁵	2.80×10 ²

*アンピシリン耐性細菌数

先の実験結果を踏まえ、本栽培システムの諸条件を次のように変更することで改善を試みた。栽培トレー内の

効率的な排水、洗浄を行うため、散水前排水およびシャワー散布を60秒に設定した。また、洗浄水供給後の排水時間を120秒に設定した。その結果、1日3回（8時間周期）および1日4回（6時間周期）で水交換を行った場合、それぞれ2乗および3乗オーダーの排除効果が得られた（表9）。加えて、栽培水中の全アンピシリン耐性細菌数でも、1日3回水交換では2乗の、1日4回水交換では3乗オーダーの排除効果が得られた。

本装置により殺菌処理されたソバもやし栽培水は、未処理のものに比べて透明度が高かったことより、栽培水中の有機物が分解されている可能性が示唆された。そこで、水交換無しで常法により栽培を行った後のトレー中の栽培水500mlを、ストレート長多管装置により循環処理（マイクロ波出力450W、真空度100Pa、流速0.5L/min）して、処理時間とポリフェノール量の関係を測定した結果、処理によってポリフェノール成分が分解されていることが示された（図11）。また、栽培水の代わりにカテキン水溶液を用いて同様の実験を行った結果、カテキンは栽培水に比べ急速に分解したことより、ポリフェノールなどの有機物を分解可能であることが確認された（図12）。なお、栽培水のポリフェノール分解がカテキンに比べゆっくりなのは、発色試薬に反応するポリフェノール以外の様々な成分が混在しているためと考えられる。

表9 プラズマ水殺菌システムを利用した循環型ソバもやし栽培システムの諸条件の検討

	栽培水 (単位: cfu/ml)	
	全細菌数*	GFP生産大腸菌数
水無交換	3.01×10^6	3.83×10^4
1日3回水交換	1.17×10^4	4.00×10^2
1日4回水交換	7.99×10^3	3.00×10^1

*アンピシリン耐性細菌数

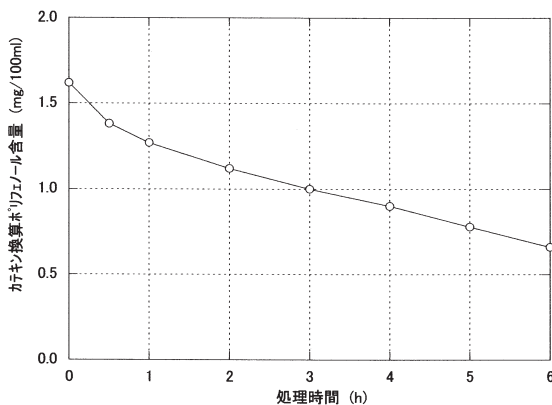


図11 プラズマ光処理時間とソバもやし栽培水中のポリフェノール含量の関係

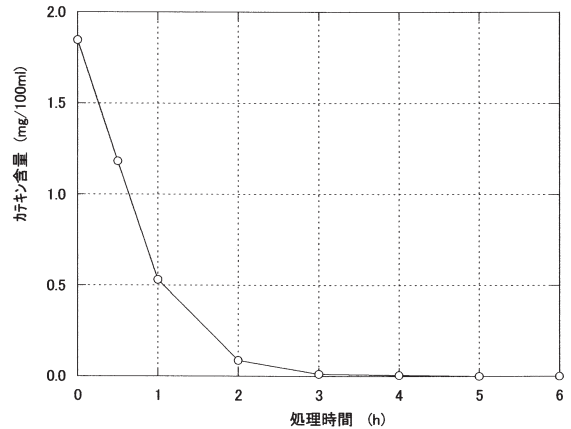


図12 プラズマ光処理時間とカテキン溶液中のカテキン含量の関係

4. 考察

製作した殺菌装置は、原理的にはプラズマ光照射とマイクロ波を同時に照射することが可能な装置である。マイクロ波の殺菌作用については、加熱作用と非加熱作用が考えられるが、本研究で主に行った短時間の1パス処理においては、その影響は小さいと考えられる。処理条件により異なるが、1パス処理後の水の温度は、通水開始直後を除けば40℃を越えることはなかった。マイクロ波の非加熱効果については、その電気的効果が報告されている⁸⁾が、一方で、水中の微生物への影響はないとの報告もある⁹⁾。我々は、大腸菌やサルモネラ菌を数十Wのマイクロ波照射により37℃で培養し、温浴中での培養と比較したが、菌の増殖阻害や変異といった差は認められなかった。本法による殺菌処理の効果は、主にプラズマ光によるものと考えられる。大腸菌の懸濁液を調製する際に、0.8% NaCl水溶液の代わりに培地を用いて希釈した場合、殺菌効果は著しく低下する。また、菌濃度が高くなることでも殺菌効果は低下を示した（表5）。これは、処理される液体の濁度が高くなり、光の透過率が低下した状態で殺菌効率も下がることを示している。処理する液体の光の透過率が高くなるに連れて、一定の殺菌効率を得るための1パスあたりの処理流速も増やすことが可能となるが、この流速の増加は、透過率が十分に高い条件で限界に達する。これは、プラズマ光の被照射時間そのものが、流速増加により短くなるためである。本法により発生する空気プラズマ光には、多くの波長の光が含まれている（図7）。前報¹⁾においては、200nm以下の真空紫外光も含まれていることが、酸素をオゾン化可能であることによって示されている。しかしながら、真空紫外光は減衰が激しいため、殺菌にはあまり関与していないものと考えられる。殺菌灯による殺菌は、核酸のプリンおよびピリミジン塩基への

作用により、塩基の二量体形成を引き起こすことが原因であり、250~260nm付近がその作用の極大を示す波長であることが明らかにされている。また、大腸菌などいくつかの種類の微生物においては、紫外線殺菌後に適当な可視光線(510nm以下)の照射下で、核酸に生じた変異を修復する光回復現象が示されている^{10) 11)}。本殺菌法により殺菌処理した大腸菌でも光回復現象が確認された(表7)。このことは、本殺菌法においても、殺菌灯と同様な波長域の光の作用が効果的であることを示している。各種の微生物に対する本殺菌法の効果を検討した結果(表6)は、殺菌灯における各種の微生物の必要殺菌線量を調べた文献値¹³⁾とある程度相関した結果となっている。従って、殺菌灯での実験結果は本殺菌法の応用において有益な情報を与えるものと考えられる。殺菌灯(特に低圧水銀ランプ)が核酸の二量体化に有効な波長域の紫外線の特異的に発光するのに比べて、本殺菌装置のプラズマ光は、より広範囲な波長域で多様な光を発光している(図7)。二量体化に限って言えば、殺菌灯の方が効率が良いことになるが、光による殺菌については、未だ明らかにされない作用も報告されていることから、こうした作用の解明が進めば、本殺菌法のより有効な利用法が見出されるかもしれない。その際、本殺菌装置は、プラズマチャンバー内に各種のガスを導入することで、発光スペクトルを変更することも可能であるので、殺菌条件をより最適化させることも期待できる。二量体化と異なる光の殺菌作用として大垣らは、クリプトスポリジウムにおいて、紫外線照射によって生成した塩基の二量体が修復されても、感染力の回復が認められないことを報告している¹²⁾。

ミネラルウォーターは、その製造法により4種類に分類されるが、殺菌・除菌については、85℃で30minもしくはそれと同程度の効果が認められる方法との基準がある¹³⁾。加熱殺菌は、その確実性から多くの工場で採用されているが、成分の変化が問題とされる場合もある。本殺菌法は、ミネラル成分の濃度に影響を与えないことが示されたことから、この点では有効な殺菌法と考えられる(図2, 図3)。しかしながら、ミネラルウォーターの製造は、短時間に多量の水を処理することが要求されることから、現時点では適応は難しい。加熱法と同程度の殺菌法であることを確認するには、腸球菌を99.999%以上殺菌可能な殺菌法で、且つ処理後の水を20℃で2週間培養しても菌の増殖が認められない必要がある。殺菌効率の基準だけを考えても、ストレート長多管装置では、1.5L/min程度しか処理できない(表6)。殺菌後の培養での菌増殖も考慮すれば、安全のためにさらに処理量を抑える必要がある。本殺菌装置では、プラズマチャンバー部の真空度を上げると、プラズマ光の発光強度が強まって殺菌効率が高まるが、高真空状態ではプラズマの点灯が不安定になってしまう問題がある。これを安定

化するためには、マイクロ波出力をアップする必要があるが、処理量のアップには、真空度とマイクロ波出力のさらなる最適化や筐体や処理管構造とのバランス改善などを引き続き検討する必要がある。

光触媒ビーズを処理管に保持することで、処理液に光触媒粉末を添加するのと同程度の触媒活性を得ることができた。触媒を処理管に保持できれば、処理後の水から触媒を分離する工程が不要となる利点がある。但し、今回検討した光触媒ビーズを併用しても、1パス処理における殺菌においては、その効果が認められなかった。1パスの処理時間では、光触媒の効果が十分発揮されなかったものと考えられる。光触媒の併用は、殺菌よりもむしろ難分解性の有機物質の分解除去などに有効であるかもしれない。堀越らは、光触媒への紫外線照射と同時にマイクロ波照射を併用することで、水中の汚染物質の分解速度が促進される場合があることを報告している¹⁴⁾。本殺菌装置では、紫外線とマイクロ波が原理的に同時照射可能であるので、同様の作用が期待できる。

本殺菌装置を導入したソバもやし栽培システムへの応用検討では、本殺菌装置で適宜栽培水を殺菌することで、微生物汚染を軽減し、さらに殺菌した栽培水を再利用することで、水使用量の節約を目指している。水使用量の節約については殺菌した栽培水を循環させることにより、達成した。外部から添加したモニター菌の増殖は、水交換を行わずにソバもやしを栽培した場合(約 10^4 cfu/ml)に比べ、本栽培システムを用いることにより約 10^1 cfu/mlにまで汚染を軽減することが可能であった。しかしながら、目指すところの100%の排除率は達成できなかった。プラズマ水殺菌システムで殺菌した栽培水を回収し、調べたところ、100%の殺菌は達成されていた。このことは、モニター菌を100%排除できなかった原因が、プラズマ水殺菌システムの問題ではなく、栽培システムの構造上の問題あるいはソバもやしという植物を介した問題である可能性を示唆する。本研究において、栽培システムの諸条件を変更したところ、モニター菌の排除効果が飛躍的に改善された(表9)。このように、栽培システムの更なる条件変更および栽培システムの構造を改良することにより、もやし栽培で懸念される微生物汚染を高効率に排除できると考えられる。

本殺菌装置によるソバもやし栽培水およびカテキン水溶液の処理によって、ポリフェノールが分解可能であることが示された。ソバもやし栽培においては、栽培水に蓄積する溶解成分は、生育に影響を与えなかったが、キュウリなどの植物では、水耕栽培において栽培水中に蓄積するポリフェノール類が生育阻害を引き起こすことが報告されている^{15) -17)}。従って、本殺菌装置により栽培水を処理することで、こうした作物の水耕栽培の問題を解決できる可能性がある。先に光触媒併用による有機物分解について述べたが、本殺菌装置では、単独でも水

中の有機物を分解できることが示された。このことは、水耕栽培だけでなく、半導体工業などの超純水製造装置における微量有機物の分解や、工場排水中の難分解性有機物の処理に本殺菌装置が利用できる可能性を示している。その際、本殺菌装置の特徴であるプラズマガス種の変更による、標的物質に対するより効果的な光の選択が有効であるかもしれない。

5. 結 言

無限長マイクロ波線路構造により、従来のマイクロ波利用の装置に比べシンプルな構成と操作性を実現した実用型の水殺菌用マイクロ波励起空気プラズマ光照射装置を製作し、最適処理条件や代表的な微生物に対する殺菌効果などの基本性能を把握することができた。また、本殺菌法の主な殺菌原理の解明や、殺菌以外への適応の可能性を示すことができた。本殺菌装置の実際の応用を念頭に、本殺菌装置を組み込んで連続的に処理が可能なソバもやし栽培システムを構築した。このシステムを用いた実証試験では、排出される水の殺菌が可能であることや、外部からの汚染菌に対する一定の排除効果を確認することができた。今回構築した栽培システムは、もやし以外の植物工場へも将来的に応用できる可能性があり、栽培水を再利用する循環型システムとしての水資源の節約や、排水前の処理による環境保護などに役立つものとして期待される。現状では、本殺菌装置を短時間に多量の水を低コスト処理する必要がある水産分野や、飲料製造現場へ適応することは難しい。これをクリアするには、マイクロ波の高出力化やプラズマチャンバーおよび処理管構造の再考による発光の安定化などの検討が引き続き必要と思われる。

参考文献

- 1) 渡辺誠・橋本拓也・尾形正岐・佐藤幸治：山梨県総合理工学研究機構研究報告，第1号，p.41-45 (2006)
- 2) 土田奈々・三浦正之・三井潔：山梨県総合理工学研究機構研究報告，第1号，p.46-50 (2006)
- 3) 宮尾茂雄・山本敦芳：New Food Industry, Vol. 30, No.1, p.27-30 (1988)
- 4) 高柳勉・齋藤誠也：山梨県総合理工学研究機構研究報告，第1号，p.51-53 (2006)
- 5) 辻政雄・木村英生：山梨県工業技術センター研究報告，Vol. 15, p.34 (2000)
- 6) Willy J. Masschelein：紫外線による水処理と衛生管理，技報堂出版 p.62-63 (2004)
- 7) J.D.ワトソン：遺伝子の分子生物学，化学同人，p.225-280 (1985)
- 8) Straub K. D. *et al.* : Ann.N.Y.Acad.Sci., 247, p.292 (1975)
- 9) 佐藤誠吾・高木智子・平山鋼太郎：マイクロ波効果・応用シンポジウム講演要旨集，p.134-135 (2001)
- 10) 金子光美：月刊浄化槽，No.220，8月号，p.35-41 (1994)
- 11) 大森豊明：水，NTS，p.108-119 (2006)
- 12) 鈴木基之：環境工学，日本放送出版協会，p.93-114 (2003)
- 13) ミネラルウォーター類の殺菌・除菌効果の確認方法 (S62.8.18課長通達 衛食第130号)
- 14) 堀越智・日高久夫：マイクロ波効果・応用シンポジウム講演要旨集，p.54-55 (2002)
- 15) 浅尾俊樹・富田浩平，Pramanik, Md.H.R.：園雑学，68 (4)，p.847-853 (1999)
- 16) 瀧嶋康夫 他：農業及園芸，第34巻，10，p.1573-1574 (1959)
- 17) 土屋一成：北海道土壤肥料懇話会，第38回シンポジウム (1991)