

# 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<sup>\*1</sup>  
渡辺 誠・尾形 正岐・高柳 勉<sup>\*1</sup>・鈴木 俊二<sup>\*1</sup>

## 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<sup>\*1</sup>  
Makoto WATANABE, Masaki OGATA, Tsutomu TAKAYANAGI<sup>\*1</sup> and Syunji SUZUKI<sup>\*1</sup>

### 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、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<sup>1)</sup>。本殺菌装置の応用分野としては、前報<sup>2)</sup>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<sup>3)</sup>。我々は、前報<sup>4)</sup>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、パチルス菌(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濁法により計測した。

### 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、 $\text{Na}^+$ 、 $\text{NH}_4^+$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ の各種陽イオンを含む蒸留水500mlおよび $\text{F}^-$ 、 $\text{Cl}^-$ 、 $\text{NO}_3^-$ 、 $\text{PO}_4^{3-}$ 、 $\text{SO}_4^{2-}$ 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
パチルス菌 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<sup>7</sup>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  $1 \times 10^3$  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100  $\mu$ lをGFP検出プレート(100  $\mu$ g/ml アンピシリン、6 mg/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。

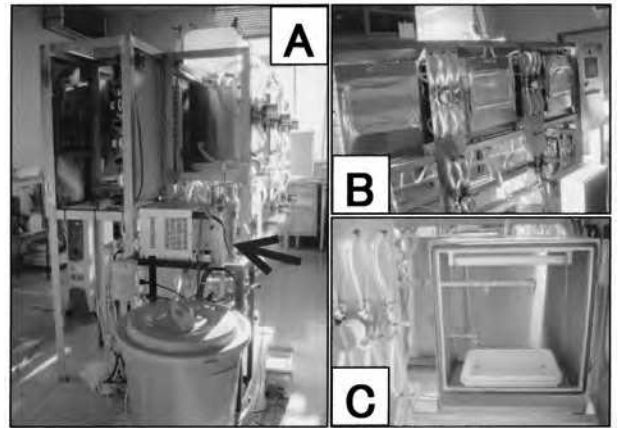


図1 プラズマ水殺菌システムを利用した循環型ソバもやし栽培システム

- (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<sup>5)</sup>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2 mg/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 $10^7$ 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と大きいから、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。10<sup>6</sup>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、10<sup>5</sup>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10<sup>7</sup>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 <sup>7</sup>	2.8×10 <sup>2</sup>
ストレート短多管	450	100	1.50	1.5×10 <sup>7</sup>	6.9×10 <sup>2</sup>
ストレート単管	450	200	0.25	3.9×10 <sup>7</sup>	2.0×10 <sup>3</sup>
U字管クロス	1500	40	13.50	5.8×10 <sup>7</sup>	1.8×10 <sup>2</sup>

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 <sup>8</sup>	3.5×10 <sup>4</sup>	99.973
7.3×10 <sup>7</sup>	2.7×10 <sup>3</sup>	99.996
4.6×10 <sup>6</sup>	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10<sup>4</sup>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 <sup>7</sup>	2.8×10 <sup>2</sup>	99.999
黄色ブドウ球菌	1.0	3.0×10 <sup>7</sup>	2.6×10 <sup>2</sup>	99.999
サルモネラ菌	2.0	1.1×10 <sup>7</sup>	1.2×10 <sup>2</sup>	99.999
腸球菌	1.5	9.8×10 <sup>6</sup>	1.1×10 <sup>2</sup>	99.999
ビブリオ菌	1.5	4.5×10 <sup>6</sup>	1.5×10 <sup>2</sup>	99.997
バチルス菌(芽胞)	1.0	2.3×10 <sup>4</sup>	0	100.000

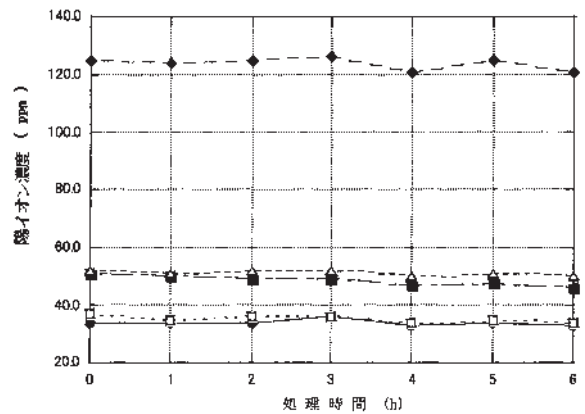


図2 陽イオン混合溶液のプラズマ光殺菌処理による処理時間と濃度の関係

● : Na<sup>+</sup>, ■ : NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, ◆ : K<sup>+</sup>, △ : Mg<sup>2+</sup>, □ : Ca<sup>2+</sup>

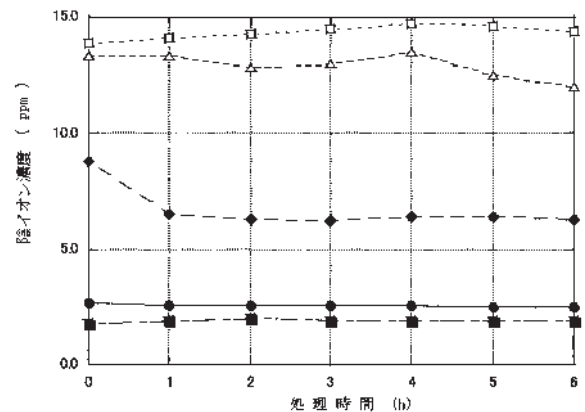


図3 陰イオン混合溶液のプラズマ光殺菌処理による処理時間と濃度の関係

● : F<sup>-</sup>, ■ : Cl<sup>-</sup>, ◆ : NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, △ : PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>, □ : SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>

### 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。光触媒ビーズL2.5DXは、処理時間3hまでの比較結果から、粉末と