

誘電体バリア放電を用いたマンゴー軸腐病の殺菌

木之下 俊輔^{a)}・土田 潤一郎^{a)}・迫田 達也^{b)}
田澤 和俊^{c)}・市川 博章^{c)}

Sterilization of Stem-end rot of Mango using a dielectric barrier discharge source

Shunsuke KINOSHITA, Junichiro TSUCHIDA, Tatsuya SAKODA
Kazutoshi TAZAWA, Hiroaki ICHIKAWA

Abstract

Apple mango has been a representative product in Miyazaki. However, Stem-end Rot of mango is likely to corrupt the fruit during transportation, which may lead to a decrease in the reliability of branded mangoes. Therefore, it is necessary to perform sterilization. So we made a sterilization device with a dielectric barrier discharge source. In order to confirm the usefulness of this device and the factor of sterilization, we performed sterilization tests using *Lasiodiplodia theobromae* and mango fruit inoculated with the fungus. As a result, it was possible to obtain sterilization effect both fungus and mango fruit.

Keywords: Apple Mango, DBD, Sterilization, Stem-end Rot

1. はじめに

現在、宮崎県では「儲かる農業の実現」を目的の一つに、新たな需要創出のため「フードビジネスの推進」を図っている。その理由として、宮崎県は農業産出額全国 5 位⁽¹⁾と農業が盛んであることが挙げられる。出荷量の多い青果物はきゅうり、マンゴー、ピーマン、さといもがあり、きゅうりは全国で 1 位、マンゴーとピーマンは 2 位、さといもは 3 位となっている⁽²⁾。そのため宮崎県は、食料供給基地として青果物などの販路拡大のために、大消費地である東京都や大阪府への搬送や海外への輸出拡大を推進している。

しかし、食料供給基地としての役割が大きい反面、大消費地である東京都や大阪府から遠隔であることが挙げられる。例えば陸運の場合、東京都へは約 1,400 km、大阪府へは約 600 km である。また、海外への輸出も行っている。

そのため、物流に極めて不利な状況となり、鮮度保持が困難であることに加え、出荷から消費までの間にカビの発生や腐敗、その他の菌による病害の症状が現れる。この解決策として、出荷から消費の段階で病害を抑える手法としては農作物の収穫後に農薬を用いるポストハーベスト農薬があるが、これは食品衛生法により禁止されているため有効な手段は存在しない。

宮崎県の農産物として有名なマンゴーも鮮度保持及び病害の影響を受けている。マンゴーは全国の約 3 割のシェアを占めており、出荷量は 1,126 t/年である⁽²⁾。また、「太陽のタマゴ」としてブランド化しており、全国的にも有名である。しかし、マンゴーには「軸腐病」という病害が発生している。この病害は、収穫時には症状が全く現れず、食べごろと言われる収穫後 3～5 日の消費者のもとへ届く時期に軸周辺に現れる。そのため収穫時の選別が不可能であり、クレームや信頼性を損ねる原因になっている。

以上の背景から、著者等は誘電体バリア放電を用いることで、マンゴー鮮度保持技術として応用を目指している。誘電体バリア放電 (Dielectric Barrier Discharge) とは、オゾンナイザー放電とも呼ばれ、1857 年に Siemens がオゾン

a) 工学専攻エネルギー系コース大学院生

b) 電気システム工学科教授

c) 矢崎エナジーシステム

合成するための方法として考案したことに端を発する⁽³⁾。現在では、空気清浄機などの家電製品に必須の機能として装備され、また有害物質の除外装置をはじめとするエネルギー・環境分野への産業応用が急速に進展している⁽⁴⁾⁽⁵⁾。さらに近年では、新領域における反応性プラズマの生成、バイオメディカル応用、新物質創成など、最先端のプラズマ科学を支える基本技術として重要な役割を果たしている⁽⁶⁾⁽⁷⁾。本研究では、誘電体バリア放電により生成したプラズマを直接照射することで殺菌を試みている。プラズマの直接照射は、応用例は多数あるものの、放電プラズマと照射対象との基本的な相互作用メカニズムについては未だ未解明な点が多い⁽⁸⁾。

本報告では、実際の病害発生環境下を模擬するために、寒天培地表面上に塗布した軸腐病の病原菌 (*Lasiodiplodia theobromae*) に対して、プラズマを発生する装置 (以下バリア放電殺菌装置) を用いた殺菌実験を行った結果について述べる。また、実利用を目的に、本県で収穫されたマンゴー果実に軸腐病の病原菌を接種したものを対象に、バリア放電殺菌装置を用いて殺菌実験を行い、軸腐病の防除効果及び発病の遅延効果について検討した。

2. 実験

2.1. 軸腐病菌の殺菌試験

2.1.1. 実験方法

図 1 に実験装置の概略及び装置の様子を示す。また、図 2 に使用した菌の発芽の有無の様子を示す。下端を密閉した直径 6 mm のガラス管内部に封入した銅粉へ、周波数 5 kHz, 10 kHz, 15 kHz, 18 kV_{pp} の電圧を印加し、ガラス管下端 0.5 mm に設置した直径 6 mm の寒天培地との間に誘電体バリア放電を発生させた。なお、本装置及び寒天培地の直径はマンゴー果実の軸部と同等の直径となるように設定した。処理時間においては、無処理の他に 3 s 間隔で最大 12 s 処理し、N 数はそれぞれ 3 とした。

軸腐病菌の懸濁液作成手順を図 3 に示す。処理対象の病原菌として、マンゴー軸腐病から分離した胞子を滅菌水 1 ml へ適量供試し、 4.0×10^3 個/mL になるよう調整した。処理後は 25 °C に保ったインキュベータによって培養を行い、接種より 12 時間後に光学顕微鏡を用いて菌糸の発芽の有無を確認し、無処理の場合を 100 % とした生存率を算出した。

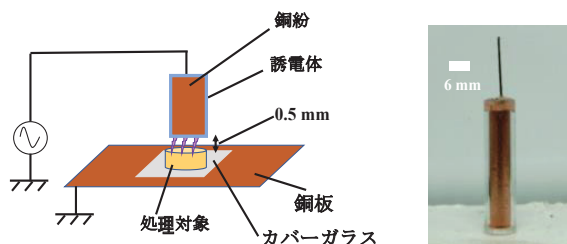


図 1 実験装置の概要及び装置の様子



(a) 発芽(生存) (b) 未発芽(死滅)

図 2 使用した菌の発芽の有無の様子

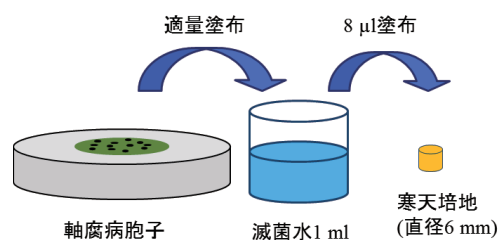


図 3 軸腐病菌の懸濁液作成手順

2.1.2. 実験結果及び考察

図 4 に無処理時の生存率を 100 % とした、各周波数における処理時間毎の生存率分布を示す。同図において、各処理における生存率は処理時間の増加に伴って指数関数的に減少していることが確認できるため、生存率についてその近似式を求めた。5 kHz の場合は、 $y = e^{-8.442 \times 0.1x + 4.605}$, 10 kHz の場合は、 $y = e^{-1.885x + 4.605}$, 15 kHz の場合は、 $y = e^{-3.905 \times 0.1x + 4.605}$ となった。殺菌効果の評価は、生存率が 10 % になる処理時間 (以下 D 値: Decimal value) を採用した。この場合、D 値が小さいほど殺菌効果は高くなる。上述の近似式より、D 値を求めると、5 kHz の場合は 5.90 s, 10 kHz の場合は 1.22 s, 15 kHz の場合は 2.73 s となり、10 kHz の場合に D 値は約 79 % 減少した。この原因として、本装置の殺菌原理として、病原菌の細胞壁への高エネルギー電子の衝突が最終的に DNA の二重螺旋構造を破壊することで殺菌に至ると考えられており、周波数の増加に伴い、細胞壁への単位時間あたりの衝突電子数が増加したことで顕著な D 値の減少に至ったと示唆される。

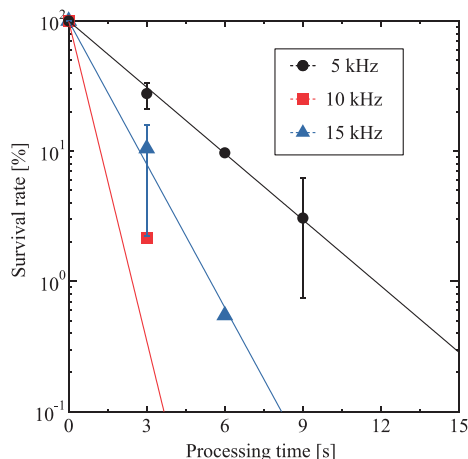


図 4 各周波数における処理時間毎の生存率分布

しかし、10 kHz、15 kHz 処理との間に生存率減少の周波数依存性が確認されなかった。この原因として、周波数依存性が顕著に現れるのは 10 kHz までであり、頭打ち状態になることで周波数依存性が確認されなかったと考えられる。また、誘電体バリア放電によって生成されたオゾンが殺菌に寄与している可能性が考えられたため、放電源を 100 mm×100 mm×200 mm の容器内で駆動しオゾン濃度を測定したところ 8 ppm であった。殺菌機構として、紫外域の放電光による DNA 損傷や高エネルギー電子、オゾンや活性酸素等による細胞損傷が考えられるが、先行試験によって菌の不活性化には高濃度(500 ppm 以上)長時間(10 min 以上)のオゾン処理が必要であること、誘電体バリア放電発生時のオゾン濃度が低かったことから、オゾン以外の要因が働いたものと考えられる。

2.2. マンゴー果実に対する軸腐病防除試験

2.2.1. 実験方法

図 5 に実験装置の概要を、図 6 に実際の処理の様子を示す。直径 6 mm、厚さ 1 mm で底面を密閉したガラス管内部に銅粉を封入し、これを高電圧電極とした。同電極の底面から 0.5 mm 直下にマンゴー果梗部を配し、高電圧電極に周波数 10 kHz、13.96 kV_{pp} の電圧を印加してバリア放電を生成した。

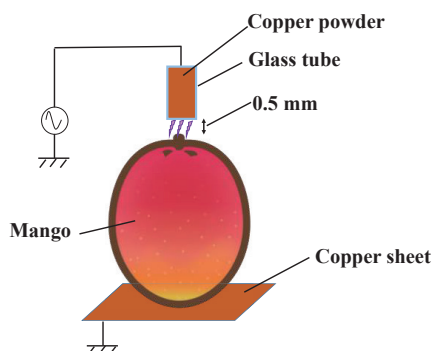
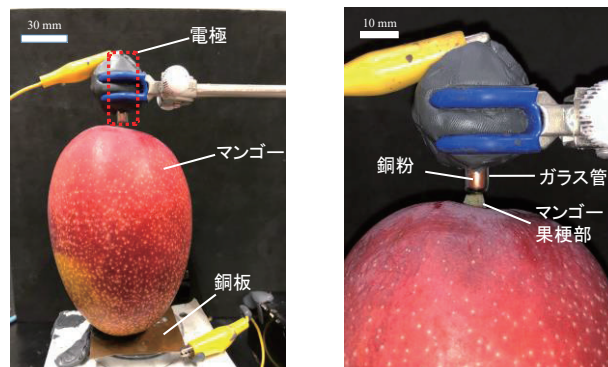


図5 実験装置の概要

マンゴーは宮崎県産のアーウィンを使用し、軸腐病菌の侵入を防ぐために、ビニルハウス内で枝部を残して剪定を行った。その後、自然落下後に軸腐病菌が侵入するのを模擬し、軸部を 3 mm 程度残して剪定後、軸部に懸濁液を 8 μ l 滴下することで軸腐病菌の接種を行った。懸濁液は、軸腐病菌の孢子が血球計算盤において 4×10^4 個/ml の密度となるよう 1 ml の滅菌水に供試することで作製した。

処理条件は、処理時間は 30 s のみ、処理開始時間が接種から 0 時間後、4 時間後、12 時間後の 3 通りに無処理を加えた全 4 通りの処理を各条件で 5 個ずつ行った。なお、無処理、接種 12 時間後処理の場合は、マンゴー入手が困難であったため 4 個とした。処理時の相対湿度は 35~52 %、温度は 25.9~30.1 $^{\circ}$ C であった。処理後は 9 日目まで毎日、軸腐病の発病度について観察した。発病度は、発病無しを“A”，直径 30 mm 未満の発病を“B”，直径 30 mm 以上の

発病を“C”として、 $\Sigma(B+2C)/(n \text{ 数} \times 2)$ で表される。また、著者らは本病害が収穫後から消費者のもとへ到着する間で発病することから発病の遅延に着目しており、本実験でも発病の初発日を検討した。



(a) 全体の様子

(b) 拡大した様子

図5 マンゴー果実処理の様子

2.2.2. 実験結果及び考察

図 6 に各処理条件における発病度の経時変化を示す。同図より、9 日経過後にて、全ての条件において処理、無処理に関わらず全てのマンゴーが軸腐病を発病する結果となった。処理を行った条件の中において、接種 0 時間後 30 s 処理が比較的发病度の上昇が緩やかであることが分かった。同条件の 5 日目の発病度は 33、8 日目の発病度は 73 であり、無処理の 5 日目の発病度である 83、8 日目の発病度である 100 と比較して、5 日目において約 40 %、8 日目において約 73 % と比較的小さいことから、経過日数が少ない期間においては防除効果が見込まれることが明らかとなった。

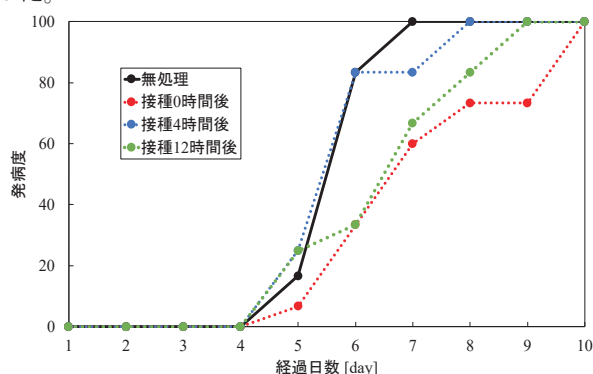


図6 各処理条件における発病度の経時変化

また、図 7 に各処理条件における初発日の平均を示す。同図より、接種 0 時間後 30 s の処理が最も初発日が遅いことが分かった。しかし、同条件の初発日の平均は 5.60 日であり、無処理の初発日の平均の 4.75 日と比較し 0.95 日と顕著な発病遅延効果は確認されなかった。以上の結果より、本実験によるマンゴー軸腐病の評価は発病度を用いた発病抑制効果の評価が好ましいと考えられる。

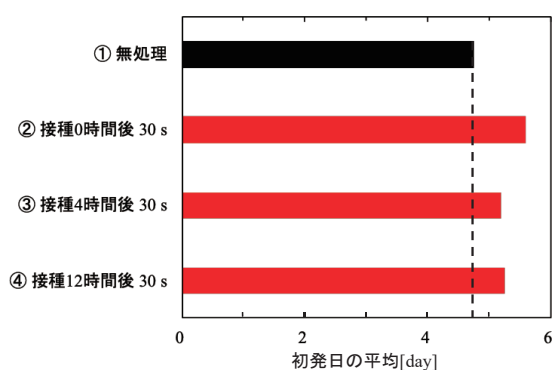


図7 各処理条件における初発日の平均

3. 結論

本報告では、バリア放電殺菌装置の有用性を確認するために、寒天培地表面上に塗布した軸腐病の病原菌に対して殺菌試験を行った。次に、実利用を目的に、軸腐病菌を接種したマンゴー果実に対し殺菌処理を行い、軸腐病の防除効果及び発病遅延効果について検討した。

その結果、軸腐病菌に対する殺菌試験では、処理時間の増加に伴い、指数関数的に生存率が減少していることから、本装置が殺菌可能であることが示唆され、D 値を求めると、5kHz の場合は 5.90 s、10 kHz の場合は 1.22 s、15 kHz の場合は 2.73 s となり、周波数増加による単位時間当たりの細胞壁への衝突電子数の増加が D 値減少に至った。また、マンゴー果実に対する殺菌試験では無処理の初発日の平均の 4.75 日と比較し 0.95 日と顕著な発病遅延効果は確認されなかったことから、発病度を用いた発病抑制効果の評価が好ましいと考えられ、接種 0 時間後 30 s 処理が比較的效果的であることが分かった。

今後は殺菌要因の特定及び更なる処理時間の短縮のために、放電光の遷移発光強度の測定やミストを添加するなどして、本来の目的である軸腐病菌の殺菌試験を行う予定である。

参考文献

- 1) 農林水産省：
平成 28 年農業産出額及び生産農業所（都道府県別）：
<http://www.maff.go.jp/j/press/tokei/keikou/attach/pdf/171226-3.pdf>
- 2) 宮崎県：図説宮崎県の農業 2016：
https://www.pref.miyazaki.lg.jp/noseikikaku/shigoto/nogyo/documents/27106_20170116163617-1.pdf
- 3) U. Kogelschatz, Plasma Chemistry and Plasma Processing (2003)
- 4) 電気学会技術報告第 679 号「放電プラズマ化学における反応粒子とそのエネルギー」(1998)
- 5) 大久保雅章：「大気圧非平衡低温プラズマを応用した環境改善技術に関する最近の成果」，プラズマ・核融合学会誌(2007)

- 6) 小駒益弘監修：大気圧プラズマの生成制御と応用技術，サイエンス&テクノロジー(S&T 出版, 2006)
- 7) 橘 邦英・寺嶋和夫監修：マイクロ・ナノプラズマ技術とその産業応用（シーエムシー出版, 2006 年）
- 8) 内田論：「非平衡大気圧プラズマとの相互作用シミュレーション」，J. Plasma Fusion Res. Vol.92, No.9, pp. 700 (2016)