

## 誘電体バリア放電を用いたプラズマ装置における 芽胞菌の殺菌とオゾン濃度の測定

土田 潤一郎<sup>a)</sup>・木之下 俊輔<sup>a)</sup>・迫田 達也<sup>b)</sup>

### Sterilization of *Bacillus Subtilis* and measurement of O<sub>3</sub> concentration in sterilization device using dielectric barrier discharge

Junichiro TSUCHIDA, Shunsuke KINOSHITA, Tatsuya SAKODA

#### Abstract

Apple Mango has been a representative product in Miyazaki. However, fruit rot disease such as Stem - end Rot and Anthrax Pathogen is serious. Therefore, it is necessary to perform sterilization. So we made sterilization devices using dielectric barrier discharge. In order to confirm the usefulness of this device and the factor of sterilization, we performed sterilization test using *Bacillus subtilis* and measured ozone concentration. As a result, it was possible to obtain sterilization effect both low ozone concentration. Therefore, the usefulness of the device we made was confirmed. Additionally, the factor of sterilization was suggested except ozone.

**Keywords:** Apple Mango, DBD, Sterilization, Ozone, *Bacillus Subtilis*

#### 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<sup>(1)</sup>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<sup>(2)</sup>。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1400 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1126 t/年である<sup>(2)</sup>。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、食べごろといわれる収穫後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できず、クレームや信頼性を損ねる原因になっている。

以上を背景に、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 がオゾン合成するための方法として考案したことに端を発する<sup>(3)</sup>。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

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

びー・環境分野への産業応用が急速に進展している<sup>(4)(5)</sup>。  
 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<sup>(6)(7)</sup>。

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  
 明な点が多い<sup>(8)</sup>

本報告では、作製したプラズマ装置（バリア放電殺菌装  
 置）の有用性を確認するために、一般に殺菌の指標として  
 用いられる枯草菌芽胞液（Mesa Laboratories Inc, B.Subtilis  
 TCC6633）を用いて殺菌試験を行った。次に、放電によ  
 り生成物質の人体への影響及び殺菌要因を検討するため、  
 閉空間で放電を発生させた場合に生成されるオゾン濃度  
 を測定した。

2. 実験

2.1. バリア放電殺菌装置による芽胞菌の殺菌

2.1.1. 実験方法

図 1 にバリア放電殺菌装置の構成を示す。また、図 2、  
 図 3 に実際の電極の様子及び放電の様子を示す。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 直下に直径 6 mm の寒天培地を配し、高電圧電極に周  
 波数 10 kHz、15 kVp-p の電圧を印加して放電を生成した。  
 処理時間においては、無処理の他に 0.5 min 間隔で最大  
 1.5 min 処理し、N 数はそれぞれ 3 とした。

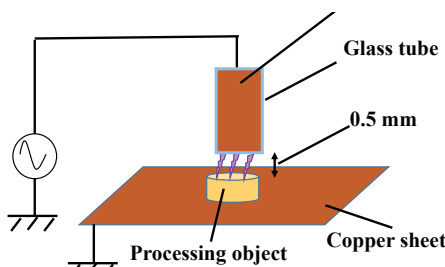


図 1 バリア放電殺菌装置の構成

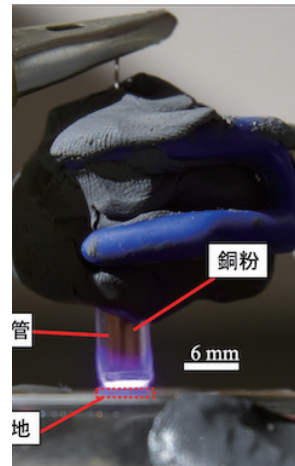


図 3 放電の様子

芽胞菌の希釈液作製手順を図 4 に示す。枯草菌芽胞液  
 30  $\mu$ l を滅菌水 1 ml に希釈し、直径 6 mm の寒天培地上に 7  
 $\mu$ l 滴下後処理を行った。処理時間毎に処理を行った寒天培  
 地を 70  $\mu$ l の滅菌水で希釈し、直径 85 mm の寒天培地上に  
 広げ、35  $^{\circ}$ C に設定したインキュベーター内で 48 時間培養  
 してコロニーを十分に視認できるようにした。処理後の菌  
 数はコロニーカウント法より求めた。コロニーカウント法  
 とは、シャーレ上に培養されたコロニーの数を数え、菌数  
 を算出する方法である。ここで、1つのコロニーは1つの  
 菌体が増殖して形成されると考えることができるので、コロ  
 ニー数と菌数は等しいと算出している。

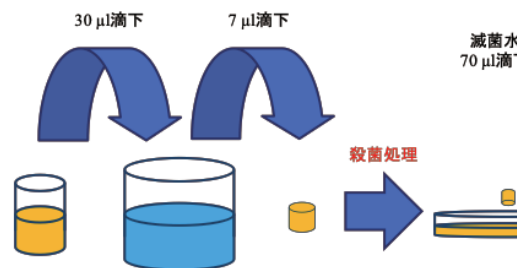
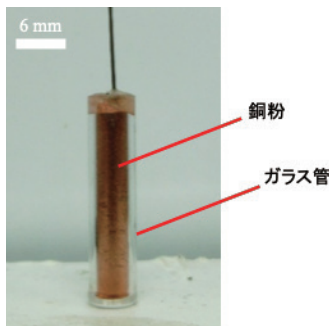


図 4 芽胞菌の希釈液作成手順

2.1.2. 実験結果及び考察

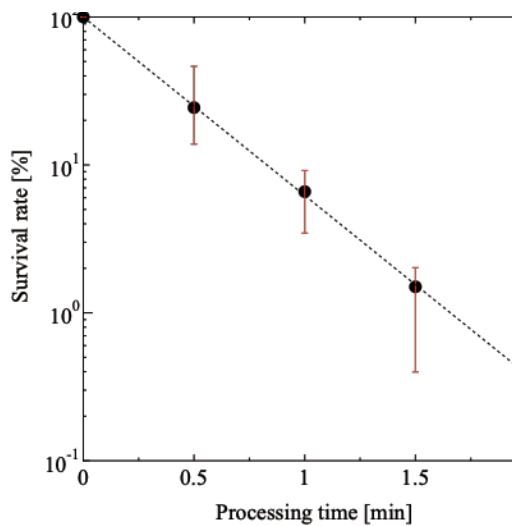
表 1 に各処理条件におけるコロニー数及び、無処理を  
 100%とした生存率の値を示す。また、図 5、図 6 に各処理  
 条件における生存率の処理時間依存及び 48 時間経過後の  
 コロニーの様子を示す。同図より時間の経過とともに生存  
 率が指数関数的に減少していることが分かった。また、D  
 値を求めると、0.83 min となることや、1 min 以降の全て  
 の条件において D 値である生存率 10%以下を実現できてい  
 ることなどから、本実験装置が高い殺菌能力を有すること  
 が確認された。



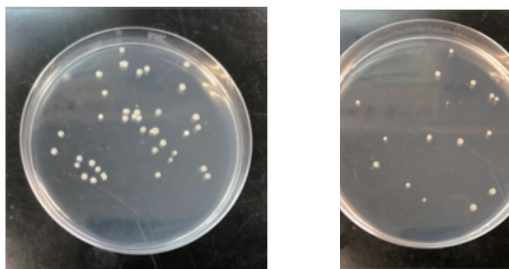
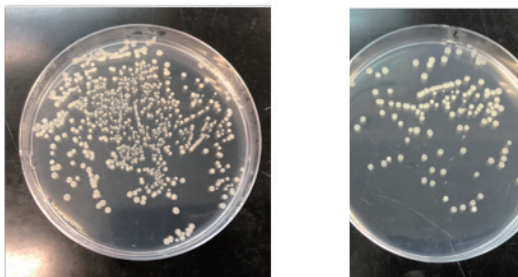
また、オゾンによる殺菌ではCT値を用いてD値が7164 m・minであった<sup>9)</sup>。CT値とはオゾン濃度[ppm]と処理間[min]の積であり単位は[ppm・min]となる。よって理上CT値はオゾンの絶対量を表すことになる。同結果を較すると、バリア放電殺菌装置のD値0.83 minを実現するには8631 ppmのオゾン濃度が必要となる。しかし、8631 mもの高濃度オゾンは人体への影響を考慮すると非現実的であるため、短時間処理を目指す上で、バリア放電殺菌装置による処理は非常に効果的であると考えられる。

表1 各処理条件におけるコロニー数及び生存率

処理時間 [min]	コロニー数	生存率 [%]
0.5	97	48
1	18	12
1.5	4	1



存



## 2.2. バリア放電殺菌装置のオゾン濃度の測定

### 2.2.1. 実験方法

図7にオゾン濃度測定の際のバリア放電殺菌装置の構成を示す。13.8×10<sup>-4</sup> m<sup>3</sup>の亚克力密閉容器内に、下端を密閉したガラス管内部に設置した銅粉電極へ、周波数10 kHz、15 kVp-pの電圧を印加し、ガラス管下端0.5 mmに設置した寒天培地との間に放電を発生させ、UVオゾン濃度計(EG-2001B)を用いてオゾン濃度を測定した。

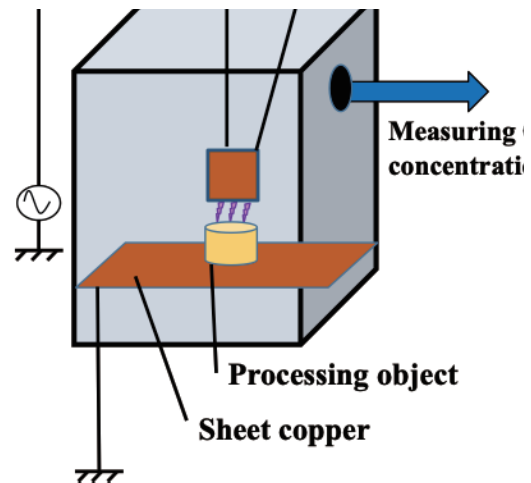


図7 オゾン濃度測定の際のバリア放電殺菌装置の構成

### 2.2.2. 実験結果及び考察

オゾン濃度測定の結果、バリア放電殺菌装置によって発生するオゾン濃度は8 ppmとなった。この測定値を元に式(1)を用い、15畳(27.36 m<sup>2</sup>)、高さ2.5 mの密閉された空間で装置を使用したと想定した場合のオゾン濃度を算出した結果、約0.2 ppmとなった。労働衛生的許容濃度は0.1 ppmである<sup>10)</sup>が、外気を導入し空気を循環させることから、人体に影響のないオゾン濃度に低下すると思われることから、同装置は人体への影響の少ない処理が可能である。

$$\text{濃度[ppm]} = \text{発生量[mg/h]} \times \text{容積[m}^3\text{]} \times 2.14 \dots (1)$$

また、同結果より、誘電体バリア放電による殺菌機構として、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8 ppmと低かったこと、また、オゾン以外の要因が殺菌に寄与している可能性がある。

### 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、枯草菌芽胞液を用いて殺菌試験を行った。次に、誘電体バリア放電による生成物質の人体への影響及び殺菌要因の検討をするため、オゾン濃度の測定を行った。

その結果、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、0.83 min となることや、1 min 以降の全ての条件においてD値である生存率 10 %以下を実現できていることから、本装置が高い殺菌能力を有することが確認された。また、オゾン濃度測定実験では、閉空間でのオゾン濃度は 8 ppm であり、15 畳程度の部屋で外気を導入し循環させることで、人体へ影響のないオゾン濃度まで低下させることが可能であることが確認された。殺菌要因として、枯草菌芽胞液の殺菌には高濃度(500 ppm 以上)長時間(10 min 以上)処理が必要であることから、オゾンは殺菌に寄与しておらず、OH ラジカルなどの別の要因が考えられる。

今後、殺菌要因の特定及びさら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](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(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) 内田諭：「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)
- 9) 西村豪志：「誘電体バリア放電を利用した殺菌装置における芽胞菌の殺菌」, 宮崎大学工学部紀要第 47 号, pp.171-174(2018)
- 10) 日本産業衛生学会「許容濃度等の勧告(2018 年度)」(2018)