

# 無水銀ランプ式オゾン発生器を用いた低濃度オゾンによる殺菌効果

Sterilization method by low-concentration ozone gas using the mercury-free lamps

○高野友二郎<sup>1,2</sup>、北澤成<sup>2</sup>、小林剛<sup>2</sup>、芹澤和泉<sup>2</sup>、望月佑哉<sup>1</sup>

<sup>1</sup>茨城大学農学部, <sup>2</sup> 株式会社オーク製作所

## 論文要旨

エキシマ UV ランプで生成したオゾンガスの青果物貯蔵への利用を目的として、低温下におけるオゾンの連続処理によるミドリカビへの生菌数およびカビ発生に及ぼす影響を評価した。異なるオゾン濃度におけるミドリカビ生菌数は処理濃度および処理時間に伴って減少し、D 値はそれぞれ 0.08 ppm 区が 11.5 日、0.39 ppm 区が 5.5 日、0.75 ppm 区が 1.1 日と推定された。ミカン果皮におけるカビ発生率は、処理 21 日後は対照区が 85.1%、オゾン処理区 (0.39 ppm) が 31.5%であり、オゾン処理区のカビ発生率は処理 14~21 日後に対照区よりも明らかに低くなった。以上の結果から、オゾンの連続処理はミドリカビへの不活化効果および生育抑制効果があることを示し、低温貯蔵時のカビ発生防止方法としての利用が期待された。

キーワード：エキシマ UV ランプ, 無水銀, 殺菌

## 1. はじめに

オゾンは高い酸化力および反応後は酸素へ戻ることによる低い環境負荷から、幅広い分野での殺菌、洗浄、漂白、脱色用途で使用されている。オゾンの発生方式は紫外線 (UV) 式、放電式、電気分解式に大別され、UV 式は酸素分子 [O<sub>2</sub>] から一重項酸素原子 [O(<sup>1</sup>D)]、三重項酸素原子 [O(<sup>3</sup>P)] およびオゾン分子 [O<sub>3</sub>] の活性酸素種が発生する<sup>1)</sup>。UV 式のオゾン発生は、一般的に利用されている無声放電式と比べて、副生成物として窒素酸化物 (NO<sub>x</sub>) を原理的に生成しないことが大きな特徴である。UV 式のオゾン発生源は、低圧水銀ランプが知られているものの、低いオゾン濃度や生成効率<sup>1)</sup>、および水俣条約の水銀規制に伴う環境意識の高まりから利用が難しくなっている。そこで近年、水銀を使用しないエキシマ UV ランプ (封入ガス, Xe; 中心波長, 172 nm) が開発された。これまでにエキシマ UV 式は同程度のオゾン生成量の無声放電式と比べて、①NO<sub>x</sub> の生成量が極めて少ないこと<sup>2)</sup>、②金属板の腐食が抑制されること<sup>2)</sup>、および③水中へのオゾンバブリング処理での硝酸イオン濃度が低く推移し、機材などの損傷が抑制されることが報告されている<sup>3)</sup>。

エキシマ UV ランプの防菌、防黴利用において、対象物への UV-C 照射および生成したオゾンガスの曝露のいずれも検討されている<sup>3)5)</sup>。UV-C 照射において、貯蔵前のイチゴへの 5 分間の照射で貯蔵 11 日後までカビ発生を抑えることが可能であり、果実品質へ及ぼす影響は軽微であった<sup>4)</sup>。しかし、貯蔵 14、21 日後のカビ発生率は無処理区との間に有意差はなく、貯蔵期間中にも処理可能なカビ抑制方法が必要と考えられた。また、異なる貯蔵前処理を行ったブルーベリー果実での貯蔵 12 週間後の腐敗率において、UV-C 照射は無処理区と有意差はなかったものの、オゾンガス処理は明らかに低くなり<sup>5)</sup>、UV-C 照射では全面に処理することが困難なためであると考えられる。そのため、多量の青果物のカビ発生の抑制においては、オゾンガス処理が有効であるかもしれない。一方、オゾンガスによる微生物不活化効果において、実使用環境でのカビ発生頻度の低下や、密閉容器内での高濃度オゾンガス処理の効果は知られているものの、低濃度オゾンガスの連続処理によるカビへの不活性化効果の報告はわずかであり<sup>3)</sup>、青果物貯蔵への応用に向けてカビ抑制に効果のあるオゾン処理条件を明らかにすることが必要である。

そこで本研究では、青果物貯蔵におけるオゾン利用を目的として、低温下における低濃度オゾンの連続処理によるミドリカビ *Penicillium digitatum* への不活化効果およびカビ発生率を評価した。

## 2. 材料と方法

### 2.1 供試微生物

ミドリカビはウンシュウミカン表面に発生したカビから単離し、グラム染色、形態観察および相同性検索を行い同定し、試験開始まで PDA 平板培地上で維持した。PDA 平板培地にて、25°C、5 d 間培養したコロニーと滅菌水 30 mL を用いて分生子懸濁液を作製した（菌密度  $10^7 \sim 10^8$  CFU/mL）。分生子懸濁液は評価開始日にそれぞれ作製した。

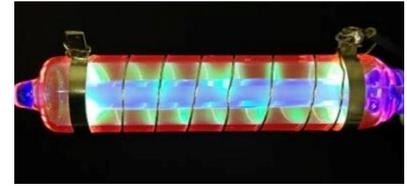


図 1 エキシマ UV ランプ外観

### 2.2 オゾン処理装置

すべての調査において、エキシマ UV ランプを用いてオゾン処理を行った（図 1）。調査は図 2A に示すオゾン処理装置を用いて実施した。一定温度（5°C）下に密閉容器を 2 台設置し、オゾン処理区と対照区を同時に調査した。ガス流量は一定（0.5 L/min）とし、オゾン濃度はエキシマ UV ランプの点灯頻度（Duty 比）を変えて調節した（図 2B）。オゾン濃度測定は紫外線式オゾン濃度計を用いて処理前後に実施した。

### 2.3 異なるオゾン処理が生菌数へ及ぼす影響

低温（5°C）下における異なる濃度のオゾン処理によるミドリカビの不活化効果を評価した。湿らせた脱脂綿上に設置した PTFE メンブレンフィルター（孔径 0.45  $\mu\text{m}$ ）に分生子懸濁液 0.1 mL を滴下したサンプルを作製した。サンプルは密閉容器内に設置し、異なるオゾン濃度（0.08 ppm、0.39 ppm、0.75 ppm）と異なる処理日数（処理 3、7、10、14 日後）の組合せで処理した後、サンプルを回収した。サンプルのメンブレンフィルターを滅菌水 10 mL に入れて攪拌し、処理後の分生子懸濁液とした。処理後の分生子懸濁液は段階希釈した後、PDA 平板培地にて 25°C、72 h 培養し、コロニー数を計数した。すべての評価において 3 反復実施した。

### 2.4 オゾン処理がカビ発生率に及ぼす影響

低温（5°C）下において、オゾン処理の有無によるウンシュウミカン果皮のカビ発生率を評価した。ミカン果皮はオゾン水（溶存オゾン濃度：2 mg/L 程度）に 30 分間浸漬し、滅菌水で洗浄した後にコルクボーラーを用いて直径 10 mm にくり抜いた。湿らせた脱脂綿上に設置したミカン果皮をシャーレ 1 枚当たり 9 枚設置し、分生子懸濁液 10  $\mu\text{L}$  を滴下した。シャーレは密閉容器内に設置し、一定のオゾン濃度（0.39 ppm）下で最大 21 日間処理した。処理後 1 または 2 日間隔で観察を行い、ミカン果皮のカビ発生を計数した。処理区当たり 6 反復実施した。

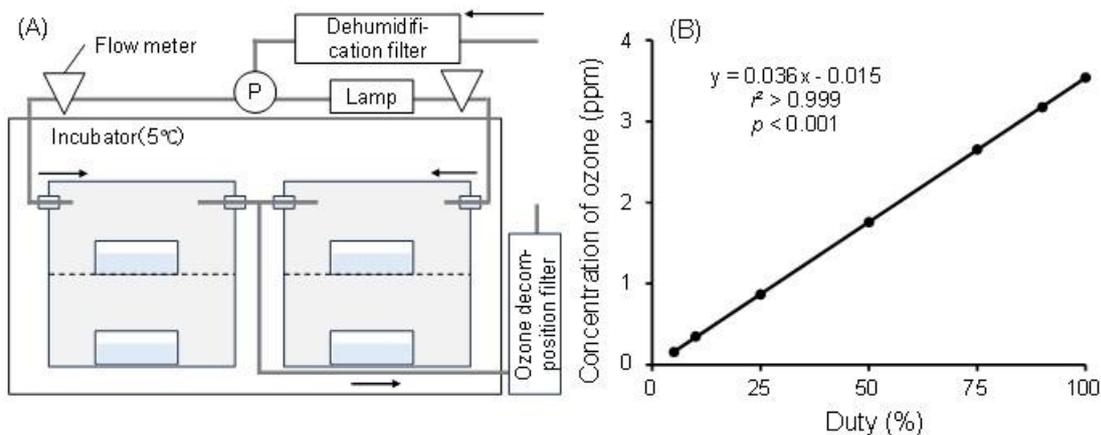


図 2 (A) 試験装置模式図および (B) 試験装置における Duty 比毎のオゾン濃度 (ppm)

## 2.5 統計解析

異なるオゾン濃度における処理時間毎の生菌数データは対数変換を行った後、Weibull 分布モデル<sup>6)</sup>にて回帰分析を行い、D 値を算出した。回帰分析は Excel のソフトウェア GlnaFit ver.1.4<sup>7)</sup>を用いて実施した。

ミカン果皮のカビ発生率はアークサイン変換を行った後、処理区を独立測度、処理日数を反復測度として分散分析を実施した。処理区と処理日数との間に交互作用が認められたため、各処理日数において処理区間の比較を行った。分散分析は統計ソフト R ver.4.4.1 (R Development Core Team, 2024) のパッケージ anovakun ver.4.8.9 を使用した。

## 3. 結果と考察

### 3.1 異なるオゾン処理が生菌数へ及ぼす影響

異なる濃度オゾン処理によるミドリカビ生菌数推移を図 3 に示す。生菌数はすべてのオゾン処理区で処理日数に伴って減少し、無処理区ではいずれも明瞭な変化がなかった。処理前と処理 14 日後の生菌数から算出した減少率は、0.08 ppm 区が 93.2%、0.39 ppm 区が 99.5%、0.75 ppm 区が 99.8%であった。回帰式より算出した D 値は 0.08 ppm 区が 11.5 日、0.39 ppm 区が 5.5 日、0.75 ppm 区が 1.1 日であり、処理したオゾン濃度が高くなるにつれて低くなった。以上の結果から、連続的なオゾン処理によるミドリカビの不活化効果が明らかになった。

室内空間にて 0.1 ppm 以下で維持したオゾン処理によるミドリカビ生菌数推移において、処理 14 日後効果の減少率が 89%であり<sup>3)</sup>、本研究での 0.08 ppm 区と同程度の不活化効果を示した。オゾン濃度の増加に伴って不活化に要する期間は短くなるものの、日本産業衛生学会が定める許容濃度 (0.1 ppm) 以下の低濃度オゾンであっても、連続的なオゾン処理によってミドリカビを不活化することが可能であった。

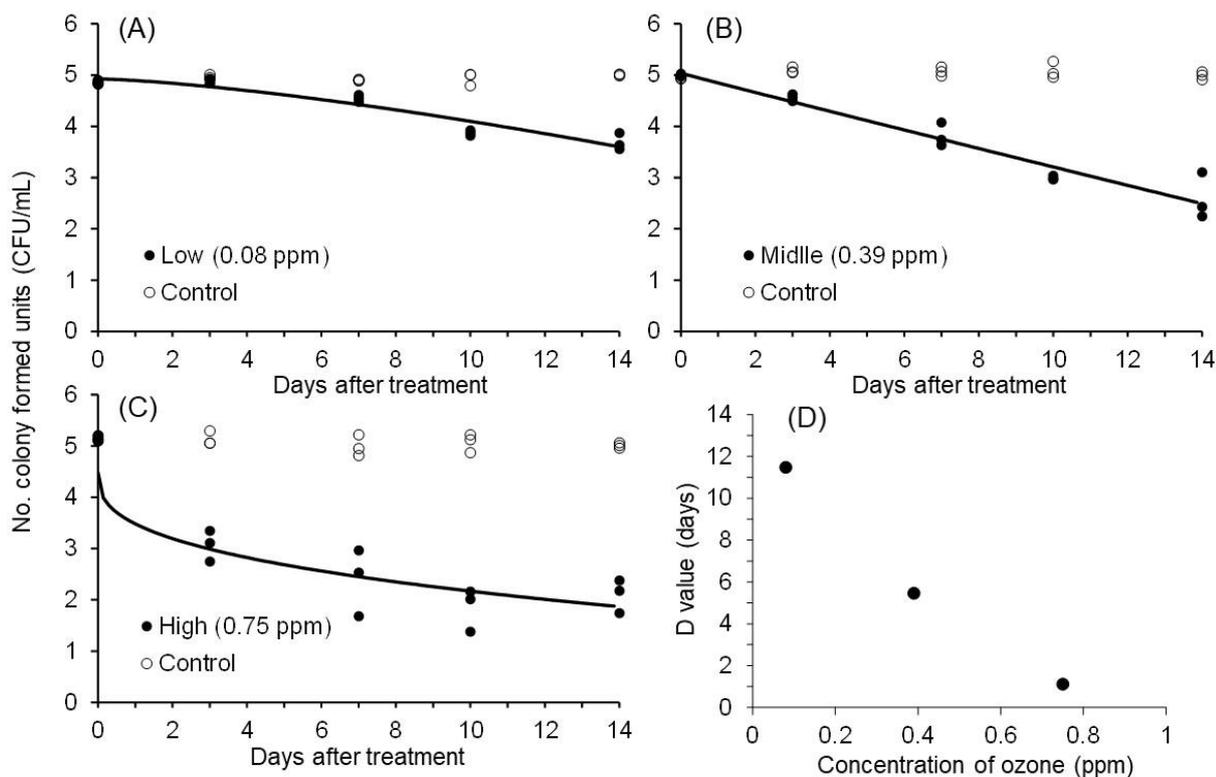


図 3 (A) 低濃度, (B) 中濃度, (C) 高濃度のオゾンがミドリカビの生菌数へ及ぼす影響, および (D) オゾン濃度と D 値の関係

### 3.2 オゾン処理がカビ発生率に及ぼす影響

オゾン処理によるウンシュウミカン果皮のカビ発生率推移を図4に示す。カビ発生率はどちらの処理区とも処理日数に伴って上昇し、処理21日後は対照区が85.1%、オゾン処理区が31.5%であった。分散分析より、処理区と処理日数のいずれも有意に影響を及ぼし、交互作用があった ( $p < 0.001$ )。オゾン処理区のカビ発生率は処理14~21日後に対照区よりも明らかに低くなった。以上の結果から、連続的なオゾン処理によるミドリカビの不活化効果が明らかになった。

オゾン濃度0.1 ppm以下で維持した室内空間に設置したPDA平板培地において、ミドリカビのコロニー数は無処理と比べて74%減少し<sup>3)</sup>、本研究と似た結果を示した。オゾンガスによるカビへの影響は、分生子の不活化効果のみならず、菌糸の細胞死によるコロニー形成の抑制も知られている<sup>8)</sup>。連続的なオゾン処理によるカビ発生の抑制効果は複数の要因が関与していると予想されるため、より詳細な生理的变化を調査する必要がある。

## 4. まとめ

エキシマUVランプで生成したオゾンガスの青果物貯蔵への利用を目的として、低温下でのオゾン濃度処理におけるミドリカビ生菌数の減少効果およびミカン果皮におけるカビ発生率の抑制効果を明らかにした。エキシマUVランプを用いた環境負荷の低いオゾン生成方法は、低温下での貯蔵におけるカビ防止、つまり長期貯蔵による損失率の低減や販売期間の延長、輸送中の腐敗防止に貢献することが期待される。今後、果実品質への影響を含めてさらに評価を行う。

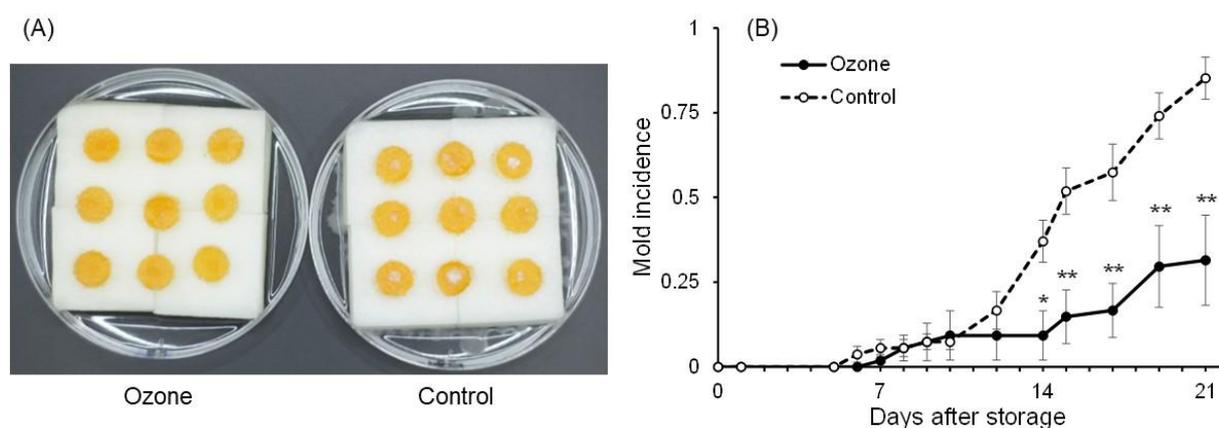


図4 (A) 貯蔵21日後のウンシュウミカン果皮の様子、(B) 貯蔵期間中のオゾン処理がカビ発生率に及ぼす影響

## 5. 参考文献

- 1) 日本オゾン協会 オゾンハンドブック【改訂版】 , 2016
- 2) 早川ら 医療・環境オゾン研究, 2022, 29, 48-56
- 3) 高野ら 第32回日本オゾン協会年次研究講演会, 2023, 31
- 4) Takano et al. AgriEngineering 2024, 6, 4889-4900
- 5) 望月ら 園芸学会令和6年度秋季大会, 2024, P235.
- 6) Mafart, P. et al. International Journal of Food Microbiology, 2002, 72, 107-113
- 7) Greeraerd, A. et al. International Journal of Food Microbiology, 2005, 102, 95-105
- 8) Savi, G. and M. Scussel, Ozone: Science & Engineering, 2014, 36, 144-152.