

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 6 月 8 日現在

機関番号：11501

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2011

課題番号：22760122

研究課題名（和文） 超音波オゾンマイクロバブル殺菌における促進酸化効果の解明と殺菌技術の実用化

研究課題名（英文） Advanced oxidation effect of the disinfection system using ultrasonically-generated ozone microbubbles

研究代表者

幕田 寿典（MAKUTA TOSHINORI）

山形大学・大学院理工学研究科・助教

研究者番号：40451661

研究成果の概要（和文）：

超音波の強い圧力振動を用いてオゾンマイクロバブル化すると液体中の菌が超音波の物理的効果とオゾンの化学的効果によって効果的に殺菌される。本研究では、この高い殺菌効果はマイクロバブル中のオゾンが強制振動することによって分解し、ラジカル生成が促進するためであることをボルツマンフィットを用いたオゾンの液中への溶解量および水中での分解量の算出により実験的に明らかにした。また、実用環境を想定し、不純物の有無の殺菌能力についても評価した。

研究成果の概要（英文）：

We developed a water disinfection treatment approach using ozone microbubbles generated by a hollow ultrasonic horn, and investigated the effect of inactivation for Escherichia coli with this treatment. Experimental results reveal that this treatment involves efficient disinfection of Escherichia coli. This treatment using ozone microbubbles generated by a hollow ultrasonic horn led to efficient disinfection, owing to the high solubility of the microbubbles and the synergism of the ozone and ultrasonic irradiation, i.e. the enhancement of ozone self-decomposition and radicals generation.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	2,000,000	600,000	2,600,000
2011年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：工学

科研費の分科・細目：機械工学・流体工学

キーワード：混相流、マイクロバブル、オゾン、超音波、殺菌

1. 研究開始当初の背景

活排水や工業排水による環境汚染は、人間に様々な健康被害をもたらし、近年では、O-157による集団食中毒やレジオネラ感染などが記憶に新しい。水の殺菌手法としては、塩素による殺菌が殺菌効果・コスト・持続性などの点で優れており日本では最も広く使

われている。しかし、塩素による独特の匂いやトリハロメタンなどの副生成物の生成、塩素耐性菌などの存在などが問題となる場合もあるため、非塩素系の殺菌技術についてのニーズも依然として高い。例えばオゾンによる殺菌技術は、オゾンが持つ強い酸化力を利用して細菌の膜・酵素・核酸にダメージを与

え細胞死をもたらす方法で、1900年代初頭にフランス・ニースの浄水場で使われて以来、主にヨーロッパを中心に使われている。また、超音波殺菌技術は、液中の気泡が強い圧力変動によって崩壊する際に出す衝撃波（キャビテーション現象）を利用して微生物を物理的に破壊して殺菌する方法で、薬品添加や副生成物も生じない新しい殺菌技術として注目されている。ただ、オゾンによる殺菌については、オゾンの生成コストが高い点、高濃度（1ppm以上）のオゾンガスは人体に有害とされ後処理が必要な点、水へ溶解しにくく溶解効率を上げるには大掛かりな装置が必要な点などが課題として挙げられ、超音波による殺菌についても振動子に近い領域しか十分な効果が得られないなどの課題を抱えており、広く非塩素系殺菌技術が使われるためにはこれらの課題の解決が求められている。

2. 研究の目的

研究代表者らは、これまでの一連の研究において超音波を用いてオゾンマイクロバブルを生成させて液体を殺菌する技術（超音波オゾンマイクロバブル殺菌）の着想に至り、水 300mL 中の大腸菌（ATCC8739、菌濃度：約 10^7 CFU/mL）を殺菌対象として超音波オゾンマイクロバブル殺菌を行った場合、超音波のみを印加した場合および多孔質散気管で液中オゾン濃度を同程度にした場合と比べても半分以下の処理時間で滅菌できることを確認した。本研究の目的は、ラボレベルでの実験において確認された超音波オゾンマイクロバブル殺菌の高い殺菌効果について、未だ不明な殺菌メカニズムの解明を行い、その結果を殺菌技術の開発にフィードバックすることで、高い殺菌効果を有する実用的な殺菌手法の開発に繋げることである。

3. 研究の方法

(1) 実験装置

図1に実験装置の概略図を示す。試験部に300mL ビーカーを用い、上から気泡発生装置を固定する。気泡発生には、超音波ホモジナイザー(SMT、UH-50)に内部がガス通過可能な中空ホーン(出口内径-外径； $\phi 2.6-\phi 6$)を取り付けた装置を用いた。これは中空ホーン出口付近で生じる壁面の高速振動と超音波の圧力振動によってガスをマイクロバブル化し、液中に放出するものである。図2 (b)に示すように中空ホーンから超音波を印加しながら気泡を発生させた場合、図2 (a)に示す超音波を印加しない場合に比べて極めて小さい気泡が発生することが分かる。

オゾンは酸素を原料にオゾン発生装置(中遠電子工業、OZ0001-12R)を用いて発生させ、供給オゾンガスは気相オゾンモニタ(荏原実業株式会社、EG-600)を用いて測定した。

(2) 実験方法

300mLの純水を試験部に入れ、クールスター(アズワン、CSB-900N)を用いて 400rpmで攪拌、溶液温度を 20°Cに保ち、大腸菌(*E. coli*, ATCC8739)に対する消毒実験を行った。消毒実験では、菌溶液中に含まれる培養培地成分などの不純物を取り除くため、実験直前に遠心分離操作($10,000 \times g$, 20分)を3回行った。菌数の測定は食品細菌検査装置(バイオシータ、DOX-30F)で計測した。菌の培養方法は、MicroBioLogics社のEZ-CFU One StepをDOX専用液体培地(アズワン、M4503)に投入し、ウォーターバスを用いて 37°C、24時間培養した。培養後の菌濃度[CFU/mL]は 10^9 オーダーである。

酸素流量は 50mL/min、供給オゾンガス濃度は 10mg/Lと一定に保ち、超音波周波数は 20kHz、振幅は 20 μ mとした。以下ではこのプロセスを US/micro-O₃処理と略す。また、比較対象として円筒ガス散気管(細孔径 40-50 μ m)を用いて同一流量でオゾンガスを供給した場合(図2(c)、以下 O₃処理)、オゾンガスを供給せず超音波のみを印加した場合(以下 US処理)、円筒ガス散気管でオゾンガスを同一流量で供給しつつ散気管近傍で超音波を印加した場合(以下 O₃+US処理)についても消毒実験を行った。

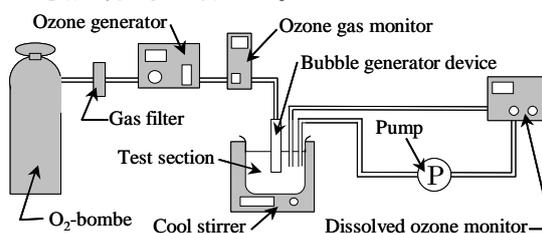


図1 実験装置

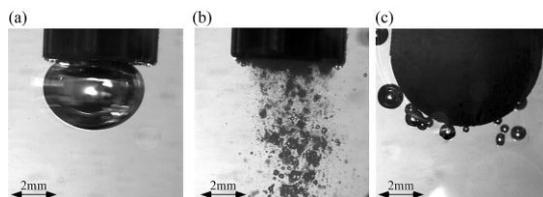


図2 中空ホーンおよび円筒ガス噴射管からの気泡発生；(a) 中空ホーン（超音波無し）、(b) 中空ホーン（超音波印加）、(c) 円筒ガス噴射管

(3) 溶解能の評価

オゾン濃度の時間変化式は一般的に次の式で表される。

$$dC / dt = K_L a (C^* - C) - \sum_i^m k_i C^i \quad (1)$$

ここで C は溶存オゾン濃度[mg/L]、 C^* は飽和溶存オゾン濃度[mg/L]、 t は時間[min]、 $K_L a$

は総括物質移動係数 $[\text{min}^{-1}]$ 、 k は自己分解係数 $[\text{min}^{-1} (\text{mg/L})^{-1}]$ 、 m は分解次数 $[-]$ であり、右辺第1項は溶解量、第2項は溶存オゾンの自己分解量を示している。溶存オゾン濃度は液相オゾンモニタ(荏原実業株式会社、EL-700)を用いて測定した。US処理を除く各処理において、Boltzmann fit($m=2$)を適用して溶存オゾン濃度の経時変化における近似式、オゾンの溶け込みやすさを示す K_{La} 値およびオゾンの自己分解量を求めた。なお、近似式と実験値は良好な一致を示した(相関係数 $R>0.99$)。一般的に、オゾン消毒の不活化効果は、必要とするCT値(溶存オゾン濃度 $C[\text{mg/L}]$ と接触時間 $t[\text{min}]$ の積)で評価される。そこで、式(1)より得られる近似式を用いて各処理のCT値を求め、大腸菌に対する不活化効果をCT値で評価した。

4. 研究成果

(1) 純水下における大腸菌の消毒

図3に、横軸にCT値、縦軸に大腸菌残存率 N/N_0 の結果を示す。なお、 N_0 は初期菌濃度 $[\text{CFU/mL}]$ 、 N は計測された菌濃度 $[\text{CFU/mL}]$ を示す。また、ここには示していないが、US処理は大腸菌残存率が約90%(処理時間30分)であり、他3種の処理に比べ不活化効果は小さかった。図3より、いずれの処理も同程度の不活化効果を有しており、超音波の有無に関わらずCT値が $0.1 \text{mg/L} \cdot \text{min}$ 以下で $N/N_0=10^{-5}$ の不活化に至った。これらの結果から、純水中の大腸菌は、超音波による物理的な不活化には耐性を示すがオゾンによる化学的な不活化は有効であり、速やかに消毒が完了したと考えられる。

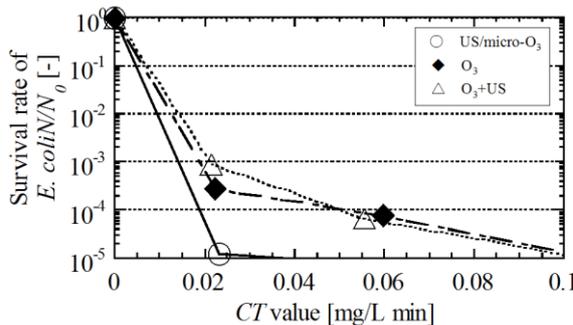


図3 純水中の大腸菌生存率とCT値の関係

また、消毒時間0.5分におけるUS/micro-O₃、O₃およびO₃+US処理の大腸菌残存率 N/N_0 はそれぞれ、 1.2×10^{-5} 、 2.8×10^{-4} および 8.6×10^{-4} であった。ここで、US/micro-O₃、O₃およびO₃+US処理における総括物質移動係数 K_{La} を式(1)より算出すると、それぞれ、0.081、0.020および 0.018min^{-1} であり、US/micro-O₃処理はO₃処理およびO₃+US処理より約4倍もオゾンを効率よく溶解させていた。US/micro-O₃処理はオゾンガスをマイクロバブル化して供給す

るため、気泡表面積および液中滞在時間が増加し、 K_{La} 値が増大したと考えられる。オゾンの不活化効果は溶存オゾン量に依存することから、 K_{La} 値が高く溶存オゾン濃度の上昇が早いほど、大腸菌残存率の減少も早くなったといえる。したがって、純水中における大腸菌の消毒はオゾン分子による化学的な不活化が支配的であり、US/micro-O₃処理は効率よくオゾンを溶解させるため、他処理に比べ速やかな消毒が可能であった。

(2) 有機物存在下における大腸菌の消毒

一般に、消毒の対象となる河川や湖などの環境水中には、多種の菌のほか、有機・無機化合物など様々な共存物質が含まれており、微量でも消毒阻害要因と成り得る。オゾン消毒の場合、オゾンとの反応性が高い共存物質の存在下において、殺菌効率の低減が生じることが報告されている。そこで、菌培養に用いた液体培地を取り除かないで消毒実験を行い、不純物(消毒阻害物質)が存在する系での不活化効果を比較した。なお、オゾン発生にはED-OG-R4(エコデザイン、供給オゾン濃度 150mg/L)、溶存オゾン濃度測定にはEL-550(荏原実業株式会社)を用い、他条件は同様とした。

図4に、横軸にCT値、縦軸に阻害物質存在下での大腸菌残存率 N/N_0 の結果を示す。図4を見ると、図3に比べ必要CT値($N/N_0=10^{-5}$)は1,000倍以上に増加し、阻害物質による消毒阻害が認められた。しかし阻害物質存在下において、超音波と気泡発生部が一体のUS/micro-O₃処理は、O₃処理に比べ約3分の1のCT値で $N/N_0=10^{-5}$ まで不活化を終えており、また散気管近傍で超音波を印加するO₃+US処理においては、O₃処理に比べ約3分の2のCT値で不活化を終えていた。これらのことから、消毒阻害物質存在下の大腸菌消毒において、超音波単独の不活化効果は低いものの、オゾン処理と併用することで不活化効果を増強させる相乗効果を有することが明らかとなった。また、不活化に必要なCT値が処理方法によって異なり、不活化効果がオゾン濃度に依存しないことから、オゾン分子による酸化作用以外に支配的な要因があると考えられる。

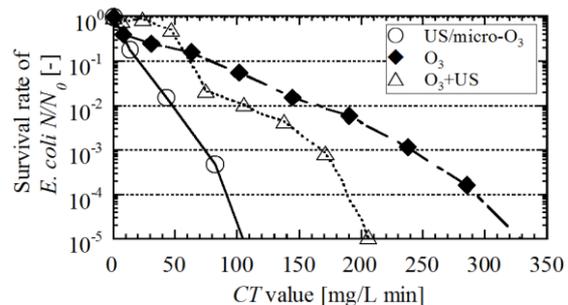


図4 有機物含有水中の大腸菌生存率とCT値の関係

(3) 超音波印加とオゾンによる相乗効果の影響

図5は、一定量の溶存オゾン濃度を含む水における超音波印加有無での溶存オゾン濃度の経時変化を示している。超音波を印加すると、印加しない場合に比べ、オゾン濃度は速やかに低下することが確認された。オゾンは自己分解すると、自身より強力な酸化力を有するラジカルを生成する。ラジカルは非選択的な酸化剤のため、菌の不活化を行うと同時に、阻害物質の分解および低分子化を引き起こすと考えられる。したがって相乗効果のひとつとして、超音波の印加によりオゾンの自己分解が促進され、ラジカルの生成が促されることによってオゾン阻害物質の分解および低分子化が速やかに行われ、不活化効果が増強したと考えられる。

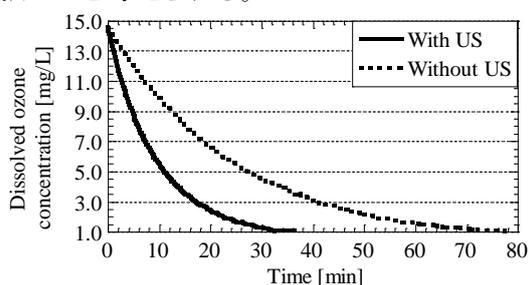


図5 超音波の照射有無による溶存オゾン濃度の経時変化

ラジカルによる消毒効果を調べるため、式(1)中の右辺第2項を用い、各処理におけるオゾン自己分解量を算出し、それを用いて大腸菌の残存率を評価した。図6に、横軸にオゾンの自己分解量、縦軸に大腸菌残存率 N/N_0 の結果を示す。図6より、 CT 値で評価した図4に比べ各処理の傾きが一致していることがわかる。したがって、阻害物質存在下の大腸菌消毒において、不活化効果はオゾンの自己分解量に依存するといえる。オゾンの自己分解時に生成されるラジカル量が自己分解量に比例すると仮定すれば、図6はラジカルが消毒の主要因であることを示している。これらの結果から、超音波とオゾンの相乗効果によって、オゾンの自己分解促進およびラジカル生成の増強が生じ、US/micro- O_3 処理は他処理に比べ速やかな消毒が可能であった。

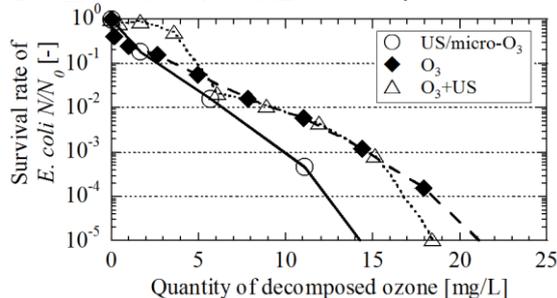


図6 有機物含有水中の大腸菌生存率とオゾン分解量の関係

(4) まとめ

超音波オゾンマイクロバブル処理における大腸菌に対する不活化効果を、純水および消毒阻害物質存在下の2つの系において検証した。その結果、円筒ガス散気管でオゾンを供給した場合、円筒ガス散気管によってオゾンを供給しつつ散気管近傍で超音波を印加した場合に比べ、阻害物質が存在しない系では有意差は生じないものの、存在する系では顕著な不活化効果を持つことを明らかにした。これは、マイクロバブル化によるオゾンの溶解能向上に加え、オゾン処理と超音波印加を組み合わせることによる相乗効果(ラジカル生成促進)により、不活化効果が強まったと考えられる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計2件)

- ① Nonoko Syukuya、Toshinori Makuta、A Clarification of the Inactivation Mechanisms of Highly Effective Disinfection Treatment using Ultrasonically-Generated Ozone Microbubbles、Journal of the Japanese Society for Experimental Mechanics、査読有、採録決定済
- ② Nonoko Syukuya、Toshinori Makuta、An experimental study on disinfection system using ozone microbubbles generated by the hollow ultrasonic horn、Journal of the Japanese Society for Experimental Mechanics、査読有、Vol.11、2011、116-121、https://www.jstage.jst.go.jp/article/jjsem/11/Special_Issue/11_Special_Issue_s116/_pdf

[学会発表] (計6件)

- ① 宿谷野々子、轟田寿典、超音波オゾンマイクロバブルによる消毒能力の増強、化学工学会第77年会、2012年3月16日、工学院大学(東京都新宿区)
- ② Nonoko Syukuya、Toshinori Makuta、Inactivation of Microorganisms with a Disinfection System using Ozone Microbubbles Generated by a Hollow Ultrasonic Horn、6th International Symposium on Advanced Science and Technology in Experimental Mechanics、2011年11月4日、関西空港会議場(大阪府泉佐野市)
- ③ 宿谷野々子、轟田寿典、超音波オゾンマイクロバブルによる消毒能増強メカニズムの解明、日本機械学会東北支部第47期秋季講演会、2011年9月22日、山形大学(山形県米沢市)
- ④ 宿谷野々子、轟田寿典、超音波とオゾンマイクロバブルを用いた消毒技術、化学

工学会札幌大会、2011年8月25日、北海道大学（北海道札幌市）

- ⑤ 宿谷野々子、幕田寿典、超音波とオゾンマイクロバブルを用いた消毒技術の応用研究、第20回日本オゾン協会年次研究講演会、2011年6月24日、千葉工業大学（千葉県習志野市）
- ⑥ Nonoko Syukuya、Toshinori Makuta、An Experimental Study on Disinfection System using Ozone Microbubbles Generated by Hollow Ultrasonic Horn、5th International Symposium on Advanced Science and Technology in Experimental Mechanics、2010年11月5日、龍谷大学（京都府京都市）

〔その他〕

ホームページ等

日本機械学会誌 2011年11月号トピックス

http://www.jsme.or.jp/publish/kaisi/111101t_.pdf

6. 研究組織

(1) 研究代表者

幕田 寿典 (MAKUTA TOSHINORI)

山形大学・大学院理工学研究科・助教

研究者番号：40451661

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：