

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 11 日現在

機関番号：13903

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25450043

研究課題名(和文) 低温プラズマプロセスの培養液の殺菌や植物の生長促進など農業分野への適用研究

研究課題名(英文) Application of nonthermal plasma technology to the agricultural field for the purpose of sterilizing a nutrient solution in a hydroponic in a plant factory

研究代表者

安井 晋示 (Yasui, Shinji)

名古屋工業大学・工学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：30371561

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：植物工場における水耕栽培での培養液の殺菌技術への非熱平衡プラズマの応用を目指した。ホウレンソウの水耕栽培で発生して多大な被害を及ぼすフザリウム菌をモデルとし、培養液へのプラズマ照射の殺菌効果を検証した結果、プラズマ特有の活性種によって効果的に殺菌できることを解明した。また、アルゴンガスを用いたプラズマの照射によって、培養液の特性に影響せず、さらに、レタスを用いた野菜の生育にも悪影響しないことを確認した。

研究成果の概要(英文)：Plasma will become extremely effective for environmental technologies if it can be used as an alternative to agrochemicals. We have been studying the application of nonthermal plasma technology for the purpose of sterilizing a nutrient solution in a hydroponic cultivation in a plant factory. We have been developing a new solution-based plasma generation technique that uses surface discharge. By generating plasma in a solution, the active species in the plasma can directly act on the pathogenic bacteria. We investigated the ability of this plasma treatment method to sterilize microconidia of *Fusarium oxysporum*, which is one of the most destructive root diseases in hydroponics. It was confirmed that sterilization can be achieved by plasma treatment using inert gases that do not generate ozone, which causes growth inhibition. The results of the experiments on the growth of lettuce show that growth is not affected by plasma irradiation of the nutrient solution.

研究分野：プラズマ工学

キーワード：殺菌 プラズマ 培養液 植物工場 フザリウム

1. 研究開始当初の背景

高電圧パルス技術の進歩により、非熱平衡(低温)プラズマを大気圧下で容易に生成できるようになり、低温プラズマにより生成される多様な化学的活性種を医療やバイオ分野に応用する研究が盛んに行われている。医療分野においては、止血、皮膚の改質、消毒、殺菌などへの取り組みがなされている。

我々は、この低温プラズマを植物工場における水耕栽培での培養液の殺菌技術など農業分野への応用研究に取り組んでいる。植物工場は、高度な環境制御により安定した生産量と品質を確保できることを背景に普及・拡大が進められている。また、植物工場においては、少量の培養液を循環させる薄膜水耕栽培が、環境保全や資源の有効利用の観点から進められている。しかし、植物工場への病原菌の混入は避けられず、循環型培養液に病原菌が蔓延すると植物に壊滅的な被害を与える。従来、この病原菌の殺菌には、オゾン水や紫外線などが用いられている。しかし、これらの殺菌方法では、養液成分の変性やクロロシスといった成長阻害が生じることが問題となっている。そこで、大気圧低温プラズマ技術を、水耕栽培用の培養液殺菌技術に適用できれば、現状の問題点や複雑なプロセスが大きく改善できる。さらには、野菜苗の生長促進や病害抵抗性の誘導などに低温プラズマ処理が機能すれば、農薬の代替技術として日本の農業にとって革新的な技術となる。

2. 研究の目的

大気圧非平衡プラズマ技術を植物工場などの農業分野への適用を目指し、以下の項目を明らかにする。

- (1) 大気圧低温プラズマを植物工場の水耕栽培用培養液の殺菌技術への適用性
- (2) プラズマ処理した溶液の散布が野菜苗の生育促進や病害抵抗性の向上への寄与
- (3) 培養液へのプラズマ処理が培養液の物理化学特性に及ぼす影響
- (4) 培養液へのプラズマ処理が野菜の生育に及ぼす影響

3. 研究の方法

(1) 培養液の殺菌技術への適用性

夏期のホウレンソウの水耕栽培において発生して多大な被害を及ぼす萎凋病の原因菌であるフザリウムをモデルとし、培養液へのプラズマ照射の殺菌効果を検証する。水耕栽培培養液に予め培養しておいたフザリウムの小型分生孢子懸濁液を約 10<sup>4</sup> cfu/ml になるように接種した後、プラズマ照射を行い、一定時間ごとに培養液を採取する。その後、既報(寺添、電力中央研究所研究報告 U00020)に従って生菌数を確認し、処理条件(培養液の pH, EC, 温度など)ごとの殺菌効果进行评估する。

(2) プラズマ処理水の植物への影響調査

サニーレタス(品種:晩抽レッドファイヤー)を対象として、プラズマ処理水が植物への生育に及ぼす影響を検証する。水道水をプラズマ処理した溶液を作製し、定植後の葉面にプラズマ処理水を散布し、27日後の生育(草丈、葉数、葉面積)を評価する。生育に影響が生じた場合のみ、病害抵抗性などの遺伝子調査を行う。

(3) プラズマ照射が培養液の物理化学特性に及ぼす影響

プラズマ処理技術を培養液の殺菌技術に適用するためには、プラズマ照射が培養液の物理化学特性に及ぼす影響を明らかにする必要がある。培養液の管理項目である温度、pH、導電率に対して、プラズマ処理による影響を評価する。

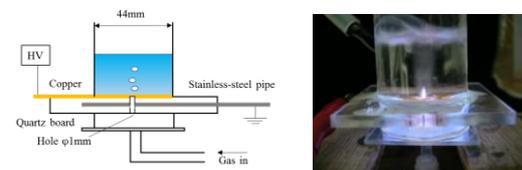
(4) 培養液のプラズマ処理が野菜の生育に及ぼす影響

プラズマ処理技術を培養液の殺菌技術に適用するためには、培養液へのプラズマ照射が植物の生育に及ぼす影響を明らかにする必要がある。培養液の水耕栽培によりサニーレタスを生育して、定植後の生育容器内で定期的に培養液にプラズマ照射を行う。27日後における生育(葉の長さ、葉重量)を未処理の条件と比較して評価する。

4. 研究成果

(1) 培養液の殺菌技術への適用性

図1に培養液の殺菌技術进行评估するために開発した非熱平衡プラズマ照射装置を示す。石英板の中央に直径1mmの穴を設け、石英板に埋め込まれたSUS棒と銅電極の間に高電圧のパルスを印可することで、穴の沿面でバリア放電が発生する。穴を通すガスの種類を変えることで、上部の容器内の培養液に直接プラズマを照射できる。印可するパルス電圧のDuty比を10%と小さく設定することで、照射するプラズマの熱量を低く制御できる。



(a) 照射装置 (b) 概観写真  
図1 実験装置

フザリウム孢子を含む培養液 20 ml に対して、5種類のガス(Air, O<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>, He, Ar)を用いてプラズマ照射実験を行った。図2に照射時間に対する生菌数の変化を示す。O<sub>2</sub>を用いたプラズマ照射では、5分の照射で生菌数が検出できないまで殺菌できた。HeとArを用いたプラズマ照射では20分の照射で完全に殺菌できた。一方で、Airを用いたプラズマでは殺菌効果が弱くなり、N<sub>2</sub>を用いたプラズマではほとんど殺菌効果が現れなかった。O<sub>2</sub>

を用いたプラズマでは、プラズマ生成時にオゾンができるため、オゾン水による殺菌効果が高くなったと考えられる。オゾンを生成するプラズマ処理では、オゾンが溶液に溶け込み、その濃度が高くなると植物にとっては生育阻害を引き起こすので好ましくない。本研究では、オゾンを発生しない He と Ar の不活性ガスの中で、ガスコストが比較的安い Ar ガスを用いたプラズマ処理がフザリウム胞子の殺菌に好適であることを示した。この結果より、オゾン水や紫外線を用いない全く新しい培養液のプラズマ殺菌技術の適用性を見出すことができた。

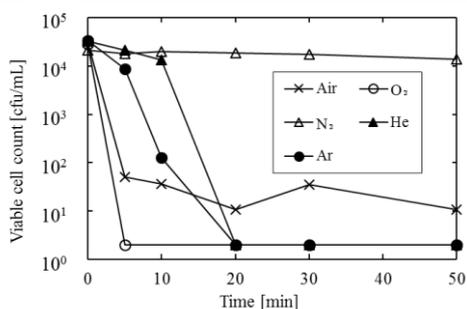


図2 照射時間に対する生菌数の変化

培養液中のフザリウム胞子の殺菌に対して Ar プラズマ照射がどのように寄与しているのかを実験的に検討した。培養液への Ar プラズマ照射によって、培養液の温度、pH、過酸化水素濃度が若干変化する。また、プラズマからの紫外線も殺菌に寄与する。そこで、これらのパラメータを個別に設定してフザリウム胞子の殺菌特性を調べた。その結果、温度、pH、過酸化水素濃度の変化に対しては生菌数の減少は確認されなかった。プラズマからの紫外線照射では、図3に示すように生菌数の減少が確認された。しかし、Ar プラズマ照射と比較すると殺菌効果は極めて小さいと評価できる。Ar プラズマからの発光を分光分析により調べた結果を図4に示す。図に示すように OH ラジカルに起因する発光が強く観察されている。本研究の結果は、Ar プラズマ照射による殺菌は短寿命の OH ラジカルが大きく起因していることを示唆している。

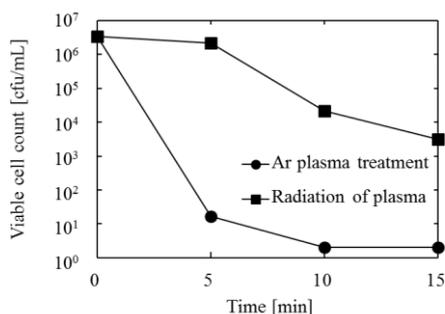


図3 殺菌特性の比較

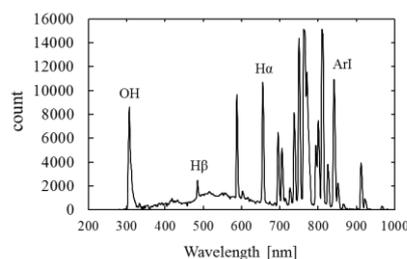


図4 Ar プラズマの発光分光分析

## (2) プラズマ処理水の植物への影響調査

医療やバイオ分野でのプラズマ応用研究では、非熱平衡プラズマの直接照射だけではなく、プラズマ照射した処理水にも殺菌などの効果があることが明らかになっている。一方で、葉菜類は葉からの様々な刺激で栄養素などの成分に影響を及ぼす。そこで、水道水に N<sub>2</sub> プラズマを照射した処理水を作製し、生育中のレタスの葉に散布し、生育への影響を調べた。生育時の培養液の条件を EC(導電率) 1.2, EC0.3, EC0.15(水) の 3 条件に設定し、定植後 1 週間から 11 日目までの間、毎日、処理水を葉面に散布した。27 日目の生育を調査した結果を表 1 に示す。草丈、葉数、葉面積のいずれにおいてもコントロール値と差はなく、本研究においては、処理水の葉面散布はレタスの生育に影響しないことが確認された。

表1 プラズマ処理水の葉面散布がレタスの生育の及ぼす影響

EC	処理	草丈 (mm)	葉数	葉面積 (cm <sup>2</sup> )
EC1.2	無処理	94.5	9.5	172.1
	N <sub>2</sub> プラズマ水噴霧	95.6	9.0	173.8
	t検定	ns	ns	ns
EC0.3	無処理	76.9	7.8	97.7
	N <sub>2</sub> プラズマ水噴霧	77.0	7.8	102.2
	t検定	ns	ns	ns

表中の ns は t 検定により、5% レベルで有意差があることを示す (n=6)。

## (3) プラズマ照射が培養液の物理化学特性に及ぼす影響

(1)の成果において、Ar プラズマを用いた培養液のプラズマ殺菌技術の適用性を示した。一方で、水耕栽培では培養液の温度、導電率、pH の値を管理しながら生育している。そこで、Ar プラズマの照射が培養液のこれらの値に及ぼす影響を調べた。この際、現象を理解するために、蒸留水と水道水にも同様の処理を行い、各値を比較評価した。

各溶液の量を 50mL と一定として、10 分までの範囲で照射時間に対する各値の変化を調べた。図5にプラズマ照射による溶液の温度上昇を示す。溶液の種類に依存せず 10 分の照射で約 13°C の温度上昇となっている。水の比熱から供給熱量を算出すると 4.5 W と極めて小さく、実際の水耕栽培では冷却が必要ないと判断できる。

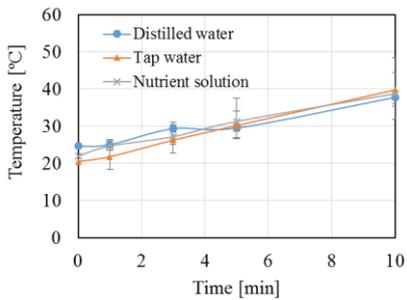


図5 プラズマ照射による溶液の温度変化

次に、導電率と pH の変化を調べた結果、いずれも殆ど変化しないことを確認した。図6に pH の結果を示す。水道水にプラズマ照射すると pH が増加しているが、これは、水道水に含まれるアルカリ成分がイオン化されたと考えられる。一方、培養液では pH の変化はみられず、変色や沈殿物なども確認されなかった。この結果より、プラズマ照射は培養液の成分や性質に悪影響を与えないと判断できる。

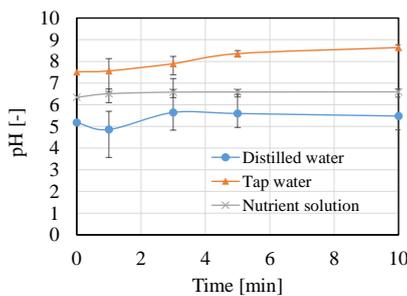


図6 プラズマ照射による溶液の pH 値

(4) 培養液のプラズマ処理が野菜の生育に及ぼす影響

培養液を用いたサニーレタスの水耕栽培において、培養液へのプラズマ照射がレタスの生育に及ぼす影響を調べた。図7に生育容器を示す。プラズマガスとして Ar, Air, N<sub>2</sub> を3種類のガスを用いて、定植後12日目から26日目までの12日間、毎日2回、30分間のプラズマ照射を行った。培養液の成分は、レタスの生育の伴い pH 値が変化したので、pH を 5.5 - 6.5 の範囲で一定に制御しながら生育を行った。

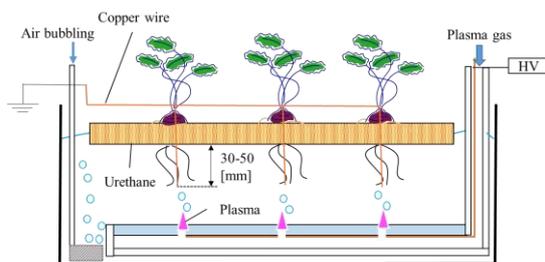


図7 レタスの生育実験

図8に培養液に N<sub>2</sub> プラズマを照射した際のレタスの生育実験の結果を示す。栽培容器の中の12株に対して、それぞれ最も大きく育った葉を採取し、葉の長さ、生重量、乾燥重量を計測した結果、プラズマを照射していない栽培容器での結果と差がない結果が得られている。Air および Ar プラズマの照射でも同様の結果となり、培養液へのプラズマ照射はレタスの生育に悪影響を及ぼさないことを確認した。しかしながら、Air プラズマの照射では、レタスの一部の葉面にクロロシスの病気が発生したことから、高濃度のオゾンが作用した可能性がみられた。N<sub>2</sub> プラズマは殺菌に寄与しないことから、本研究の結果からも培養液の殺菌には Ar プラズマの照射が好適と判断できる。一方で、植物の栄養素である N<sub>2</sub> を含むプラズマの照射でも生育に影響しなかったことから、本研究での培養液へのプラズマ照射では、生育促進や病害抵抗性の誘導などの付加的な効果を見出すにはいたらなかった。

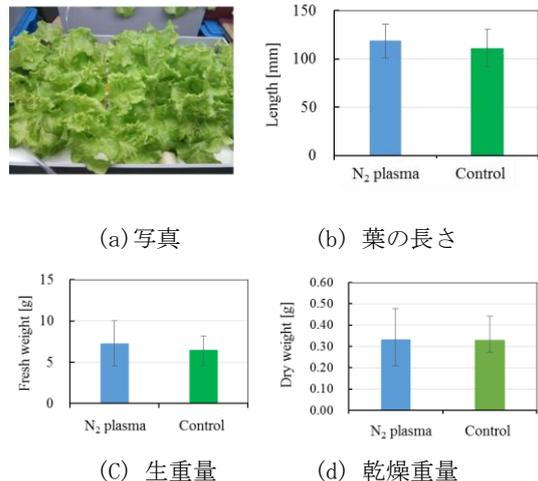


図8 レタスの生育実験の結果

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計1件)

- ① Shinji Yasui, Satoshi Seki, Ryohei Yoshida, Kazuhiro Shoji, and Hitoshi Terazoe: Sterilization of Fusarium Oxysporum by Treatment of Non-Thermal-Equilibrium Plasma in Nutrient Solution, *Jpn. J. Appl. Phys.* **55** 01AB01 (2015) 1-5.

[学会発表] (計7件)

- ① Y. Mori, S. Seki, S. Yasui, H. Terazoe, K. Shoji; Sterilization of Fusarium Oxysporum by Non-Equilibrium Plasma Irradiation, IS-Plasma2014 04p-P-02 (2014.3)
- ② 関聡史, 森雄哉, 安井晋示, 寺添齊, 庄子和博: 誘電体バリア放電プラズマ

- によるフザリウム菌の殺菌，第 61 回応用物理学会春季学術講演会 18p-PA8-6 (2014.3)
- ③ 関聡史，安井晋示，寺添斉，庄子和博：プラズマ処理条件によるフザリウム菌の殺菌効果，第 75 回応用物理学会学術講演会 17a-PB2-10 (2014.9.17-20)
  - ④ S. Seki, R. Yoshida, S. Yasui, H. Terazoe, K. Shoji; Effect of plasma treatment conditions on the Sterilization of Fuzarium, IS-Plasma2015 A4-P-03 (2015.3.26-31)
  - ⑤ 吉田陵平，関聡史，安井晋示：沿面放電を用いた液中プラズマの物理化学特性，平成 27 年度電気学会東海支部連合大会 E4-3, (2015.9.28-29)
  - ⑥ R. Yoshida, S. Seki, S. Yasui, H. Terazoe and K. Shoji; Survey on physical-chemical properties of the solution irradiated by surface discharge plasma, IS-Plasma2016, 07P89 (2016.3.6-10)
  - ⑦ 鬼頭昌也，関聡史，吉田陵平，安井晋示，庄子和博，寺添斉：プラズマ照射による植物工場培養液への影響評価，第 76 回応用物理学会学術講演会 19p-P7-9 (2016.3.19-21)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 1 件)

名称：水耕栽培用培養液の殺菌方法及び殺菌装置

発明者：庄子和博，安井晋示，寺添 斉

権利者：同上

種類：特許

番号：特願 2014-153731

出願年月日：平成 26 年 7 月 29 日

国内外の別：国内

○取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://yasui-lab.web.nitech.ac.jp/research/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

安井 晋示 (YASUI, Shinji)

名古屋工業大学・大学院工学研究科・准教授

研究者番号：30371561

(2) 研究分担者

庄子 和博 (SHOJI, Kazuhiro)

電力中央研究所・環境科学研究所・上席研究員