

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 9 月 18 日現在

機関番号：32682

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2012～2014

課題番号：24580484

研究課題名(和文) オゾンマイクロバブルを用いた養液殺菌と野菜の生産性向上が同時に可能な養液栽培

研究課題名(英文) Hydroponic culture which is available for sterilization and the productivity improvement of vegetables at the same time using ozone microbubble

研究代表者

玉置 雅彦 (TAMAKI, MASAHIKO)

明治大学・農学部・教授

研究者番号：20227268

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,300,000円

研究成果の概要(和文)：水耕栽培で、オゾンマイクロバブル(O3MB)の発生にともない酸化・沈殿した培養液中のFeとMnは、キレート剤の添加により再溶解が可能であった。さらに、キレート剤添加に伴い培養液中の殺菌効果は影響しなかった。レタスは、殺菌効果が得られる溶存オゾン濃度では生育に影響を受けないことから、特に水耕のレタス栽培では、キレート剤を使用したO3MBによる培養液殺菌が水耕栽培での新しい栽培技術として利用可能であることが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：In hydroponic culture, the use of O3MB can induce precipitation of metal ions from the medium, such as iron (Fe) and manganese (Mn). The addition of a chelator resulted in a concentration-dependent reduction in precipitates and the maintenance of Fe and Mn concentrations in the medium. The addition of a chelator did not alter the sterilizing effects of O3MB. Lettuce was unaffected in growth in the dissolved ozone concentration that was obtained bactericidal effect. These results indicate that the addition of a chelator to an O3MB-sterilized culture medium enabled the retention of dissolved Fe and Mn without affecting plant growth. Sterilization using O3MB plus a chelator may therefore be employed as an effective method in hydroponic culture.

研究分野：栽培環境学

キーワード：オゾンマイクロバブル 水耕栽培 キレート 殺菌

## 1. 研究開始当初の背景

我が国における水耕栽培の潜在的需要は、5年後には現在の2倍程度に増加すると予測され、その需要は極めて大きい。すでにネギでは50%以上、バラでは80%以上が土耕栽培から水耕栽培に代わっている。また、水耕栽培の導入によって、国際競争力が弱いとされている農業分野の工業化を推進し、農業分野に競争力を持たせることが可能となる。さらに、近年の農業経営基盤強化促進法の改正により、企業等が水耕栽培法を含めた先端技術を用いた農業生産法人経営に乗り出すケースが急速に増加しており、水耕栽培面積は今後も増加していくのは確実である。

しかし、水耕栽培の導入や普及を図る上で以下に示すような問題点が存在する。水耕栽培は、肥料を含む培養液によって栽培する方法であるため、

1) 培養液中に一旦病原菌が侵入するとたちまち全施設内に蔓延し、短時間のうちに施設内の全作物に被害が発生するといった大きなリスクがある。そのため、薬剤による作付け前の装置の殺菌・洗浄が必須となっているが、本消毒法はあくまでも間接的なものであり、病気が発生するとその後の消毒・洗浄に多大な費用がかかる。培養液を介して根から発生する病害に対して有効な殺菌対策は無く、また培養液中へ農薬を投与することは農薬取締法で禁じられているために、栽培期間中の培養液殺菌技術の開発が急務である。

2) 現状の掛け流し方式水耕栽培システムでは培養液は常に垂れ流し状態であり、培養液循環型水耕栽培システムでも栽培終了時に培養液を河川等の外部に廃棄しており、これらが環境汚染の一原因となっている。政府による今日の産廃法や農薬取締法改正の流れから、培養液の廃棄にあたっての浄化や、装置からの排水禁止の方向に向かうことは明らかで、これらに対する対応も急がれる。

上記の背景から、培養液殺菌と廃液ゼロを可能とする環境に配慮した半永久的培養液連続循環型水耕栽培システムの開発が、近い将来には必要となるのは明白である。

## 2. 研究の目的

本栽培システムを実現させるためには、培養液の継続的・効率的な同時殺菌・浄化が必要である。しかし、これまで熱や紫外線処理などの物理的方法、オゾンや塩素処理などの化学的方法、さらには緩速ろ過や拮抗微生物を利用した生物的方法などが検討されてきたが、これらの方法はいずれも経済性や効果、植物に及ぼす影響等の面で課題を残している。

作業場での大気中のオゾン濃度は0.1ppm以下にしないといけないと厚生労働省は決めている。従来技術のオゾンによる培養液の殺菌・浄化には溶存オゾン濃度が0.5ppm程度必要であるが、その為には数千ppmという極めて高濃度のオゾンが発生させ、廃オゾ

ンは回収する必要があった。人体や植物に及ぼす影響、ランニングコスト等を考えると、発生させるオゾン濃度を極めて低くして、低い溶存オゾン濃度で殺菌・浄化効果を得る必要がある。

そこで、オゾンマイクロバブル化した場合に培養液の殺菌・浄化が可能な有効下限溶存オゾン濃度を明らかにすることを目的とする。さらに、その濃度での植物の生育や品質、培養液の肥料組成への影響についても明らかにすることを目的とする。

## 3. 研究の方法

実験室内にコンテナを設置し、培養したフザリウム菌等の植物病原菌2~3種類を一定の水温の培養液に加え、溶存マイクロバブルオゾンの有効下限殺菌・浄化濃度と、その溶存濃度における植物の生育・品質および培養液の肥料組成の変化について下記の1)~3)の実験を行う。

### 1) 溶存マイクロバブルオゾンの有効下限殺菌・浄化濃度の検証

大腸菌およびフザリウム菌を用いたこれまでの実験で、マイクロバブルオゾンは殺菌効果が高いことを認めたが、溶存濃度と殺菌効果との関係については未検討である。植物や人体に及ぼす影響の極小化およびランニングコストの低減等の観点からは溶存オゾン濃度は低いほど良い。オゾンガスをマイクロバブル化することで、従来の散気管によるオゾン濃度よりも低濃度の溶存オゾン濃度で殺菌・浄化が可能であると期待される。そこで、有効下限殺菌・浄化濃度を把握するために、溶存オゾン濃度およびオゾン暴露時間等のパラメータと植物病原菌の殺菌効果および培養液の浄化効果との関係について検証する。

### 2) マイクロバブルオゾンが植物の生育・品質に及ぼす影響

これまでの実験では、マイクロバブルオゾンと培養液の殺菌・浄化効果との関係について検討してきたが、マイクロバブルオゾンが栽培植物の生育・品質に及ぼす影響については未検証である。そこで、コンテナ内でホウレンソウを水耕栽培し、特に1.のマイクロバブルオゾンの有効下限殺菌・浄化濃度において生育量(地上部および根)と品質(アスコルビン酸含量、クロロフィル含量、糖含量、等)に及ぼす影響の有無とその程度について把握する。

とに、ホウレンソウ等の葉菜類を水耕栽培してマイクロバブルオゾン処理による培養液殺菌・浄化効果について検証する。同時に、植物の生育・品質に及ぼす影響の有無、培養液の組成の変化の有無についても分析する。研究が当初計画どおりに進まない例として、平成21年度の実験1)で得られた有効下限濃度で培養液殺菌・浄化が不十分であることが考えられる。この場合には、上記の溶存オゾン濃度から濃度を少しずつ上げて検証す

る。さらに、平成21年度の実験2)および3)の植物の生育・品質および培養液中の肥料組成に及ぼす影響についても再検討する。

環境条件、特に季節によりマイクロバブルオゾンの殺菌・浄化効果は変化すると推察できるので、平成22年度から23年度にかけて可能な限り実験を反復し、季節ごとのマイクロバブルオゾンの有効下限殺菌・浄化濃度について検討する。また、その濃度と植物の生育・品質および培養液の肥料組成についても検討して、生産現場で利用する際の問題点及び解決策を明確にする。

### 3)マイクロバブルオゾンによる培養液の肥料組成の変化

これまでの実験から、溶存マイクロバブルオゾン濃度が高いと(0.5ppm)、培養液が酸化されてMnとFeが難溶性となり沈殿し肥料組成が変化することを検証した(前任教での研究)。しかし、低濃度の場合については未検討である。そこで、特に1.のマイクロバブルオゾンの有効下限殺菌・浄化濃度と培養液の肥料組成との関係について検証する。

## 4. 研究成果

O<sub>3</sub>MB発生前後における培養液中の陽イオンおよび陰イオン濃度を、発生前を100とした時の各イオンの相対濃度は、培養液の陽イオン濃度は、発生前と比較してFeとMnでのみ、それぞれ1/5および1/10に減少したが、他の6種の陽イオンおよび6種の陰イオン濃度には、O<sub>3</sub>MB発生前後での有意差は認められなかった。そこで、以下の実験では、培養液中のFeとMnの沈殿を防ぐために、キレート剤を用いた実験を行った。

O<sub>3</sub>MB発生後にEDTAまたはDTPAのキレート剤を培養液中に添加した後のFeおよびMnの濃度は、キレート剤0.1%添加区では、FeとMnの濃度はO<sub>3</sub>MB発生前の初期濃度(Feは約1.9ppm、Mnは約2.3ppm)とほぼ同等の濃度まで再溶解が可能であった。キレート剤0.01%添加区では、初期濃度の約4/5、0.001%添加区では初期濃度の約1/2までFeとMnを再溶解することが可能だった。しかし、キレート剤0.0001%添加区では、FeとMnの再溶解濃度は他の処理区よりも少なかった。したがって、O<sub>3</sub>MBを発生後の培養液にキレート剤を添加することで、O<sub>3</sub>MBにより酸化・沈殿することなくFeとMnを再溶解させることが可能であった。なお、キレート剤の種類の違いによるFeとMnの再溶解濃度に差異は認められなかった。

キレート剤添加後の培養液のpHは、培養液へのキレート剤の添加濃度の増加に伴い培養液のpHは低下した。pHの低下程度は、EDTAよりもDTPAキレート剤の方が大きく、EDTA0.1%添加区でpH4.9、DTPA0.1%添加区でpH4.6まで低下した。キレート剤添加濃度が濃いほど、FeとMnの再溶解濃度が高まったが、培養液中のpHは大きく低下した。培養液のpHが低いと植物の肥料吸収が

鈍化されて初期生育が阻害されるため、高濃度のキレート剤を添加する場合には、培養液のpHを調整する必要があることが示唆された。

O<sub>3</sub>MBを発生して、培養液中に肉眼で沈殿物生成確認後にEDTAまたはDTPAのキレート剤を添加した培養液中のFeおよびMnの濃度は、沈殿物生成後に0.1%濃度のキレート剤を添加しても、Feは約1.1ppmと初期濃度(約1.9ppm)の57%、Mnは約1.8ppmと初期濃度(約2.3ppm)の78%までしか再溶解しなかった。このように、O<sub>3</sub>MBを発生して沈殿物生成後にキレート剤を添加しても、沈殿物が生成される前にキレート剤を添加した場合に比べて、FeとMnの再溶解濃度が少なくなることが明らかとなった。キレート剤は金属イオンを捕集する性質があるため、FeとMnがO<sub>3</sub>と完全に反応せず沈殿物が生成される前にキレート剤を添加すると、キレート剤が金属イオンをより捕集しやすいと考えられる。しかし、沈殿物生成後にキレート剤を添加しても、FeとMnの再溶解濃度が少ないことが認められた。なお、キレート剤の種類の違いによるFeとMnの再溶解濃度に差異は認められなかった。

O<sub>3</sub>MB発生後にEDTAまたはDTPAを添加し、その後直ぐにpH6.8に調整した培養液中のFeおよびMnの濃度は、pH調整区と非調整区を比較すると、FeとMnの再溶解濃度に有意差は認められなかった。また、キレート剤の種類の違いによる差異も認められなかった。したがって、キレート剤を使用する場合には、pH調整には関係なく培養液中のFeとMnを再溶解させることが可能であることが示唆された。

O<sub>3</sub>MB発生後にEDTAまたはDTPAを添加し、再度O<sub>3</sub>MBを発生させた後の培養液中のFeおよびMnの濃度は、O<sub>3</sub>MB発生1回と2回で培養液中のFeとMn濃度には有意差は認められなかった。また、キレート剤の種類の違いによる差異も認められなかった。O<sub>3</sub>MB発生後にキレート剤を添加し、再度O<sub>3</sub>MBを発生させると、再溶解したFeやMnが酸化され再び沈殿することが考えられたが、再度O<sub>3</sub>MBを発生させても培養液中のFeとMnの濃度に差異は認められなかった。また、培養液にキレート剤を添加後にO<sub>3</sub>MBを発生させた場合も、同様の結果が得られたため(結果省略)実際の生産現場ではO<sub>3</sub>MB発生の度にキレート剤を添加する必要はないことが示唆された。

キレート剤は金属イオンを捕集する性質を持つが、一度金属イオンを捕集するとキレート錯体を形成するため、金属イオン間との結合が強くなる性質を持つ。そのため、一度キレート錯体を形成した金属イオンは、酸化や還元などの影響を受けにくくなる。したがって、キレート剤添加により再溶解したFeとMnがキレート錯体を形成したため、培養液のpH調整や、再度のO<sub>3</sub>MB発生に対しても、FeとMnの濃度に影響が認められなかったと考えられる。

$O_3$ MB の発生後のキレート剤添加が培養液の殺菌効果に及ぼす影響について、フザリウム菌、軟腐病菌ともにキレート剤添加濃度に関係なく検出限界値以下になるまでの時間がほぼ同様の傾向であったことから、キレート剤の添加が  $O_3$ MB の殺菌効果に影響を及ぼさないことが明らかとなった。また、キレート剤の種類による差異も認められなかった。

$O_3$ MB の発生後のキレート剤添加がリーフレタス、コマツナおよびホウレンソウの生育に及ぼす影響は、 $O_3$ MB 区の生育は、対照区と比較してリーフレタス、コマツナおよびホウレンソウの全ての調査項目において処理区内で有意差は認められなかった。0.001%添加区において、両キレート剤とも対照区と比較して生育が劣ったが、0.0001%添加区では、リーフレタス、コマツナおよびホウレンソウとも対照区と比較して全ての調査項目に処理区内で有意差は認められなかった。したがって、0.0001%濃度でキレート剤を使用すると、植物の生育には影響を及ぼさない事が明らかとなった。また、pH 調整区と pH 非調整区で生育の差異は認められなかったのは、植物の生育に影響が及ぶほどの pH の差異がなかったためと考えられる。

キレート剤の添加により、 $O_3$ MB の発生にともない培養液中の Fe と Mn を沈殿させることなく再溶解させることが可能であった。また、キレート剤添加後の pH 処理や、培養液中に  $O_3$ MB を発生した後にキレート剤を添加し再度  $O_3$ MB を発生させる処理を行っても、培養液中の Fe と Mn の濃度には影響は認められなかった。さらに、キレート剤の添加は、 $O_3$ MB の殺菌効果に影響しなかった。培養液中への  $O_3$ MB の発生後のキレート剤添加がリーフレタス、コマツナおよびホウレンソウの生育に及ぼす影響を検討した結果、 $O_3$ MB の発生およびキレート剤 0.0001%添加では植物の生育に影響はなかった。

以上の結果から、0.0001%濃度のキレート剤の使用では植物の生育に及ぼす影響はなく、 $O_3$ MB の発生が培養液中の肥料組成へ及ぼす影響を抑えながら殺菌できるため、キレート剤を使用した  $O_3$ MB による培養液殺菌が水耕栽培での新しい殺菌技術として利用可能であると考えられる。

#### 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 4 件)

1. Fumiyuki Kobayashi, Masaki Sugiura, Hiromi Ikeura, Michio Sato, Sachiko Odake and Masahiko Tamaki. Comparison of a two-stage system with low pressure carbon dioxide microbubbles and heat treatment on the inactivation of *Saccharomyces pastorianus* cells. Food Control. 46:35-40. 2014年12月.

2. Hiromi Ikeura, Fumiyuki Kobayashi and Masahiko Tamaki. Hydropriming treatment of rice seeds with microbubble water. Journal of Agricultural Science. 6(6):189-194. 2014年5月.
3. Hiromi Ikeura, Fumiyuki Kobayashi and Masahiko Tamaki. Ozone microbubble treatment at various water temperatures for the removal of residual pesticides with negligible effects on the physical properties of lettuce and cherry tomatoes. Journal of Food Science. 78(2): T350-T355. 2013年2月.
4. Hiromi Ikeura, Sadahiro Hamasaki and Masahiko Tamaki. Effects of ozone microbubble treatment on removal of residual pesticides and quality of persimmon leaves. Food Chemistry. 138:366-371. 2013年1月.

[学会発表](計 6 件)

1. 池浦博美・小林史幸・玉置雅彦. 水温の違いがオゾンマイクロバブルによる野菜の残留農薬除去効果に及ぼす影響. 第3回日本マイクロ・ナノバブル学会. 講演集 p33. 2014年12月7日. (明治大学)
2. Naoki, Emmei, Hiromi Ikeura, Masahiko Tamaki and Fumiyuki Kobayashi. Ozone microbubble treatment at various water temperatures for the removal of residual pesticides with effects on the physical properties of lettuce and cherry tomatoes. 28th EFFost Conference. Poster Programme. P1073. ウプサラ(スウェーデン). 2014年11月26日.
3. Keisuke, Suehiro, Hiromi Ikeura, Masahiko Tamaki and Fumiyuki Kobayashi. Removal of residual pesticides in vegetables using ozone microbubbles. 28th EFFost Conference. Poster Programme. P1091. ウプサラ(スウェーデン). 2014年11月26日.
4. 延命直紀・玉置雅彦. 水耕栽培におけるオゾンマイクロバブル処理が葉菜類の生育に及ぼす影響. 園芸学会 園芸学研究, 13(別2)555. 2014年9月28日. (佐賀大学)
5. 玉置雅彦. マイクロ・ナノバブルが植物病原菌の殺菌、残留農薬除去、植物の生育に及ぼす影響. 日本マイクロ・ナノバブル学会「2014 第1回農学部会セミナー」. 2014年6月29日. (明治大学)
6. 小林史幸・杉浦匡紀・池浦博美・佐藤道夫・小竹佐知子・玉置雅彦. 二酸化炭素マイクロ・ナノバブルによるビール酵母の殺菌. 第2回日本マイクロ・ナノバブル学会. 講演集 p13. 2013年12月15日. (明治大学)

〔図書〕(計 2 件)

1. 玉置雅彦・池浦博美. 植物工場生産システム流通技術の最前線. 第2章第5節オゾン・マイクロバブルを利用した培養液の殺菌技術. p.91-102. (株)エヌ・ティ・エス, 東京. 2013年4月.
2. 玉置雅彦・池浦博美. 食と健康の高安全化 - 殺菌、滅菌、消毒、不活化、有害物除去技術 -. 第6章 オゾン・マイクロバブルを利用した植物工場における病原菌の殺菌. p.434-442. 作道章一編著. S&T出版(株). 2012年9月.

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

玉置雅彦 (TAMAKI, Masahiko)  
明治大学・農学部・教授  
研究者番号：20227268

### (2)研究分担者

( )

研究者番号：

### (3)連携研究者

( )

研究者番号：