

微細気泡による殺菌・ウイルス不活化*

Sterilization and Virus Inactivation by Fine Bubbles

佐藤 岳彦**
SATO Takehiko上田 義勝***
UEDA Yoshikatsu高橋 克幸††
TAKAHASHI Katsuyuki高木 浩一††
TAKAKI Koichi

Abstract In this review, inactivation and activation of microorganisms using fine bubbles are introduced. In the first chapter, we introduce domestic and overseas research trends of sterilization methods using ozone and plasma. In the second chapter, we focus on researches such as cleaning of lipstick at cosmetic application, generation of plasma-activated microbubbles for sterilization of fresh foods and verification of underwater plasma characteristics under fine bubble dispersion for improvement of chemical activity of bubbles. The third chapter is an introduction of our activity through International Symposium on Application of High-voltage, Plasma & Micro/Nano Bubble to Agriculture (ISHPMNB).

Keywords: Microbubbles, Plasma, Reactive chemical species, Inactivation, Activation

1. はじめに

新型コロナウイルスによるパンデミックは、世界で1億人以上の感染者を出し、死者は300万人を越えた。人類は感染症との戦いを繰り返し、100年前に流行したスペイン風邪では、感染者数5億人以上、死者2千万人以上、中世のペストでは世界人口の1/4が亡くなったといわれている。天然痘、はしかなどでも多くの人の命が失われ、国の衰退や社会秩序の変革をもたらしてきた[1]。感染症の原因となる病原微生物には、ウイルスや細菌以外にも、真菌、原虫などがあり、現代では感染症の拡大を防ぐ多くの手立てがある。例えば、熱や紫外線、ガス、酸化剤などの物理化学的手法や抗微生物活性を有する抗菌薬、抗ウイルス薬などである[2]。新型コロナウイルスは、核酸とそれを取り囲むカプシド、カプシドを取り囲む脂質やタンパク質などからなるエンベロープで構成される。細胞内への侵入にはエンベロープが必要となるため、脂質を変性させるアルコール消毒が感染

予防に有効である。マスクや手洗い、身体的距離の確保は感染予防の基本であるが、今回のパンデミックではワクチンや抗ウイルス薬の開発など現代の科学の英知を集めた対策が進められている。

病原微生物に対する感染対策は多岐に渡るが、本解説では、2章においてオゾンやプラズマならびに気泡を利用した微生物の殺菌や活性化手法について、国内外の研究動向や応用例を著者らの成果も含め解説する。3章では、国際会議ISHPMNBにおける取り組みについて紹介する。

2. 国内外の研究動向と応用例

2.1 気泡とプラズマの組み合わせの妙

気泡径が100 μm以下のファインバブルは、減圧や超音波、レーザー、せん断流、フィルター、化学的手法などを利用して生成される[3,4]。自己加圧効果や比表面積の増大による気体溶解効率や吸着性の向上[5]、圧壊時の衝撃波や化学的活性

* 2021.5.10 受付

** 東北大学流体科学研究所 〒980-8577 宮城県仙台市青葉区片平 2-1-1

TEL: (022)217-5320 FAX: (022)217-5320 E-mail: takehiko.sato.d7@tohoku.ac.jp

*** 京都大学 生存圏研究所

† 岩手大学理工学部

†† 岩手大学次世代アグリイノベーション研究センター

種の生成による滅菌作用[6]などの特徴があり、幅広い応用が進められている。例えば、果物の殺菌[7]、飲み物の殺菌[8]、マボヤの高品質化[9]、産業排水や上水道の処理[10]、難分解物質処理[11]、レジスト洗浄[12]などの報告がある。

実用化においては、オゾンガスを気泡内に導入し、オゾンの溶解度や攪拌効果を高めることで殺菌や処理の効果を促進させている例が多い。オゾンは放電で簡単に生成できる上[13]、殺菌、脱色、脱臭などの効果があり、除去技術が確立しており、残留性もないことから、1960年代から上下水の高度処理に用いられている[14]。オゾン殺菌の作用機序は、溶解したオゾンが分解するとき生成する活性酸素が、細菌の細胞壁や細胞膜を酸化し破壊することで細胞質が流出して死滅する[15]。ウイルスに対しては、エンベロープが酸化され損傷を受けるのみならず、カプシドを透過し核酸に損傷を与え不活化する[16]。しかし、多くのグラム陽性菌や耐熱性芽胞菌の処理には高濃度にする必要がある[15,17]。

近年では、空気を利用したプラズマ殺菌法の開発が進められ、オゾンと窒素酸化物を両方生成させることで、オゾンでは十分に死滅しない芽胞菌やバイオフィルムの滅菌が可能になってきている[18]。これは、空気プラズマが生成する、一酸化窒素(NO)、過酸化水素(H_2O_2)、亜硝酸(HNO_2)、スーパーオキシドアニオン($\cdot O_2^-$)などが反応し、高い反応性を有するペルオキシナイトライト($ONOO^-$)や活性化ペルオキシナイトライト($ONOOH^*$)が生成され、脂質過酸化反応などを惹起する[19]。さらに、ペルオキシ亜硝酸($ONOOH$)は H_2O_2 と反応し強い殺菌作用を有する過硝酸(O_2NOOH)が生成されることが報告されている[20]。このように、空気プラズマは活性酸素窒素種を生成することで効果的に殺菌効果を高めることができる。

ウイルスの不活化については、前述のようにエンベロープウイルスの場合は、エンベロープがオゾンやプラズマにより損傷を受けるため、不活化が可能であり、新型コロナウイルスへの適用も検討されている[21]。カプシドを取り囲むエンベロープのないノンエンベロープウイルスは、一般に芽胞菌よりも物理化学耐性が強いが[22]、プラズマにより不活化できることが報告されている[23]。また、その不活化機構として、プラズマにより生

Table 1 The effect of sterilization treatments on total microbial population, *E. coli* and *Salmonella* spp. colonies in alfalfa seeds [26].

Treatments	Standard plate count (Log ₁₀ CFU/mL)	<i>E. Coli</i>	<i>Salmonella</i> spp.
Control	4.54 a	Detected	N.D.
TW	4.54 a	Detected	N.D.
MBW	4.17 b	Detected	N.D.
OW	4.04 c	N.D.	N.D.
OMBW	1.88 d	N.D.	N.D.
CL	1.75 e	N.D.	N.D.

Water	Temperature	25 °C		40 °C		50 °C	
	Air-supersaturated	No	Yes	No	Yes	No	Yes
Detergent concentration	Ultrasonic stimulation	No	Yes	No	Yes	No	Yes
	0 g/L						
	1.2 g/L						
	2.4 g/L						

Fig. 1 Pictures of the stain-adhered sample after cleaning with the measurement target water (at three different temperatures), prepared under three levels of detergent concentration, from two kinds of raw water [28].

成される五酸化二窒素(N_2O_5)が、カプシド内に拡散し核酸に損傷を与えることが報告されている[24]。

2.2 オゾンを含む微細気泡による殺菌

2.2.1 食品の冷蔵保存

Matsumoto らは、オゾンマイクロバブル水を氷にして食品の冷蔵保存への有効性について調べた[25]。これは、通常のオゾン溶解水を氷にするよりも、氷中に固定されるオゾンの量を増やす事が可能であり、それにより、殺菌効果を上げて、生鮮食品の鮮度保持の向上を可能にしている。また、オゾン放出量を大きくすると殺菌作用は高くなる一方、食品の酸化が進み劣化することが心配されるが、イワシ油においては劣化(POV、過酸化価)が低く抑えられた。

2.2.2 植物種子の殺菌

Kwack らは、アルファルファ種子上の微生物個体数を減少させるためのオゾンマイクロバブル

水 (OMBVV) の有効性を調査した[26]。アルファルファ種子を水道水(TVV)、マイクロバブル水 (MBV)、オゾン水 (OW)、オゾンマイクロバブル水 (OMBV)、塩素水 (CL) で 5 分間処理し、総微生物数、大腸菌、サルモネラ属菌のコロニーを測定した。また、殺菌した種子を発芽させ、播種後 5 日間培養して、発芽率とアルファルファのスプラウトの成長を調べた。Table 1 にこれらの結果を示す。OMBW と CL による処理は、総微生物数の減少に最も効果的であり、大腸菌 (*E. Coli*) は OW、OMBW、CL の各処理で排除された。CL 処理はアルファルファ・スプラウトの発芽率と新鮮重量を減少させたが、OMBW はアルファルファ・スプラウトの発芽と成長に悪影響を与えない結果が得られた。これより、OMBW は種子の生存率に悪影響を与えることなく、種子が媒介する病原菌を除去する効果的な除菌剤として使用できることを示した。

2.3 プラズマやレーザー、超音波などとの併用

2.3.1 バイオフィルムの破壊

バイオフィルムなどの細菌を局所的に破壊する手法として、Teirlinck らはプラズモンナノ粒子の周りに形成されたレーザー誘起蒸気ナノバブル (VNB) を用い、バイオフィルムの健全性を局所的に乱し、抗生物質の拡散を改善する可能性について調べた[27]。バイオフィルムにカチオン性の 70 nm 金ナノ粒子を担持させ、その後のレーザー照射によってバイオフィルム内に VNB を形成させることで、バイオフィルムを破壊できることを示した。

2.3.2 口紅の洗浄

ここで、美容応用について、著者 (上田) が取り組んできた口紅洗浄効果について紹介する。これは、空気を用いた過飽和ガス溶液に超音波を照射しウルトラファインバブルを生成させ、それをノズルから噴出させ洗浄する方法である。この手法により、口紅の汚れの洗浄効果を概ね 20 % 上昇させることに成功した。通常の水ならびに超音波単体での洗浄効果よりも高い効果が出ることから、超音波によるウルトラファインバブルの生成と、同時に発生する超音波による圧壊効果が、口紅の洗浄効率を上げることを示している[28]。また、この洗浄原理に関する成果として、スプレー液滴化によるマイクロバブル生成と、その洗浄効果向上に関する研究成果についての報告も行

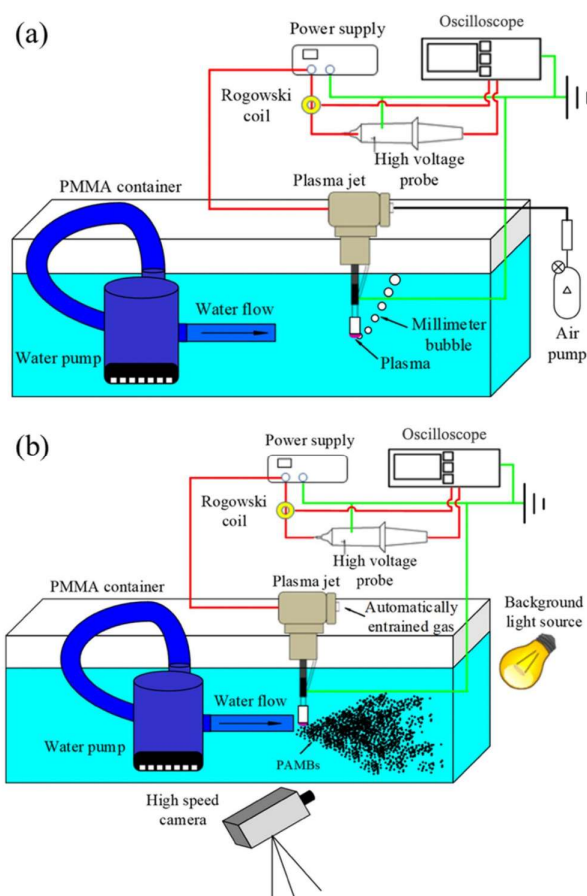


Fig. 2 (a) A schematic diagram of the experimental setup of generation system of PAW along with the instruments for plasma electrical characteristics measurement and (b) a schematic diagram of the experimental setup of generation system of PAMBs water with the instruments for plasma electrical characteristics measurement and bubble size measurement [30].

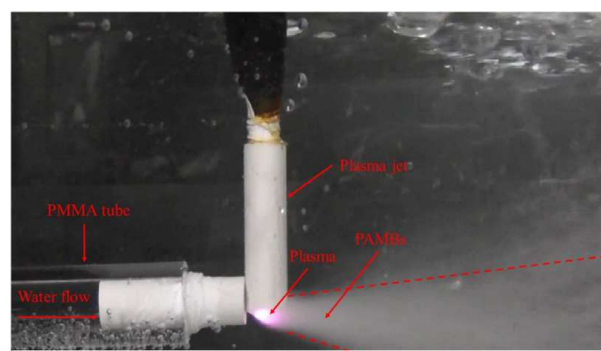


Fig. 3 A snapshot of generation of PAMBs in the water. [30].

っている[29]。

2.4 プラズマ活性化マイクロバブル発生法

次に、著者 (佐藤) が取り組んできたプラズマ

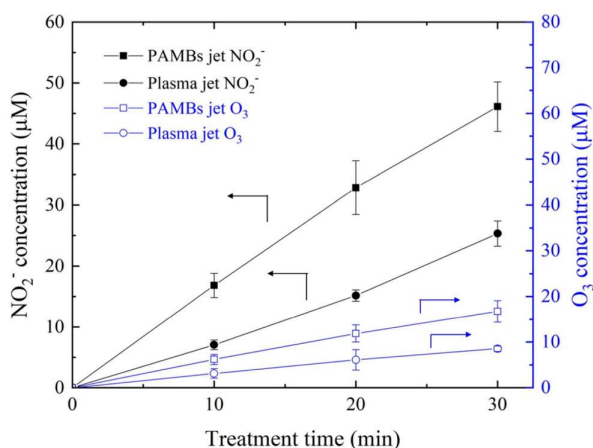


Fig. 4 The concentrations of nitrite and ozone treated by plasma jet and PAMBs jet as a function of treatment time [30].

ガスを含むマイクロバブルの生成法について紹介する[30]。本研究は、Fig. 2(a)に示すような、台湾国立交通大学（現 台湾国立陽明交通大学）のWu教授らが開発した野菜や卵などの生鮮食品の殺菌用のプラズマ活性水（Plasma Activated Water (PAW)）生成装置[31]を利用した。この装置は、石英管内に電極を設置し電圧 4-8 kV_{pp}、周波数 20 kHz を印加する。石英管の周囲に接地電極を配置し、ガスを供給すると電極表面と石英管内壁との間でプラズマが発生する。石英管を水中に入れると、石英管先端から直径数 mm のプラズマガスを含んだ気泡となり噴出する。この数 mm の気泡は、短い時間で水面に浮上し消滅する。そこで、プラズマガスをより溶解させるために、気泡をマイクロバブル化することとした。本装置は、実用化を想定したため、簡便にマイクロバブルを生成する必要があった。本研究では、Fig. 2(b)、Fig. 3 に示すように、水槽内にポンプで水流を生成し、その水流の噴出口の出口を一部塞ぐようにプラズマ発生用の石英管を設置した。水流の断面積を小さくすることで、ノズル出口の流速が増大し静圧が減少する。これにより、石英管先端からは自然吸気された空気が噴出し、空気と水流の界面のせん断力により微細気泡が形成される。石英管内でプラズマを発生させることで、Fig. 3 に示すようなプラズマ活性化マイクロバブル（Plasma Activated MicroBubbles (PAMBs)）を下流に噴出させることに成功した。

Fig. 4 に亜硝酸イオンとオゾンの濃度の時間変化を示す[30]。水槽やポンプの設定は同じとし、

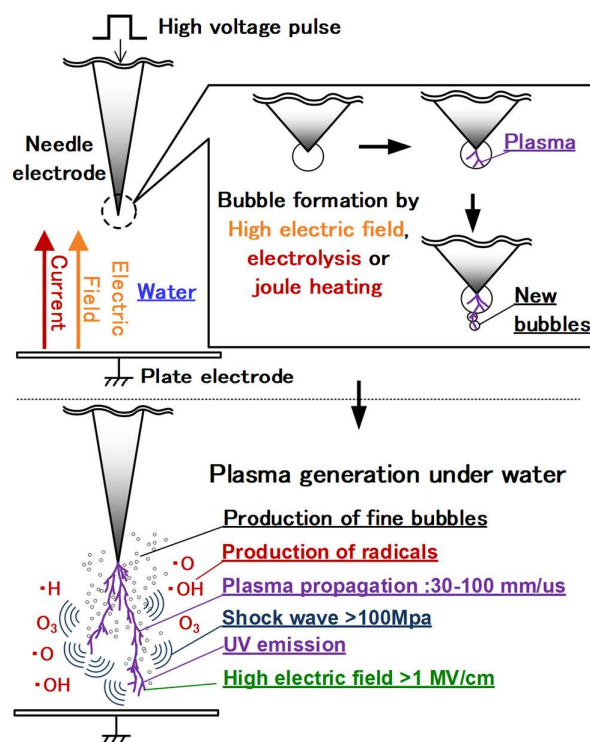


Fig. 5 Role of gas bubbles for generation of underwater plasmas.

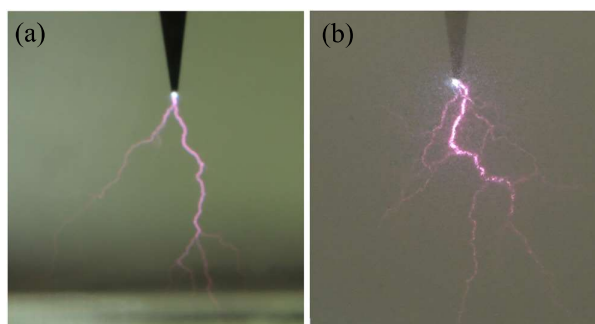


Fig. 6 Snapshots of underwater plasmas in the cases of (a) without fine bubbles and (b) with fine bubbles.

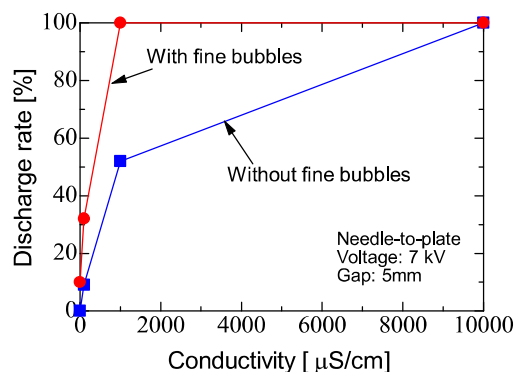


Fig. 7 Effect of the water conductivity and with/without fine bubbles on the discharge rate.

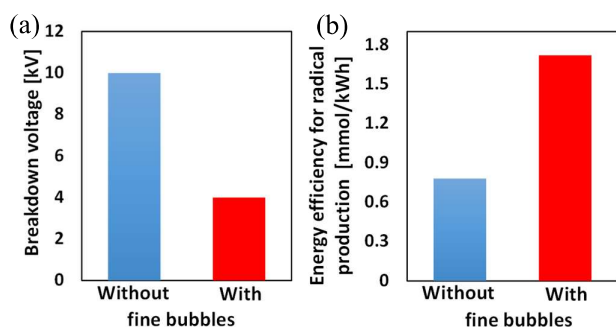


Fig. 8 Effect of with/without fine bubbles on (a) breakdown voltage and (b) energy efficiency for radical production.

石英管を水流出口から離すことで、マイクロバブルの有無の比較をした。亜硝酸イオンとオゾンの濃度はいずれも、マイクロバブルを発生させた場合に概ね2倍となることから、化学種の溶解促進に大きな効果があることを示した。現在は、さらなる気泡の微細化と殺菌効果向上を目指し改良を続けている。

2.5 水中プラズマによる処理

2.5.1 水中プラズマの特徴

水中に浸漬した針状の電極に高電圧パルスを加えると水中プラズマが発生する。このとき、ヒドロキシラジカル ($\cdot\text{OH}$) などの化学的活性種を水中に直接かつ瞬時に発生させることができる。プラズマ中の電子密度は 10^{25} m^{-3} オーダー[32]と極めて高く、高密度のラジカルが生成可能である。また、水中プラズマの進展に伴いその先端で高電界を発生することや、強い衝撃波を形成し、高速での殺菌効果を得ることができる [33]。この効果は細菌のみならず水中の微生物の不活化にも有効である。しかし、水の絶縁破壊電圧が高いことから高電圧・大電流が必要であること、水への導電損失が大きくエネルギー効率が低いことが欠点となる。

2.5.2 水中プラズマ発生における気泡の影響

ここで、著者ら（高橋、高木）が取り組んできた水中プラズマと気泡の相互作用ならびに分散気泡の化学的活性へ影響について紹介する。Fig. 5に示すように、水中プラズマの発生には電極近傍に集中して流れる電流などによって水を気化し、微小気泡を生成することが重要であることが知られている。ここで、Fig. 6の写真で示すように、あらかじめファインバブルを電極近傍に供給することによって、気化に用いられるエネルギー



Fig. 9 Photo of participants in the ISHPMNB2017 at Rajamangala University of Technology Lanna.

消費を抑制することが可能となり、放電が起りやすくなる。水中プラズマの放電確率を Fig. 7に示すが、ファインバブルが存在することで、水の導電率に関わらず、放電確率は大幅に上昇する。また、ファインバブルがない場合、導電率の低下とともに電流密度が減少し電極近傍の気泡生成が難しくなり、放電確率も低下するが、ファインバブルの導入によりその低下を抑制できることを示した。

Fig. 8(a)に、絶縁破壊電圧へのファインバブルの有無の影響を示す。絶縁破壊電圧は、ファインバブルを導入することにより、2分の1程度まで低下する。また、ファインバブルがある場合の放電電流は、無い場合に比べ2倍程度増加しており、より電離が進むことが示唆されている。電流の増加は、パルス幅が短い場合に特に顕著に現れる。Fig. 8(b)に、有機染料のインジゴカルミンを化学プローブとした化学的活性種の生成効率へのファインバブルの有無の影響を示す。ファインバブルが無い場合、化学的活性種の生成効率は 0.8 mmol/kWh 程度であるところ、ファインバブルがある場合は 1.7 mmol/kWh 程度と大きく向上することがわかった。特に、導電率が高い場合に顕著に効率が大きく、前述した絶縁破壊電圧の減少と相関が得られた。このことから、ファインバブルの導入により水中プラズマの発生が起りやすくなり、化学的活性種の生成効率が向上することで、殺菌効果の増大が期待できる。

3. 国際会議 ISHPMNB にみる気泡利用研究動向

3.1 プラズマと気泡との学際融合研究

International symposium on Application of High-voltage, Plasma & Micro/Nano Bubble (Fine Bubble) to Agriculture and Aquaculture は、京都大学



Fig. 10 A group photo of the ISHPMNB2018 at Iwate University.

の吉川潔名誉教授が中心となって、タイ王国と日本、中国の研究者とが連携し、2017 年から開催している国際シンポジウムであり、Fig. 9 は第 1 回の参加者の写真である。

第 1 回、第 2 回の開催においては、タイ王国北部に 6 つのキャンパスをもつ Rajamangala University of Technology Lanna (RMUTL) が中心になって開催された。タイ王国においては、農林水産業が盛んであり、その技術的発展のための新しい研究テーマの模索が進んでいる。そのテーマの中で、特にマイクロバブルやナノバブルを利用した養殖や農業研究、また高電圧プラズマを利用した農業研究が現在注目されつつある。

第 3 回開催（議長：高木）では日本の岩手大学において開催され、高電圧・プラズマやファインバブルの農業・水産業・食品分野についての研究成果として発表された。高電圧を利用した通電加熱による農産物、水産物の高度加工や、ファインバブルによる食品保存、またプラズマを用いた菌根菌きのこの生育促進など、先進的な事例が紹介され、非常に活発な議論が進められてきている。Fig. 10 は会議の集合写真である。

第 4 回開催では同じくタイ王国の Rajamangala University of Technology Thanyaburi が主催し、アユタヤで開催された。回数を追うごとに研究者の参加の幅が広がりつつある。第 4 回以降では特に中国からの参加が増えつつあり、国際的な研究活動としてもより充実したものとなりつつある。

第 5 回開催（議長：上田）は 2020 年度に日本にて開催予定であったが、COVID-19 の影響により開催が延期され、2021 年度にオンラインにて日本主催により開催した。オンライン開催の強みもあり、総計 6 か国、228 名の参加があり非常に盛況であった。講演分野も農学、工学、環境工学など多岐にわたり、国際色もさることながら、分野融合を見据えた新しい研究土壌を生み出すき

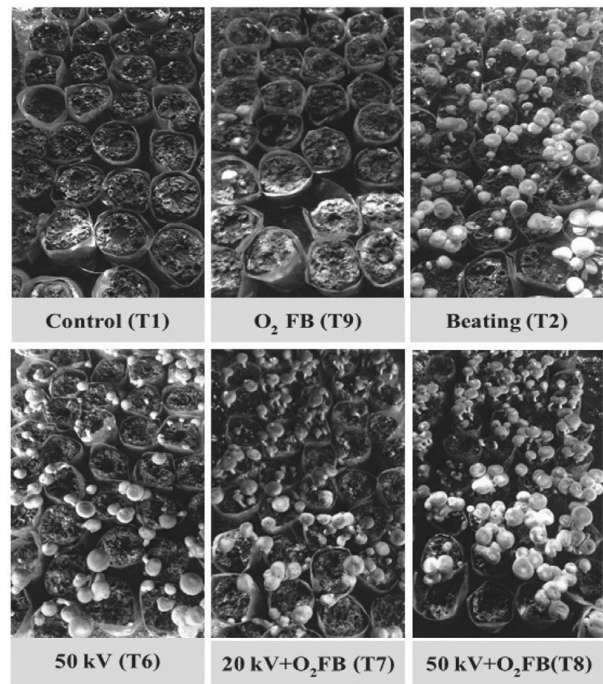


Fig. 11 Application of fine bubbles and electrostatic plasmas to growth of mushrooms [35].

っかけとなる有意義な国際シンポジウムとなった。次回第 6 回については中国側の研究者が主催となって開催を検討中であり、今後の状況次第ではあるが、対面での開催を目指している。

3.2 ISHPMNB における研究事例紹介

ISHPMNB における研究発表の中で、特に殺菌に関する研究報告について紹介する。一つ目の研究事例としては、オゾンガスとファインバブルを用いた殺菌効果の事例であり、大腸菌の増殖抑制には、生成直後のオゾンファインバブル水について効果がある、という結果が示されている。ただし、3 日以上保管した場合は、オゾンの自然分解などの効果により抑制効果が下がったという結果となっている[34]。

また、菌類の成長促進では成果が出始めている。タイ王国で、シイタケ栽培を行う際に、ファインバブルと静電プラズマを併用する試験をしたところ、成長重量が約 1.8 倍と大幅に増大していることが報告されている[35]。

尚、現在までの報告では、特に応用利用の実証が比較的多くあるものの、基礎的な作用機序の解明までは至っていない部分もあるため、今後の研究成果報告が期待される。

3.3 今後の活動方針

国際シンポジウムとして活発な議論が生まれる ISHPMNB は 2021 年には第 5 回目が開催され、これまでの農学・工学についての発表だけでなく、基礎研究の他、環境工学としての微細気泡利用の報告など、多数の研究発表があった。プラズマと微細気泡は電気・化学・熱流体を横断する分野ではあるが、帯電した粒子（気泡）の溶媒（真空 or 気体 or 液体）中での挙動としてみた場合、非常によく似た考え方により理解が深まる部分も多く、基礎原理解明に向けた分野融合を促進していきたい。

4. おわりに

本解説は、微細気泡とプラズマを組み合わせた研究を中心に紹介した。著者（佐藤）の水中プラズマの研究の経緯は、大気中の殺菌から始まり、水中の殺菌に対象を広げることで始まった。水中プラズマの研究では、生成される気泡の発生に興味があり、さらに気泡生成の起点となる水中ストリーマの進展の研究に発展した。そして今は、水中を秒速 20 km という高速でストリーマが進展する理由を探っている。気泡とプラズマは繋がっていないようで繋がっていて、また生物とも繋がっている。一つの現象は、一つの分野に収まらず、無限に広がる可能性を秘めていて、そこに連なる研究者の方々との繋がりも、研究の楽しさだと感じている。まだまだ未解明のことは多いが、皆様方のご支援やご指導を得ながら解決していきたい。

謝 辞

本解説で記載した内容に関わる方々皆様に感謝の意を表する。

参考文献

- [1] Ishi, H., World History of Infectious Diseases, Kadokawa Sophia Bunko (2018).
- [2] Hiramatsu, K. (Supervisor), Nakagomi, O. and Kamiya, S. (Editor), Standard Microbiology (in Japanese), Igaku Shoin (2013).
- [3] Terasaka, K., Himuro, S., Ando, K. and Hata, T. (Authors), The Union of Fine Bubble Scientists and Engineers (Editor), Introduction to Fine Bubble Science and Technology, Nikkan Kogyo Shimbun, Ltd. (2016).
- [4] Sato, T., Uehara, S., Kumagai, R., Miyahara, T., Oizumi, M., Nakatani, T., Ochiai, S., Miyazaki, T., Fujita, H., Kanazawa, S., Ohtani, K., Komiya, A., Kaneko, T., Nakajima, T., Tinguely, M. and Farhat, M., Formation and Measurement of Plasma Fine Bubbles, Japanese Journal of Multiphase Flow, Vol. 33(4), 382-389 (2019).
- [5] Onoe, K., Fascination and Engineering Application of Reaction Field Involving Fine Bubbles, Journal of the Surface Finishing Society of Japan, Vol. 68(6), 308-312 (2017).
- [6] Nishiguchi, K., Hashimoto, Y. and Yamamoto, K., Inactivation of Bacteria and Fungus by Ultrasonic Cavitation, Japanese Journal of Multiphase Flow, Vol. 35(1), 11-18 (2021).
- [7] de São José, J. F. B., de Andrade, N. J., Ramos, A. M., Vanetti, M. C. D., Stringheta, P. C. and Chaves, J. B. P., Decontamination by Ultrasound Application in Fresh Fruits and Vegetables, Food Control, Vol. 45, 36-50 (2014).
- [8] Asaithambi, N., Singha, P., Dwivedi, M. and Singh, S. K., Hydrodynamic Cavitation and its Application in Food and Beverage Industry: A Review, Journal of Food Process Engineering, Vol. 42(5), e13144 (2019).
- [9] Takase, K., Suenaga, K. and Kakuta, I., Enhancing the Quality of Sea Pineapple *Halocynthia Roretzi* by Using Ozone Fine Bubbles, Nippon Suisan Gakkaishi, Vol. 86(4), 328-334 (2020).
- [10] Hafeez, A., Shamair, Z., Shezad, N., Javed, F., Fazal T., ur Rehman, S., Bazmi, A. A. and Rehman, F., Solar Powered Decentralized Water Systems: A Cleaner Solution of the Industrial Wastewater Treatment and Clean Drinking Water Supply Challenges, Journal of Cleaner Production, Vol. 289, 125717 (2021).
- [11] Takeuchi, N., Miichi, T., Uehara, S. and Sato, T., Decomposition of Organic Matter and Sterilization in Water Using Plasma, Journal of the Institute of Electrostatics Japan, Vol. 44(6), 230-238 (2020).
- [12] Kaneko, A. and Abe, Y., Environmentally-Friendly Washing Technology Using the Microbubble Generator with a Venturi Tube, Japanese Journal of Multiphase Flow, Vol. 32(2), 231-238 (2018).
- [13] Yamabe, C., Ozone Generation, Journal of Plasma and Fusion Research, Vol. 74, 134-139 (1998).
- [14] Kaiga, N., Water Treatment Feature Using Ozone, Japan Journal of Water Pollution Research, Vol. 13(12), 8-12 (1990).
- [15] Naito, S., Inhibition of Food Microorganisms by Application of Ozone and UV, Jpn. J. Food Microbiol., Vol. 12(2), 105-113 (1995).
- [16] Roy, D., Wong, P. K. Y., Engelbrecht, R. S. and Chian, E. S. K., Mechanism of Enteroviral Inactivation by Ozone, Applied and Environmental Microbiology, Vol. 41(3), 718-723 (1981).

- [17] Okubo, M. (Supervisor), Plasma Technologies for Industry Applications - Applications Extended from Surface Treatment to Environmental, Medical, Biological, and Agricultural Uses - (Chapter 4, 1. Plasma Sterilization (co-authored by Sato, T.)) (in Japanese), CMC Publishing Co. Ltd, 244-254 (2017).
- [18] Muramatsu, K., Sato, T., Nakajima, T., Nagasawa, T., Nakatani, T. and Fujimura, S., Sterilization in Liquids by Air Plasma under Intermittent Discharge, *Mechanical Engineering Journal*, Vol. 7(1), 19-00431 (2020).
- [19] Fukuyama, N. and Nakazawa, H., Superoxide, Nitric Oxide and Peroxynitrite, *Folia Pharmacol. Jpn.*, Vol. 112, 169-176 (1998).
- [20] Yokoyama, T., Miyazaki, S., Ikawa, S., Nakashima, Y. and Kitano, K., Kinetics Analysis of the Reactions between Peroxynitric Acid and Amino Acids, *Chem. Res. Toxicol.*, Vol. 33, 1633-1643 (2020).
- [21] Morrison, C., Atkinson, A., Zamyadi, A., Kibuye, F., McKie, M., Hogard, S., Mollica, P., Jasim, S. and Wert, E. C., Critical Review and Research Needs of Ozone Applications Related to Virus Inactivation: Potential Implications for SARS-CoV-2, *Ozone Sci. & Eng.*, Vol. 43(1), 2-20 (2021).
- [22] Sato, T., Sterilization and Virus Inactivation by Plasma Flow (in Japanese), *Journal of the Japan Fluid Power System Society*, Vol. 51(4), 172-176 (2020).
- [23] Zimmermann, J. L., Dumler, K., Shimizu, T., Morfill, G. E., Wolf, A., Boxhammer, V., Schlegel, J., Gansbacher, B. and Anton, M., Effects of Cold Atmospheric Plasmas on Adenoviruses in Solution, *J. Phys. D: Appl. Phys.*, Vol. 44, 505201 (2011).
- [24] Moldgy, A., Nayak, G., Aboubakr, H. A., Goyal, S. M. and Bruggeman, P. J., Inactivation of Virus and Bacteria Using Cold Atmospheric Pressure Air Plasmas and the Role of Reactive Nitrogen Species, *J. Phys. D: Appl. Phys.*, Vol. 53, 434004 (2020).
- [25] Matsumoto, K., Zhang, S., Sekine, K. and Kubota, H., Investigation on Influence of Dimensions of Ice Containing Ozone Micro-Bubbles on Characteristics of Ozone Concentration, *International Journal of Refrigeration*, Vol. 66, 41-49 (2016).
- [26] Kwack, Y., Kim, K. K., Hwang, H. and Chun, C., An Ozone Micro-Bubble Technique for Seed Sterilization in Alfalfa Sprouts, *Korean Journal of Horticultural Science & Technology*, Vol. 32(6), 901-905 (2014).
- [27] Teirlinck, E., Xiong, R., Brans, T., Forier, K., Fraire, J., Van Acker, H., Matthijs, N., De Rycke, R., De Smedt, S. C., Coenye, T. and Braeckmans, K., Laser-Induced Vapour Nanobubbles Improve Drug Diffusion and Efficiency in Bacterial Biofilms, *Nature Communications*, Vol. 9(1), 4518 (2018).
- [28] Tanaka, Y., Yamamoto, Y. and Ueda, Y., A Study of the Influence of Temperature and Detergent Concentration on the Removal of Lipstick Stains Using Air-Supersaturated Water, where Fine Bubbles are Generated by Ultrasonic Stimulation, *Asia-Pac. J. Chem. Eng.*, Vol. 15, e2459 (2020).
- [29] Ueda, Y., Tokuda, Y. and Zhenghao, L., Micro Bubble Generation with Pressurized Droplet from Ultra Fine Bubble Water and Its Cleaning Effect, *Japanese Journal of Multiphase Flow*, Vol. 35(1), 36-42 (2021).
- [30] Wu, M.-C., Uehara, S., Wu, J.-S., Xiao, Y., Nakajima, T. and Sato, T., Dissolution Enhancement of Reactive Chemical Species by Plasma-Activated Microbubbles Jet in Water, *J. Phys. D: Appl. Phys.* Vol. 53, 485201 (2020).
- [31] Wu, M.-C., Liu, C.-T., Chiang, C.-Y., Lin, Y.-J., Lin, Y.-H., Chang, Y.-W. and Wu, J.-S., Inactivation Effect of Colletotrichum Gloeosporioides by Long-Lived Chemical Species Using Atmospheric-Pressure Corona Plasma-Activated Water, *IEEE Trans. Plasma Sci.*, Vol. 47(2), 1100-1104 (2019).
- [32] Bruggeman, P. and Leys, C., Non-Thermal Plasmas in and in Contact with Liquids, *J. Phys. D Appl. Phys.*, Vol. 42, 053001 (2009).
- [33] Estifae, P., Su, X., Yannam, S. K., Rogers, S. and Thagard, S. M., Mechanism of *E. coli* Inactivation by Direct-in-Liquid Electrical Discharge Plasma in Low Conductivity Solutions, *Sci. Rep.*, Vol. 9, 2326 (2019).
- [34] Saijai, S., Thonglek, V. and Yoshikawa, K., Sterilization Effects of Ozone Fine (Micro/Nano) Bubble Water, *Int. J. Plasma Environ. Sci. Technol.*, Vol. 12(2), 55-58 (2019).
- [35] Norarat, R., Thipprasert, W., Mikhamlueang, C., Wanmanee, T., Nanta N. and Srijumpa, N., Sterilization Effects of High Voltage Stimulation and Oxygen Rich Fine Bubble (FB) Water on Cultivated Shiitake Mushroom in Thailand, *Int. J. Plasma Environ. Sci. Technol.*, Vol. 12(2), 69-73 (2019).