

論 文 内 容 の 要 旨

氏 名	片 寄 政 彦 <small>かた よせ まさ ひこ</small>
学位の種類	博 士 (農学)
学位記番号	農 第 106 号
学位授与の日付	平成 19 年 3 月 22 日
学位授与の要件	学位規程第 4 条第 1 項該当
学位論文題目	電解海水を用いた水産分野における殺菌技術の 高度化
論文審査委員 (主 査)	教 授 江 口 充
(副主査)	教 授 宮 下 盛
(副主査)	教 授 小 野 征 一 郎

種苗生産における水環境の問題点として、残餌や排泄物による有機汚濁の進行と魚病原因微生物の発生がある。水質汚染は主に魚類の飼育中に進行するが、養殖用水が供給される時点ですでに汚染されている場合もある。水質の悪化は、初期減耗や魚病の発生といった問題を引き起こすだけでなく、このように汚染された養殖水を排水する事により、周辺水域の水質汚染の原因にもなり、水質環境の保全という見地からも重要な問題となる。魚類の種苗生産現場では、紫外線照射による海水の滅菌や、薬剤の投与による魚病の予防・水質管理がもたら行われてきた。しかし、日本では 2003 年に改正された薬事法の施行に伴い、養殖魚への薬剤の使用が制限され、薬剤の使用量を減らさなければいけない状況になっている。また、消費者の食に対する安全・安心への関心の高まりもそれに拍車をかけ、今後ますます安全な水産物の生産が求められるようになる。水産食品の安全性に加え、天然の生態系に優しい養殖を行うためにも、薬剤を使用しない水質管理手法の開発が求められている。養殖排水に関しても、天然水域への負荷を低減するために、天然の海水域に放出する前に排水処理することが望まれる。

本論文では、魚類養殖場における水環境と施設の衛生状態の向上および、消費者の食に対する安全意識の向上に対応するための手段として、近年水産分野で利用されるようになった電解海水の安全性の評価と利用方法の検討を行っている。

第 1 章の緒論、第 2 章の電解海水生成装置の概要に続き、第 3 章では電解海水の効果と安全性について評価を行っている。

電解海水の効果としてまず高い殺菌効果を挙げ、水産養殖場等で一般的に用いられている紫外線殺菌海水と比較を行った。紫外線処理をした海水中の生菌数は、原水とほぼ同じか 1 桁程度減少しただけで、十分な殺菌効果は確認されなかったのに対し、有効塩素濃度を 0.1~0.7 mg/L で生成した電解海水からは生菌が検出されず、極めて高い殺菌効果が確認された。次に脱窒作用について検討し、養殖排水を電気分解することで、殺菌と同時に脱窒が行えることを報告している。

安全性については、有機ハロゲン化合物の定性・定量および変異原性試験を行うことにより評価している。有機ハロゲン化合物の定性・定量は、トラフグ養殖水槽の養殖給水・排水と愛知県名古屋港の海水を供試水として使用した。これらの供試水を電気分解して数段階の有効塩素濃度 (0~27.2 mg/L) の電解海水を生成し、溶媒抽出法またはヘッドスペース法により GC/MS を用いて分析を行った。生成した有機ハロゲン化合物は、ハロゲン基に Br 基を持つものが大

部分を占め、生成量の約 9 割が bromoform であった。Cl 基を持つ有機ハロゲン化合物の生成量は少なかった。有機ハロゲン化合物の生成量は、日本とアメリカの飲料水の水質基準値よりも低かったが、bromoform の場合は、過剰に有効塩素を生成して長時間放置すると上水道の水質基準値を上回る場合があった。変異原性試験 (Ames 試験) には、トラフグ養殖水槽の養殖給水・排水を、有効塩素濃度 0.5, 3.0 mg/L で生成した電解海水を用いた。検定細菌には *Salmonella typhimurium* TA98 株, TA100 株および *Escherichia coli* WP2uvrA を用いた。変異原性試験の結果からは、変異原性は全く認められなかった。これらの結果は、殺菌効果の得られる有効塩素濃度 0.1~1.0 mg/L 程度で生成することで、電解海水を安全かつ効果的に使用することができることを示している。

第 4 章では、電解海水の殺菌力を生かして、水産分野での利用効果の検討を行っている。まず、魚類種苗生産の初期餌料として与えられているワムシの殺菌効果の検討を行った。これまでワムシに対しては、ニフルスチレン酸ナトリウム等の抗生物質へ浸漬することによる殺菌処理が行われてきた。しかし、ワムシの殺菌においても、従来の薬剤の使用が困難となり、新たな洗浄方法の開発が求められている。ワムシが保持している細菌数は約 10^8 CFU/0.1g (湿重量) であったが、ワムシに与える影響がない約 1.0 mg/L の有効塩素を含む電解海水で 5 分間処理することにより、生菌数を約 1 桁減少させることが可能であった。しかし、完全な殺菌効果が得られているとは言えないため、更に幾つかの検討を行い次のような知見を得た。ワムシの表面に付着している細菌を蛍光染色して観察した結果、絨毛冠から咀嚼器にかけて生菌が多く見られ、体部のクチクラ層にも筋状に多くの細菌が存在することが確認された。電解海水による殺菌処理を行うと、体部では生菌はあまり見られず多くの細菌が死滅したが、絨毛冠から咀嚼器にかけては生菌が多く残ったことから、細胞構造の複雑さによって十分な殺菌効果を得るのは困難であることが明らかとなった。さらに、ワムシ表面の細菌数を計数したところ 400 cells/個体の細菌がワムシ表面に付着しており、また、ワムシ体内にはおよそ 2,500 cells/個体の細菌が存在することが示された。給餌を停止して腸管内を空にしても、ワムシ体内には約 1,200 cells/個体の細菌が存在していることが確認され、ワムシが腸管内に多くの細菌を保持していることも十分な殺菌効果を得ることが困難な原因の一つであることが明らかとなった。

次に、カキに含まれるノロウイルスの排除について検討を行った。養殖現場において有効塩素を 0.3~1.0 mg/L 程度含む電解海水中でカキの蓄養を行ったところ、カキの呼吸活性に影響なく蓄養が可能であったが、無処理のカキから

もノロウイルスが検出しなかったことから、電解海水処理による除去効果の検証には至らなかった。カキに付着する細菌についてはビブリオ属菌や大腸菌は検出せず、十分な殺菌効果を確認した。

流通段階における漁獲物の衛生管理手段として、鮮魚輸送用海水と器具等の洗浄について検討した。鮮魚輸送に使用する箱詰め用の海水として、有効塩素濃度 0.3 mg/L の電解海水を用いて 16 時間保存しても、ゴマサバおよびヒラサバに外観上問題は認められず、漁獲物の衛生管理にも利用可能であった。鮮魚の仕付けに使用されるカゴおよび床の洗浄において、電解海水は高い除菌効果が認められた。これらの結果から、電解海水は海水が使用できる場所で幅広く衛生管理に使用することが可能であることを確認した。

第 5 章では、実際に電解海水を現場で使用することを考慮して、費用対効果の検討を行っている。本論文では、比較的小規模な養殖場や水産加工場を対象としたモデルケースを設定し、電解海水と紫外線殺菌および次亜塩素酸ナトリウムを用いた場合のコストを比較した。無菌海水を生成するためのイニシャルコストおよびランニングコストは紫外線殺菌の方が幾分安かった。しかし、養殖場や水産加工場などでは、紫外線殺菌装置などで殺菌処理した無菌海水のほかに、次亜塩素酸ナトリウムを用いて器具などの殺菌を行うことから、薬剤の経費も発生する。電解海水は蛇口をひねる感覚で、流水として得ることができるため作業性に優れており、紫外線と次亜塩素酸ナトリウムを併用するよりもランニングコストも低く抑えられる可能性がある。また、本論文のコスト計算は試作装置を用いたモデルケースによるものであり、装置については改良を加えることでイニシャルコストを下げることも可能であるとしている。電解海水は、高い殺菌効果や使いやすさ、用途の幅が広いことなどを考慮に入れると非常に有効な手段であると考察している。

第 6 章では、第 3 章から第 5 章までの結果を総括し、電解海水による水産分野での衛生状態の向上を、実用化を視野に入れながら述べている。

論文審査結果の要旨

我が国においては、薬事法の改正に伴う養殖魚への薬剤の使用制限や、消費者の食の安全に対する意識の高まりから、薬剤を使用しない安全な水産物の生産が求められるようになってきている。本論文では、低コストで普及が容易である電気分解技術に着目し、養殖場や漁港等で豊富に得ることのできる海水を原料とした電解海水を生成して、魚類養殖を始めとする水産分野の様々な場面での衛生管理効果について研究を行っている。

海水を電気分解した際に懸念される問題点として、電気分解によって生成した次亜塩素酸や次亜臭素酸が、溶存有機物と反応して有機ハロゲン化合物を生成する可能性がある点が考えられる。本論文では、この問題に答えるため、有機ハロゲン化合物の定性と定量を行っている。有機ハロゲン化合物のうち、特にトリハロメタン類には発癌性が報告されていることから、細菌を用いた変異原性試験を行い、遺伝毒性についても検討を行っている。電解海水は水産養殖の現場で使用することも考慮に入れ、供試水には水産養殖種苗センターの養殖給水と排水を用いている。その結果、有機ハロゲン化合物の生成量は、日本とアメリカの飲料水の水質基準値よりも低かったが、bromoformでは、過剰に有効塩素を生成して長時間放置すると水質基準値を上回る場合もあり、若干注意が必要であることが判明した。変異原性試験の結果からは、変異原性は全く認められなかった。これらのことから、電解海水は殺菌効果の得られる有効塩素濃度 0.1~1.0 mg/L 程度で生成し、塩素の過剰生成を行わないように注意すれば、安全かつ効果的に使用することができることを明らかにしている。電解海水の安全性を詳細に研究した例は無く、電解海水を水産分野で利用する際の重要な知見となっている。

電解海水の安全性を確認した上で、本論文では電解海水の殺菌力を生かして、様々な水産分野での利用効果の検討を行っている。まず、薬剤の使用が制限されたことから、従来行われてきたニフルスチレン酸ナトリウム等の抗生物質による殺菌処理を行うことが困難となり、新たな殺菌手法の開発が求められているワムシの殺菌方法について検討を行っている。電解海水による殺菌処理では、従来の抗生物質による方法よりも短い時間で同程度の殺菌効果が得られているが、依然としてワムシは 10^7 CFU/0.1g 程度の生菌を保有しており、完全な殺菌が行えているとは言い難い状態である。そこで、殺菌が困難である原因を追究し、興味深い結果を得ている。ワムシの表面に付着している細菌を蛍光染色して観察した結果、繊毛冠から咀嚼器にかけて生菌が多く見られ、電解海水による殺菌処理を行ってもこの部位では生菌が多く残ったことから、細胞構造の複雑さ、特に繊毛によって細菌は守られていることから十分な殺菌効果を得ることが困難であることを明らかにしている。また、ワムシ体内の細菌数を計数し、給餌を行っている通常状態のワムシの腸管内には約

2,500 cells/個体の細菌が存在し、給餌を停止して腸管内を空にした場合でも、約 1,200 cells/個体の細菌が依然として存在していることを確認している。従って、ワムシが腸管内に多くの細菌を保持していることも十分な殺菌効果を得ることが困難な原因の一つのようである。これらの結果を踏まえて、本論文では、ワムシの培養段階での電解海水を用いた細菌のコントロールといったことが今後必要であろうと考察している。

次に、ノロウイルスなどによる食中毒を予防するための手段として、カキの蓄養試験を行っている。養殖現場において、ノロウイルスの不活性化に有効であるとされている有効塩素濃度 (0.3~1.0 mg/L) の電解海水中でカキの蓄養を行っている。ここでの重要な点は、カキの呼吸活性に影響なく蓄養が可能であったことである。ただ、この現場調査では、幸か不幸か無処理のカキからもノロウイルスが検出しなかったことから、電解海水処理によるノロウイルスの除去効果の検証には至っていない。しかし、カキに付着する細菌についてはビブリオ属菌や大腸菌は検出せず、十分な殺菌効果を確認した。いずれにしても、有効塩素濃度を維持した水槽内、すなわち殺菌力のある海水でカキの蓄養が可能であったことは、今後の電解海水の利用範囲を広げる有用な知見である。

流通段階における漁獲物の衛生管理手段として、鮮魚輸送用海水と器具等の殺菌についても検討を行っている。鮮魚に外観上問題となる影響が全く見られなかったことから、漁獲物の衛生管理に利用可能であることを示している。器具および床の洗浄においても、電解海水は高い除菌効果が認められ、電解海水は海水が使用できる場所で幅広く衛生管理に使用することが可能であることを確認している。

本論文では最後に、実際に電解海水を現場で利用するために重要となるコストの検討を行っている。比較的小規模な養殖場や水産加工場を対象としたモデルケースを設定し、電解海水と紫外線殺菌および次亜塩素酸ナトリウムを用いた場合のコストを比較した。イニシャルコストやランニングコストを比較した上で、電解海水の高い殺菌効果や使いやすさ、用途の広がりなどを示している。

本論文で得られた成果は、魚類養殖学、水族環境学から食品衛生学に至る幅広い分野に架かる課題を解決しようとするものであり、それらの分野において非常に重要な知見であると考えられる。さらに、実際の現場での検証や経済性の評価を行うなど、産学が一体となった実学的研究を行っている点も高く評価できる。その成果の一部は、国際学術雑誌 (Aquaculture に 1 報) に受理されている。従って、本研究論文は本学大学院の博士 (農学) の学位論文として十分に価値のあるものであると判定する。