

# 魚類の初期飼育における電解海水の有効利用と安全性

江口 充\*・片寄政彦

(環境保全・資源動態グループ)

近畿大学大学院農学研究科

\* eguchi@nara.kindai.ac.jp

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防止・水質管理が行われている。ただ、薬剤投与については、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ている。また、近年、消費者の食に対する安全・安心への関心の高まりから、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。これらのことから、薬剤に依存しない水質管理の重要性が増している。さらに、種苗生産現場から排出される養殖排水は海にそのまま注がれるため、環境に配慮した処理を施すことが望ましい。排水規制が強化されつつある昨今、養殖排水も何らかの処理を考える必要がある。

ここでは、新たな水質管理の手法として電解水に注目した。電解水は優れた殺菌力を持ち、食品・医療・農業等の分野で広く利用され、注目を集めている。水産分野においても、電気分解した海水の殺菌効果が確認されており、漁獲物の衛生管理や、養殖場での利用法などが少しずつ報告され始めているが<sup>1)</sup>、その安全性に関する報告は殆どない。

海水を電気分解することにより生じた次亜塩素酸は殺菌力を示すが、有機物と反応して有機ハロゲン化合物を生成するほか、臭素イオンと反応して次亜臭素酸を生成する。次亜臭素酸も殺菌力を持つと同時に、有機物と反応して有機ハロゲン化合物を生成する。トリハロメタン類には発ガン性が認められることから、電気分解した海水に変異原性物質が発生している可能性がある。当然ながら飼育対象魚類や周辺水域の生物に悪影響があってはならない。そこで今回、有機ハロゲン化合物の定量と変異原性の有無について検討を行った。

## 材料および方法

**電解海水生成装置** 流水式無隔膜電気分解装置(試作機、ホシザキ電機株式会社製)を使用した。生成流量の調整は可能であるが、今回の試験は2.0 L/minで行った。電解電圧を変化させる事により電解強度を変え、有効塩素濃度を数段階に変化させた電解海水を使用した。

**有効塩素濃度測定方法** ポケット残留塩素計(58700-00型、セントラル科学製)を用い、DPD法により有効塩素濃度を測定した。

**供試海水** 近畿大学水産養殖種苗センターの養殖給水・排水を供試した。排水には、トラフグ養殖水槽の排水を用いた。また、愛知県名古屋港の海水をろ紙でろ過した海水も供試水として使用した。

**揮発性有機化合物(VOC)の測定** 電解海水の生成直後、有効塩素を中和するために有効塩素1 mgにつきチオ硫酸ナトリウムを10 mg加えて被験液とした。NaClを3 g加えたバイアル瓶に被験液10 mLを加え、アルミキャップで密栓をした後に激しく混合した。60℃で1時間加温した後、ガスタイトシリンジを用いて頭隙(ヘッドスペース)部の気相を500 μL採取し、GCMS(GCMS-QP2010、島津製作所製)に注入して分析を行った。分離カラムはRtx-624(Restek製)を用い、40℃(7 min) - 5℃/min - 180℃ - 10℃/min - 230℃(5 min)の分析条件で行った。水質基準項目に監視項目を含めた23種類のVOCのうち、ハロゲンを含む16種類のVOCについて分析を行った。分析を行った化合物とSIM分析条件をTable 1.に記す。

**Table 1.** Analyzed compounds and mass numbers (m/Z) used in SIM

Compound	Target ion	Control ion
1,1-Dichloroethylene	61	96
Dichloromethane	84	49
trans-1,2-Dichloroethylene	61	96
cis-1,2-Dichloroethylene	61	96
Chloroform	83	85
1,1,1-Trichloroethane	97	117
Carbon Tetrachloride	117	119
1,2-Dichloroethane	62	64
Trichloroethylene	130	95
1,2-Dichloropropane	63	76
Bromodichloromethane	83	127
cis-1,3-Dichloropropene	75	110
Tetrachloroethylene	164	129
Dibromochloromethane	129	127
Bromoform	173	175
p-Dichlorobenzene	146	111

溶媒抽出法による有機ハロゲン化合物の定量  
 電解海水の生成直後および一定時間が経過した後、  
 有効塩素を中和するために有効塩素 1 mg につきチ  
 オ硫酸ナトリウムを 10 mg 加えた。その後、供試水  
 10 mL に n-ヘキサン 2 mL を加え 10 分間振とうし  
 た。得られた n-ヘキサン層を GC/MS  
 (GCMS-QP2010, 島津製作所製) を用いて分析し  
 た。分離カラムは Rtx-624 (Restek 製) を用い、45 °C  
 (7 min) - 8 °C/min - 220 °C (4 min) の分析条件で  
 行った。SIM 法により Chloroform ,  
 1,1,1-Trichloroethane , Trichloroethylene ,  
 Tetrachloroethylene, Bromodichloromethane ,  
 Dibromochloromethane, Bromoform の 7 成分に  
 ついて定量を行った。

変異原性試験 (Ames 試験) *Salmonella*  
*typhimurium* TA98 株, TA100 株および,  
*Escherichia coli* WP2uvrA 株を用いて、代謝活性  
 化系 (S9mix) を添加する場合と代謝活性化系を添  
 加しない場合について、プレインキュベーション法  
 で行った。供試海水を電気分解した後、中和やろ過  
 滅菌などの処理を行わずに 30 分以内に試験に供し  
 た。被験液量は代謝活性の有無に関らず、1000  
 μL/plate を最高用量とし公比 2 で 5 用量設定した。

それ以外はガイドラインに準じて試験を行った。

## 結果

**Table 2.** Properties of electrolyzed seawater

Feed Water	Current (A)	Available chlorine(mg/L)	pH
Before	—	0.0	8.01
After	0.1	0.4	8.00
	0.7	3.8	7.84
	5.0	21.6	7.59

**Table 3.** VOC concentration in electrolyzed feedwater (available chlorine 3.8 mg/L)

Compound	Before	After
1,1-Dichloroethylene	0.0	0.0
Dichloromethane	0.0	0.0
trans-1,2-Dichloroethylene	0.0	0.0
cis-1,2-Dichloroethylene	0.0	0.0
Chloroform	0.0	0.0
1,1,1-Trichloroethane	0.0	0.0
Carbon Tetrachloride	0.0	0.0
1,2-Dichloroethane	0.0	0.0
Trichloroethylene	0.0	0.0
1,2-Dichloropropane	0.0	0.0
Bromodichloromethane	0.0	0.0
cis-1,3-Dichloropropene	0.0	0.0
Tetrachloroethylene	0.0	0.0
Dibromochloromethane	0.0	0.3
Bromoform	0.0	8.7
p-Dichlorobenzene	0.0	0.0

**Table 4.** VOC concentration in electrolyzed wastewater (available chlorine 4.3 mg/L)

Compound	Before	After
1,1-Dichloroethylene	0.0	0.0
Dichloromethane	0.0	0.0
trans-1,2-Dichloroethylene	0.0	0.0
cis-1,2-Dichloroethylene	0.0	0.0
Chloroform	0.0	0.0
1,1,1-Trichloroethane	0.0	0.0
Carbon Tetrachloride	0.0	0.0
1,2-Dichloroethane	0.0	0.0
Trichloroethylene	0.0	0.0
1,2-Dichloropropane	0.0	0.0
Bromodichloromethane	0.0	0.0
cis-1,3-Dichloropropene	0.0	0.0
Tetrachloroethylene	0.0	0.0
Dibromochloromethane	0.0	0.2
Bromoform	0.0	11.7
p-Dichlorobenzene	0.0	0.0

Table 5. Change in organic halogen concentration with different available chlorine levels and reaction times (Unit: ppb)

	Before	After								
		0.2 mg/L			2.0 mg/L			27.2 mg/L		
		0h	1h	6h	0h	1h	6h	0h	1h	6h
Chloroform	0.2	0.3	0.3	0.3	0.2	0.2	0.0	0.4	0.1	0.1
1,1,1-Trichloroethane	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Trichloroethylene	0.2	0.1	0.1	0.1	0.3	0.1	0.1	0.4	0.1	0.1
Bromodichloromethane	0.0	0.2	0.5	0.6	0.0	0.2	0.1	0.2	0.2	0.2
Tetrachloroethylene	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Dibromochloromethane	0.0	1.4	5.0	5.8	0.9	2.7	4.5	1.8	4.5	7.1
Bromoform	0.3	21.7	73.3	94.4	19.7	66.4	127.6	34.3	97.0	174.1

Table 6. Electrolyzed feedwater (available chlorine 3.0 mg/L) Ames test results

Concentration of test substance ( $\mu\text{L}/\text{plate}$ )		Number of revertants (number/plate)						
		S9 Mix (+)			S9 Mix (-)			
		TA98	TA100	WP2	TA98	TA100	WP2	
electrolyzed seawater	1000	21,22 (22)	25,34 (30)	19,27 (23)	26,22 (24)	31,32 (32)	19,16 (18)	
	500	42,28 (35)	42,42 (42)	24,22 (23)	18,28 (23)	51,53 (52)	39,27 (33)	
	250	32,35 (34)	40,42 (41)	22,21 (22)	16,22 (19)	55,52 (54)	22,17 (20)	
	125	35,34 (35)	42,50 (46)	18,21 (20)	24,17 (21)	47,55 (51)	17,15 (16)	
	62.5	23,43 (33)	52,51 (52)	18,20 (19)	20,22 (21)	43,56 (50)	12,10 (11)	
control	milli Q	1000	27,17 (22)	24,30 (27)	15,24 (20)	21,19 (20)	33,22 (28)	27,10 (19)
	seawater	1000	24,26 (25)	27,33 (30)	19,19 (19)	21,24 (23)	25,37 (31)	10,19 (15)
positive control	AF2	0.01	-	-	-	-	2296,3004(2650)	2220,1936(2078)
		0.1	-	-	-	582,684 (692)	-	-
	2AA	0.5	566,818 (692)	-	-	-	-	-
		1	-	111,83 (97)	-	-	-	-
		10	-	-	76,44 (60)	-	-	-

Table 7. Electrolyzed wastewater (available chlorine 3.0 mg/L) Ames test results

Concentration of test substance ( $\mu\text{L}/\text{plate}$ )		Number of revertants (number/plate)						
		S9 Mix (+)			S9 Mix (-)			
		TA98	TA100	WP2	TA98	TA100	WP2	
electrolyzed seawater	1000	26,29 (28)	59,48 (54)	20,34 (27)	27,26 (27)	59,61 (60)	17,23 (20)	
	500	40,26 (33)	73,60 (67)	38,41 (40)	29,33 (31)	82,61 (72)	24,26 (25)	
	250	29,26 (28)	55,50 (53)	22,31 (27)	17,19 (18)	57,58 (58)	30,32 (31)	
	125	43,32 (38)	59,43 (51)	22,38 (30)	24,26 (25)	69,48 (59)	24,26 (25)	
	62.5	36,45 (41)	51,46 (49)	37,32 (35)	37,26 (32)	69,40 (55)	17,23 (20)	
control	milli Q	1000	39,25 (32)	41,47 (44)	29,34 (32)	33,18 (26)	43,41 (42)	15,28 (22)
	seawater	1000	31,31 (31)	54,53 (54)	19,32 (26)	21,16 (19)	44,60 (52)	22,25 (24)
positive control	AF2	0.01	-	-	-	-	175,110 (143)	162,192 (177)
		0.1	-	-	-	552,580 (265)	-	-
	2AA	0.5	222,308 (265)	-	-	-	-	-
		1	-	115,95 (105)	-	-	-	-
		10	-	-	78,60 (70)	-	-	-

有機ハロゲン化合物の生成 ヘッドスペース法による測定では、海水を電気分解した際に生じる有機ハロゲン化合物は、Bromoform が最も多く、次いで Dibromochloromethane であった。ヘッドスペース法による測定結果から、測定可能な化合物は限定されるものの分析感度は高かった溶媒抽出法が適当であると考え、溶媒抽出法を用いて有効塩素濃度と反応時間を変化させたときの有機ハロゲン化合物

の生成量の変化について調べた。生成する有機ハロゲン化合物のうち、約 9 割は Bromoform であり、臭素化合物が大部分を占めた。有効塩素の生成量が多い場合や有効塩素が残ったままで放置した場合、臭素化合物の生成量は増加した。塩素化合物の生成量は少なく、有効塩素量が多い場合は生成量が増加するが、一定時間が経過した後は減少した。また、表には示さないが、有効塩素を中和した後に放置し

ておくと、有機ハロゲン化合物量は減少した。

**変異原性試験** Ames 試験では、被験物質の復帰変異コロニー数が陽性対象の2倍以上に増加し、用量依存性が認められる場合に変異原性が陽性とされるのが一般的である。本試験結果からは変異原性は認められない。また、有効塩素濃度 0.3 mg/L, 3.0 mg/L の電解海水でも試験を行ったが、変異原性は認められなかった（データは示していない）。

### 考察

これまでに行った電解水の殺菌試験結果によると、魚病細菌である *Vibrio anguillarum* M93 株と、典型的な海洋細菌である *Sphingomonas* sp. RB2256 株のいずれにおいても、薬剤の次亜塩素酸ナトリウムよりも電解海水の方が殺菌力が高いという結果が得られている。この結果から、99.9%以上の生菌数を減少させることのできる 1.0 mg/L を基準として、数段階の有効塩素を発生させた電解海水を用いて試験を行った。

生成直後の有機ハロゲン化合物生成量は環境基準値よりも低かったが、条件によっては基準値を上回る場合があるため、電解海水は生成後速やかに有効塩素を中和することが必要と考えられる。また、今回の試験条件下ではいずれの電解海水にも変異原性は認められなかった。これらのことから、電解海水は有効塩素濃度 1.0 mg/L 程度で生成し、速やかに中和することで、安全かつ効果的に使用することができるであろう。

さらに、電気分解法による脱窒法が知られており、電解海水は殺菌と同時に脱窒も行える可能性がある。脱窒効果については現在検討中である。

電解海水の水産分野への応用は大きく2つに分けることができる。一つは有効塩素を保ちつつ、殺菌力を持つ海水としての利用である。利用方法として、飼育水槽、使用器具、周辺環境、餌料生物等の殺菌などが挙げられる。二つ目は、有効塩素を中和した滅菌海水として、養殖水への利用である。また、先に述べたように、殺菌効果に加え脱窒効果が得られる可能性があり、養殖排水の高次の水処理を行うこ

とが可能かも知れない。養殖排水を環境に負荷が少ない状態にまで処理した後に放出することは、環境保全の面からも重要である。水産養殖の様々な場面において、電解海水は効果的に使用できると考えられる。今後、水産養殖の現場での実質的な使用方法を検討し、問題点の原因究明と解決の手段について検討を行っていく。

### 謝辞

変異原性試験は大阪市立環境科学研究所の西尾孝之博士にご指導いただいた。心からお礼申し上げる次第である。

### 参考文献

- 1) M. A. Jorquera, G. Valencia, M. Eguchi, M. Katayose, and C. Riquelme.: Disinfection of seawater for hatchery aquaculture system using electrolytic water treatment. *Aquaculture*. 2002; 207: 213-224
- 2) 笠井久会, 石川麻美, 堀 友花, 渡辺研一, 吉水 守. 流水式海水電解装置の魚類病原細菌およびウイルスに対する殺菌効果. *日水誌* 2000; 66: 1020-1025