HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	海水電解殺菌装置による魚類飼育用水および排水の殺菌と漁港および産地市場における水産物の衛生管理への本装置の利用に関する研究
Author(s)	笠井，久会
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(水産科学)
Dissertation Number	甲第7372号
Issue Date	2005-03-25
DOI	https://doi.org/10.14943/doctoral.k7372
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/32700
Type	doctoral thesis
File Information	7372.pdf

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

海水電解殺菌装置による魚類飼育用水および排水の殺菌と漁港および産地市場における水産物の衛生管理への本装置の利用に関する研究

笠井　久会

平成 17 年

目　　次

緒　言 --- 1

第一章　流水式海水電解殺菌装置の魚類病原細菌およびウイルスに対する殺菌効果 --- 24

材料と方法
結果
考察

第二章　流水式海水電解殺菌装置による飼育用水および飼育排水の殺菌 --- 35

材料と方法
結果
考察

第三章　バッチ式海水電解殺菌装置と流水式海水電解装置との比較ならびに電解海水による魚類飼育器具の消毒 --- 44

材料と方法
結果
考察

第四章　海水電解殺菌法の水産物の衛生管理への応用 --- 57

第一節　道東の標津川，伊茶仁川および古多糠川の細菌学的調査 --- 58

材料と方法
結果
考察

第二節　標津漁港の細菌学的調査 --- 71

材料と方法
結果
考察

第三節　海水電解殺菌装置による標津漁港の港内海水の殺菌と漁獲物の衛生管理への応用 --- 81

材料と方法
結果
考察

総合考察 --- 90
謝辞 --- 94
参考文献 --- 95

緒　言

1. 種苗生産用水および飼育排水殺菌の目的と必要性

戦後の我が国漁業は，沿岸から沖合へ，沖合から遠洋へと魚場を拡大することによって発展してきたが，国連海洋法条約の下では，自国200海里水域の資源の持続的利用を基本に漁業の発展を図っていくことが求められている。我が国の漁業生産は，遠洋漁業の国際規制の強まり，周辺水域の資源状況の悪化などから，ピーク時の約半分の水準まで減少し，水産物の自給率は，近年6割以下に低下している。中長期的には世界の水産物需給が逼迫することも予想される中で，国内漁業生産を基本とした水産物の安定した供給体制の構築が求められている。

国内の漁業部門別生産量は，遠洋漁業および沖合漁業が平成元年以降減少傾向で推移し，海面養殖は増加傾向にある (農林統計協会, 2004)。沿岸漁業は，ほぼ一定の生産量で推移し，内水面の漁業・養殖業も全漁業生産量に対する比率が少ないながら一定の水準を保っている。海面養殖，沿岸漁業ならびに内水面の漁業・養殖業に共通しているのは，日本沿岸域の資源を利用することであり，沿岸漁業等振興法のもと，水産資源の維持増大，生産性の向上，経営の近代化などの施策が展開されてきた。このうち，水産資源の維持増大，すなわち増殖に関しては，さけ・ます類の人工孵化放流が水産資源保護法の制定に伴い本格化し，大きな成果をおさめている。さけ・ます類を除く魚種についても，「とる」漁業から「つくる」漁業への転換の取り組みとして，全国規模で栽培漁業が展開されるようになった。平成11年度には，県営栽培漁業センターが61事業所，水産総合研究センター栽培漁業センターが16事業所設置され，資源の増大に貢献している (農林統計協会, 2004)。

魚介類の種苗生産において，その対象魚介類の多くの種で，原生動物，真菌，細菌，ウイルス等による病気が発生し，種苗の生産に深刻な打撃を与え，大きな問題となっている (Kimura and Yoshimizu, 1991; Muroga, 2001)。飼育用水，餌料，飼育施設等の管理には十分な注意が払われているが，ときにこれらの病原体による疾病が発生し，より一層の防疫対策の強化が望まれている（野村・笠井, 2003）。これら病気の防疫法として，採卵親魚の健康状態の把握 (病原体保有の有無や既往症歴の把握) をはじめ (吉水・野村, 1989)，種卵の消毒，飼育用水の殺菌，飼育施設の消毒等を実施し，病原体の侵入を防ぐ対策がとられている (日本資源保護協会, 1990; 吉水・笠井, 2005)。

飼育用水の殺菌に関しては紫外線やオゾンを利用した殺菌装置が開発され，ニジマス，ギンザケ，ヤマメ，アマゴ等の淡水養殖を中心に広く普及し，魚病対策に効果を上げている。海産魚の種苗生産施設や育成施設でも，ここ数年病原体対策に採用され使用されるようになってきている (マリノフォーラム21, 1991)。

海産魚介類の種苗生産では沿岸海水を飼育用水として使用するため，海水中に病原微生物が存在すると種苗生産現場への侵入は避けられず，飼育環境や飼育魚の健康状態の悪化，さらに過度のストレス等が加わった場合，病気が発生しやすい状況下にある。また一旦病気が発生すると飼育排水と共に病原微生物を環境に放出することになり，沿岸海水の汚染による悪循環を繰り返す危険性がある。こういった危険性を回避するためにも，飼育用水および飼育排水を殺菌し，病原微生物対策を十分行う必要がある (吉水・笠井, 2005)。

内水面においては，すでにある地域で河川水が魚類病原ウイルスに汚染されてしまっている (吉水ら，1991)。海産魚介類の種苗生産および海面養殖も含め，魚介類の飼育は多くの病原体が存在するなか実施されている現状にあり，まずは飼育用水中に存在する病原微生物を殺菌し，病原体のいない環境下で飼育する必要がある (マリノフォーラム21, 1991)。当然，次の課題は飼育排水の殺菌処理である。本緒言では，まず，飼育用水の殺菌について，魚類病原微生物の紫外線，オゾンあるいはオキシダント，および塩素感受性を紹介し，濾過膜通過性についても紹介する。次いで，これらの装置を組み込んだ施設の例を紹介し，最後に，大量の水を処理しなければならない排水殺菌について紹介する。

2. 飼育用水の殺菌

水の殺菌法としては古くから加熱殺菌や塩素殺菌が用いられ，魚類飼育用水の殺菌に関しても上水道水のように，塩素による消毒を実施し疾病の発生がほとんど見られない孵化場も外国では知られている (吉水，1981)。我々の研究室ではサケマス類の発眼卵をヨード剤で消毒し，脱塩素処理水道水を使用して飼育することにより， SPF (specific pathogen free) 魚を得てこれらを実験魚として用いている (吉水, 1996)。

しかしこの場合，脱塩素処理が必要となり，事業規模で実施すると，その設備や装置，設置後の維持管理経費も多大なものとなる。これらの殺菌法のほか，最近では高分子濾過膜を使用した濾過除菌法 (マリノフォーラム21, 1995) も開発され，イセエビの種苗生産等に用いられている。しかし，低コストで大量の水を必要とする養魚用水の殺菌処理法としては，まだ技術的，経済的に解決しなければならない問題も多く，水そのものの理化学的性質を変えることなく大量の水の殺菌処理を行うには，現在のところ紫外線を利用する方法が最も目的にかなっている。近年，オゾンを用いた殺菌装置も広く普及してきているが，その使用方法および脱オゾン方法により，現場での評価は異なっている (笠井・吉水, 2001b)。

2-1. 紫外線殺菌法

紫外線 (波長250～260 nm) を水に照射することにより，水中に存在する微生物のDNAに傷をつけ殺菌する方法である (マリノフォーラム21, 1991)。水産領域での紫外線による水の殺菌は，古くから出荷前のカキの浄化に用いられ (坂井，1956)，さらにカキの幼生や稚貝，

ハマグリやロブスターの幼生の飼育用水の殺菌にも用いられて良好な成績が得られている (Aboul-Ela, 1978; Waugh, 1958; Brown and Russo, 1979)。わが国では本州中部のニジマス生産地域において，飼育用水中に存在する伝染性造血器壊死症 (IHN) ウイルスの不活化に広く用いられ効を奏している (吉水ら, 1991, 吉水・日向, 1992)。紫外線照射量は通常 μ W・sec/cm^2 として表されるが，これは単位面積当りの紫外線強度 μ W/cm^2 に照射時間 (秒) を乗じて求められる。紫外線は水中での透過率が低いため，装置は水深あるいは水層を浅くとり，十分な紫外線量が照射されるように設計する必要がある。紫外線の照射にあたっては，処理水を石英管あるいは紫外線透過性の良い光透過性フッソ樹脂管に通し，管外から紫外線を照射する外照式タイプと耐圧性石英管の紫外線ランプを直接水中に設置する内照式タイプがある (マリノフォーラム21, 1991)。

1) 魚類病原微生物の紫外線感受性

代表的な魚類病原細菌，ウイルス，ミズカビの紫外線感受性試験の結果をFig. 1 に示した (Kasai *et al.*, 2002)。せっそう病の原因菌*Aeromonas salmonicida*をはじめとする魚類病原細菌7株および対照とした大腸菌の紫外線感受性 (生菌数を99.9%以上減少させるに要する紫外線照射量) は，グラム陰性菌の場合 4.0～5.0×10^3 μ W・sec/cm^2，グラム陽性の細菌性腎臓病やレンサ球菌症の原因菌の場合は1.0～2.0×10^4 μ W・sec/cm^2 であった (木村ら，1976)。一方魚類病原ウイルスの紫外線感受性 (ウイルス感染価を99 %以上減少させるに要する紫外線照射量) は，ビルナウイルスおよびレオウイルスで 1.0～15×10^4 μ W・sec/cm^{2}であったが，ラブドウイルス，イリドウイルスおよびヘルペスウイルスでは 1.0～3.0×10^3 μ W・sec/cm^2 であった (吉水ら, 1986)。

また *Saprolegnia* 属を主体とした10株のミズカビ類の紫外線感受性 (菌糸の伸長を阻止するに要する紫外線照射量) は 1.5～2.5×10^5 μ W・sec/cm^{2}であり (木村ら, 1980)，スクーチカ繊毛虫を殺虫するに要する紫外線量は 2.0×10^5 μ W・sec/cm^{2}であった (笠井ら, 2002a; 吉水・笠井, 2002a)。

これらの結果に既報の粘液胞子虫や原虫 (Vlasenko, 1969; Hoffman, 1974) およびミズカビの遊走子 (Hoffman, 1974) の殺菌に要する紫外線照射量の報告結果を加えて整理するとFig. 1 のようになる。微生物の種類により紫外線感受性は異なるものの，これら魚類病原微生物の紫外線感受性から判断すると，飼育用水中に存在する病原微生物の殺菌には10^6 μ W・sec/cm^2 程度の照射能力を有する装置の導入が必要となる。一般的な紫外線殺菌装置の紫外線照射量は10^4 μ W・sec/cm^2 程度であり，この紫外線照射量から判断するとグラム陰性の魚類病原細菌とエンベロープを有する魚類病原ウイルス；ラブドウイルス，ヘルペスウイルス，イリドウイルスの不活化は可能であろうと考えられる (Fig. 1の実線より下の微生物)。

さらに最近では 中圧水銀ランプを用いた高出力の流水式紫外線殺菌装置が開発され，一部の施設で使用されている。この高出力タイプを使用すると，2.0～3.0×10^5 μ W・sec/cm^2 程度の紫外線照射量が得られるので，連鎖球菌症や細菌性腎臓病原因菌の殺菌，さらにはIPNV

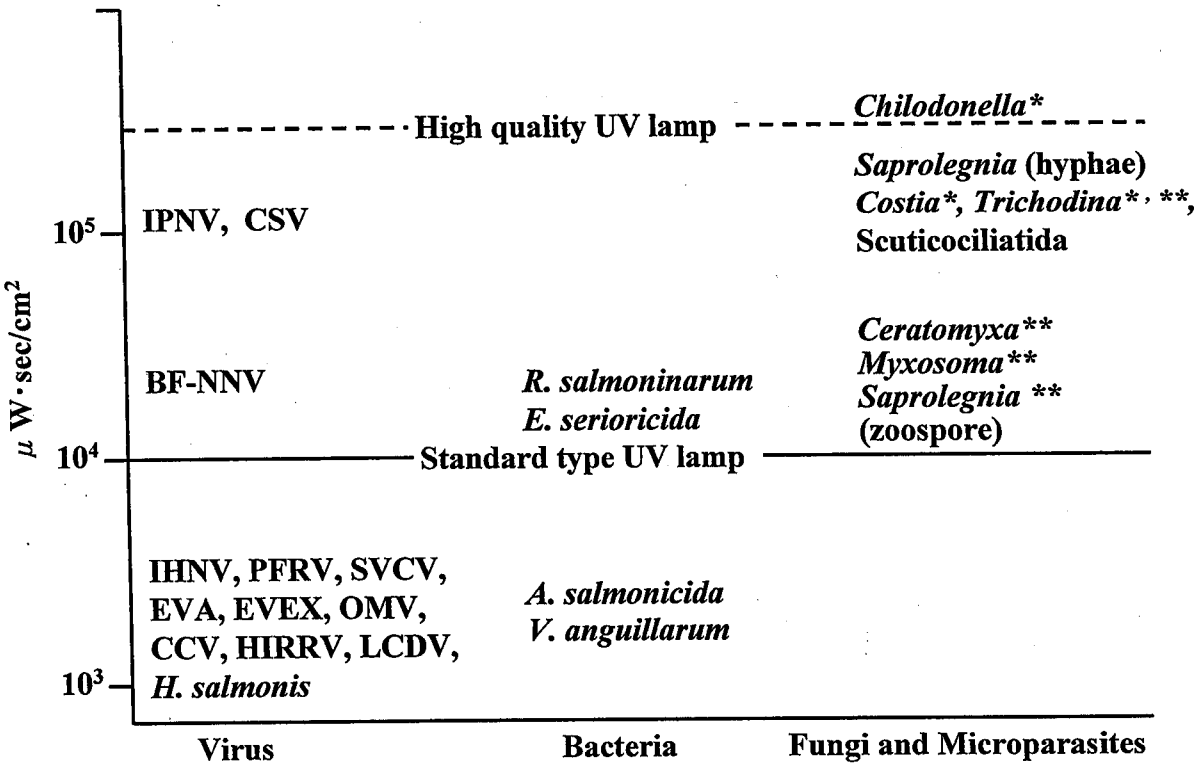


Fig. 1. UV susceptivility of fish pathogenic organisms.

*** : Vlasenko (1969).**

****: Hoffman (1974).**

やYTAVの不活化，スクーチカ繊毛虫の殺虫も可能になると考えられる (Fig. 1の破線ラインより下の微生物) (Kasai and Yoshimizu, 2002; 笠井・吉水, 2003a)。なお低コストで大量の水処理が要求される養魚現場では，さまざまな工夫のもとに紫外線ランプを水面上に釣り下げ10^4 μW·sec/cm^{2}程度の紫外線照射を行い，目的とする病原体の殺菌を行っている所も多い (マリノフォーラム21, 1991)。

2) 紫外線殺菌装置による飼育用水の殺菌

紫外線殺菌装置を用いた飼育用水の殺菌効果の一例として，長野県水産試験場構内に建設されている濾過殺菌装置 (吉水ら, 1991; 吉水・日向, 1992) を紹介する。用水は5 KWのポンプ2基で取り入れ，まずプラスチック波板を514枚，斜め45°の角度で並べた傾斜沈殿槽を通過させ，用水中の大型懸濁粒子を除去後，小型プラスチック容器1000個を1袋として300袋，計30万個を収容した濾過槽を通して浮遊微細粒子 (50 μm以上) を除去している。その後ステンレス製薄槽上に用水を導き，水深を4.6 cmに保ち，市販の紫外線ランプ40本で毎分1.8 tの用水の照射を行っている (実測値から計算した紫外線照射量は10^4 μW·sec/cm^2)。同水試ではこの濾過殺菌装置による用水の処理により，IHNの発生は見られなくなっている (吉水ら, 1991)。

このような紫外線殺菌装置は，水中懸濁粒子の除去方式が異なるものの，長野，山形，静岡，岐阜県下の各地で用いられ効を奏している。これらの地域では河川水がIHNVで汚染され，河川水を用いた孵化・飼育が困難となっている。そこで発眼期に卵を消毒し，ウイルスフリーの湧水あるいは紫外線処理水を用いて稚魚を隔離飼育し，IHNVに感受性がなくなった時点で育成池に移し，ニジマス養殖産業を成り立たせている (吉水ら, 1991)。

次いで，最近普及してきた高出力タイプの紫外線ランプを使用した北海道福島町吉岡漁協の例を紹介する (Kasai and Yoshimizu, 2002)。ここでは飼育水を再利用するために，飼育水を原水と5：1の割合で混合後，紫外線処理をして再利用している。紫外線照射量は3.0×10^5 μW·sec/cm^2 であり，紫外線処理後の殺菌効果は99.99 %以上であった (Table 1)。ここの場合，紫外線殺菌の目的の一つにスクーチカ症対策があり，種苗導入直後と停電後 1 週間を除き，病魚は認められず，60 mmまでのヒラメの生存率が90 %台に上昇した。

紫外線殺菌は飼育用水のみならず，病原体の伝播防止の観点から飼育排水の殺菌にも用いられ，北海道立水産孵化場 (坂井・太田，1990) や独立行政法人さけ・ます資源管理センターの孵化場の排水施設 (吉水, 1998) では，飼育排水を濾過後，高出力の流水式紫外線殺菌装置を用いて殺菌処理している。

2-2. オゾン殺菌法

オゾン殺菌は，主に高圧放電法により発生した酸化力の強いオゾンを処理槽に吹き込み，飼育水中に存在する微生物を殺菌する方法である。オゾンは強力な殺菌作用がある反面，

Table 1. The effects of UV irradiation on the viability of bacteria in seawater for aquaculture

Specimen	Viable counts (CFU/100 mL)	Reduction rate (%)
Sea water for aquaculture	2.9×10^{6}	-
Sea water in aquarium	3.4×10^{5}	-
UV irradiated sea water*	4.5×10^{0}	>99.99

*: Mixing ratio of sea water for aquaculture and sea water in aquarium was 1 : 5.

人体や魚に対しても毒性を示す。そのため曝気あるいは活性炭を通すことにより，オゾンあるいはオゾンとの反応生成物を取り除き，飼育用水として用いる必要がある。特に海水中には微量成分である臭素イオンが存在するので，これらと反応したオゾンはオキシダントとなり長期間残留し魚毒性を示す(吉水, 1992; 伊藤ら, 1996)。

1) 魚類病原微生物のオゾンあるいはオキシダント感受性

淡水環境での飼育用水の場合，軟水あるいはリン酸緩衝液中では魚類病原ウイルスのIPNVやIHNVは残留オゾン濃度0.01 mg/L，30～60秒で99.9 %以上不活化されるが，70 mg/Lの硬水中では10分を要するとの報告があり (Wedemeyer *et al.*, 1979)，衛生細菌の場合も0.5mg/L，15秒の処理により100 %殺菌あるいは不活化されている (Table 2) (Burleson *et al.*, 1975)。また魚類病原寄生虫の場合，セラトミキサやミキソゾーマに対してもオゾン濃度0.3 mg/Lで5分間処理することにより感染を防止できるとの報告がある (Baker, 1986; Clemens, 1986)。

海水のオゾン殺菌は，オゾンガス気泡の直接作用と共に，この海水をオゾン処理した際に生成されるオキシダントの殺菌作用によるところが大きい (伊藤ら, 1997)。天然海水をオゾン処理し，生成したオキシダントの代表的な魚類病原細菌，ウイルスおよび寄生虫に対する殺菌効果をTable 3に示した (Yoshimizu *et al.*, 1995)。

ビブリオ病およびせっそう病原因菌をはじめとする４種の魚類病原細菌の生菌数を99.9 %以上減少させるに要するオキシダント量は，いずれも0.5 mg/Lで15秒 (0.1 mg/Lでは30～60秒) と報告されている。一方魚類病原ウイルスの感染価を99 %以上減少させるに要するオキシダント濃度は，ブリのウイルス性腹水症原因ウイルス (YTAV)，サケ科魚類の伝染性膵臓壊死症ウイルス (IPNV) およびサケレオルルス (CSV) では0.5 mg/Lで60秒, 0.1 mg/Lでも60秒であった。ヒラメのラブドウイルス (HIRRV)，サケ科魚類のヘルペスウイルス (OMV) および伝染性造血器壊死症ウイルス (IHNV) ではオキシダント濃度0.5 mg/Lで15秒，0.1 mg/Lでは30秒，さらに魚類病原寄生虫の場合，繊毛虫のスクーチカを殺すには 0.8 mg/Lで30秒を要するとされている。

淡水養殖では古くから飼育用水の殺菌にオゾン処理が用いられているが，Fig. 2に示すように曝気処理によりオゾンガスを除去した後に飼育用水として用いている。海水をオゾン処理した場合にはオゾンガスおよび生成オキシダントを除去する必要がある (笠井・吉水, 2001b)。

2) 淡水養殖でのオゾンによる飼育用水の殺菌

魚類飼育用水をオゾン処理して病原体を殺菌あるいは不活化する試みは，1970年代後半から Wedemeyer らを中心に米国で研究が始まった。ニジマスに対するオゾンの魚毒性 (24時間後の半数致死量) は0.008～0.028 mg/L (オゾンガス量) と報告され (Wedemeyer *et al.*, 1978; Wedemeyer *et al.*, 1979)，魚の飼育には0.00 3mg/L以下にする必要があるとされている。

Table 2. The effects of ozonation on the viability of fish pathogenic virus and foodborn bacteria

Microorganisms	Ozone concentration (mg/L)	Treatment time (sec.)	Reduction rate (%)	Initial number (Log. $TCID_{50}$ or CFU/mL)
IPNV*	0.01	60	100	4.0
IHNV*	0.01	30	100	4.0
VSV**	0.5	15	100	5.1
EMCV**	0.5	15	100	6.1
*Staphylococcus aureus***	0.5	15	100	7.5
*Salmonella typhimurium***	0.5	15	100	7.5
Escherichia coli O126:B16**	0.5	15	100	7.5
*Shigella flexneri***	0.5	15	100	7.5
Vibrio cholerae 569B**	0.5	15	100	7.5

* : Wedemeyer *et al.*, 1979.

**: Burleson *et al.*, 1975.

Table 3. The effects of residual oxidants produced by ozonation of seawater on viability of fish pathogenic microorganisms

Microorganisms	Residual oxidants (mg/L)	Treatment time (sec)	Reduction rate (%)	Initial number (Log.)*
YTAV	0.5	60	>99	4.3
HIRRV	0.5	15	>99	5.5
IPNV	0.5	60	>99	4.0
IHNV	0.5	15	>99	4.0
CSV	0.5	60	>99	4.0
OMV	0.5	15	>99	3.0
Viblio anguillarum	0.5	15	>99.9	5.6
Streptococcus sp.	0.5	15	>99.9	5.8
Aeromonas salmonicida	0.5	15	>99.9	5.1
Aeromonas hydrophila	0.5	15	>99.9	4.6
Scuticoliciatida	0.8	30	>99.9	5.5

*: $TCID_{50}$/mL, CFU/mL or MPN/mL (Scuticoliciatida).

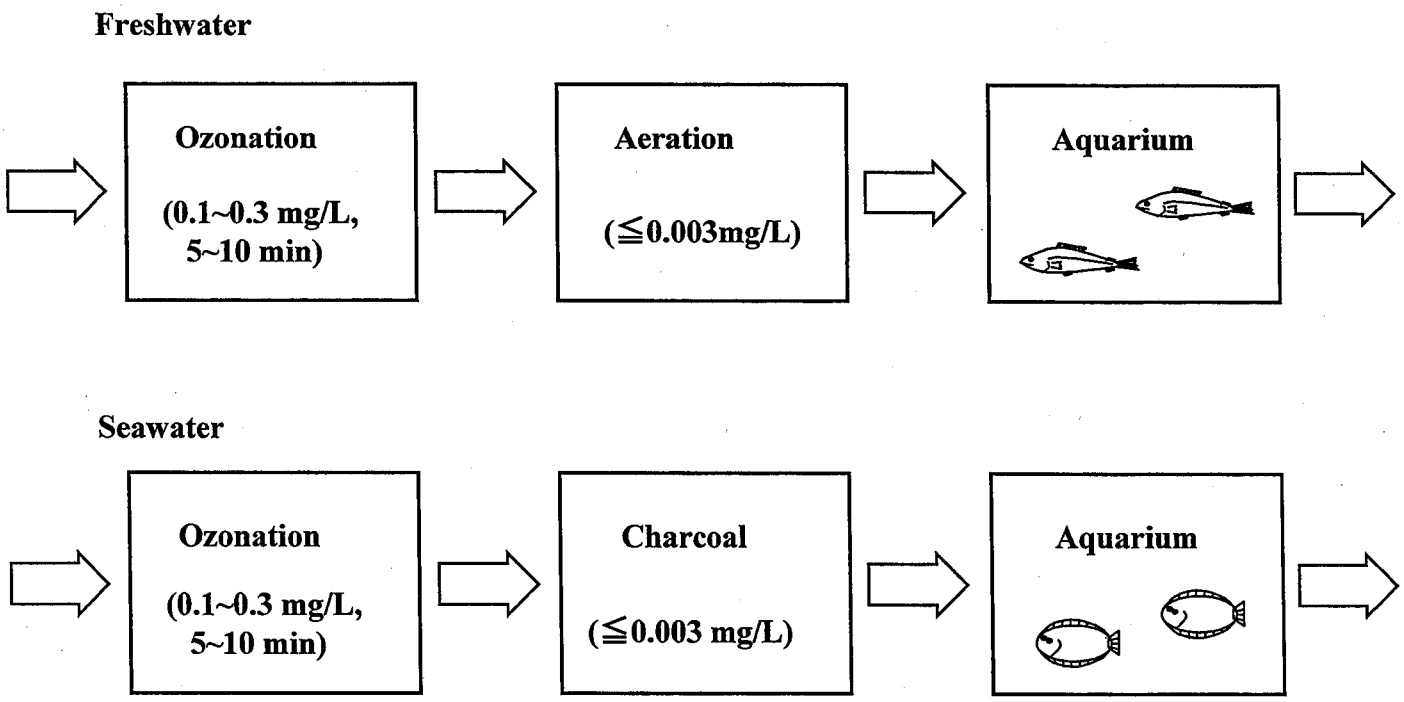


Fig. 2. Ozonation of water for aquaculture.

が0.01 mg/L，60秒処理（オゾンガス量）で確認されるとのことから（Wedemeyer and Nelson, 1977; Yoshimizu *et al.*, 1995），Fig. 2 に示したように飼育用水をまず0.1～0.3 mg/Lの濃度で5～10分間オゾン処理し，その後オゾン濃度が0.003 mg/L以下になるように曝気し，飼育用水として用いることを推奨している（Baker, 1986）。ワシントン州やオレゴン州の孵化場にはこのような飼育用水のオゾン処理装置が多く導入され，オレゴン州立の孵化場での試験結果では，この濃度の処理によりミキソゾーマやセラトミキサ属の寄生虫感染症も防除可能とされている（Baker, 1986; Clemens, 1986）。

一方わが国では，静岡県水産試験場が同様の検討を行い，ニジマスに対するオゾンの魚毒性は，24時間後の半数致死量が0.0083 mg/L（体重7.0 g群）～0.028 mg/L（同150 g群:オゾンガス量）と報告されている（富士養鱒場, 1990）。わが国ではギンザケおよびニジマス養殖場を中心に，オゾンによる飼育用水の殺菌と水質改善を目的として低濃度のオゾンを散気管から直接飼育水中に吹き込む方法が広く普及しているが（マリノフォーラム21, 1991），この場合，飼育水中のオゾン濃度（オゾナイザーの出力から計算すると0.005 mg/L程度が目安とされている）から判断すると殺菌効果は期待できず，飼育魚の遊泳状態や飼育池の状況から，むしろ溶存酸素の増加・アンモニア態窒素の減少による飼育環境の改善効果が大きいと理解すべきであろう（正確なオゾンガス濃度の測定と生菌数の減少率を測定する必要がある）。そうした現状が，使用者によりその評価が異なる一因と考えられる。本州各地のサケマス養殖地域ではすでに河川水がIHNVに汚染されてしまっているところもあり，ウイルスフリーあるいは不活化用水の確保にオゾン処理を行う場合，やはりFig. 2に示したような方法を採るべきと考える（吉水, 1992; 笠井・吉水, 2001b）。

3) 海水殺菌へのオゾンの利用

淡水と異なり，海水中には種々の微量成分が存在し，海水をオゾン処理した場合をこれら成分，特に臭素イオンと反応したオゾンは次亜臭素酸イオン（BrO^-）あるいは臭素酸イオン（BrO_3^-）となり(Yoshimizu *et al.*, 1995)，かなりの長期間残留し魚毒性を示すことが知られている（吉水, 1992）。マリノフォーラム21の海水殺菌装置評価試験で測定された残留オキシダントの半減期は22時間以上，魚毒性もクロダイ（全長70~105 cm）の場合，0.03 mg/L，20～40分の曝気で50～90分後に，0.04 mg/L，10分（いずれもオゾンガス量）の曝気で10分後に死亡し，さらに 0.3 mg/Lのオキシダントを含む海水を10倍に希釈して同じ大きさのクロダイを飼育しても１時間後には死亡した（マリノフォーラム21, 1991）。同様の魚毒性はヒラメ，マダイでも報告されている（Ozawa, 1990）。オオニベでも0.2 mg/Lの残留オキシダントが致命的な毒性を示したと報告され（Ozawa, 1990），マツカワでも0.5 mg/Lの残留オキシダントが致命的な毒性を示した。以上により，臭素イオンなど微量元素を含まない人工海水を用いて循環飼育する場合を除き，オゾン処理後に生成オキシダントを除去する必要がある(吉水, 1992; 笠井・吉水, 2001b)。

この残留オキシダントの除去にはチオ硫酸ソーダなどの還元剤の使用が可能であるが，

必要量を連続的に注入することは難しい。還元剤触媒の開発が行われているが，現在簡単に入手できる物として活性炭が広く用いられ，オゾン処理海水を用いた種苗の飼育が試みられている (吉水, 1992; 伊藤ら, 1996)。

4) オゾン処理海水を用いた飼育試験結果

以上の知見を基に，青森県下と北海道内で養魚用海水をオゾン処理し，活性炭で残留オキシダントを除去した後，ヒラメ稚魚を飼育した例について紹介する。青森県増殖センターで行われた，オゾン処理海水を用いたヒラメの飼育試験では，無処理対照区および紫外線処理区との飼育成績に差はなく，飼育用水中の細菌数は約1/1万に減少し(紫外線処理の場合1/10～1/100に減少) オゾン処理の有効性が確認されている (Table 4) (伊藤ら, 1996)。オゾン処理前後の細菌叢を比較すると，グラム陰性の魚病原因細菌を含む*Vibrio*属や*Pseudomonas*属が減少していた (Fig. 3)。

さらに北海道内２カ所での飼育試験でもほぼ同様の成果が得られている (伊藤ら, 1996)。その一つ，福島町での結果をTable 5に示した。またOzawaらも閉鎖系海水飼育におけるオゾン利用を検討し，活性炭を用いた残留オキシダント除去の効果を確認している (Ozawa, 1990)。日本栽培漁業協会では8カ所の事業場にオゾン殺菌装置を導入し，種苗生産用の飼育用水に使用しているが，稚仔魚の発育や生存率に悪影響はなく，病気の発生の防除に役立っている。そのうちの一つ，厚岸事業場には毎時3 tと10 t処理できる装置が導入され，オキシダント濃度0.5 mg/Lで5分間処理し，活性炭槽を通した後，飼育用水として用いている。飼育用水殺菌の指標として一般生菌数の変化を観察しているが，無処理水にくらべて99.99%以上の減少が認められている (伊藤ら, 1996)。主にマツカワのウイルス性神経壊死症対策に導入された装置であり，採卵親魚の抗体検査による事前選別と採卵時のPCR検査と再度の抗体検査による選別を行い，得られた仔魚を親魚毎に隔離飼育している。個別管理することにより，病気の発生はウイルス保有親魚由来仔魚の飼育水槽に限定されるようになったと報告されている (Yoshimizu *et al.*, 1997)。検査精度の向上により，以後病気の発生が見られず，もちろん対照群とオゾン処理群の稚仔魚に生存率および生育に差は認められていない (Watanabe *et al.*, 2000)。

さらにオゾン処理の際に生成されるオキシダント海水の有効利用として，その殺菌効果を利用し消毒液の代わりに使うことも検討されている。網やビーカー類，長靴といった飼育器具機材の消毒効果をTable 6に示す (渡辺・吉水, 1998)。このようにオゾン処理した海水を活性炭に通す前に一部取り出し，市販の消毒薬と同様に使用することが可能で，酸化による腐食の問題がない網やビーカー，長靴などの飼育用器具機材の消毒に有効であった。またマツカワの受精卵を用いた試験では，モルラ期に使用すればヨード剤よりも優れた消毒効果が得られ，孵化率にも差はなく，受精卵の消毒にも有効であることが示されている (渡辺・吉水, 1998)。ただすべての魚種に使用できるかどうかは今後の検討課題である。

Table 4. Viable bacterial counts of ozonated and UV irradiated seawater supplied for aquaculture (CFU/mL)

Sample	11. June	18. June	25. June	2. July
Non-treated water	5.7×10^4	3.1×10^4	4.3×10^4	6.1×10^4
Ozonated water	2.4×10^1	3.5×10^0	4.4×10^1	1.3×10^1
Ozonated and Charcoal-passed water	8.6×10^4	4.7×10^4	2.4×10^4	1.4×10^4
UV irradiated water	7.9×10^2	1.4×10^2	1.1×10^2	1.5×10^2

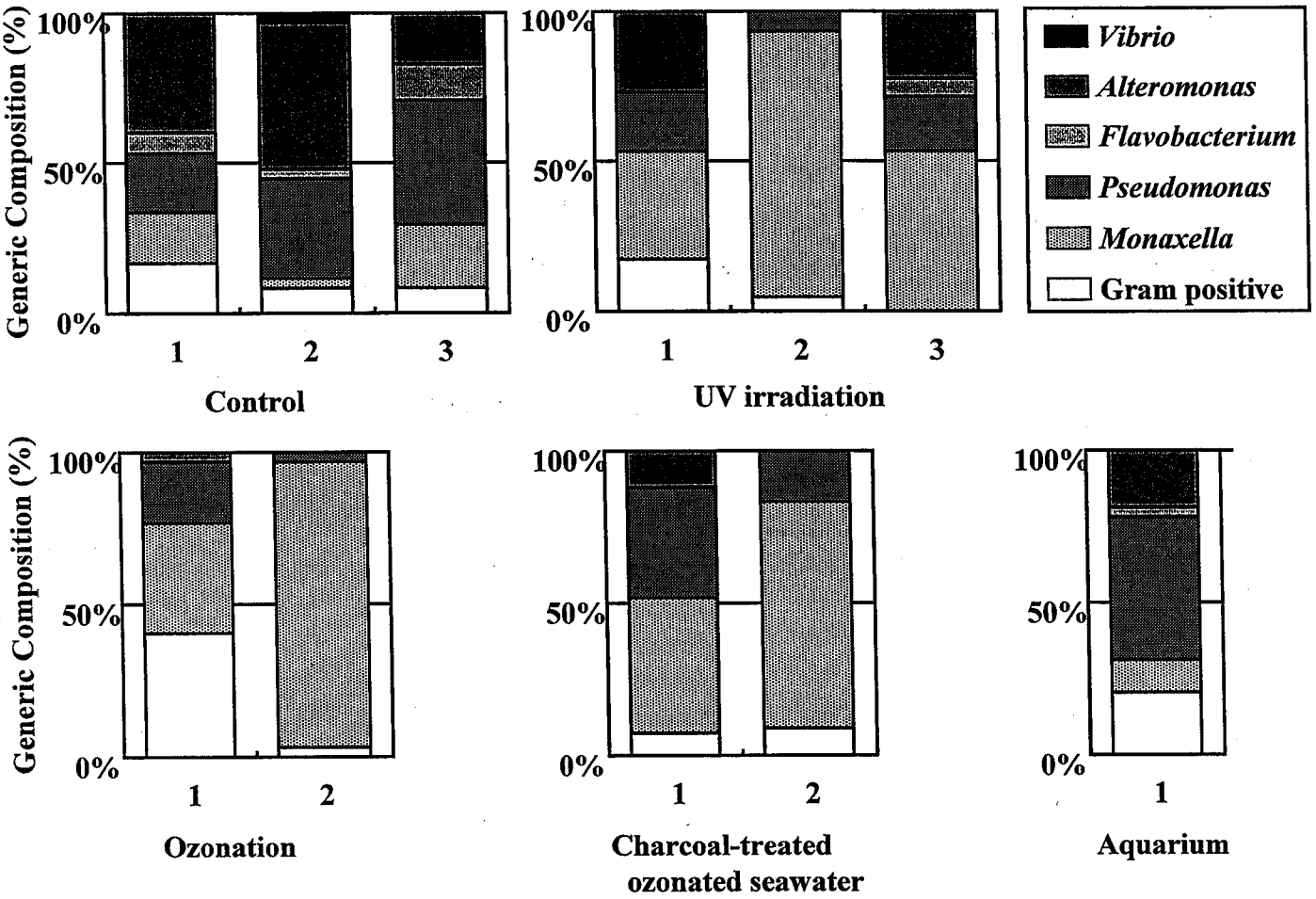


Fig. 3. Generic composition (%) of bacteria isolated from UV irradiated and Ozonated seawater.

Table 5. Survival rate (%) of Japanese flounder cultured in U.V. irradiated, ozonated, electrolyzed or non-treated seawater

Sample	U.V. irradiation*1	Ozonation*2	Control
Japanese flounder[3]	71.5	71.8	67.4
Barfin flounder[4]	NT	34.3	25.7

*1: U.V. dose: 1.0×10^4 μW·sec/cm^2.

*2: Ozonation: 1.0 mg/L residual oxidants for 8.5 min for Japanese flounder. 0.5 mg/L for 5 min for Barfin flounder.

*3: Electrolysis: 0.5 mg/L chlorine for 5 min.

*4: Tank size: 0.5 t, Number of fish: 2000, Duration: 49 days, Feeding: 1 time/day.

Table 6. Effects of ozonated seawater on disinfection of equipments for aquaculture, fertilized eggs and live feed

Sample	Residual oxidants concentration (mg/L)	Treatment time (min)	Viable bacterial counts (CFU/mL or g)		Reduction rate (%)
			Before treatment	After treatment	
Scoop net*1	0.5	30	3.0×10^{4}	2.3×10^{1}	>99.9
Bolting cloth*1	0.5	30	4.9×10^{4}	1.1×10^{1}	>99.9
Canvas*1	0.5	30	4.8×10^{4}	3.7×10^{0}	>99.9
Hose*2	0.5	30	2.2×10^{4}	3.5×10^{0}	>99.9
Beaker*2	0.5	30	5.2×10^{3}	2.6×10^{0}	>99.9
Bucket*2	0.5	30	1.7×10^{3}	6.0×10^{-1}	>99.9
Rubber boot*2	0.5	120	2.1×10^{4}	1.3×10^{0}	>99.9
Fertilized eggs*3,4	0.5	10	3.5×10^{4}	3.6×10^{1}	99.9
Rotifer*4	0.5	30	1.2×10^{8}	3.1×10^{7}	73.9
Artemia*4	0.5	60	2.6×10^{8}	6.6×10^{7}	74.6
Thalassiosira*4	0.5	5	1.3×10^{7}	1.3×10^{6}	90.0

*1: One hundred cm^2 of net, cloth and canvas were treated with oxidants and then suspended in 2 % peptone solution.

*2: After treatment with oxidants, 25 cm^2 of these surface were swabbed by cotton and then suspended in 2 % peptone solution. Bacterial counts were made using there bacterial suspensions in peptone.

*3: Fertilized egg of barfin flounder *Verasper moseri* (morula period).

*4: One gram of eggs, rotifer, artemia and thalassiosira were suspended in 2 % peptone solution.

2-3. 中空糸濾過膜による除菌法

飼育用水の濾過除菌法として用いられている，中空糸濾過膜の濾過性能について検討した結果を紹介する。大きさの分かっている培養可能なウイルスを用い，公称0.10 μm (100 nm)と0.03 μm(30 nm)の穴径を有する中空糸ろ過膜のろ過性能が検討された。本試験には，ブリのウイルス性腹水症原因ウイルス (YTAV), サケ科魚類の伝染性膵臓壊死症原因ウイルス (IPNV, VR-299株), サケ科魚類のヘルペスウイルス *Oncorhynchus masou* virus (OMV, OO-7812株) および ヒラメラブドウイルスHIRRV (*Rhabdovirus olivaceus*; HIRRV, 8401H株) が試された。なお，YTAVおよびIPNVはビルナウイルス科に属し，大きさは55～60 nm, HIRRVはラブドウイルス科に属し，大きさは直径70～80 nm，長さ170 nm前後，またOMVはヘルペスウイルス科に属し，大きさは220～240 nmである。

穴径0.03 μmの中空糸ろ過膜のろ過性能は，Table 7上段に見られるように直径55～60 nmのYTAVおよびIPNVはろ液中からは検出されず (検出限界未満), 1/10 量および1/100量に濃縮されたウイルス懸濁液のウイルス感染価は10倍および約100倍に上昇していた。穴径0.10 μmの場合のろ過性能試験結果を下段に示した。0.10 μmのろ過膜では上記YTAVおよびIPNV (直径0.055～0.060 μm) が0.3～1.0 %, これより大きいラブドウイルスの HIRRV (直径0.07～0.08, 長さ0.17 μm前後) が 3.2 % 通過した。このように60 nmのウイルスの方が70 nm，長さ170 nmのウイルスよりも通りが悪かったのは，ウイルス粒子表面の構造の違い等によるものと考えられ，濃縮されたウイルス懸濁液の感染価から逆算すると YTAVおよびIPNVの膜通過率はもっと高くなるはずであり，ウイルスが膜面に絡まり補足されていた可能性が指摘されている。一方，膜の穴径よりも大きいヘルペスウイルスOMVは全く通過しなかった。この場合，濃縮されたウイルス懸濁液のウイルス感染価は濃縮倍数に比例して上昇していた (マリノフォーラム21, 1995)。

以上のように中空糸ろ過膜により濾過除菌する場合，膜の穴径よりも大きな粒子は通過しないことが確認された。現在多くの海産魚で問題となっている神経壊死症の原因であるノダウイルスは直径が 25～28 nm であり，このウイルスが 0.03 μmの中空糸ろ過膜を通過するかどうか関心がもたれるところである。

2-4. その他の飼育用水殺菌法

塩素剤あるいは塩素ガスを用いて水を殺菌する方法は飲料水や水槽，プール等の殺菌に広く使用されている。飼育用水の殺菌としては制約が多く困難な面も多いが，飼育排水の処理としては有効な方法であり，多くの大学，研究所での人為感染試験魚の飼育排水の処理に使用されている。一方ヨード剤やホルマリン，銅イオン等の利用による殺菌も可能であるが，生物への影響，残留，廃液の放出，人体や環境生物への影響など使用に当たっての留意事項が多い。

Table 7. Effect of hollow fiber membrane filtration on the infectivity of fish pathogenic virus

Pore size (μm)	Virus	Size (nm)	Volume (L)	Concentration rate (%)	Viral infectivity (Log. $TCID_{50}$/mL) Initial	Viral infectivity (Log. $TCID_{50}$/mL) Filtrate	Filtration rate (%)
0.03	YAV	55~60	20	1	4.30	<0.80	0
			2	10	5.30	<0.80	0
			0.2	100	6.05	<0.80	0
	IPNV	55~60	20	1	4.80	<0.80	0
			2	10	5.80	<0.80	0
			0.2	100	6.30	<0.80	0
0.10	YAV	55~60	20	1	4.30	1.80	0.3
			2	10	4.80	2.55	0.4
			0.2	100	5.30	3.30	1
	IPNV	55~60	20	1	4.80	2.30	0.3
			2	10	5.30	-	-
			0.2	100	5.30	2.80	0.3
	HIRRV	70~80×170	20	1	4.80	2.80	3.2
			2	10	5.80	2.80	3.2
	OMV	220~240	20	1	2.80	<0.80	0
			2	10	3.80	<0.80	0
			0.2	100	4.30	<0.80	0

マイクロセラミックあるいは高分子濾過膜を用いた濾過除菌法も中空糸ろ過膜方式の採用により大量の水を処理できるようになってきた。現在市販の濾材あるいは濾過膜で寄生虫類や魚類病原真菌，細菌および大型のウイルス（イリドウイルスおよびヘルペスウイルス：200 nm以上）は濾過除菌が可能と考えられるが，直径約25 nmのノダウイルスを含めすべてのウイルスを大量の飼育用海水から恒常的に除去することはコスト面で改善の余地がある。しかし貴重な種苗や，少量の用水で一定期間無菌的に飼育するような場合には極めて有効な方法と考えられる（マリノフォーラム21, 1991）。

また加熱殺菌法としてプレート型熱交換器を使用して飼育用水の殺菌を行っているところもある。魚類病原細菌を含め水棲細菌は衛生細菌に比べ，至適増殖温度や発育温度上限が低いため，衛生細菌に比べると殺菌温度は低くてもよいと考えられる。ウイルスに関してはいくつかの報告があり，ラブドウイルスとヘルペスウイルスでは50°C，2分程度の加熱で十分殺菌できる。しかしビルナウイルスに関しては60°C，30分の加熱処理で99.9 %の殺菌は可能であるが，これらウイルスは感染価が高い（腹水中で$10^{7\text{-}8}$感染粒子/mL）ことから，加熱殺菌の対象にするには難があると考える。

3. 飼育排水の殺菌

養魚排水の殺菌には，環境に対する負荷軽減と病原体の拡散防止という二つの目的がある。一般に魚介類を飼育すると給餌等により有機物が付加され，微生物も増殖する。また飼育生物が排泄する糞中には，多数の消化管内細菌（腸内細菌）が含まれる。魚類防疫上の病原体対策はもちろん，近年は環境対策からも，飼育排水は取り入れた水と同じ有機物レベルでかつ微生物数も同一とすべきとの提言がなされ，排水対策が重要な課題となってきている（三村, 1991; 吉水, 1998）。

試験研究機関では，人為感染試験魚の飼育等により排水中に出た病原体を殺菌する目的で，わが国および米国では塩素剤を，欧州では塩素あるいはオゾンを用いて排水を殺菌している。しかし一般飼育排水の殺菌に関しては，処理水量が毎時数百トン以上に及ぶことから，設備面，コスト面で普及が遅れている。

飼育排水の殺菌装置をわが国で最初に導入したのは北海道立水産孵化場である。ここでは砂濾過槽で懸濁物を除去後，紫外線ランプで殺菌する方式を採っている（坂井・太田, 1990）。感染実験室からの排水は別途塩素による殺菌が施されている。

事業規模での飼育排水の殺菌装置が（独）さけ・ます資源管理センターの尻別事業場に設置されている。ここでは飼育排水中の残餌および糞を凝集沈殿法で沈殿させたのち，毎時120トン処理できる流水式中圧紫外線殺菌装置2基で殺菌している。紫外線照射量は1.0×10^4 μW・sec/cm^{2}以上，処理後の殺菌効果は99.9 %以上であった（吉水, 1998）。

一方オゾンを用いた飼育排水の殺菌装置も，網走市水産科学センターや島根県および三重県の栽培漁業センターに導入され，両栽培センターでは凝集沈殿法による排水処理後，

オゾン処理を行っている。飼育排水を用いた試験での殺菌率は99.99 %以上であった (三村・長瀬, 1996)。しかしオゾンによる殺菌は規模が小さく，大量の排水処理には技術的な課題も多い。

欧米では，国立公園内にある施設からの排水に厳しい基準が設けられ，細菌に関しては用水と同等の生菌数にしたのちに排出するよう義務付けられている。将来的には日本も同様の基準が設けられると考えられ，排水処理・殺菌に関しては今後こうした現状を考慮に入れて検討する必要があると考える。

4. 魚類飼育用水および飼育排水殺菌法で重視すべき条件

魚類飼育用水は大量の水を必要とし，かつ魚類を安全に飼育する必要があり常時安定した水質が保持されていなければならない。殺菌処理によって水の物理化学的性質が変化してはならず，前述のように塩素やオゾンで殺菌した場合脱塩素あるいは脱オゾンの行程を組み込む必要がある。加熱殺菌も理論的には可能であり，易熱性のヘルペスウイルスやラブドウイルス，グラム陰性の魚類病原細菌の殺菌には有効な方法と考えられ，殺菌装置の開発が望まれるが，現状では基礎的知見および使用実績に乏しい。さらに高分子濾過膜を用いたろ過除菌法も，養殖現場の海水を大量に濾過するには膜の目詰まり対策とコスト面での問題があり，一般に広く普及させるにはもう少し時間を要するが，貴重な種苗の限られたステージを飼育するためには有効であろう。

現在のところこういった条件を満たす方法としては上述の紫外線，オゾンあるいは海水の電気分解により生成した次亜塩素酸を利用する方法が最も目的にかなっている。しかし紫外線殺菌の場合，光を利用する関係上，水中の懸濁粒子の影響を大きく受け，さらに溶存有機物や鉄イオン量にも影響されることから，海水中の懸濁粒子の量および大きさを事前に調査し，懸濁粒子の除去に十分注意する必要がある。さらに低温下では殺菌効果が低下することから，水温が極端に低下する地域での冬期間の連続使用には注意が必要である。また紫外線により損傷した微生物は可視光線に当たると修復される作用がありこの点にも十分留意する必要がある。さらに，使用する紫外線の波長によってはオゾンが発生する。高圧放電法および純水の電解法ではオキシダントの発生はないものの，通常の空気を使用する場合には魚毒性を示すこのオキシダントの発生に注意する必要がある。

オゾン殺菌法の場合，低濃度のオゾンを直接飼育池に吹き込む方式も普及しているが，飼育環境水の水質改善を目的とする場合は別として，殺菌を目的とする場合には，オゾン濃度を一定時間保ち，その後オゾンを除去して飼育用水として用いる必要がある。特に海水をオゾン処理した場合には，残留オキシダントの除去装置を組み込み，魚毒性を示さない量にまでオキシダントを減少させる必要がある。またオキシダントは有機物と反応すると，その濃度が急激に減少する。そのため反応槽中のオキシダント濃度を常時モニターし，供給オゾン量を制御するシステムの開発が必要になる。オゾン処理槽内のオキシダント量

が一定に制御できるようになれば，現在よりも低濃度のオゾン量での運転が可能になり，コストの低減が計られると考えられる。

次に実際の飼育現場への導入となると，飼育対象魚種により，殺菌対象病原微生物が異なり，装置の選択も異なってくる。例えば前述のニジマス養殖の場合，IPNV対策を除けば紫外線殺菌で十分その目的は達成されている。またヒラメ種苗の場合も，スクーチカ症やイクチオボド症のような寄生虫感染症を除けば，紫外線殺菌で十分その目的は達成されると考えられる。しかしブリ稚魚やマガレイ稚魚のように，ビルナウイルスやレオウイルスによる感染症が危惧される場合，紫外線殺菌や加熱殺菌では不十分であり，さらにピコルナウイルスの場合はろ過除菌も困難であることから，オゾン殺菌による殺菌が有効と考えられる。

5．水産物の衛生管理に向けた漁船および産地市場の水産用水殺菌の必要性

水産増養殖事業の最終目標は食糧資源の生産供給であり，現代社会では，安全で安心して食べることのできる食品の提供が求められている（吉水・笠井, 2002c, 笠井ら, 2004a）。水産食品による健康障害の第一位は，腸炎ビブリオ（*Vibrio parahaemolyticus*）による食中毒である。毎年300~800件，患者数3,000~12,000人程度の発生が報告されており，件数も患者数もわが国の食中毒全体の約10~30%を占めている（厚生労働省　平成8~12年食中毒発生状況）。

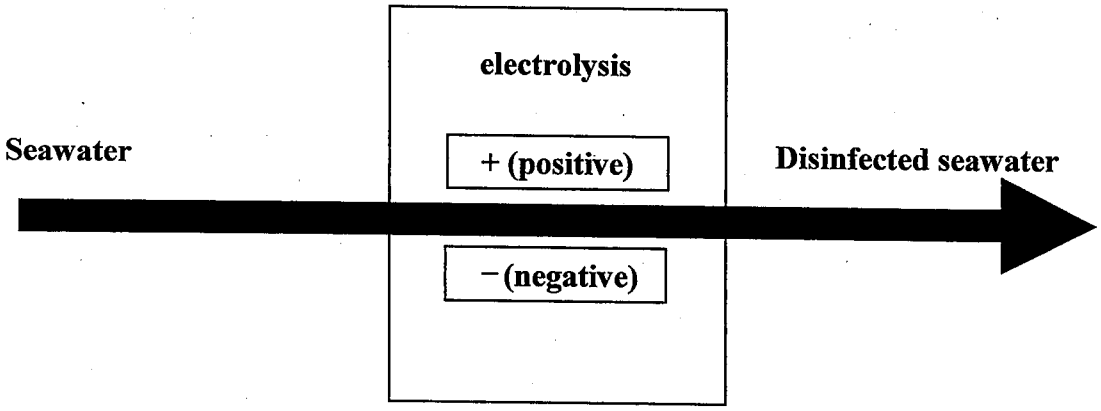
そこで，厚生労働省は平成13年5月に，腸炎ビブリオ食中毒防止対策のための水産食品に係る規格及び基準を設定した。成分規格については，製品1 gあたり腸炎ビブリオ最確数を100以下とし，加工に使用する海水の基準については，腸炎ビブリオによる二次汚染防止のため，殺菌海水や人工海水の使用が規定された (厚生労働省, 2001)。ここでいう殺菌海水とは飲用適の水か清浄な海水を意味する。現在の技術水準では，紫外線殺菌しか該当する方法はなく(木村・吉水, 1991, 笠井・吉水, 2002)，十分量の殺菌海水が得られないことから，やむなく海水への次亜塩素酸添加が行われている。しかし，環境や作業者に対する影響が大きく管理も難しいのが実情であり，環境に優しい簡単かつ効果的な殺菌装置の開発が望まれている。

一方，漁獲から消費者までの水産物の流れは，［漁場］→［漁港］→［産地卸売市場］→［加工場］→［消費地卸売市場］→［小売店］→［消費者］となる。水産物が加工場に搬入されてからは厚生労働省の指導に従い，上述のように殺菌海水や人工海水の使用が義務付けられているが，漁獲から加工場に至るまでは農林水産省の指導下にあり，漁港を含め食品衛生に関する配慮が，今改めて求められている（笠井ら, 2004a）。加工原料としての漁獲物を衛生細菌による汚染から防ぐことは，より安全な食品を消費者へ提供するために必要な処置と考え，漁港内海水の衛生状態の把握とともに，漁船および産地市場で用いる水産用海水の殺菌技法の開発が急務である。

6．電気分解殺菌法

本研究では，紫外線およびオゾン殺菌に続き，新たに電気分解法を用いた海水殺菌法の開発を目的に以下の検討を行った。電気分解法による海水殺菌とは，海水を電気分解した際に海水中に含まれる食塩から生成される次亜塩素酸の殺菌力を利用して海水を殺菌する方法である (Fig. 4)。水族館の水槽や火力・原子力発電所の冷却水系などで，コケや藻類，貝類などの生物付着を防ぐために海水中に微量の次亜塩素酸を発生させる装置としても用いられている (塚田ら, 1996; 村山, 1999)。食塩濃度が1.0 %以上であれば，海水と同程度の次亜塩素酸が産生され，殺菌効果が得られる。

本研究の第一章では，流水式海水電解殺菌装置の魚類病原細菌およびウイルスに対する殺菌効果について検討した。続いて第二章では，流水式海水電解殺菌装置による飼育用水および排水の殺菌について検討し，また第三章ではバッチ式海水電解殺菌装置と流水式海水電解殺菌装置との比較ならびに電解海水による魚類飼育器具の消毒について検討した。続いて第四章では，漁獲の際に使用される海水の殺菌を目的として，まず第一節で道東の標津川，伊茶仁川および古多糠川の細菌学的調査を，第二節で標津漁港の細菌学的調査を行い，第三節において海水電解殺菌装置による漁港内海水の殺菌と漁獲物の衛生管理への応用について検討した。



$$2Cl^- \rightarrow Cl_2 + 2e^-$$

$$2OH^- \rightarrow H_2O + 1/2O_2 + 2e^-$$

$$Cl_2 + H_2O \Leftrightarrow HClO + H^+ + Cl^-$$

$$HClO \rightarrow H^+ + ClO^-$$

Fig. 4. Disinfection of seawater by electrolysis.

第一章　流水式海水電解殺菌装置の魚類病原細菌およびウイルスに対する殺菌効果

魚介類の疾病防疫手法として，採苗親魚の病原体保有の有無や即往病歴の把握等の健康状態の調査に加え，種卵の消毒，飼育用水の殺菌，飼育施設の消毒等を実施し，病原体の侵入を防ぐ対策が取られている。なかでも飼育用水および排水の殺菌は最も重要な課題である。 特に海産魚介類の陸上養殖では，沿岸海水を用水として利用するため，海水中に病原微生物が存在すると飼育魚への影響は避けられず，飼育環境や飼育魚の健康状態の悪化，さらには過度のストレスが加わった場合，疾病が発生しやすい状況になる。また，一旦病気が発生すると，病原微生物により汚染された排水を環境下に放出することになり，環境水が汚染され，この海水を用水として使用するといった悪循環を繰り返す危険性がある。この悪循環を繰り返さないためにも，飼育排水を殺菌する必要がある (吉水, 1998)。

飼育用水の殺菌処理法として，各地の飼育施設で紫外線やオゾンを利用した殺菌装置が普及している (吉水, 1992)。しかし紫外線による殺菌は，水中の懸濁粒子により照射障害を受け殺菌効果が低下すると云う問題がある。オゾン殺菌はオゾンが海水中のブロムと反応して生成されるオキシダントにより病原微生物を殺菌する方法であるが，このオキシダントは有用魚介類に対しても毒性が大きいため，これを活性炭などによって取り除く必要がある。このような問題に加えて，飼育排水を殺菌する場合，大量の水を処理しなくてはならず，現在の紫外線，オゾン殺菌装置では対処できない。

本章では，大量の水を殺菌することを最終目的に，海水電解殺菌装置の殺菌効果を検討した。本試験に用いた海水電解殺菌装置は，水族館の水槽や火力，原子力発電所の冷却水系などに，藻類や貝類などの生物が付着するのを防ぐために，海水中に次亜塩素酸を発生させ，これらの付着防止を計っている装置であり (村山, 1999)， 魚介類の飼育排水の殺菌にも応用できると考え試作機を供試した。この試作装置を用い，まず食塩水を電気分解して次亜塩素酸を生成させ，魚類病原細菌およびウイルスを対象に殺菌効果を検討すると共に，海水中に含まれている塩化ナトリウム以外の成分の影響を調べるために，純度の異なる食塩を用いて殺菌効果に与える影響を検討した。

材料と方法

海水電解殺菌装置　本研究には流水式海水電解殺菌装置 (ライトクロア，試作機，荏原製作所) を使用した。本装置は，海水 (食塩を含む水) を直接電気分解することにより，海水中の食塩から次亜塩素酸を生成するもので，電流 (直流出力) により次亜塩素酸生成量を調節できる。

次亜塩素酸の測定法　次亜塩素酸の濃度のみを測定するのは難しいため，ポケット残留塩

素計 46700-00 型 (セントラル科学) を用い，DPD 法により有効塩素濃度の測定を行った。

次亜塩素酸　市販の化学用試薬 sodium hypochlorite solution (和光純薬) を用いた。

供試食塩水　活性炭を用いた脱塩素処理水道水に市販の食塩 (99 %以上，塩事業センター)，試薬特級 NaCl (99.5 %以上，和光純薬) および天然の粗塩 (ニガリ成分含有赤穂の天塩，赤穂化学) を 3 %となるように溶解し実験に供試した。

水槽　FRP 製の 1000 L および 500 L 容量水槽およびプラスチック製 90 L 容量水槽を用いた。

供試細菌　*Vibrio anguillarum* (NCMB 6)，*Aeromonas salmonicida* (ATCC 14174)，*Escherichia coli* (Es-1 株) を供試した。*V. anguillarum* の培養には 1 %NaCl 加普通ブイヨン (pH 7.5) を，*A. salmonicida* および *E. coli* には普通ブイヨンを用い，坂口フラスコで 25℃，48 時間培養後，1,800×*g*，20 分間遠心分離し，上清を除去後，菌体を滅菌生理的食塩水に懸濁し試験に供した。なお供試細菌の生菌数は，*V. anguillarum* では 1 %NaCl 加普通寒天培地 (pH7.5) を，*A. salmonicida* および *E. coli* では普通寒天培地を用いて測定した。なお本試験における生菌数の検出限界は平板法で 10 CFU/mL であった。

供試ウイルスおよび培養細胞　魚類ウイルスとしてブリのウイルス性腹水症原因ウイルス(YTAV)およびヒラメラブドウイルス (HIRRV) 8401-H 株を供試した。YTAV の培養には CHSE-214 細胞を，HIRRV の培養には EPC 細胞を用いた。これら細胞の培養には，MEM_{10}Tris (Gibco) を用い，ウイルスの希釈には Hanks' BSS (Gibco) を用いた。供試ウイルスは，75 cm^2 の細胞培養用フラスコで 10 日間培養後，ミリポアフィルターHA (0.45 μm)で濾過し，-80 ℃に保存したものを用いた。ウイルス感染価は常法によるマイクロプレート法と 24 well プレートを用いた方法を併用し，24 well プレートには試料を 1 mL 接種した。この場合の検出限界は $10^{0.5}$ $TCID_{50}$/mL であった。

水道水および脱塩素水の殺菌効果判定試験　北海道大学大学院水産科学研究科構内の魚類隔離飼育室において，水道水および水道水を活性炭に通した脱塩素処理水を用い，それぞれの供試水を滅菌ビーカーにとり，食塩を加えて 3%濃度にした。*V. anguillarum* を 10^6 CFU/mL になるよう懸濁し，懸濁直後，1，15，30 分後に 1 mL を採取し 9 倍量の 1 %ペプトン水を残留塩素の作用を停止させる目的で加え，生菌数を測定した。対照には同一濃度に調製した供試菌液に同様に 1 %ペプトン水を加えた。なお水道水および脱塩素処理水道水の塩素量の測定は菌液を加える直前に行った。

電気分解処理水による殺菌・不活化効果判定試験　脱塩素処理水道水に食塩を溶解して 3%

溶液を作製し，細菌は 10^6 CFU/mL，ウイルスは $10^{4.5}$ $TCID_{50}$/mL になるように懸濁した。この懸濁液を水流ポンプを用いて海水電解殺菌装置に通し，流量を 2.0，2.5，3.0，3.5 m^3/h，電流を 0.1，1.0，1.5，2.0，2.5 Aとして電気分解し，電気分解処理水(以後電解水と称す)を採取して塩素量を測定した。電解水を採取した時間を 0 分とし，処理時間を 1.0，2.5，5.0 分として，細菌には 1 %ペプトン水を，ウイルスには MEM_{10}Tris を 9 倍量加え，次亜塩素酸の作用を停止させた。次いでこの作用停止液の生菌数あるいは感染価を測定した。対照には無処理の懸濁液に作用停止液を加え同様に生菌数あるいは感染価を測定した。ウイルス感染価は 96 well マイクロプレートを用いた定法のマイクロタイター法により測定し，2 回以上の平均値から細菌は殺菌率 (%) を，ウイルスは不活化率 (%) を求めた。

市販の次亜塩素酸による殺菌効果判定試験　脱塩素処理水に食塩を 3 %になるように溶解し，この食塩水に市販の次亜塩素酸を添加した。塩素量を測定後，直ちに供試菌液を 10^6 CFU/mL になるように加え，添加時を 0 分とし，1.0, 2.5, 5.0 分後にその一部を取り出し 1 %ペプトン水を 9 倍量加え次亜塩素酸の効果を停止させた。上記の方法で生菌数を測定し，海水電解殺菌装置 (3.5 m^3/h，0.5 A) によって生成された次亜塩素酸による殺菌効果と比較した。

食塩のグレードによる海水電解殺菌装置の殺菌効果判定試験　食卓塩，試薬特級 NaCl および粗塩を，脱塩素処理水道水に溶解し，3 %溶液とした。供試菌を 10^6 CFU/mL になるように懸濁し，供試海水電解殺菌装置の最大流量 3.5 m^3/h, 最小電流 0.5 A で電気分解を行った。電解水を採取し，9 倍量の 1 %ペプトン水を加えて次亜塩素酸の作用を停止させ，生菌数を測定した。

結　果

水道水および脱塩素処理水中での *V. angillarum* の生存性　*V. anguillarum* を水道水と脱塩素処理水に懸濁した場合の生菌数の変化を Table 1-1 に示した。水道水の残留塩素濃度が 0.07 mg/L の場合，1 分間経過した後にはコロニーは認められなくなった。一方，脱塩素処理水道水の塩素量は 0.02 mg/L と測定され，生菌数は 10^6 CFU/mL 以上と 1，15，30 分後もほとんど変化なかった。

海水電解殺菌装置の魚類病原細菌およびウイルスに対する殺菌・不活化効果　海水電解殺菌装置を用い，3 %食塩水に懸濁した *V. anguillarum* および *A. salmonicida* を 2.5～3.5 m^3/h, 電流 0.5～2.5 Aで 1, 2.5, 5 分間処理したときの殺菌率を Table 1-2 に示した。*V. anguillarum* は，最大流量 3.5m^3/h，最小電流 0.5Aの条件での有効塩素濃度 0.07 mg/L，1 分間の処理で 99.99 %以上殺菌され，これよりも濃い塩素量では 1 測定点を除きすべて 99．99 %以上の殺

Table 1-1. The viable counts of *Vibrio anguilarum* in tap water and dechlorinated tap water

Water	Chlorine concentration (mg/L)	Treatment time (min)	Viable counts (CFU/mL)
Tap water	0.07	0	4.5×10^6
		1	no colony*
		15	no colony*
		30	no colony*
Dechlorinated tap water	0.02	0	4.5×10^6
		1	3.7×10^6
		15	3.5×10^6
		30	4.3×10^6

*: No colony was observed on the agar plate.

Table 1-2. The effects of hypochlorite produced by electrolysis of salt water on the viability of *Vibrio anguilarum* and *Aeromonas salmonicida*

Bacteria	Chorine concentration (mg/L)	Flow rate (m^3/h)	Electricity (A)	Treatment time (min)	Reduction rate (%)
V. anguillarum	0.07	3.5	0.5	1	>99.99
				2.5	>99.99
				5	>99.99
	0.1	3	0.5	1	>99.99
				2.5	>99.99
				5	>99.99
	0.11	2.5	0.5	1	>99.99
				2.5	>99.99
				5	>99.99
A.salmonicida	0.06	3.5	0.5	1	99.96
				2.5	99.96
				5	99.96
	0.11	3.0	0.5	1	99.99
				2.5	99.99
				5	>99.99
	0.13	2.5	0.5	1	>99.99
				2.5	>99.99
				5	>99.99

*Initial viable bacterial number were 4.5×10^6 CFU/mL and 3.8×10^6 CFU/mL respectively.

菌率であった。

A. salmonicida については有効塩素濃度 0.06 mg/L の塩素量で殺菌率は 99.96 %となったが，0.11 mg/L では処理時間 1 分で 99.98 %，2.5 分では 99.99 %以上の殺菌率となった。*E. coli* については有効塩素濃度 0.14 mg/L の場合，1 分間の処理で 99.98 %，2.5 分間では 99.99 %以上の殺菌率が得られた (表には示していない)。

次に魚類病原ウイルスの YTAV および HIRRV に対する試験結果を Table 1-3 に示した。YTAV の場合有効塩素濃度 0.18 mg/L，1 分間の処理で 98.42 %の不活化率であったが，0.32 mg/L，1 分間で 99.50 %，0.45 mg/L，1 分間で 99.92 %，0.58 mg/L，1 分間の処理で 99.99 %以上の不活化率を示した。

HIRRV の場合有効塩素濃度 0.09 mg/L, 2.5 分間で 98.40 %, 0.34 mg/L, 2.5 分間で 99.94 %, 0.49 mg/L，2.5 分間では 99.99 %以上の不活化率を示した (Table 1-3)。

これら供試細菌およびウイルスの生菌数あるいは感染価を 99.9 %以上減少させるに要する有効塩素濃度と処理時間をまとめると Table 1-4 のようになり，細菌では 0.14 mg/L で 1 分間，ウイルスでは 0.45 mg/L で 1 分間であった。

海水電解殺菌装置によって生成された次亜塩素酸と市販の次亜塩素酸による *V. anguillarum* および *E. coli* の殺菌効果の比較 Table 1-5 に示したように *V. anguillarum* では，海水電解殺菌装置を用いた場合，有効塩素濃度 0.07 mg/L， 1 分間の処理で 99.99 %以上の殺菌率が得られた。しかし市販の次亜塩素酸の場合，有効塩素濃度 0.07 mg/*l* 1 分間の処理では 98.27 %の殺菌率であった。生菌数で見ると，無処理ではどちらも 10^6 CFU/mL 以上であったが，海水電解殺菌装置通過後は 5.0×10^1 CFU/mL，市販の次亜塩素酸処理では 1.5×10^5 CFU/mL と同じ塩素量と処理時間でも殺菌効果に 10^4 CFU/mL 程度の大きな差が現れた。

また *E. coli* では電解水の有効塩素濃度 0.14 mg/L， 2.5 分間の処理で 99.99 %以上の殺菌効果が得られたが，市販の次亜塩素酸の場合，塩素量 0.17 mg/L， 5 分間でも 99.85 %の殺菌効果となった (表には示していない)。

供試塩の純度が *E. coli* の殺菌効果に及ぼす影響 試薬特級 NaCl を用いた場合では 0.08 mg/L， 2.5 分間で 99.99 %以上の殺菌率を示したが，食塩の場合は 0.14 mg/L で 99.99 %以上の殺菌率であった。天然の粗塩では 99.99 %以上の殺菌率を得るのに 0.11 mg/L で 5 分の処理時間を要した (Table 1-6)。

考　察

近年，食塩を添加した水道水等を電気分解した場合，陽極側から得られる酸性水に殺菌効果があることが認められ，電解水として広く医学・公衆衛生分野で用いられている (小

Table 1-3. The effects of hypochlorite produced by electrolysis of salt water on the infectivity of HIRRV and YTAV

Virus	Chlorine concentration (mg/L)	Flow rate (m^3/h)	Electricity (A)	Treatment time (min)	Reduction rate (%)
HIRRV	0.09	3.5	0.5	1	90.00
				2.5	98.40
				5	99.68
	0.34	3.5	1.5	1	99.97
				2.5	99.94
				5	99.98
	0.49	3.5	2	1	99.98
				2.5	>99.99
				5	>99.99
YTAV	0.18	3.5	1	1	98.42
				2.5	98.42
				5	98.42
	0.32	3.5	1.5	1	99.50
				2.5	99.50
				5	99.97
	0.45	3.5	2	1	99.92
				2.5	99.92
				5	99.92
	0.58	3.5	2.5	1	>99.99
				2.5	>99.99
				5	>99.99

*Initial viral infectivities were $10^{4.5}$ $TCID_{50}$/mL (both).

Table 1-4. The hypochlorite concentration produced by electrolysis of salt water and treatment time required to reduce 99.9 % the viability of bacteria and the infectivity of viruses

Pathogens	Chlorine concentration (mg/L)	Treatment time (min)	Initial number	Reduction rate (%)
V. anguillarum	0.07	1	4.5×10^{6} *1	>99.99
A. salmonicida	0.06	1	3.8×10^{6} *1	99.96
Escherichia coli	0.14	1	4.0×10^{6} *1	99.98
YTAV	0.45	1	$10^{4.5}$ *2	99.92
HIRRV	0.34	1	$10^{4.5}$ *2	99.97

*1: Initial viable bacterial number (CFU/mL).

*2: Initial viral infectivity ($TCID_{50}$/mL).

Table 1-5. The effects of hypochlorite produced by electrolysis of salt water or the chemical reagent on the viability of *Vibrio anguilarum*

Hypochlorite	Chlorine concentration (mg/L)	Treatment time (min)	Viable counts (CFU/mL)	Reduction rate (%)
Chemical reagent	0.07	0	8.9×10^{6}	-
		1	1.5×10^{6}	98.27
		2.5	6.0×10^{3}	99.93
		5	1.5×10^{3}	99.98
Produced by electrolysis	0.07	0	2.9×10^{6}	-
		1	5.0×10	>99.99
		2.5	1.5×10^{2}	>99.99
		5	no colony	>99.99

*: No colony was observed on the agar plate.

Table 1-6. The effects of hypochlorite produced by electrolysis of salt water on the viability of *Escherichia coli* in several sodium chloride

Sodium chloride dissolved in water	Chlorine concentration (mg/L)	Treatment time (min)	Reduction rate (%)
Chemical reagent (min 99.5%)	0.08	1	99.98
		2.5	99.99
		5	99.99
Commercial salt (min 99%)	0.14	1	99.98
		2.5	99.99
		5	99.99
Crude salt	0.11	1	99.56
		2.5	99.96
		5	99.99

Initial viable bacterial number was 4.0×10^6 CFU/mL.

宮山, 1998; 松永, 1999)。水産分野でも検討されているが (小林ら, 1999), 隔膜を有する海水電解殺菌装置では大量の水の処理は難しい。供試した装置には隔膜がなく，原理は海水を約 3%の食塩水と見なし，この食塩水を直接電気分解すると，陽極では塩素が，陰極では水酸化ナトリウムが生成され，両者が反応して次亜塩素酸が生成するというものである。

電解装置の殺菌効果を調べるにあたり，代表的な魚類病原細菌 *V. anguillarum* と *A. salmonicida* を，ウイルスとしては紫外線およびオゾン処理において最も感受性が低いブリのウイルス性腹水症原因ウイルス YTAV と，最も感受性が高いヒラメラブドウイルス HIRRV を供試し (吉水ら, 1986; Yoshimizu *et al.*, 1995; 伊藤ら, 1997), 公衆衛生分野での結果と比較するために *E. coli* を対照に供試して殺菌および不活化効果を検討した。

まず本試験に用いる水として水道水を供試して *V. anguillarum* の生存性を検討したところ, 水道水では残留塩素による殺菌効果が認められ，試験結果に大きな誤差が生じるために, 本試験では供試水として活性炭を通した脱塩素処理水道水を使用することにした (Table 1-1)。3%食塩水に供試微生物を懸濁し，電極間を通過させて直接電気分解した時の殺菌・不活化効果は，時間の経過と共に殺菌・不活化率が高くなり，塩素量が多くなるにつれて殺菌・不活化率も上昇した(Tables 1-2, 3)。細菌については，本実験条件の最大流量と最小電流で 0.07～0.14 mg/L の塩素量が得られ，1 分間処理することにより 99.9 %以上の殺菌率となった (Table 1-2)。ウイルスでも 0.58 mg/L，1 分間の処理で 99.9 %以上の不活率が得られ, 電気分解による殺菌処理は容易であった (Table 1-3)。

次に，市販の次亜塩素酸と海水電解殺菌装置で生成される次亜塩素酸の殺菌効果を *V. anguillarum* を対象に同一塩素量と処理時間で比較すると，海水電解殺菌装置により産生される次亜塩素酸の方が市販の次亜塩素酸よりも殺菌効果が認められた (Table 1-5)。一方, 用いた食塩のグレードの殺菌効果に及ぼす影響を，天然の粗塩と食卓塩，試薬特級の NaCl を用いて比較したところ, 試薬特級の方が優れていた (Table 1-6)。このことから海水中に含まれる微量成分の存在が産生された次亜塩素酸の殺菌効果を低下させることが懸念され，今後の検討課題となった。

今後，飼育用水あるいは飼育排水の殺菌に応用する場合，海域ごとの海水成分や，飼育排水では魚介類の排泄物などの有機物およびアンモニアなどの影響を考慮する必要があると考えられる。実験室レベルでの試験結果よりも，現場海水あるいは飼育排水の殺菌では, 殺菌効果が低くなることが予想される。しかし，上述のように飼育用濾過海水を電気分解した際の殺菌率は，塩素濃度 1.0 mg/L で十分満足できる値であり，本装置の殺菌・不活化効果は高いものと考えられる。しかも，電流を調節することにより，容易に目的とする殺菌，不活化効果のある有効塩素濃度を得ることができるという利点がある。本章で用いた装置の電極の大きさは 3 × 6 cm であり，スケールアップにより当初の目的である大量の水の殺菌も可能である (笠井ら, 2000, Kasai and Yoshimizu, 2002b)。

第二章　流水式海水電解殺菌装置による飼育用水および飼育排水の殺菌

海産魚介類の種苗生産では沿岸海水を飼育用水として使用するため，海水中に病原微生物が存在すると種苗生産現場への侵入は避けられず，飼育環境や飼育魚の健康状態の悪化，さらに過度のストレス等が加わった場合，病気が発生しやすい状況下にある。また，海産魚介類の種苗生産施設において，ひとたび疾病が発生すると病魚あるいは死亡魚から放出される病原体の数は膨大な数となり，飼育排水とともに排出され，水系汚染を引き起こすことが容易に推察される。湾内や水通しのよくない地形に飼育用水の取水口がある場合，排水口から放出された病原体が飼育用水に混入し，新たな感染を引き起こし発病に至る悪循環を繰り返す危険性がある。沿岸水域の病原体汚染を軽減するためにも，飼育排水中の病原体を殺菌し，さらに沿岸環境対策からも排水中の一般生菌数を飼育用水と同一にすべきと考えられ，飼育用水および飼育排水の殺菌処理は魚介類の種苗生産を行う上で重要な課題の一つとなっている (吉水, 1998)。

人為感染実験施設の飼育排水の殺菌は古くから塩素を用いて実施されているが，一般飼育排水の殺菌に関しても，いくつかの施設で実施されている (三村・長瀬, 1996; 坂井・太田, 1990; マリノフォーラム 21, 1991)。しかしながら，これらはいずれも紫外線あるいはオゾン処理によるものであり，大量の飼育排水を殺菌するには無理がある。

前章で食塩水あるいは海水を電気分解した際に生成される次亜塩素酸の魚類病原微生物に対する殺菌・不活化効果について検討し，魚類病原細菌の *Vibrio anguillarum* や *Aeromonas salmonicida* では 0.07～0.11 mg/L の有効塩素濃度で 1 分間，病原ウイルスの YAV や HIRRV でも 0.49～0.58 mg/L の有効塩素濃度で 1 分間処理することにより 99.99 %以上の殺菌・不活化効果が得られることを報告した (笠井ら, 2000)。本章ではまず，魚介類の飼育に用いられる海水を電気分解した場合の生菌数の変化を検討した。続いて飼育排水を対象に，直接電気分解した場合およびその一部を電気分解にすることにより得られた高濃度の次亜塩素酸を飼育排水に添加した場合の殺菌効果について検討した結果を報告する。

試料および方法

海水電解殺菌装置　本研究には前章で供試した小型の試作海水電解殺菌装置(ライトクロア荏原製作所)および実証試験機 (H-100 型荏原製作所) を使用した。

紫外線殺菌装置およびオゾン殺菌装置　紫外線殺菌装置には中圧ランプ使用の HANOVIA UV60M 型 (荏原製作所) を，オゾン殺菌装置にはオゾンバリア (荏原実業) を使用した。なお紫外線照射量は 1.0×10^5 μW・sec/cm^2，オキシダント濃度は 0.5 mg/L とし，オキシダントとの反応時間を 1 分間とした。

次亜塩素酸の測定法　前章同様ポケット残留塩素計 46700-00 型 (セントラル科学) を用い，DPD 法による測定と，ヨウ素滴定法による測定を行った (Sugita *et al.*, 1992)。

生菌数測定法　供試水を適宜希釈し，その 0.2 mL を海水寒天培地平板 (Yamamoto *et al.*, 1982) に塗抹し，20℃で 7 日間培養後，出現コロニー数から生菌数を算出し，3 回の平均値で示した。なお殺菌処理後の供試水は，その 10 mL を 0.45 μm フィルター (Millipore HA) で濾過し，フィルターを海水寒天培地平板に貼り付けて培養し，出現コロニー数から同様に算出した。

飼育用海水の海水電解殺菌装置による殺菌効果の判定　日本栽培漁業協会厚岸事業場で魚介類の飼育に用いられている砂濾過海水を，海水電解殺菌装置に 2.0～2.1 m^3/h の流量で通し，1.5～2.0 A の電流で電気分解を行った。まず試験 1 では電気分解前の海水および 1 分間反応後の電解水を採取し，9 倍量の 1 %ペプトン水を加えて次亜塩素酸の作用を停止させ，その 0.1mL を海水培地表面に塗抹し，25 ℃で 5 日間培養後の出現コロニー数から生菌数を測定した。試験 2 では，電解水 50mL を 47 mm 径のミリポアフィルターHA (0.45 μm) で濾過後，フィルターを海水培地平板に貼り付け，25 ℃で 5 日間培養しフィルター上のコロニー数を計測して生菌数を算出した。

直接電気分解による飼育排水の殺菌効果判定試験　日本栽培漁業協会厚岸事業場において，マツカワ，ニシン，ハナサキガニ，ケガニの飼育を行った排水を供試水として用いた。試水は排水溝より水中ポンプを用いて本装置まで圧送した。流量は 2.0 m^3/h とし，電流を 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 A としてライトクロアに通した。電極を通過した直後の電気分解処理水を採取し，生成した有効塩素濃度を DPD 法により測定した。同時に供試水 1 mL を採取し，1 分後に 9 倍量の 1 %ペプトン水を有効塩素の作用を停止させる目的で供試水に加えたのち生菌数を測定した。対照には無処理の飼育排水に 1 %ペプトン水を加え同様に生菌数を測定した。同時に紫外線殺菌装置およびオゾン殺菌装置の殺菌効果を検討した。両装置に供給した試水の流量は海水電解殺菌装置と同一にし，紫外線照射量は 1.0×10^5 $\mu W \cdot sec/cm^2$，オキシダント濃度は 0.5 mg/L とした。オゾン処理水には 1 分後に 9 倍量の 1 %ペプトン水を加え，残留オキシダントの作用を停止させたのち生菌数を測定した。

電気分解により生成した次亜塩素酸を滴下することによる飼育排水の殺菌効果判定試験　飼育排水の流量を 18.5 m^3/h とし，そのうち 2.0 m^3/h の排水を H-100 型機に通し，電気分解した。電流を 10, 20, 30, 40, 67, 90 A として本装置を運転し，電極を通過した直後の電気分解処理水を採取し，生成した次亜塩素酸の濃度をヨウ素滴定法により測定した。この電気分解処理水 2.0 m^3/h を残りの 16.5 m^3/h の排水と混合し，混合後 1, 4, 7 分経過した後の排水の一般生菌数を測定するとともに有効塩素濃度をヨウ素滴定法により測定した。対

照として無処理の試水の生菌数を測定した。

結　果

飼育用海水の海水電解殺菌装置による殺菌効果の判定　日本栽培漁業協会厚岸事業場で魚介類の飼育に用いられている砂濾過海水を電気分解し，有効塩素濃度 0.84 mg/L で 1 分間反応させた場合の殺菌率は 97.67 %であった。有効塩素濃度を 1.0 mg/L とすると，1 分間の処理で生菌数は 99.99 %以上減少した (Table 2-1)。

直接電気分解による飼育排水の殺菌効果　供試したライトクロアの電流値と生成された次亜塩素酸の濃度，そのときの殺菌率を Table 2-2 に示した。次亜塩素酸の生成量は電流の増加とともに増大し，電流 0.5，1.0，1.5，2.0，2.5 A のとき，それぞれ 0.33，0.60，0.85，1.10，1.28 mg/L と測定された。殺菌率はそれぞれ 93.84，99.13，99.77，99.86，99.91 %と増加し，電流値 1.0 A，有効塩素濃度 0.60 mg/L で 99 %，1.28 mg/L で 99.9 %を超えた。なお，同時に測定した紫外線殺菌装置とオゾン殺菌装置の殺菌率はともに 99.99 %であった。

電気分解により生成した次亜塩素酸を滴下することによる飼育排水の殺菌効果　供試した H-100 型機の電流値と有効塩素濃度，そのときの殺菌率を Table 2-3 に示した。2.0 m^3/h の排水を電気分解した場合，電流値が 10，20，30，40，67，90 A のときに有効塩素濃度は 0.62，1.15，2.01，2.70，4.60，6.16 mg/L となった。この次亜塩素酸含有水を 16.5 m^3/h の排水と混合処理し 1 分間処理した場合，電流値 20 A，有効塩素濃度 0.50 mg/L で殺菌率が 99 %に達した。4，7 分後には有効塩素濃度は 0.50，0.48 となり，殺菌率は 99 %以上であった。

排水の一部 (2.0m^3/h) を電気分解後，生成された次亜塩素酸を混合してからの時間の経過と有効塩素濃度を Fig. 2-1 に示した。処理時間に関わらず，電流値と有効塩素濃度の間には相関関係が認められた。しかし混合後の時間が長くなるに伴い有効塩素濃度は漸減する傾向が認められた。

考　察

前章で食塩水あるいは海水を電気分解することにより生成された次亜塩素酸の魚類病原微生物に対する殺菌・不活化効果を検討した結果，魚類病原細菌およびウイルスは有効塩素濃度 0.07～0.58 mg/L で 1 分間処理することにより 99.99 %以上殺菌あるいは不活化された。本章において実際の飼育用濾過海水を電気分解した場合，試験 1 では 0.84 mg/L で 1 分間の処理後，平板上に 1 コロニーが出現し，殺菌率は 97.67 となったが，試験 2 で再度フィルターを用いて 1.0 mg/L で 1 分間処理した場合，99.99 %以上と十分な殺菌効果が得られた (Table 2-1)。脱塩素処理すれば残留塩素の影響もなく，飼育用水としての使用が可能と考えられる。実際，脱塩素処理電解海水でマツカワを飼育しても異常は見られず，今後は長期

Table 2-1. The effects of hypochlorite produced by electrolysis of seawater on the viability of bacteria in hatchery supply water

Experiment	Chlorine concentration (mg/L)	Flow rate (m^3/h)	Electricity (A)	Viable bacterial count (CFU/ mL)	Reduction rate (%)
1- plate*1	0.84	2.1	1.5	2.2×10^{2}	97.67
2- filter*2	1.0	2.0	2.0	4.0×10^{-2}	>99.99

*1 : Direct plate count.

*2 : Seawater (50 mL) of was filtered with a Millipore filter HA(0.45 μm) and the filter was placed on a sea water agar.

Table 2-2. The effects of electrolysis, U.V. irradiation and ozonation on the viability of bacteria in hatchery waste-seawater

Methods	Flow rate (m^3/h)	Electricity (A)	Chlorine concentration (mg/L)	Treatment time (min)	Viable counts (CFU/mL)	Reduction rate (%)
Electrolysis	2.0	0	0	0	4.7×10^4	-
		0.5	0.33	1	2.9×10^3	93.84
		1	0.60	1	4.1×10^2	99.13
		1.5	0.85	1	1.1×10^2	99.77
		2	1.10	1	6.6×10^1	99.86
		2.5	1.28	1	4.3×10^1	99.91
U.V. irradiation	2.0	(1.0×10^5 μW·sec/sm^2)			1.3×10^0	99.99
Ozonation	2.0	(Total Residual Oxidants 0.5 mg/L, 1min)			3.0×10^0	99.99

Table 2-3. The effects of hypochlorite produced by seawater electrolyzer on the viability of bacteria in hatchery waste-seawater.

Electricity (A)	Chlorine concentration produced by H-100^R (mg/L)	Treatment time (min)	Chlorine concentration in waste water (mg/L)*	Viable counts (CFU/mL)	Reduction rate (%)
0	0	0	0	7.2×10^2	-
10	0.62	1	0.28	6.0×10^1	91.7
20	1.15	1	0.50	4.7×10^0	99.4
30	2.01	1	0.99	3.3×10^0	99.5
40	2.70	1	1.74	5.1×10^0	99.3
67	4.60	1	3.40	1.4×10^0	99.8
90	6.16	1	4.35	1.3×10^0	99.8
10	0.62	4	0.23	2.9×10^1	94.0
20	1.15	4	0.50	4.2×10^0	99.4
30	2.01	4	1.03	7.4×10^0	99.0
40	2.70	4	1.71	5.4×10^0	99.2
67	4.60	4	3.29	1.4×10^0	99.8
90	6.16	4	4.25	1.6×10^0	99.8
10	0.62	7	0.21	1.2×10^1	98.4
20	1.15	7	0.48	2.4×10^0	99.7
30	2.01	7	1.06	3.0×10^1	99.6
40	2.70	7	1.72	4.9×10^0	99.3
67	4.60	7	3.08	1.2×10^0	99.8
90	6.16	7	4.01	1.3×10^0	99.8

*: Some of waste-seawater (2.0 m^3/h) was treated with electrolyzer and the produced hypochlorite was mixed with other (16.5 m^3/h) waste-seawater.

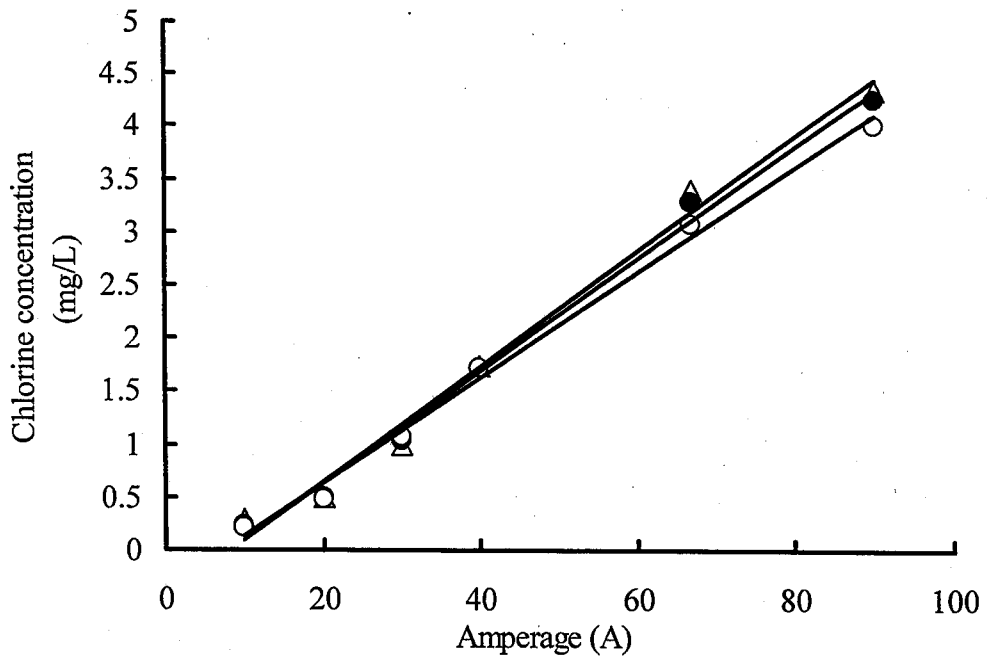


Fig. 2-1. Stability of chlorine which was produced with a seawater electrolyzer (Type H-100R) after mixed with hatchery waste seawater.

△: Mixed with the waste water for 1 min.

●: Mixed with the waste water for 4 min.

○: Mixed with the waste water for 7 min.

の飼育試験が必要と考えられる。

続いて当初の目的であった飼育排水の殺菌効果について検討した。まず，前章で供試した試作機を用いて飼育排水を直接電気分解処理したところ，有効塩素濃度 0.6 および 1.28 mg/L で 1 分間処理することにより 99 %および 99.9 %以上の殺菌率が得られた。同時にオゾン殺菌装置および紫外線殺菌装置を供試して比較したところ，オゾン殺菌装置ではオキシダント濃度 0.5 mg/L で 1 分間反応させることにより 99.99 %が殺菌され，殺菌率は海水電解殺菌装置を用いた場合より高かった。しかし，オゾン処理の場合はオキシダント濃度を 0.5 mg/L とするまでに 2 分あまりを要し，所定濃度となってから 1 分間反応させている。この間，飼育排水はオゾンガス気泡と接触し続けており，オゾン気泡にも殺菌効果があること (伊藤ら，1997) および実際の反応時間は 3 分間程度となっていたことが原因であろう。また，紫外線殺菌装置の殺菌率も 99.99 %と高かったが，これは中圧ランプを用い紫外線照射線量が 1.0×10^5 μW・sec/cm^2 と高かったことが原因であろう。実際にオゾンにより飼育排水を殺菌する場合，オゾン発生装置の他に発生したオゾンガス気泡と飼育排水を数分間接触させるための装置 (インジェクションタワー) が必要となる。また紫外線殺菌装置を飼育排水の殺菌に用いる場合には，排水中の懸濁物をあらかじめ除去する必要があり，紫外線殺菌装置の他にろ過装置が必要となる。この点，海水電解殺菌装置の場合は発生した次亜塩素酸が少なくとも 1 分間以上残留するような構造であれば良く，簡便で優れた装置といえる。それぞれの装置の価格，維持経費については，紫外線殺菌装置では電気代とランプの交換に費用がかかり，オゾン殺菌装置は維持費に加え装置自体も高価である。この点でも海水電解殺菌装置はわずかな電気代だけで済み，装置もチタン電極板と電流の制御装置のみであり，三者の中では最も安価である。

次に，海水電解殺菌装置の実用化，飼育現場への導入を目的に H-100 型機を供試し，まず飼育排水の一部を電気分解し，生成された次亜塩素酸を未処理の飼育排水と混合する方法で殺菌率を調べたところ，電流 20 A での有効塩素濃度は 0.62 mg/L であり，これを残りの飼育排水と混合した場合，有効塩素濃度 0.5 mg/L 以上で 1 分以上処理することにより 99 %の殺菌率が得られた。H-100 型機は 100 A の電流を流す能力があり，100 g/h の次亜塩素酸を生成することができる。飼育排水を生成した次亜塩素酸で 1 分間処理する施設があると仮定し，0.5 mg/L の有効塩素濃度で 99 %以上の殺菌効果が得られたことから推定すると，H-100 型機は 200 m^3/h の飼育排水を処理できることになる。日本栽培漁業協会厚岸事業場の取水量は 100 m^3/h であり，飼育排水の殺菌に用いる場合十分な能力を持っていると考えられる。

一方，H-100 型機による殺菌試験から明らかとなったように，生成された次亜塩素酸は少なくとも 7 分間は残留する。塩素は魚毒性を有することを考慮すると，実際の使用にあたっては排水路あるいは排水管中での有効塩素の減少量を検討し，必要に応じ有効塩素を分解してから放流する等の配慮が必要となり，そのための技術開発が望まれる。また，海水中の微量元素が電気分解された場合に生じる物質についても，その毒性等を検討しておく

必要がある。

このように，飼育排水の殺菌は本章で供試した海水電解殺菌装置により容易に可能になるが，さらに本装置で生成された次亜塩素酸で飼育排水を処理する水槽の出口に塩素センサーを設置し，測定された値を基に，本装置の運転を制御すれば，自動運転での飼育排水の殺菌が可能になるであろう。イニシャルコストおよび処理能力を考慮すると種苗生産現場における排水処理装置の有力候補の一つになるであろう (笠井ら, 2001b)。

第三章　バッチ式海水電解殺菌装置と流水式海水電解殺菌装置との比較ならびに電解海水による魚類飼育器具の消毒

近年，食塩水あるいは海水を電気分解して得られる電解水を水産分野へ応用する動きが見られ (笠井ら, 2000, 2001b; 小林ら, 1999; 柏木ら, 2000a, 2000b)，電解水中に生成した次亜塩素酸等の作用による殺菌効果が報告されている。前章では流水式海水電解殺菌装置による魚類病原微生物の殺菌・不活化効果を検討し，飼育用水中の細菌に対しても有効な殺菌能力を有することを明らかにした。さらに，実用的には不可能とされてきた飼育排水の殺菌が，スケールアップした本装置により可能になることを示した。

流水式海水電解殺菌装置は海水が装置内の電極間を通過する際に電気分解されるため，配管やポンプを必要とする。しかし水槽内に電極部を投入するバッチ式であれば，機械の持ち運びが可能になり，より簡便に電解水を得ることができる。そこで，試作機を供試し，前章同様魚類病原微生物の殺菌・不活化効果ならびに飼育用排水の殺菌効果について検討し，流水式とバッチ式の両装置の殺菌能力を比較した。さらに，電解海水による飼育器具類の消毒効果について検討した。

材料と方法

海水電解殺菌装置　本研究にはバッチ式海水電解殺菌装置 (セルフレッシャー，試作機，㈱ホクト環境システム) および流水式海水電解殺菌装置 (ライトクロア，試作機，荏原製作所) を使用した。本装置は，食塩水や海水を直接電気分解することにより，食塩から次亜塩素酸を生成するもので，電流 (直流出力) によりその生成量を調節できる。

次亜塩素酸の測定法　ポケット残留塩素計 46700-00 型 (セントラル科学)およびデジタル残留塩素テスターDCT-100 型 (株式会社タクミナ) を用い，DPD 法により塩素濃度の測定を行った。

供試食塩水　蒸留水に市販の食塩 (99% 以上，塩事業センター) を 0.5，0.85，1.0，3.0%となるように溶解し実験に供試した。

水槽　プラスチック製 15 L および 1 L 容量水槽を用いた。

供試細菌　*Vibrio anguillarum* (NCMB 6)，*Escherichia coli* (Es-1 株) を供試した。*V. anguillarum* の培養には 1%NaCl 加普通ブイヨン (pH 7.5) を，*E. coli* には普通ブイヨンを用い，坂口フラスコで 25℃，48 時間培養後，1,800×*g*，20 分間遠心分離し，上清を除去後，菌体を滅菌生理的食塩水に懸濁し試験に供した。なお供試細菌の生菌数は，*V. anguillarum*

では 1 % NaCl 加普通寒天培地 (pH7.5) を，*E. coli* では普通寒天培地を用い，25 ℃あるいは 37 度で 5 日間培養して測定した。なお本試験における生菌数の検出限界は平板法で 10 CFU/mL であった。

供試ウイルスおよび培養細胞　魚類ウイルスとして，ブリのウイルス性腹水症原因ウイルス (YTAV) Y-1 株およびヒラメラブドウイルス (HIRRV) 8401-H 株を供試した。YTAV の培養には RTG-2 細胞を，HIRRV の培養には EPC 細胞を用いた。これら細胞の培養には，MEM_{10}Tris (Gibco) を用い，ウイルスの希釈には Hanks' BSS (Gibco) を用いた。供試ウイルスは，75 cm^2 の細胞培養用フラスコで CPE が最大となるまで培養後，ミリポアフィルター HA (0.45 μm) で濾過したものを用いた。ウイルス感染価は常法によるマイクロプレート法で測定し，検出限界は $10^{1.8}$ $TCID_{50}$/mL であった。

電気分解処理水による殺菌・不活化効果判定　蒸留水に食塩を溶解して 3%溶液を作製し，セルフレッシャーの電流を 0.2 A として残留塩素濃度が所定の濃度になるまで電気分解した。電気分解処理水 (以後電解水と称す) を 1 L 採取し塩素量を測定後，直ちに供試菌液もしくはウイルス液を 10^6 CFU/mL になるように加え，添加時を 0 分とし，1.0，2.5，5.0 分後にその一部を取り出し，細菌には 1 %ペプトン水を，ウイルスには MEM_{10}Tris を 9 倍量加え，次亜塩素酸の作用を停止させた。次いでこの作用停止液の生菌数あるいは感染価を測定した。対照には無処理の懸濁液に作用停止液を加え同様に生菌数あるいはウイルス感染価を測定した。ウイルス感染価および生菌数は上記の方法により測定し，2 回以上の平均値から細菌は殺菌率 (%) を，ウイルスは不活化率 (%) を求めた。

飼育用海水の海水電解殺菌装置による殺菌効果の判定　日本栽培漁業協会厚岸事業場で魚介類の飼育に用いられている濾過海水を，セルフレッシャーにより電気分解し，電気分解前の海水および 1，2，3 分間反応後の電解水を採取し，海水寒天培地平板 (Yamamoto *et al.*, 1982)を用い，25 ℃で 5 日間培養して生菌数を測定した。

飼育排水の海水電解殺菌装置による殺菌効果の判定　島根県栽培漁業センターの飼育排水を強制凝集沈殿後にセルフレッシャーを用いて電気分解し，1，3，5 分間処理した後の殺菌率を上記の方法により求めた。

流水式海水電解殺菌装置との比較　北海道標津町の港内海水をセルフレッシャーおよびライトクロアを用いて電気分解し，1.0，2.5，5.0 分間処理した後の殺菌率を上記の方法により求めた。

電解海水による飼育器具の消毒効果の判定　日本栽培漁業協会厚岸事業場で魚介類の飼育

に用いられている器具，すなわちタモ網，注水ネット，キャンバス地，ホース，ビーカー，バケツおよびゴム長靴を供試した。飼育用器具は飼育現場でろ過海水に一晩浸漬したものをもちいた。電解海水はライトクロアにより作成した。試験は0.5あるいは1.5 mg/Lの濃度となるようにライトクロアの運転条件を調節して行った。タモ網，注水ネット，キャンバス地は5 cm角に切り，他の飼育器具はそのまま，電解海水を3 L/minの流量で流水にした25 L容のコンテナに所定時間浸した。浸漬時間は，タモ網，注水ネット，キャンバス地で30, 60, 120分間，ホース，ビーカー，バケツおよびゴム長靴は15, 30分間とした。浸漬終了後，タモ網，注水ネット，キャンバス地はそのまま，他の飼育器具は5 cm角の窓を開けた厚手の滅菌アルミ箔を張り付け，25 cm^2の滅菌綿棒でふき取り，綿棒を滅菌試験管に入れたペプトン水に移して塩素を中和した。これらのペプトン水は，試験管ミキサー (TM-101, 岩城ガラス) で5分間振とう後，上記の方法により生菌数を求めた。なお，電解海水に浸漬する前の飼育用器具の生菌数を同様に測定した。以上の試験はすべて 3 回反復して行い，その平均値を求めた。

結　果

食塩濃度が次亜塩素酸産生量に与える影響　セルフレッシャーを用い，0.5，0.85，1.0および3.0 %に溶解した食塩水10 Lを0.2A，3Vで電気分解したときの有効塩素濃度をFig. 3-1に示した。いずれの濃度でも通電時間の増加とともに有効塩素濃度も増加した。1.0 %以上の食塩水を供試すると，海水と同程度の次亜塩素酸が産生された。

バッチ式海水電解殺菌装置の魚類病原細菌およびウイルスに対する殺菌・不活化効果　セルフレッシャーを用い，3%食塩水を電気分解して得られた電解水に *V. anguillarum* および *E. coli* を懸濁し，1，2.5，5分間処理したときの殺菌率をTable 3-1に示した。*V. anguillarum* は，有効塩素濃度0. 21 mg/L，1分間の処理で99 %以上殺菌され，これよりも濃い塩素量では1測定点を除きすべて99.9 %以上の殺菌率であった。

E. coli については有効塩素濃度 0.47 mg/L の場合，1 分間の処理で 99 %，5 分間では99.99 %以上の殺菌率が得られた。

次に魚類病原ウイルスのYTAVおよびHIRRVに対する試験結果をTable 3-2に示した。YTAVの場合，有効塩素濃度0.23 mg/L，1分間の処理で99 %の不活化率であり，0.71 mg/L，5分間の処理で99.97 %の最大不活化率に達した。

HIRRVの場合，有効塩素濃度0.25 mg/L，1分間で98.92 %，0.42 mg/L，1分間で99.19 %，0.54 mg/L，1分間では最大不活化率である99.44 %に達した。

飼育用海水のバッチ式海水電解殺菌装置による殺菌効果　日本栽培漁業協会厚岸事業場で濾過海水を電気分解し，有効塩素濃度0.10 mg/Lで1分間反応させた場合の殺菌率は91.75 %

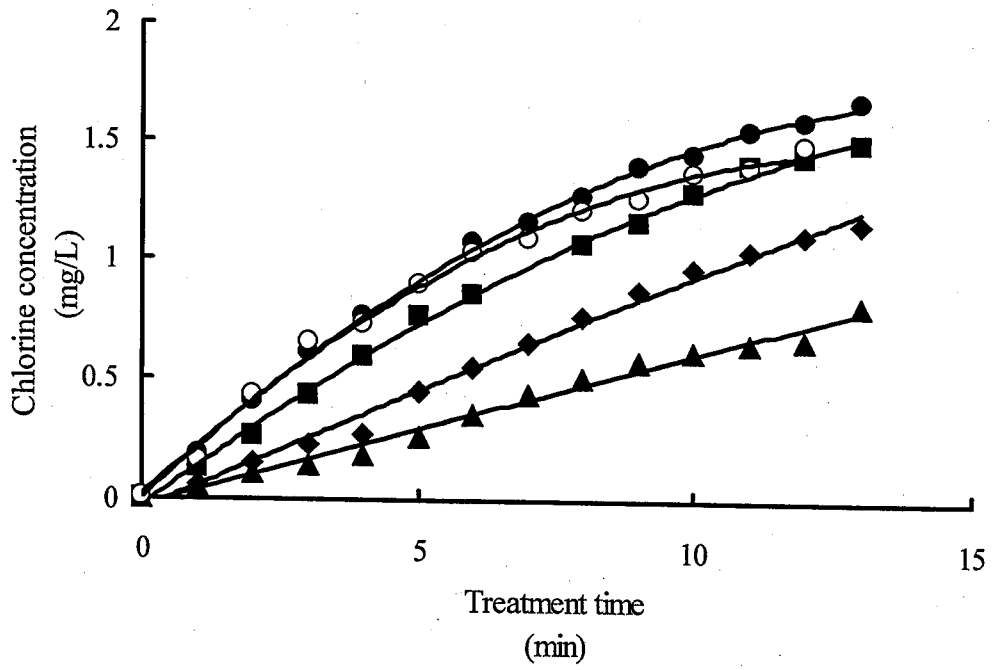


Fig. 3-1. Concentration of hypochlorite produced by batch style electrolytic system (0.2A, 3V).
●: 3% NaCl, ■: 1% NaCl, □: 0.85% NaCl, ▲: 0.5% NaCl, ○: Seawater.

Table 3-1. The effects of hypochlorite produced by electrolysis of salt water on the viability of *Vibrio anguilarum* and *Escherichia coli*

Bacteria	Chlorine concentration (mg/L)	Treatment time (min)	Reduction rate (%)
V. anguillarum *1	0.21	1	99.51
		3	98.23
		5	99.71
	0.62	1	99.96
		3	>99.99
		5	99.98
	0.75	1	99.89
		3	>99.99
		5	99.95
	1.02	1	>99.99
		3	>99.99
		5	>99.99
E. coli *2	0.14	1	57.64
		3	80.70
		5	88.20
	0.47	1	99.86
		3	99.98
		5	99.99
	1.02	1	>99.99
		3	>99.99
		5	>99.99

*1: Initial viable bacterial numbers were 1.1×10^7 CFU/mL (chlorine concentrations were 0.21 and 0.62mg/L) and 1.7×10^7 CFU/mL (chlorine concentrations were 0.75 and 1.02mg/L).

*2: Initial viable bacterial number was 1.9×10^8 CFU/mL.

Table 3-2. The effects of hypochlorite produced by electrolysis of salt water on the infectivity of HIRRV and YTAV

Virus	Chlorine concentration (mg/L)	Treatment time (min)	Reduction rate (%)
HIRRV*[1]	0.25	1	98.92
		3	98.92
		5	98.83
	0.42	1	99.19
		3	99.11
		5	99.11
	0.57	1	>99.44
		3	>99.44
		5	>99.44
	0.89	1	>99.44
		3	>99.44
		5	>99.44
YTAV*[2]	0.23	1	99.00
		3	99.34
		5	99.56
	0.51	1	99.22
		3	99.79
		5	99.69
	0.71	1	99.75
		3	99.94
		5	>99.97

*1: Initial viral infectivity was $10^{4.1}$ $TCID_{50}$/mL.

*2: Initial viral infectivity was $10^{5.3}$ $TCID_{50}$/mL.

であった。有効塩素濃度を 0.54 mg/L とすると，1 分間の処理で生菌数は 99 %以上減少した (Table 3-3)。

飼育排水のバッチ式海水電解殺菌装置による殺菌効果　日本栽培漁業協会厚岸事業場で飼育排水を電気分解し，有効塩素濃度 0.64 mg/L で 1 分間反応させた場合の殺菌率は 92.8 %であった。同一塩素濃度，5 分間の処理で生菌数は 99 %以上減少した (Table 3-4)。

流水式海水電解殺菌装置との比較　北海道標津町の港内海水をセルフレッシャーとライトクロアを供試して電気分解したときの結果を Table 3-5 に示した。有効塩素濃度を 0.1 mg/*l* もしくは 0.5 mg/L 前後に設定した場合，両装置共に 0.1 mg/L，1 分間の処理で 59～89 %，0.5 mg/L，1 分間の処理で 99 %以上減少した。

電解海水による飼育器具の消毒効果　電解海水に飼育器具を浸漬させたときの消毒効果を Table 3-6 に示した。ホース，ビーカー，バケツおよび長靴では 0.5 mg/L の電解海水に 30 分間浸漬することにより生菌数は 99.9 %以上の減少を示し，十分な消毒効果が認められた。15 分間浸漬した場合には 60.0～99.8 %の生菌数の減少にとどまり (データは示していない)，十分な消毒効果は認められなかった。タモ網，注水ネットおよびキャンバス地では，30 および 60 分間の浸漬では十分な殺菌効果が認められない場合があり (データは示していない)，同様の消毒効果を得るのに 120 分を要した。

考　察

電気分解装置には隔膜を有するものと無隔膜のものがあり，本章で供試したバッチ式海水電解殺菌装置ならびに前章で供試した流水式海水電解殺菌装置には隔膜が無く，大量の水を処理するのに都合が良い。両装置ともに海水を約 3.3%の食塩水と見なし，この食塩水を直接電気分解すると，陽極では塩素が，陰極では水酸化ナトリウムが生成され，両者が反応して次亜塩素酸が生成する。

バッチ式電解装置の殺菌効果を調べるにあたり，まず海水および所定濃度に溶解した食塩水を一定電流・電圧で電気分解し，発生塩素量の計時的変化を調べたところ，塩素量は時間の経過と共に右肩上がりに増加した。そして 1 %以上の食塩濃度であれば，海水とほぼ同程度の次亜塩素酸産生量が得られた。本章ではバッチ式海水電解殺菌装置の殺菌効果を前章の流水式海水電解殺菌装置と比較するために 3 %食塩水を供試した。供試細菌としては前章で供試した *V. anguillarum* と *E. coli* を，ウイルスとしては紫外線およびオゾン処理において最も感受性が低いブリのウイルス性腹水症原因ウイルス YTAV と，最も感受性が高いヒラメラブドウイルス HIRRV を供試し (吉水ら，1986)，これらの殺菌および不活化効果を検討した。

Table 3-3. The effects of hypochlorite produced by electrolysis of seawater on the viability of bacteria in hatchery supply-seawater

Chlorine concentration (mg/L)	Treatment time (min)	Viable bacterial counts (CFU/mL)	Reduction rate (%)
0.1	1	4.7×10^{1}	91.8
	2	3.2×10^{1}	94.4
	3	7.5×10^{0}	98.7
0.54	1	6.0×10^{0}	99.0
	2	4.5×10^{0}	99.2
	3	3.0×10^{0}	99.5

Table 3-4. The effects of hypochlorite produced by electrolysis of seawater on the viability of bacteria in hatchery waste-seawater

Chlorine concentration (mg/L)	Treatment time (min)	Viable bacterial counts (CFU/mL)	Reduction rate (%)
0.64	1	1.5×10^{3}	92.8
	3	4.5×10^{2}	97.8
	5	4.8×10^{1}	99.8

Table 3-5. The effects of hypochlorite produced by electrolysis of seawater on the viability of bacteria in seawater using two different electrolytic systems

Machine type	Chlorine concentration (mg/ L)	Treatment time (min)	Viable bacterial counts (CFU/ mL)	Reduction rate (%)
Continuous flow-water	0.11	1	1.2×10^{3}	59.32
		2.5	1.5×10^{3}	49.15
		5	1.5×10^{3}	50.85
	0.51	1	2.0×10^{0}	99.93
		2.5	4.0×10^{0}	99.86
		5	5.0×10^{0}	99.83
Batch	0.16	1	3.0×10^{2}	89.83
		2.5	5.0×10^{1}	98.31
		5	2.0×10^{1}	99.32
	0.75	1	7.0×10^{0}	99.76
		2.5	4.0×10^{0}	99.86
		5	6.0×10^{0}	99.80

Table 3-6. The effects of hypochlorite produced by electrolysis of seawater on disinfection of equipment for aquaculture

Materials	Chlorine concentration (mg/ L)	Treatment time (min)	Viable bacterial counts (CFU/ mL)		Reduction rate (%)
			Before treatment	After treatment	
Hose*1	0.5	30	6.4×10^4	5.5×10^1	>99.9
Beaker*1	0.5	30	2.3×10^5	2.7×10^1	>99.9
Bucket*1	0.5	30	7.2×10^3	2.0×10^0	>99.9
Rubber boot*1	0.5	30	4.6×10^4	3.2×10^1	>99.9
Scoop net*2	0.5	120	3.9×10^5	1.6×10^2	>99.9
Bolting cloth*2	0.5	120	4.1×10^5	1.2×10^2	>99.9
Canvas*2	0.5	120	4.5×10^5	1.9×10^2	>99.9
Scoop net*2	1.5	120	1.2×10^6	9.2×10^2	>99.9
Bolting cloth*2	1.5	120	1.2×10^6	1.7×10^2	>99.9
Canvas*2	1.5	120	1.2×10^6	8.7×10^2	>99.9

*1: After treatment with hypochlorite, 25 cm^2 of material surface were swabbed by each cotton and then suspended in 2 % peptone solution.

*2: Net, cloth and canvas were cut of 25 cm^2 each and treated with hypochlorite and then suspended in 2 % peptone solution. Bacterial count was made using the bacterial suspension in peptone.

3%食塩水を次亜塩素酸設定濃度になるように所定時間電気分解して得られた電解水に，供試細菌およびウイルスを懸濁し，殺菌・不活化効果を検討したところ，時間の経過および次亜塩素酸量の増加と共に殺菌・不活化率も上昇した (Tables 3-1, 2)。細菌については，0.47～0.62 mg/L の塩素量で 3 分間処理することにより 99.9 %以上の殺菌率となった (Table 3-1)。ウイルスでも HIRRV は 0.52 mg/L ，1 分間の処理で最大不活率が，YTAV では 0.71 mg/L，3 分間の処理で 99.9 %以上の不活化率が得られ，電気分解による殺菌処理は容易である (Table 3-2)。

次に実際の飼育用濾過海水を電気分解した場合，0.54 mg/L で 99 %以上の殺菌率を示し，十分な殺菌効果が得られた (Table 3-3) 。また，飼育排水の場合でも 0.64 mg/L の残留塩素量で 1 分間処理することにより 99 %以上の殺菌効果が得られた。

本装置による魚類病原微生物の殺菌・不活化効果を，流水式海水電解殺菌装置での結果と比較すると，同程度の効果を得るための最小塩素濃度は 5 倍程度高い値となった。これは，生成した次亜塩素酸が低濃度の場合，病原微生物を懸濁すると，これによって次亜塩素酸が消費され (データは示していない) ，塩素量が減少したためと推察される。流水式海水電解殺菌装置では病原微生物が懸濁されている状態で発生塩素量が測定されていたため，両装置の殺菌能力を比較する際には残留塩素量測定の時間差を考慮する必要がある。しかし，両装置を並べて実際に海水を電気分解した試験結果を比較すると，両装置は同程度の殺菌効果を示し，殺菌能力に差はない (Tables 3-3, 4, 5)。

飼育用水に応用する場合，オゾン処理時と同様に活性炭処理を行って残留塩素を取り除くと，成長等に悪影響なく，使用することができる (今回データは示していない) 。一方，飼育排水では魚介類の排泄物など，時に高濃度の有機物の影響を受けると予想される。必要に応じ有機物処理 (除去) 装置との組み合わせを検討する必要がある。しかし

供試した本装置の通電量は 0.2 A とごく低く，殺菌能力および規模拡大も容易であり，目的とする殺菌・消毒効果を得ることが可能である。さらに分野によっては扱いやすく持ち運びが可能な装置が望まれると予想され，本装置はランニングコストも低いため，多方面への応用が期待される。

電解海水による飼育器具の消毒効果を検討したところ，供試した全ての飼育器具において，流水にした有効塩素濃度 0.5 mg/L の電解海水に 30 分から 120 分間浸漬することにより，99.9 %以上の消毒率が得られた (Table 3-6)。渡辺らは海水をオゾン処理することにより生成されるオキシダントを 0.5 mg/L 濃度で含む海水に飼育器具を 30 分から 120 分間浸漬することで 99.9 %以上の消毒効果が得られたことを報告している (渡辺・吉水, 1998)。オキシダント海水による飼育器具の消毒は既に実用化されており，電解海水を用いた場合でも同等の消毒効果が得られたことから，電解海水は消毒液として十分使用可能である。電解海水は，飼育用水および飼育排水の殺菌を目的に流水式海水電解殺菌装置が導入されていれば簡単に得られるものであり，またバッチ式海水電解殺菌装置を用いれば流水にする必要がないため，用具の殺菌が必要な飼育現場等での幅広い利用が期待される (笠井ら, 2001a; 渡辺・

吉水, 2001)。

第四章　海水電解殺菌法の水産物の衛生管理への応用

水産増養殖事業の最終目標は食糧資源の生産供給であり，現代社会では，安全で安心して食べることのできる食品の提供が求められている（吉水・笠井, 2002c, 笠井ら, 2004a)。水産食品による健康障害の第一位は，腸炎ビブリオ（*Vibrio parahaemolyticus*）による食中毒である。毎年 300~800 件，患者数 3,000~12,000 人程度の発生が報告されており，件数も患者数もわが国の食中毒全体の約 10~30%を占めている（厚生労働省　平成 8~12 年食中毒発生状況)。

そこで，厚生労働省は平成 13 年 5 月に，腸炎ビブリオ食中毒防止対策のための水産食品に係る規格及び基準を設定した。成分規格については，製品 1 g あたり腸炎ビブリオ最確数を 100 以下とし，加工に使用する海水の基準については，腸炎ビブリオによる二次汚染防止のため，殺菌海水や人工海水の使用が規定された (厚生労働省, 2001)。ここでいう殺菌海水とは飲用適の水か清浄な海水を意味する。現在の技術水準では，紫外線殺菌しか該当する方法はなく(木村・吉水, 1991, 笠井・吉水, 2002)，十分量の殺菌海水が得られないことから，やむなく海水への次亜塩素酸添加が行われている。しかし，環境や作業者に対する影響が大きく管理も難しいのが実情であり，環境に優しい簡単かつ効果的な殺菌装置の開発が望まれている。

漁獲から消費者までの水産物の流れは，［漁場］→［漁港］→［産地卸売市場］→［加工場］→［消費地卸売市場］→［小売店］→［消費者］となる。水産物が加工場に搬入されてからは厚生労働省の指導に従い，上述のように殺菌海水や人口海水の使用を義務付けられているが，漁獲から加工場に至るまでは農林水産省の指導下にあり，漁港を含め食品衛生に関する配慮が今改めて求められている。しかし加工原料としての漁獲物を衛生細菌による汚染から防ぐことは，より安全な食品を消費者へ提供するために必要な処置と考える。

本章では，北海道の東に位置する標津町の秋サケ漁をモデルに，電解海水の漁獲物の衛生管理への応用について検討した。人口約 6500 人の標津町はオホーツク海に面した漁業と酪農が盛んな町である。特に，秋サケは全国で一，二を争う漁獲量を誇っている。標津町は平成 10 年に発生した北海道産イクラによる O-157 食中毒事件を契機に水産物の衛生管理に先駆的に取り組み始め，平成 11 年に北海道から水産物品質管理高度化推進モデル計画策定産地に指定された (北海道水産林務部水産経営課, 2000)。現在では漁獲から加工，流通までが一体となった町単位での地域 HACCP を推進している (標津町地域 HACCP 推進委員会, 2000)。

試験に先立ち，現在の漁港の衛生状態を把握する必要があるため，第一節では標津漁港近辺に河口のある標津川，伊茶仁川および古多糠川の各流域の細菌学的調査を行った。続いて第二節では標津漁港内，沖合 1 km および 7 km 地点の漁場の細菌学的調査を行った。最後に第三節において海水電解殺菌装置による漁港内海水の殺菌と漁獲物の衛生管理について検討した。

第一節　道東の標津川，伊茶仁川および古多糠川の細菌学的調査

北海道東部に位置する標津町は，平成11年に北海道から水産物品質管理高度化推進モデル計画策定産地に指定されたのを契機に，漁獲から加工，流通までが一体となった町単位での地域HACCPを推進している（標津町地域HACCP推進委員会, 2000; 吉水, 2002)。本事業は，公認HACCPシステムとは異なるが，水産物を安全に消費者へ届けるために，漁獲－市場－加工場－運送の各工程で何が危害として考えられるか検討し，これを未然に防ぐことを目的としている。

本節では，標津町地域HACCPの推進に関連し，標津町内を流れる標津川，伊茶仁川および古多糠川の水質と一般生菌数，大腸菌群数および大腸菌数を周年観察し，流域による違いや季節ごとの比較を行い，検討したのでその結果について報告する。

材料と方法

調査地点と調査項目

2001年の4, 6, 7, 8, 9, 10, 11月，2002年の3, 6, 8, 10月，2003年の5, 10月および2004年の6, 10月の計15回，Fig. 4-1-1に示した標津川の5定点（上流：Sr-1，中流：Sr-2，中下流：Sr-3，下流：Sr-4，河口：Sr-5)，伊茶仁川の2定点（中流：Ir-1，下流：Ir-2)，また古多糠川の1定点（中流：Kr-1）において，表面海水を滅菌ポリビンおよび細菌検査用滅菌ハイロート採水器を用いて採取した。試料は氷冷して標津町ふれあい加工体験センターに運び直ちに試験に供した。なお，水温，pH，導電率，濁度，溶存酸素量，塩分濃度，全溶存固形物量，河口水の比重についてはUR-21 (HORIBA) を用いて測定した。硝酸態窒素，アンモニア態窒素についてはマリンアート水質検査試薬を用いて簡易的に測定した。化学的酸素要求量 (COD) はアルカリ性過マンガン酸カリウム法による測定を行った（日本薬学会, 1996)。細菌検査は後述の方法により一般生菌数，大腸菌群数および大腸菌数の測定を行った。

一般生菌数，大腸菌群数および大腸菌数の測定法

一般細菌の生菌数は，淡水基礎培地（吉水ら，1976）表面に採取した試料0.1 mLを塗抹し，25 ℃で5日間好気的に培養し，出現コロニー数から1 mLあたりの生菌数を測定した。なお，河口地点：Sr-5については海水平板培地 (Yamamoto *et al.*, 1982) を用いた。また，標準寒天平板培地で37 ℃，24時間好気的に培養した場合の生菌数も測定した。

大腸菌群数はダルハム管入りLB培地で37 ℃，48時間培養後，MPN法（5本法）により100 mL中の最確数として算出した。陽性試料についてはEC法による試験を行い，MPN法により大腸菌数を算出した。

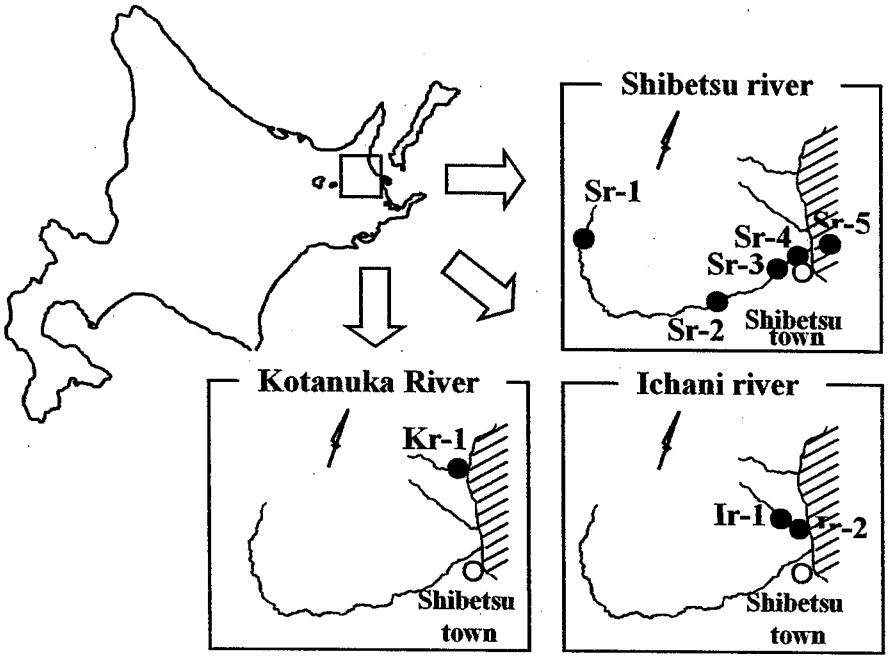


Fig. 4-1-1. Location of sampling stations in the three rivers examined.

細菌叢

生菌数測定に供試した最適希釈平板上の 30 コロニーを無作為に抽出し，純粋分離を行って供試菌株を得た。細菌叢は河川水については Shewan *et al.* (1960)，河口地点：Sr-5 については絵面・清水 (1990) の方法に従い，以下の形態学的性状および生化学的性状を検査し，属レベルの分類を行った。

形態学的性状については，分離菌株を 25 ℃で 48 時間培養後，常法に従い，グラム染色性，菌形，運動性，鞭毛の有無を観察した。生化学的性状については，前述と同様の培養菌体を供試して OF 試験，オキシダーゼ試験を行った。Sr-5 由来菌株については，上記試験に加え塩類要求性試験，カタラーゼ試験，DNA 分解性試験，ゼラチン分解性試験，寒天分解性試験を行った。

海水中での大腸菌の生残性に関する試験

供試海水として標津川河口より 1 km 沖合いの地点で採水した試料を用いた。供試菌株として *Escherichia coli* IFO-15043 株を用い，普通ブイヨン培地を用いて前培養を行った後に，供試海水に菌数が 10^3~10^4 CFU/mL となるように加え， 5，10，15 および 20 ℃に所定期間保持し，マッコンキー培地平板に塗沫して生菌数を算出した。

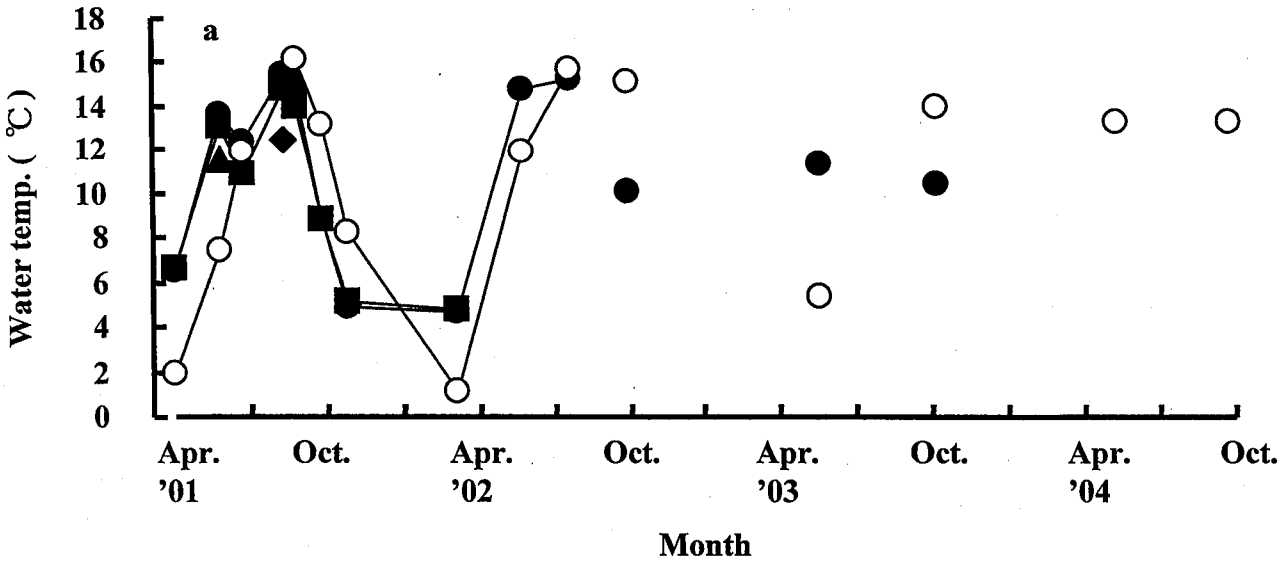
結　　果

水質

2001 年の 4, 6, 7, 8, 9, 10, 11 月，2002 年の 3, 6, 8, 10 月，2003 年の 5, 10 月および 2004 年の 6, 10 月の標津川の水温を Fig. 4-1-2a に，2001 年の 4, 6, 7, 8, 9, 10, 11 月，2002 年 3 月の伊茶仁川および古多糠川の水温を Fig. 4-1-2b に，溶存酸素量，COD の結果を Fig. 4-1-3 にに示した。水温のピークは 8 月から 9 月にかけてであるが，溶存酸素量は春から冬にかけて若干の減少傾向を示し，冬が明けたのちの 3 月に上昇した。COD は水温のピークと同様の傾向を示したがその変化は顕著ではなく，採水点間に大きな差はみられなかった。他の数値も大差は見られなかったが (データは示してない)，標津川河口地点 (Sr-5) は汽水であるため他の地点とは塩分濃度や比重が大きく異なっていた。

一般生菌数

各河川水の生菌数を Fig. 4-1-4 に示した。各定点の生菌数は，標津川では 2.0×10^1～6.3×10^5 CFU/mL，伊茶仁川では 1.1×10^3～2.2×10^4 CFU/mL，古多糠川では 1.0×10^3～1.8×10^4 CFU/mL の範囲で測定された。標準寒天培地を用いた場合，標津川では検出限界以下～7.1×10^3 CFU/mL，伊茶仁川では検出限界以下～1.2×10^3 CFU/mL，古多糠川では検出限界以下～1.1×10^3 CFU/mL の範囲で測定された (Fig. 4-1-5)。



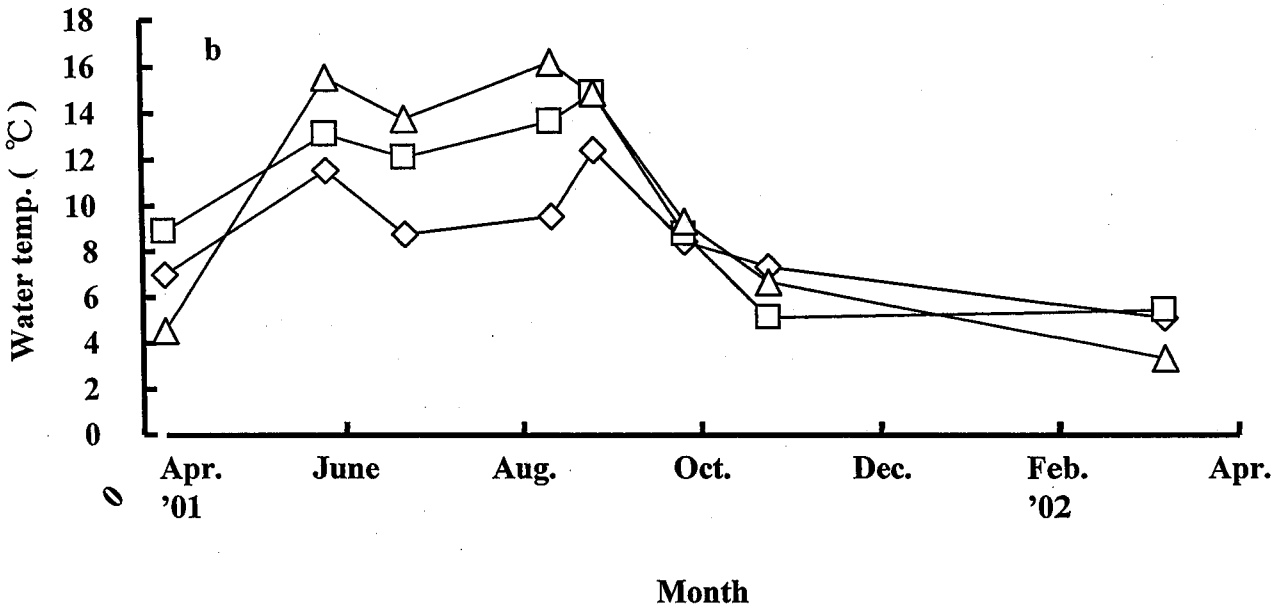


Fig. 4-1-2. Temperatures at sampling stations in the Shibetsu (a), Ichani and Kotanuka (b) rivers.

sr-1 sr-2 sr-3 sr-4 sr-5

ir-1 ir-2 kr-1

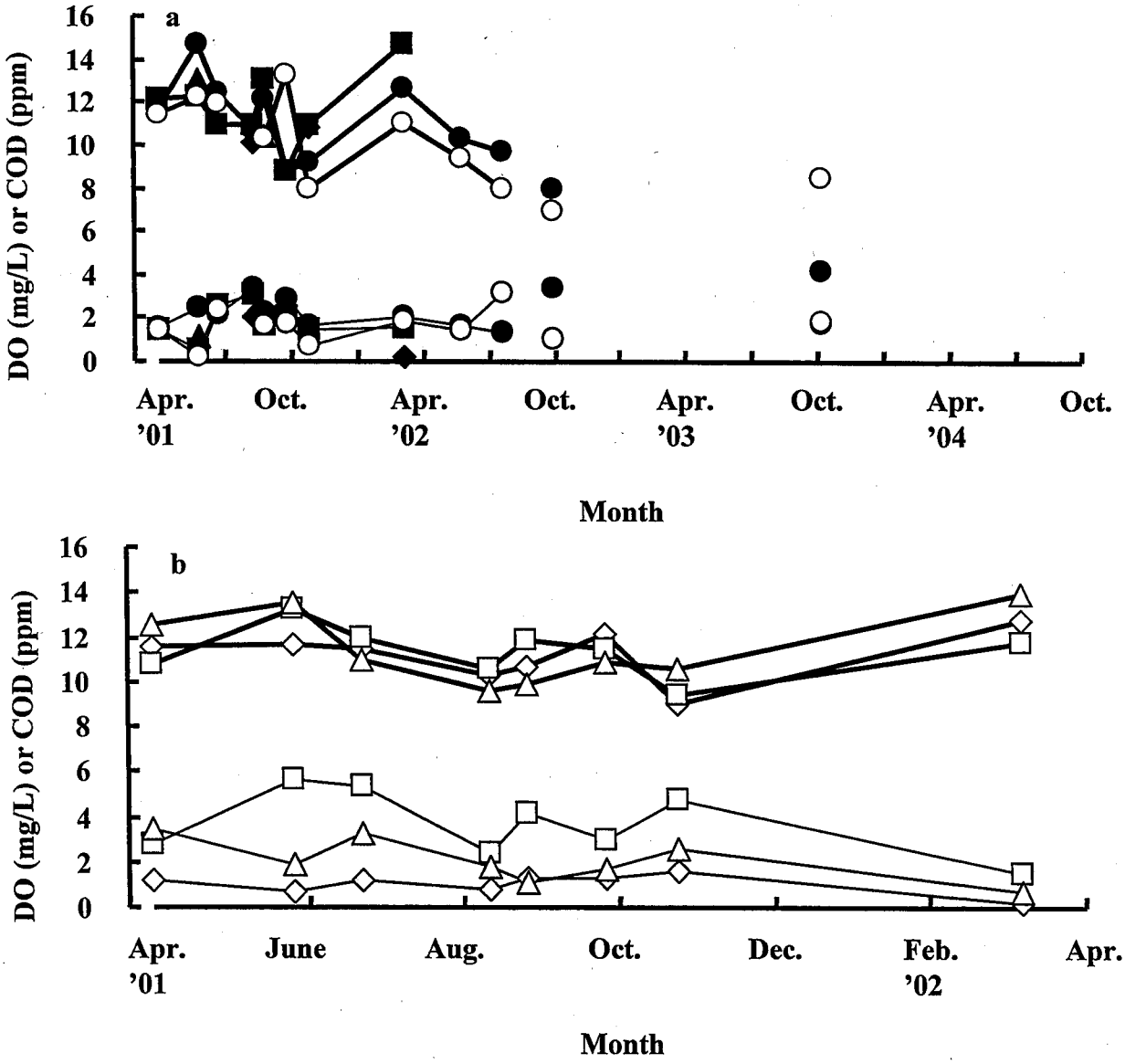


Fig. 4-1-3. Dissolved oxygen (mg/L) and chemical oxygen demand (mg/L) at sampling stations in the Shibetsu (a), Ichani and Kotanuka (b) rivers. Station symbols are as shown in Fig. 4-1-2, thick lines and thin line show DO and COD, respectively.

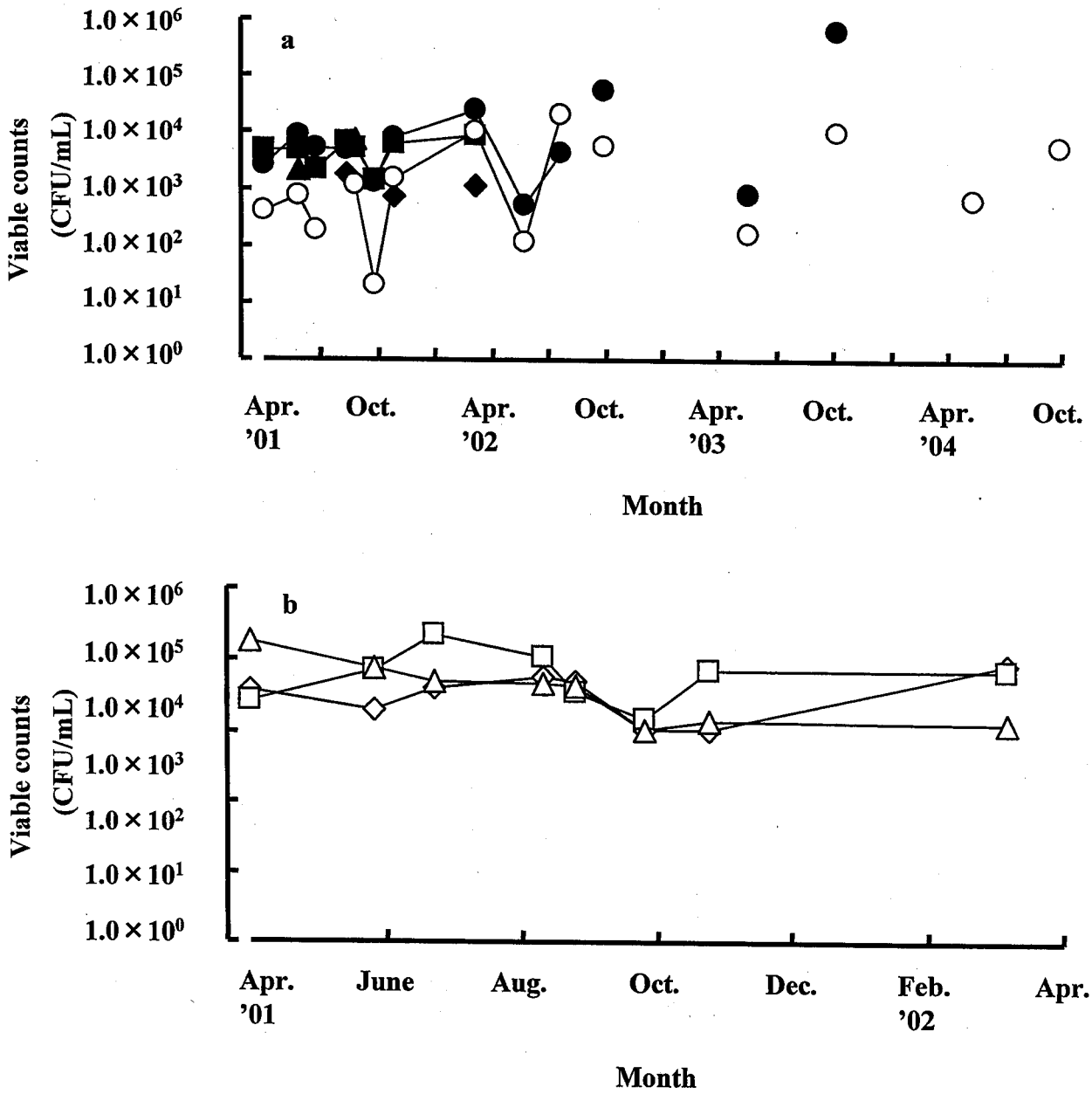


Fig. 4-1-4. Viable bacterial counts (CFU/mL) at sampling stations located in Shibetsu (a), Ichani and Kotanuka (b) rivers determined using freshwater agars (FSA) except station Sr-5 in Shibetsu river using seawater agars (SA). FSA and SA were incubated at 25℃ . Station symbols are as shown in Fig. 4-1-2.

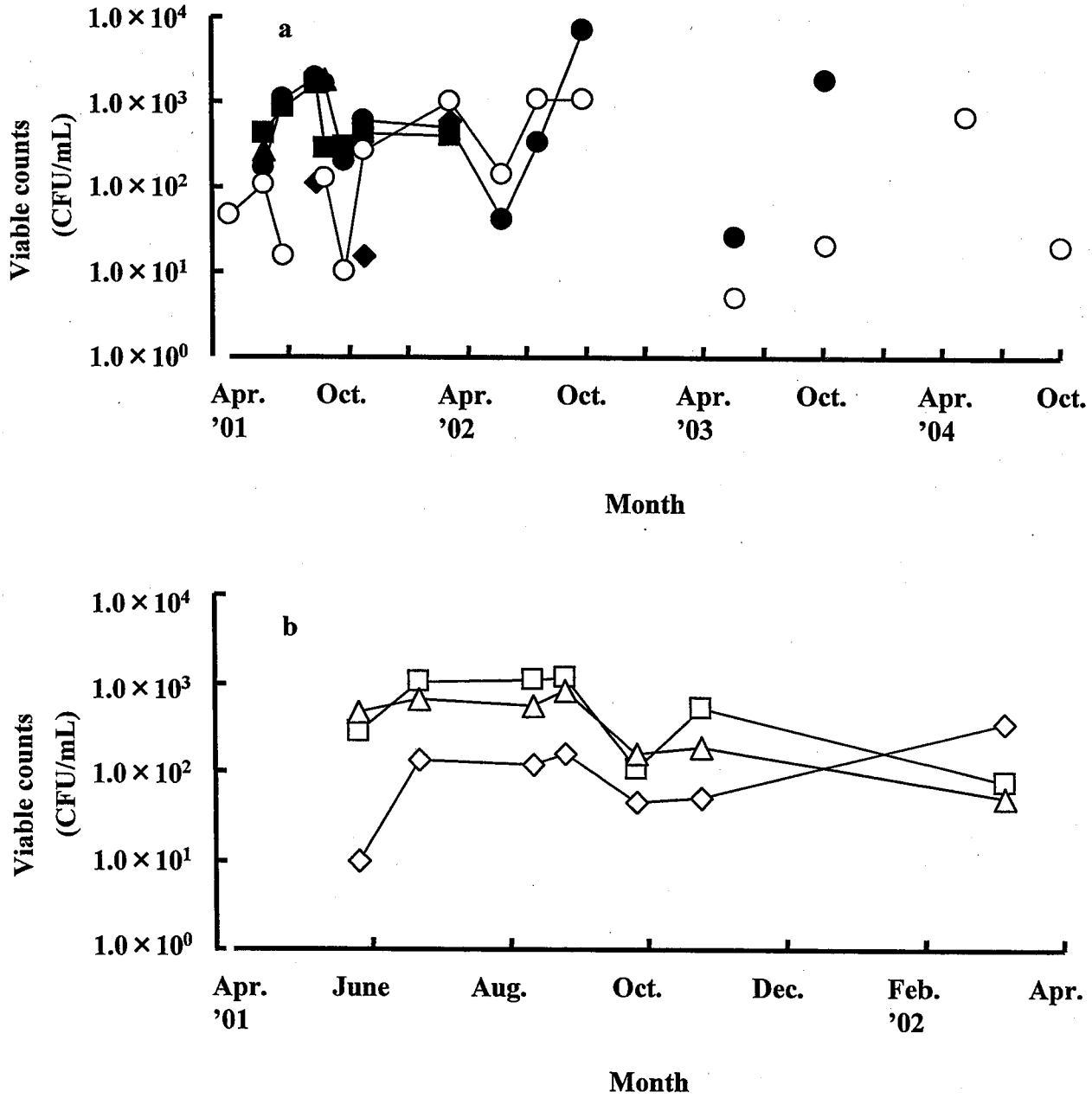


Fig. 4-1-5. Viable bacterial counts (CFU/mL) at sampling stations located in Shibetsu (a), Ichani and Kotanuka (b) rivers determined using standard-methods agars incubated at 37℃. Station symbols are as shown in Fig. 4-1-2.

細菌叢

前記の定点のうち標津川では Sr-2, Sr-4, Sr-5, 古多糠川では Kr-1 より分離した株について属レベルの分類を行い，標津川における各季節 (4, 7, 10 月) の細菌叢および古多糠川における各季節の細菌叢を Fig. 4-1-6 に示した。標津川中流，下流域の細菌叢は季節にかかわらず *Pseudomonas, Aeromonas,* Enterobacteriaceae, *Achromobacter, Flavobacterium*/Cytophagaceae, および Coryneforms により構成されていた。河口域の細菌叢は上記に *Moraxella, Alteromonas, Vibrio* が加わった。古多糠川は標津川中流および下流とほぼ同様の属組成となった。

大腸菌群数および大腸菌数

各河川水の大腸菌群最確数を Fig. 4-1-7 に，大腸菌最確数を Fig. 4-1-8 に示した。各定点の大腸菌群数は標津川では 1.8 以下～9200 /100mL，伊茶仁川では 1.8 以下～2400 /100mL，古多糠川では 26～1600 /100mL と測定された。春は少なく，夏場にピークを示し，秋から冬にかけて減少するという季節的な変化を示した。また地域的には牧場が集中する中流が最も高い値を示し，次いで下流，河口，上流の順となった。大腸菌数は大腸菌群数と比較しておよそ 1/10 の値を示した。

海水中での大腸菌の生残性

海水中での大腸菌 *Escherichia coli* の消長を Fig. 4-1-9 に示した。時間の経過とともに生菌数は減少し，10 ℃，15 ℃および 20 ℃では 3 日目で検出限界以下となったが，5 ℃では 5 日間保持後も大腸菌のコロニーの出現が確認された。

考　　察

標津漁港は標津川河口間近にあり，潮の流れからも河川水が漁港内に流入する可能性が考えられる。さらに，伊茶仁川，古多糠川，薫別川など多くの河川の河口があり，それら河川は多くの牧場の間を流れてくる。漁港近辺の河川の水質および細菌を調査することは，地域 HACCP を推進する上で重要な基礎データとなる。このような背景のもと，標津川，伊茶仁川および古多糠川の水質，一般細菌数およびその種類を 4 年間調査し比較した。

水質面では大きな差がみられなかったが，各定点の一般生菌数は，古多糠川を除いて春は少なく，夏から秋にかけてピークを示し，冬に再び減少するという季節的な変化を示した。また地域的には下流に行くにしたがって増加する傾向がみられたが，函館市内を流れる亀田川ほど顕著ではなかった (データは示していない)。細菌叢は各定点とも同様の属組成となったが，水温の低い春および秋は *Pseudomonas* 属の割合が増える傾向がみられた。標津川の河口地点は，生菌数および細菌叢を海水寒天培地および海洋細菌の簡易同定法で検討したため単純に比較できない。しかし，河川水で主体を成した細菌が同様に主体をなす傾向がみられた。以上より，道東の河川は流域に大きな都市がないために，水質，生菌

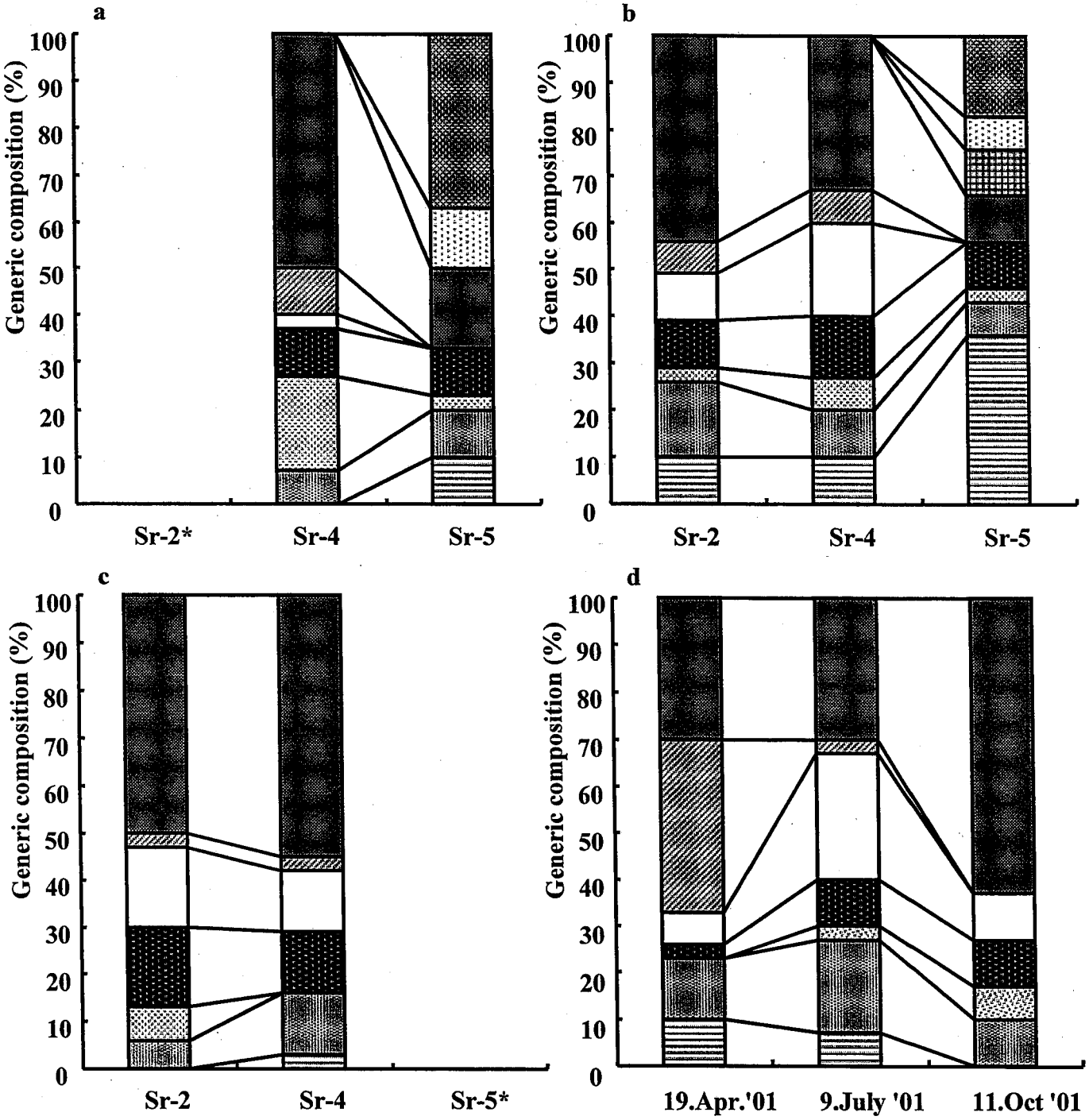


Fig. 4-1-6. Generic composition (%) of bacteria isolated from rivers Shibetsu, Ichani and Kotanuka rivers.

a: isolated from the Shibetsu river on 20 April 2001.
b: isolated from the Shibetsu river on 9 July 2001.
c: isolated from the Shibetsu river on 11 October 2001.
d: isolated from the Kotanuka river.
***: Not tested.**

Not identified
Flavobacterium / Cytophagaceae
Aeromonas
Pseudomonas
Alteromonas
Gram positive
Enterobacteriaceae
Achromobacter
Vibrio
Moraxella

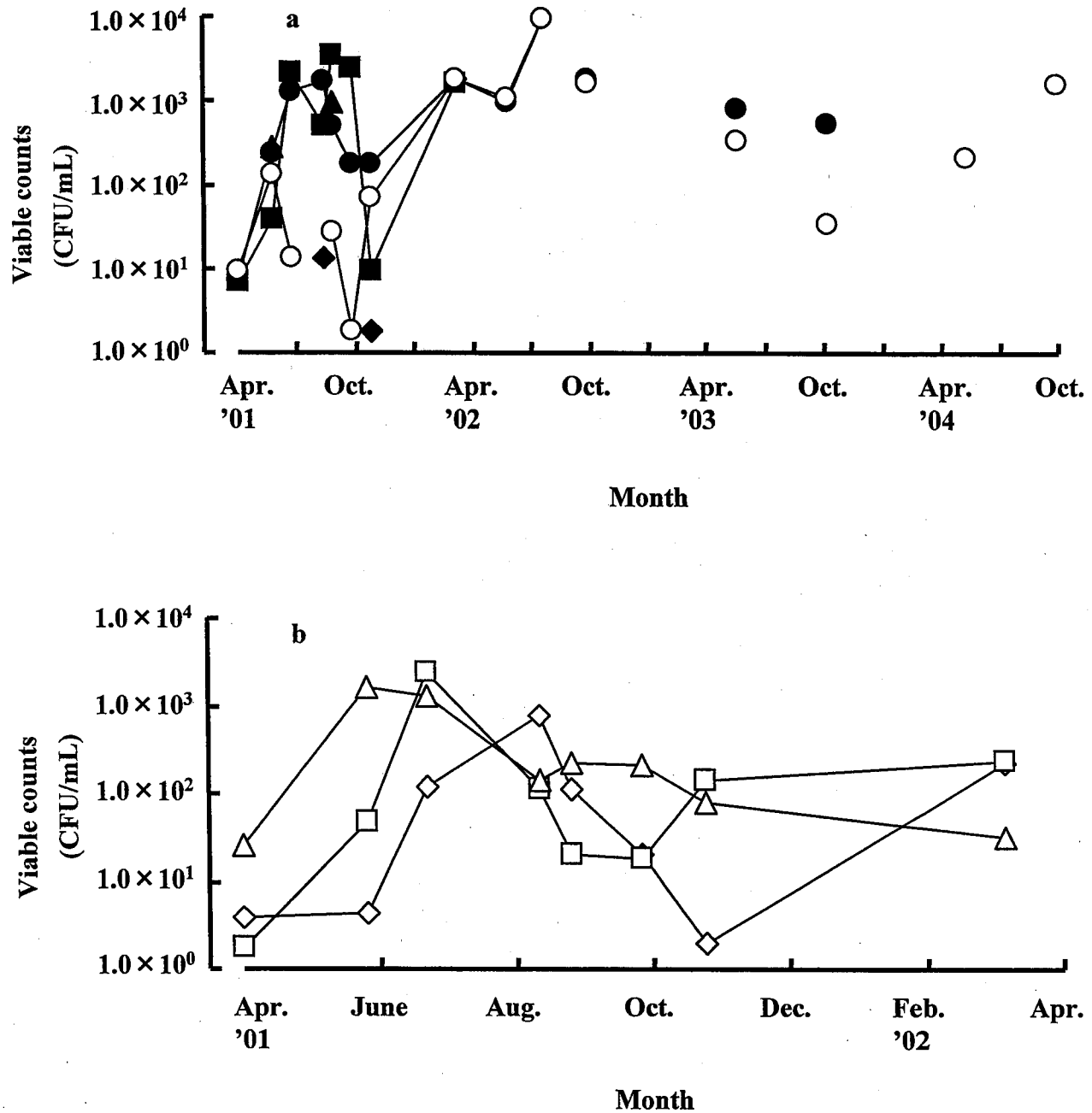


Fig. 4-1-7. Coliform counts (MPN/100mL) at sampling stations located in Shibetsu river (a), Ichani and Kotanuka rivers. Station symbols are as shown in Fig. 4-1-2.

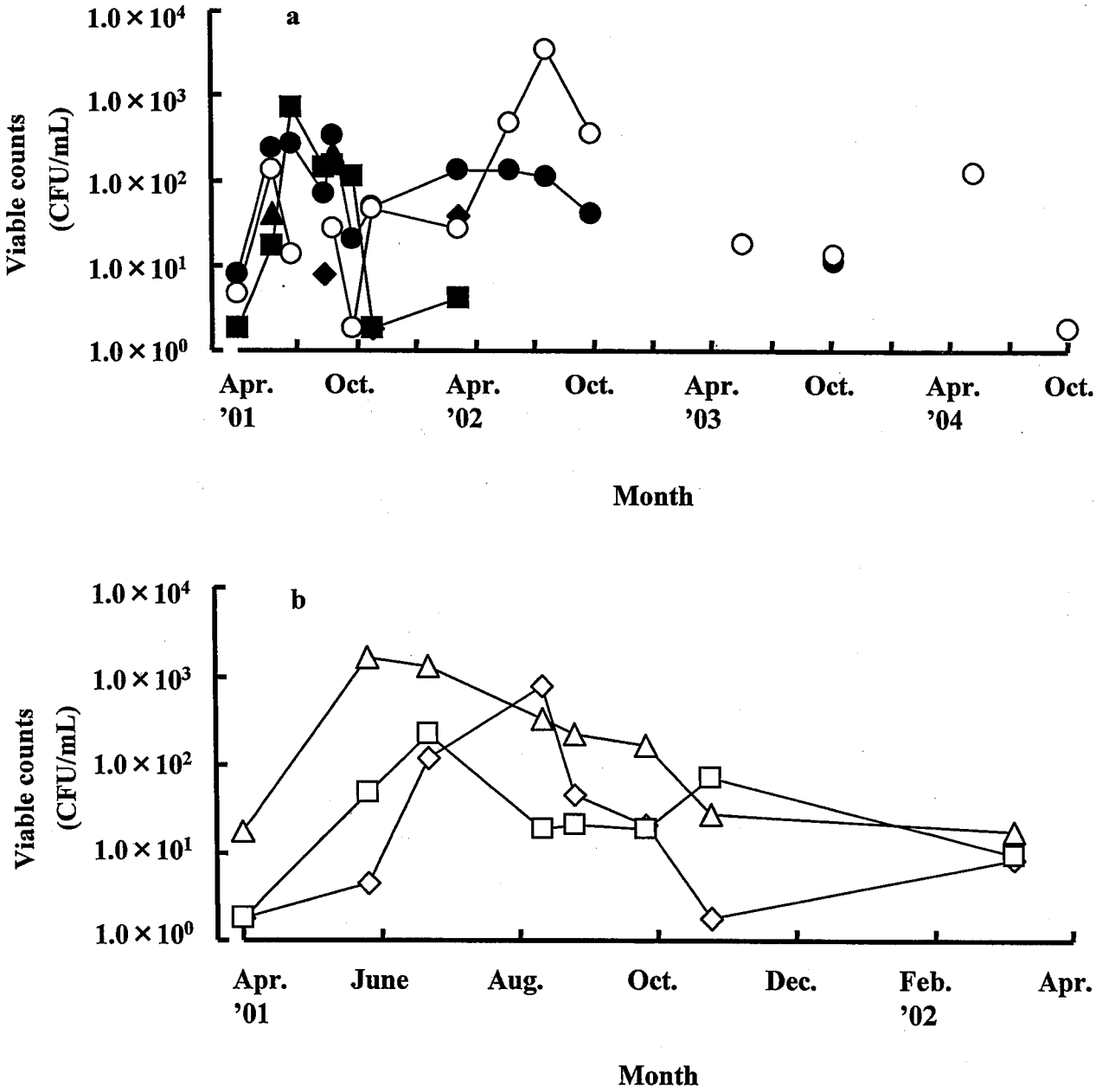


Fig. 4-1-8. ***E. coli*** **counts (MPN/100mL) at sampling stations located in Shibetsu river (a), Ichani and Kotanuka rivers. Station symbols are as shown in Fig. 4-1-2.**

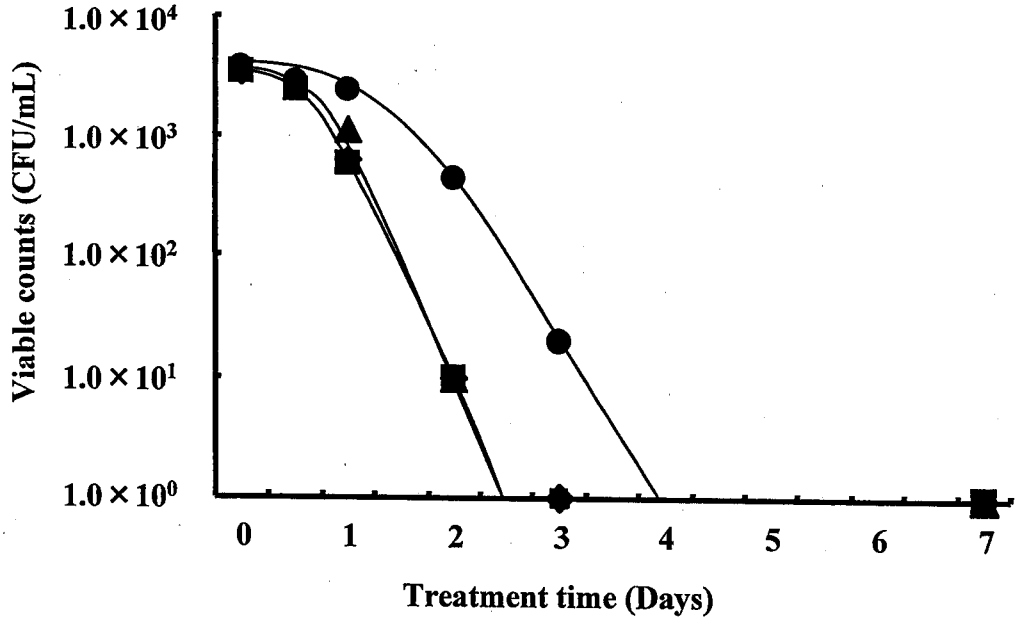


Fig. 4-1-9. Survivability of *Escherichia coli* in seawater.

—●— 5℃ —▲— 10℃ —■— 15℃ —◆— 20℃

数および細菌叢に流域ごとのばらつきが見られないものと考えられた。

一方，大腸菌群数ならびに大腸菌数は，下流に行くに従い高い値を示す傾向がみられ，大腸菌数は大腸菌群数と比較しておよそ 1/10 の値を示した。大腸菌群数ならびに大腸菌数を測定する場合，通常は推定もしくは確定試験を行う必要があるが，本節では測定地点が多数あるため，LB 培地で 48 時間培養し，ガスを産生したものをカウントして大腸菌群数を割り出した。さらに，ガス産生管を EC 培地に移植し，ガス産生が認められたものから大腸菌数を求めた。そのため，確定試験などを行うとそれぞれの数値が低くなることが予測されるが，夏場は 100 mL あたり $10^{2\sim3}$ 程度の大腸菌群が海洋に流入していることが示された。国立感染症研究所 (2000) の報告では，1998～1999 年の屠殺場への搬入牛の O-157 保菌率が 6.5%とされ，乳牛 (1.8%) は肉牛 (黒毛和種 13.5%) より低いものの，場合によっては何らかの対策を講じる必要があると考える。さらに大腸菌の海水中での生存性が，5 ℃で 7 日以内と比較的長かったことから，大腸菌が河川から根室海峡に出たあとの消長についても観察する必要があると考える (笠井ら, 2000b)。

第二節　標津漁港の細菌学的調査

標津町では北海道から水産物品質管理高度化推進モデル計画策定産地に指定されたのを契機に，漁獲から加工，流通までが一体となった町単位での地域HACCPを推進している (標津町地域 HACCP 推進委員会, 2000)。本事業は，公認 HACCP システムとは若干異なるが，水産物を安全に消費者へ届けるために，地域全体で漁獲－市場－加工場－運送の各工程で何が危害として考えられるか検討し，未然に防ぐことを目的とし，産地の顔が見えるトレーサビリティーの可能な優れた方法である (吉水, 2002;吉水・笠井, 2002c; Kasai *et al.*, 2004; 笠井ら, 2004a)。一方，環境・衛生管理型漁港づくりの計画も進められており，「漁港の環境向上」「作業環境の清潔保持」「水産物の鮮度保持」を目指している (山本ら, 2002)。

標津町の特産品であるイクラ製品やホタテ製品は，加工で熱を加える工程がないため，これらの安全性を確保するには，加工場での衛生管理や原料段階での鮮度保持管理・品質管理が重要になる。標津町では平成 2 年から秋サケの鮮度保持対策が実施され，魚体の温度を低く保ち，頻繁に港内清掃を実施するなどの取り組みが行なわれている (標津町地域 HACCP 推進委員会, 2000)。より高度な衛生管理を目指す上で，漁港における使用水の供給・浄化・排出システムの確立が重要な課題であり，そのためにも漁港で利用されている海水の実態を把握することが必要である。そこで今回，漁港内および沖合いの海水の水質，一般生菌数，大腸菌群数および大腸菌数を周年観察し，調査地点ならびに季節ごとに比較検討した。

材料と方法

供試水　2001 年の 4, 6, 7, 8, 9, 10, 11 月, 2002 年の 3, 6, 8, 10 月, 2003 年の 5, 10 月および 2004 年の 6, 10 月の計 15 回, Fig. 4-2-1 に示した標津漁港の港内奥泊地 (Fp-1), 旧市場前 (Fp-2), 秋サケ漁船係留場付近 (Fp-3), 市場前 (Fp-4), 港の入り口 (Fp-5), 沖合い 1 km にある秋鮭漁場 (Of-1) および沖合い 7 km にあるホタテ漁場 (Of-2) において表面海水をポリビンおよび細菌検査用滅菌ハイロート採水器を用いて採取した。試料は氷冷して標津町ふれあい加工体験センターに運び直ちに試験に供した。水温，pH，溶存酸素量，塩分濃度，海水の比重については UR-21 (HORIBA) を用いて測定した。化学的酸素要求量 (COD) はアルカリ性過マンガン酸カリウム法による測定を行った (日本薬学会編, 1996)。

さらに，標津漁港で得られた大腸菌群および大腸菌数との比較のため，2004 年 8 月 4 日に道北 9 漁港すなわち豊崎，苫前，初浦，手塩，西浦，焼尻，羽幌，前浜および天売漁港を，2004 年 6 月 15 日には道東 10 漁港すなわち野付，花咲，根室，別海，仙鳳趾，昆布森，幌茂尻，厚岸，釧路および白糠漁港を，2003 年 8 月 29 日には道南 8 漁港すなわち銭亀，志海苔，住吉，弁天，函館，上磯，茂辺地および当別漁港の表面海水を同様に採水し，試験に供した。

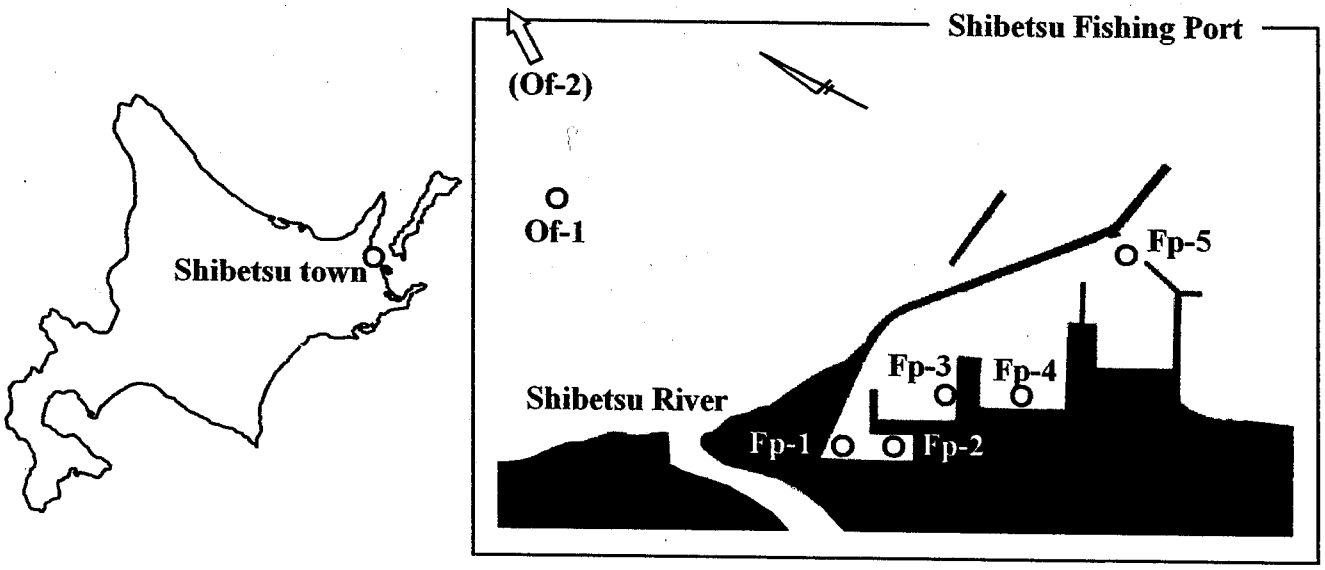


Fig. 4-2-1. Location of sampling stations at and near the Shibetsu fishing port.

生菌数の測定法　一般細菌の生菌数は，海水平板培地 (Yamamoto *et al.*, 1982) 表面に採取した試料 0.1 mL を塗抹して，25 ℃で 5 日間好気的に培養し，出現コロニー数から海水 1 mL あたりの生菌数を測定した。また，標準寒天平板培地 (栄研化学) で 37 ℃，24 時間好気的に培養した場合の生菌数も測定した。

食中毒原因菌，大腸菌群数および大腸菌数の測定法　黄色ブドウ球菌選択培地であるスタヒロコッカス培地 110 (栄研化学)，サルモネラ・シゲラ選択培地である SS 寒天培地 (栄研化学)，ビブリオ選択培地である TCBS 寒天培地 (栄研化学) に上記同様に試料を表面塗沫し 37 ℃で 24 時間培養した。スタヒロコッカス培地 110 に出現したコロニーについては常法 (尾上・品川, 1990) に従い分離同定し，SS 寒天培地および TCBS 寒天培地に出現したコロニーについては分離後 API20E (bioMerieux) を用いて同定した。
大腸菌群数はダルハム管入り LB 培地で 37 ℃, 48 時間培養後，MPN 法(5 本法)により 100mL 中の最確数として算出した。陽性試料についてはダルハム管入り EC 培地 (栄研化学) で恒温槽にて 44.5 ℃，24 時間培養し， MPN 法により大腸菌数を算出した。

細菌叢　生菌数測定に供試した最適希釈平板上の 30 コロニーを無作為に抽出し，純粋分離を行って供試菌株を得た。細菌叢は絵面・清水 (1990) の方法に従い，以下の形態学的性状および生化学的性状を検査し，属レベルの分類を行った。
　形態学的性状については，分離菌株を 25 ℃で 48 時間培養後，常法に従い，グラム染色性，菌形，運動性，鞭毛の有無を観察した。生化学的性状については，前述と同様の培養菌体を供試して OF 試験，塩類要求性試験，オキシダーゼ試験，カタラーゼ試験，DNA 分解性試験，ゼラチン分解性試験，寒天分解性試験を行なった。

結　　果

水質　2001 年の 4, 6, 7, 8, 9, 10, 11 月，2002 年の 3, 6, 8, 10 月，2003 年の 5, 10 月および 2004 年の 6, 10 月の調査結果のうち，各調査地点の水温は各定点間で差は見られず，-0.3 ℃から 17.9 ℃の範囲で測定された (Fig. 4-2-2a)。溶存酸素量は夏に低く測定される傾向がみられたものの，各定点間で差はみられず，6.6 mg/L から 14.2 mg/L の範囲で測定された(Fig.4-2-2b)。COD は港外で低く，港内では高い値となり，港内においても Fp-1 (港奥泊地) ならびに Fp-4 (市場前) で高くなる傾向がみられたが季節的な変化はみられず，0.3 mg/L から 4.38 mg/L の範囲で測定された(Fig. 4-2-2b)。なお pH は 7.7~8.5 の範囲で，塩分濃度は 3.0~3.8 %の範囲で，海水の比重は 21~29 の範囲で測定された。

生菌数　漁港内の海水の生菌数を Fig. 4-2-3a に示した。各定点の生菌数は漁港内では 4.0×10^1

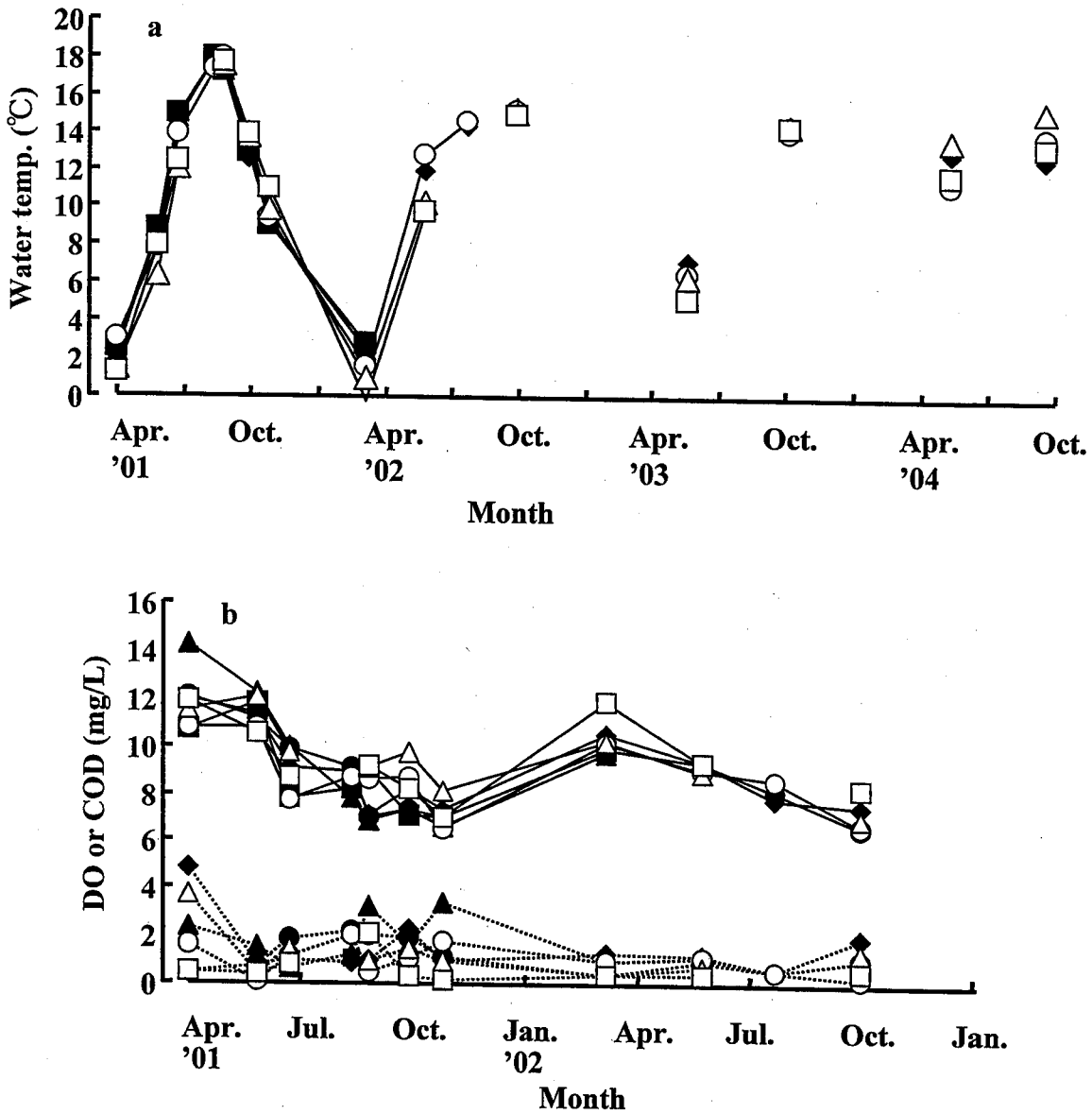


Fig. 4-2-2. Water temperature (a), dissolved oxygen (DO; solid lines) and chemical oxygen demand (COD; dashed lines) (b) at sampling stations located at and near the Shibetsu fishing port.

◆: fp-1; ■: fp-2; ▲: fp-3; ●: fp-4; ○: fp-5; △: Of-1; □: Of-2

～2.1×10^5 CFU/mL，秋サケ漁場では検出限界以下～6.9×10^3 CFU/mL，ホタテ漁場では検出限界以下～4.0×10^3 CFU/mL の範囲で測定された。春は少なく，夏から秋にかけてピークを示し，冬に再び減少するという季節的な変化を示した。また港の奥に行くに従って生菌数が増加する傾向がみられた。なお標準寒天培地を用いて 37 ℃で培養した場合は，検出限界以下～8.3×10^3 CFU/mL の範囲であった (Fig. 4-2-3b) 。

細菌叢　前記の定点のうち Fp-1，Fp-4，Fp-5 より海水寒天培地で分離した株を対象に属レベルの分類を行い，各季節 (4, 7, 10 月) の細菌叢を検討した結果を Fig. 4-2-4 に示した。漁港内の細菌叢は *Pseudomonas, Flavobacterium, Alteromonas, Cytophaga, Vibrio* およびグラム陽性菌により構成されていた。秋サケ漁の最盛期である 10 月は，市場前である Fp-4 は，ほぼ全て陸棲細菌であったが，その他の季節および各定点ではほとんどが海洋細菌であった。

食中毒原因菌，大腸菌群数および大腸菌数　漁港内の海水の大腸菌群最確数を Fig. 4-2-5a に，大腸菌最確数を Fig. 4-2-5b に示した。各定点の大腸菌群数は，漁港内では 1.8 以下～3500/100 mL，秋サケ漁場およびホタテ漁場では 1.8 以下～1600/100 mL と測定された。各定点の大腸菌数は，漁港内では 1.8 以下～170/100 mL，秋サケ漁場およびホタテ漁場では 1.8 以下～540/100 mL と測定された(Fig. 4-2-5b)。一般生菌数と同様に春は少なく，夏場にピークを示し，秋から冬にかけて再び減少するという季節的な変化を示した。また港の奥に行くに従って両数値が減少する傾向がみられたが，逆の傾向を示した場合もあった。一方，スタヒロコッカス培地 110，SS 寒天培地および TCBS 寒天培地では食中毒原因菌は検出されなかった。

道北，道東および道南計 27 漁港の大腸菌群数を Fig. 4-2-6 に示した。大腸菌群数は 18 以下～14000 以上の範囲で測定され，大腸菌数は 3 以下～2400 の範囲で測定された (データは示していない) 。

考　　察

標津漁港内および沖合いの海水の水質，一般生菌数，大腸菌群数および大腸菌数を周年観察し，調査地点ならびに季節ごとに比較検討したところ，水質面では，COD は Fp-1 (港奥泊地) ならびに Fp-4 (市場前) で高くなる傾向がみられたが，その値に大差は見られなかった。各定点の一般生菌数は，春は少なく，夏から秋にかけてピークを示し，冬に再び減少するという季節的な変化を示した。測定回毎のばらつきは，水温の推移以外に天候，港湾における人の活動等の影響を考慮する必要があると考える。また港の奥に行くに従って生菌数が増加する傾向がみられ，漁港内の細菌叢は採取時期および採取地点により優占菌属が異なった。ただ，秋サケ漁の最盛期である 10 月は，Fp-4 はほぼ全て陸棲細菌であった

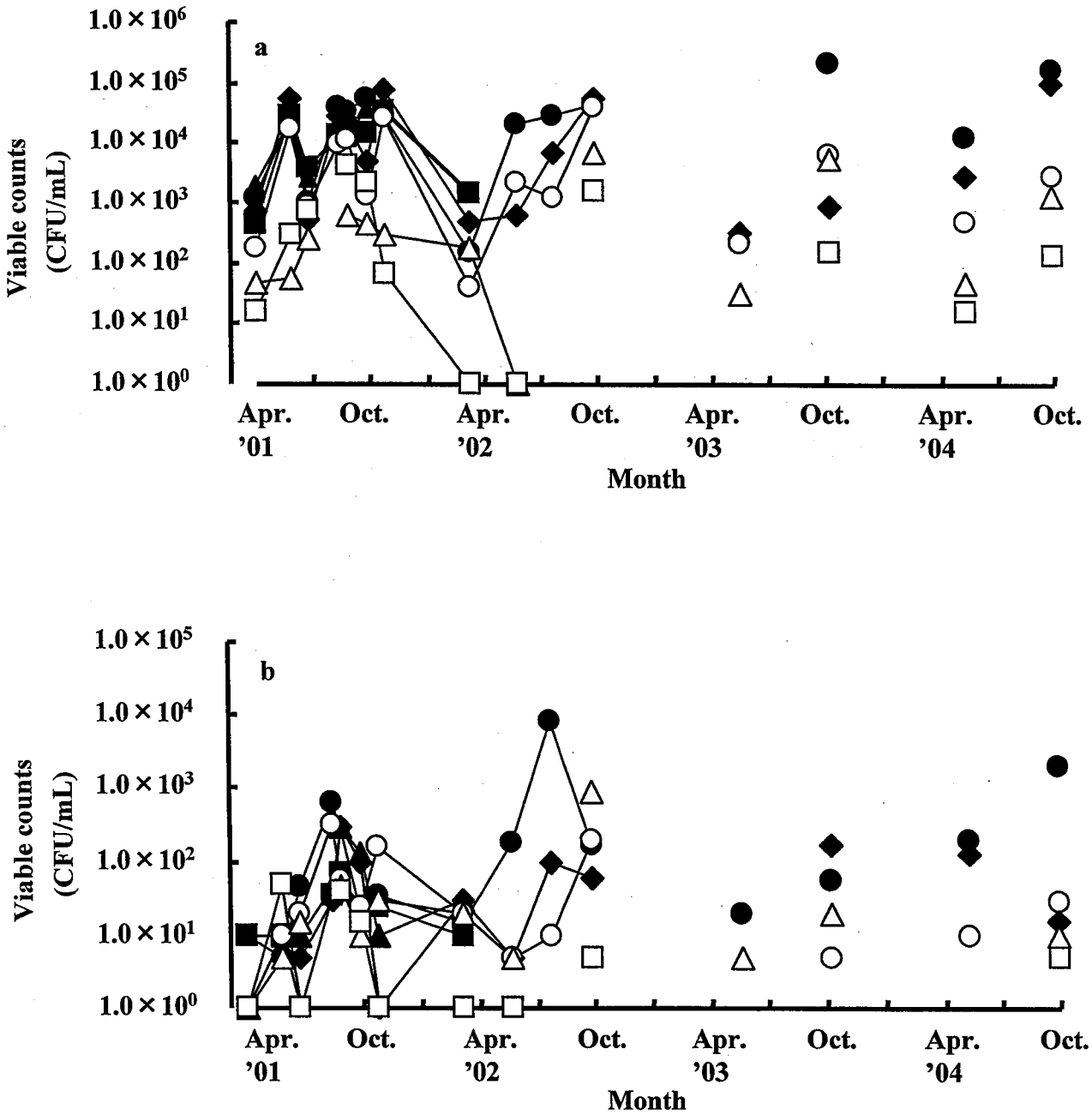


Fig. 4-2-3. Viable bacterial counts (CFU/mL) at sampling stations located at and near the Shibetsu fishing port and the offing. Viable bacterial counts determined using seawater agars (SA) incubated at 25°C (a) and standard-methods agars incubated at 37°C (b). Station symbols are as shown in Fig. 4-2-2.

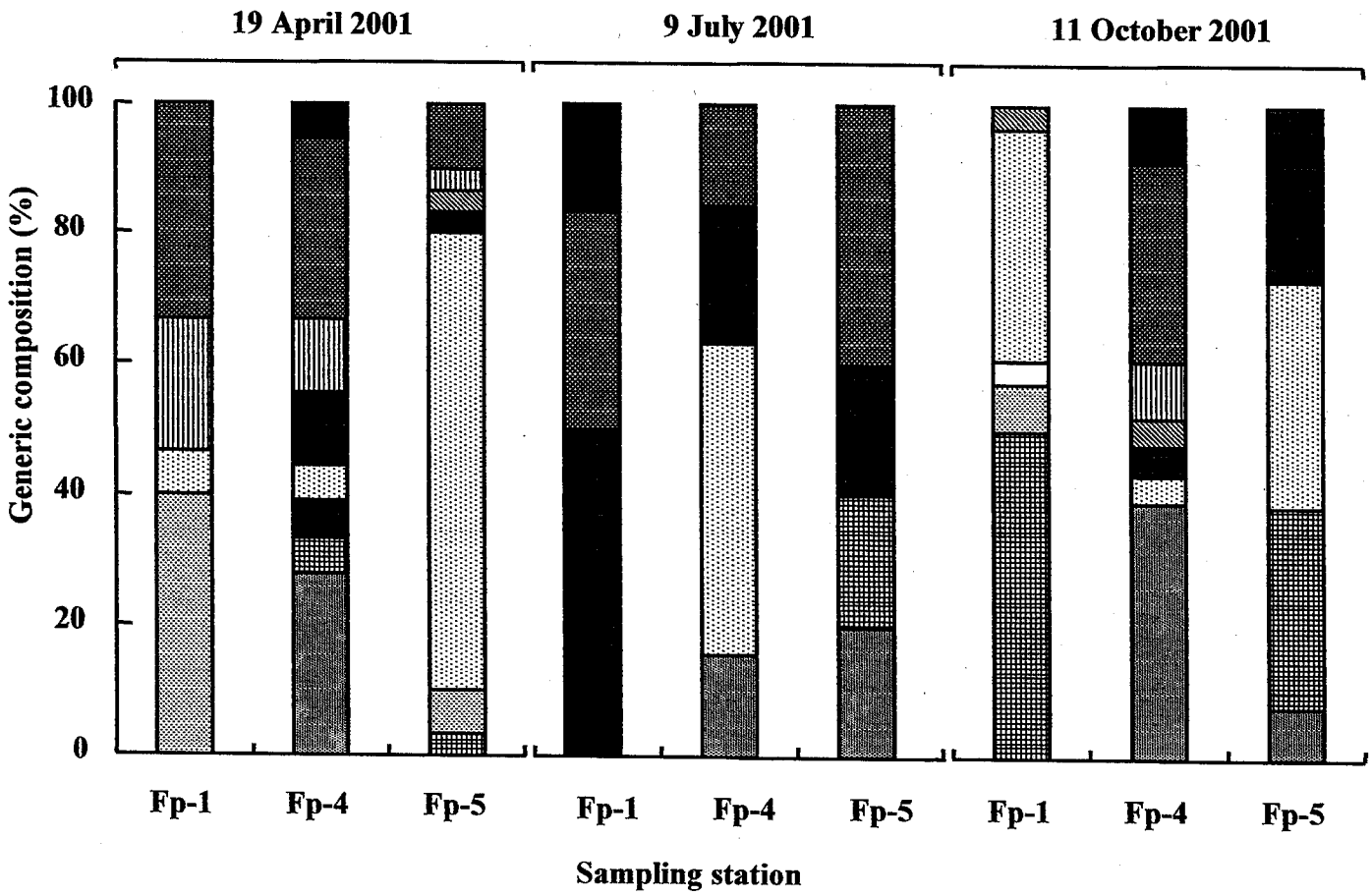


Fig. 4-2-4. Generic composition (%) of bacteria isolated from the Shibetsu fishing port.

Not identified
Cytophaga
Alteromonas
Flavobacterium
Gram positive
Aeromonas
Pseudomonas
Moraxella
Vibrio
Enterobacteriaceae
Alcarigenes
Acinetobacter

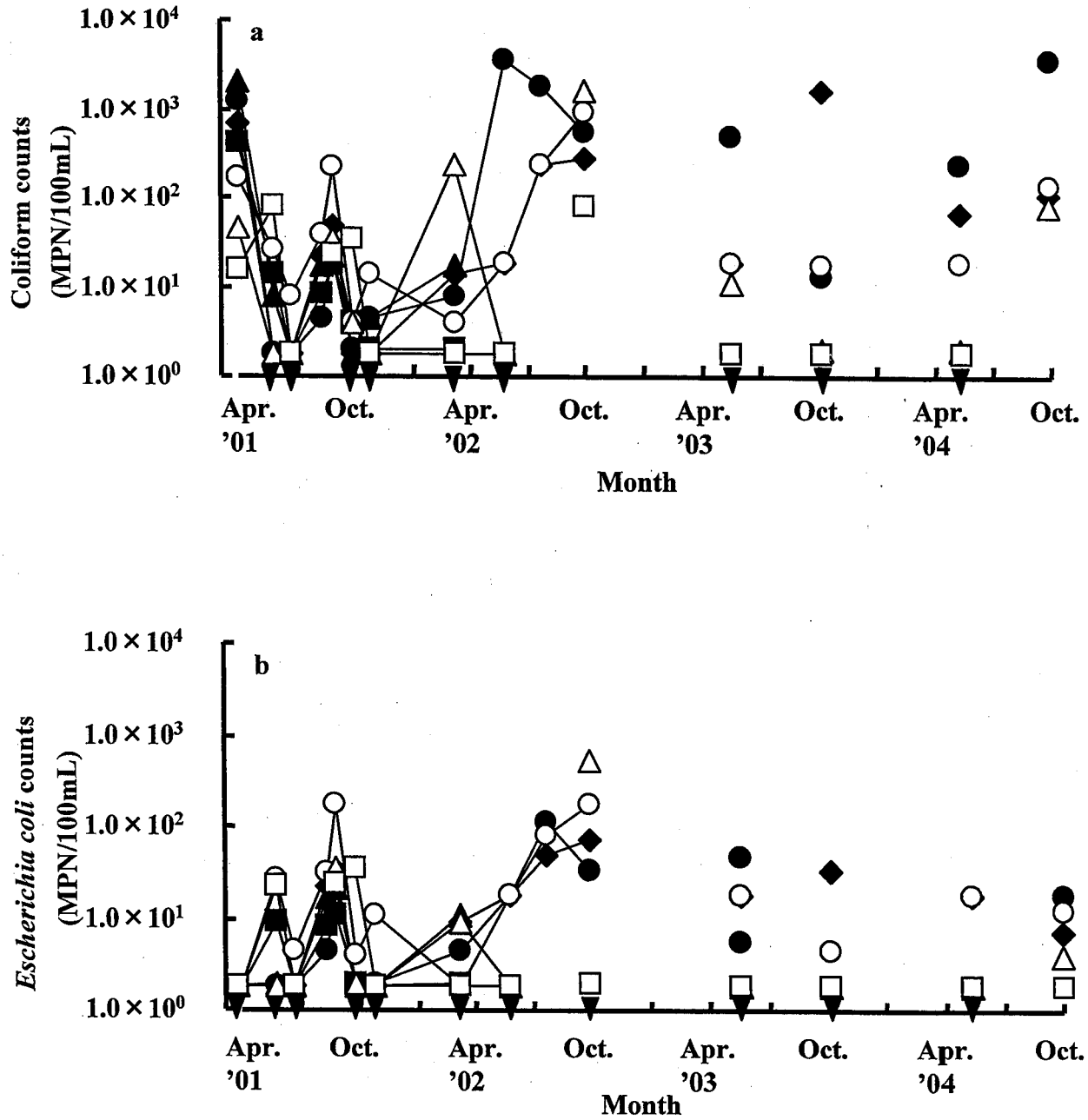


Fig. 4-2-5. Coliform counts (a) and *Escherichia coli* counts (b) (MPN/100mL) at sampling stations located at and near the Shibetsu fishing port. Station symbols are as shown in Fig. 4-2-2.

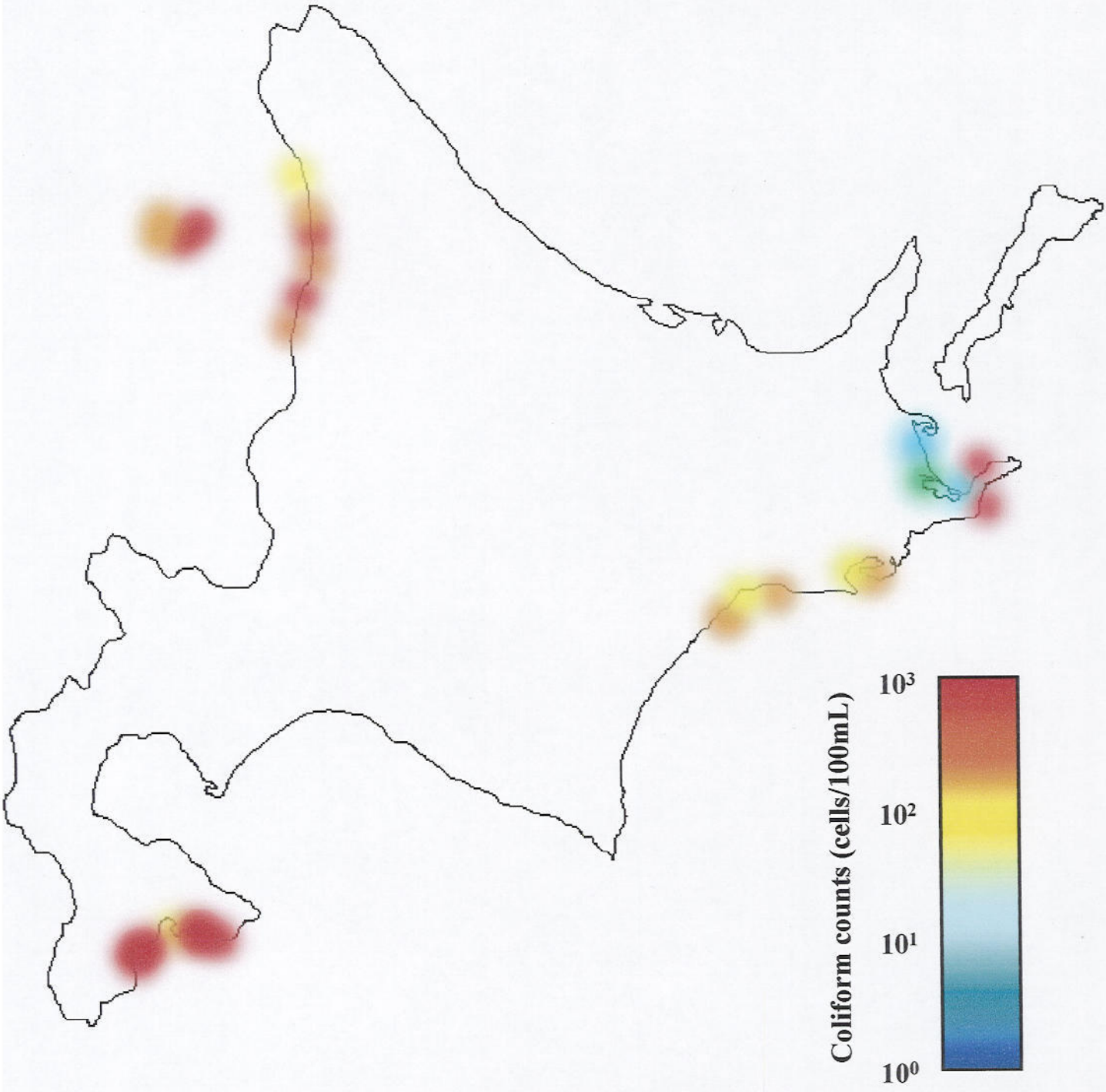


Fig. 4-2-6. Coliform counts (MPN/100mL) at 29 fishing ports in Hokkaido.
*** North part was sampled at 4 Aug. '04, East part was sampled at 15 June '04 and south part was sampled at 29 Aug. '03.**

が，その他の季節および各定点ではほとんどが海洋細菌であったことから，水質面同様，Fp-4 は市場の排水の影響を受けている可能性が示唆された。一方，大腸菌群数ならびに大腸菌数は，港の入り口に近いほど値が高い傾向がみられ，一般生菌数とは逆の傾向を示した。

著者らの行なった道東地域の河川の調査によると，年間を通じて付近の河川から 100 mL あたり $10^{2\sim3}$ 程度の大腸菌群が根室海峡に流入していた。さらに，大腸菌の生残性に関する試験では，大腸菌は海水中で数日間生残した(笠井ら, 2002b)。これらの結果を総合すると，標津漁港は Fig.4-2-1 に示すとおり標津川河口間近にあり，潮の流れからも河川水が漁港内に流入する可能性が考えられる。そのため，河川由来の大腸菌が港内に入り，生残した可能性が考えられる。ただ，時に港の奥の方が高くなることがあり，砂原漁港 (笠井ら, 2002c) のように漁港での作業等が影響している可能性を考慮する必要があると考える。

ところで，道内 27 漁港のほぼ全ての港内海水からも大腸菌群および大腸菌が検出されたことから，これら細菌が北海道沿岸の漁港に広範囲に分布していることが明らかとなった。より高度な衛生管理を目指す上で，大腸菌群陽性の海水で船体をはじめ，選別台，岸壁等を洗浄したり，漁槽や保冷タンクに港内海水を用いることは食品衛生上好ましくなく，改善の余地があると考える。従来，大量の海水を殺菌することは困難であったが，前章の海水電解殺菌装置であれば十分処理可能である。標津町は他地域に比べ先進的な衛生管理を行なっているが，万全を期するためには船体の洗浄，船槽水，蓄養水，氷，魚体・施設・器具の洗浄に殺菌海水を用いるのが望ましいと考える。大量の海水を殺菌処理できる装置が広く普及し，排水処理の整備が進めば，地域 HACCP による管理との相乗効果で漁港での衛生管理は飛躍的に向上するであろう (吉水・笠井, 2002c, 笠井ら, 2004b)。

第三節　海水電解殺菌装置による標津漁港の港内海水の殺菌と漁獲物の衛生管理への応用

平成 7 年製造物責任法 (PL 法) の施行により，食品加工業者は消費者に対し製造物に欠陥があり消費者に健康被害が発生した場合，その責任を負うことが明確にされた (北海道水産林務部水産経営課, 2000)。水産加工業においてもこれは例外ではなく，特に非加熱で流通され，非加熱のまま食される刺身用鮮魚，鮨ネタ用フィレ，イクラ製品等の水産加工製品にあってはより確実な衛生管理が必要となっている (標津町地域 HACCP 推進委員会, 2002)。加工場においては製造管理及び品質管理規則 (GMP), 衛生規範 (GHP) および HACCP による衛生管理が諸外国を含め進められているが (Hass *et al.*, 2000), 現在の食品衛生対策は主に加工場に原料が搬入されてからの管理が主体である。わが国でも加工場の衛生管理レベルが向上している今，漁獲から加工場に至るまでの衛生管理が差し迫った課題であると考える。

前章において，現在の漁港の衛生状態を把握すべく，北海道内の砂原漁港と標津漁港の細菌学的調査を実施し，食中毒原因菌は分離されないものの大腸菌・大腸菌群が港内海水より分離されることを示し，港内海水を漁獲物を収納する船倉や陸揚げ後の魚を収容するタンクに注入したり市場の床等の洗浄に使用するには，食品衛生学的に問題のあることを示した (笠井ら, 2002c, 2004b)。一方，海水電解殺菌装置による魚類病原微生物の殺菌・不活化効果を示し (笠井ら, 2000, 2001a), その殺菌効果を利用した魚類飼育用器具・器材の消毒効果についても明らかにした (渡辺・吉水, 2001)。さらに実用的には不可能とされてきた飼育排水の殺菌が，スケールアップした本装置により可能になることも示した (笠井ら, 2001b)。以上を踏まえ，本節では簡便かつ大量に殺菌海水が得られる海水電解殺菌装置が港内海水の殺菌に応用可能かどうか検討し，電解海水中の塩素の残留性ならびに生菌数の消長を検討した。さらに，漁獲物を投入した際の塩素の消長を調べ，電解海水による使用器材の消毒効果についても検討した。

材料と方法

海水電解殺菌装置　本研究には前章までに使用した流水式海水電解殺菌装置をスケールアップし，発電機と海水汲み上げポンプ，残留塩素測定装置を組み込んだユニット型流水式海水電解殺菌装置 (ライトクロア，試作機，荏原製作所) を使用した。また，漁船の吸水配管に同装置の電極部を組み込んだものも使用した。本装置は，海水 (NaCl を含む水) を電気分解することにより，海水中の食塩から次亜塩素酸を生成するもので，電流値により次亜塩素酸生成量を調節できる。

タンクに注入した電解海水中の一般生菌数の消長　北海道標津漁港の港内海水を流量

11.5~12 m^3/h，電流を 16 A，電圧を 4 V として電気分解した。電解海水を FRP 製保冷用 1 t タンクに 1/3 量 (300 L) 入れ，30，60，120 および 180 分間保持し，有効塩素濃度をデジタル残留塩素テスター (DCT-100 型，株式会社タクミナ) で測定すると共に後述の方法により生菌数を測定した。有効塩素濃度は 2 回の測定値の平均とし，生菌数は海水寒天培地 (Yamamoto et al., 1982) 表面に塗抹して 25 ℃で 5 日間好気的に培養し，出現コロニー数から生菌数を算出した。殺菌処理により原液を塗抹してもコロニー数が 30 に満たない場合は，試料 10 mL を径 0.45 μm のミリポアフィルターHA にてろ過し，フィルターを培地に張り付けて同様に培養し，生菌数を算出した。さらに氷を 75 kg 投入した区およびポリエチレン製断熱シートを使用した区を設定し，氷の有無および断熱シートの有無が塩素の残留性および生菌数の消長に及ぼす効果を検討した。さらに，平均体重約 1 kg のカラフトマスを 20 尾投入し，漁獲物を投入した際の塩素の消長を調べた。なお 1 t タンクは漁期に港で使用中のものである。

船倉に注入した電解海水中の一般生菌数の消長　港内海水を流量 12 m^3/h，電流を 19 A，電圧を 4.3 V として電気分解し，サケ定置網漁船の船倉に電解海水を通常使用量の 2 t 注入し，30，60 および 90 分間保持し，有効塩素濃度ならびに生菌数を測定した。さらに通常使用量の氷 (390 kg) 投入した区を設定し，氷の有無が塩素の残留性および生菌数の消長に及ぼす効果を検討した。

甲板ならびに漁業用具の消毒効果判定試験　港内海水を流量 11.5~13 m^3/h, 電流を 16~19 A，電圧を 4~4.3 V として電気分解し，得られた電解海水を 1 t タンク，選別台，断熱シートおよび上記の漁船の甲板表面に 1 分間流した。終了後，5 cm 角の窓を開けた厚手の滅菌アルミ箔を張り付け，検体表面の 25 cm^2 を滅菌綿棒でふき取り，その綿棒を生理的食塩水に移し直ちに生菌数を測定した。

漁船の吸水配管に組み込んだ海水電解殺菌装置の港内海水殺菌効果判定試験　北海道東部の標津漁港，日の出漁港，相泊漁港，野付漁港およびウトロ漁港所属のサケ定置網漁船に，前記ユニット型海水電解殺菌装置の電極部を漁船の配管に組み込み，港内海水を有効塩素濃度 0.5 mg/L となるよう電気分解して 5 分間保持し，上述の方法で生菌数を測定した。

結　果

保冷タンクに注入した電解海水中の一般生菌数の消長　観察開始時に氷投入区で 1.08 mg/L，未投入区で 1.14 mg/L であった有効塩素濃度は，時間の経過と共に減少したが，生菌数は 0 時間から 3 時間までの観察時間を通じて $10^{0\sim1}$ CFU/mL レベルであった。無処理の港内海水の生菌数は $10^{4\sim5}$ CFU/mL レベルであった。3 時間経過後の有効塩素濃度は両区とも 0.15 mg/L

であり，$10^{0\sim1}$ CFU/mL レベルの生菌数を持続した(Fig. 4-3-1)。

氷投入区と未投入区を断熱シートで覆って同様に観察した。観察開始時に氷投入 (断熱シート有) 区で 0.75 mg/L，未投入 (断熱シート有) 区で 0.97 mg/L であった有効塩素濃度は，時間の経過と共に減少したが，氷未投入 (断熱シート有) 区では 3 時間経過後で 0.28 mg/L，氷投入 (断熱シート有) 区は 0.5 mg/L であった。生菌数は断熱シートで覆わなかった場合と同様に低く抑えられたままで，$10^{0\sim1}$ CFU/mL レベルを持続した。以上の条件の中で最も塩素が残留した区は，氷を投入し断熱シートで覆った区であり，3 時間経過後の有効塩素濃度は 0.5 mg/L であった(Fig. 4-3-1)。なお，水温は氷未投入区で約 20 ℃，氷投入区で約 10 ℃であった。

また，有効塩素濃度 0.76 mg/L の電解海水を入れた 1 t タンクにカラフトマスを 20 尾投入すると，有効塩素濃度は 0.12 mg/L となった。

船倉に注入した電解海水中の一般生菌数の消長　有効塩素濃度は 1 t タンクでの試験に比べ速やかに減少し，氷未投入区では $10^{0\sim1}$ CFU/mL レベルの生菌数が 30 分間しか持続しなかった。無処理の港内海水の生菌数は 1.9×10^{4} CFU/mL であった。しかし，氷投入区では未投入区に比べ塩素の残留時間が長く，1 時間半経過後も $10^{0\sim1}$ CFU/mL レベルの生菌数が持続した(Fig. 4-3-2)。なお，水温は氷未投入区で 20 ℃，氷投入区で約 4 ℃であった。

甲板ならびに漁業用具の消毒効果　有効塩素濃度 0.93~1.17 mg/L の電解海水で 1 分間洗浄すると，1 t タンクおよび選別台で 99.9 %以上の消毒効果が得られた。断熱シートならびに甲板では 90 %以上の消毒効果に留まった (Table 4-3-1)。

漁船の吸水配管に組み込んだ海水電解殺菌装置の港内海水殺菌効果　北海道東部の 5 漁港の海水を電気分解し，有効塩素濃度 0.50～0.55 mg/L で 5 分間処理した後の殺菌率は 1 漁港を除き 99.9 %以上であり，残りの 1 漁港での殺菌率は 99.7 %以上であった(Table 4-3-2)。

考　察

北海道東部の秋サケ定置網漁では，船倉に氷を積み，港内海水を満たして出航し，漁獲物を船倉に納め寄港後選別している。漁獲物は選別後，あらかじめ港内海水と氷が入れられている FRP 製 1 t タンクに入れ，温度の上昇および鳥害を防ぐために断熱シートをかけて保管し，セリ後に加工場へと搬送されている。この際に使用される氷には生菌数を含めた基準を設けているが，使用海水に関しては大量の海水を短時間に殺菌できる装置がないために何ら対策が講じられていない。そこで，漁獲物の衛生管理に電解海水が利用可能かどうか検討するため，秋サケ定置網漁をモデルに試験を行った。1 t タンクおよび船倉に注入した電解海水中の一般生菌数の消長を検討したところ，氷投入区では未投入区に比べて

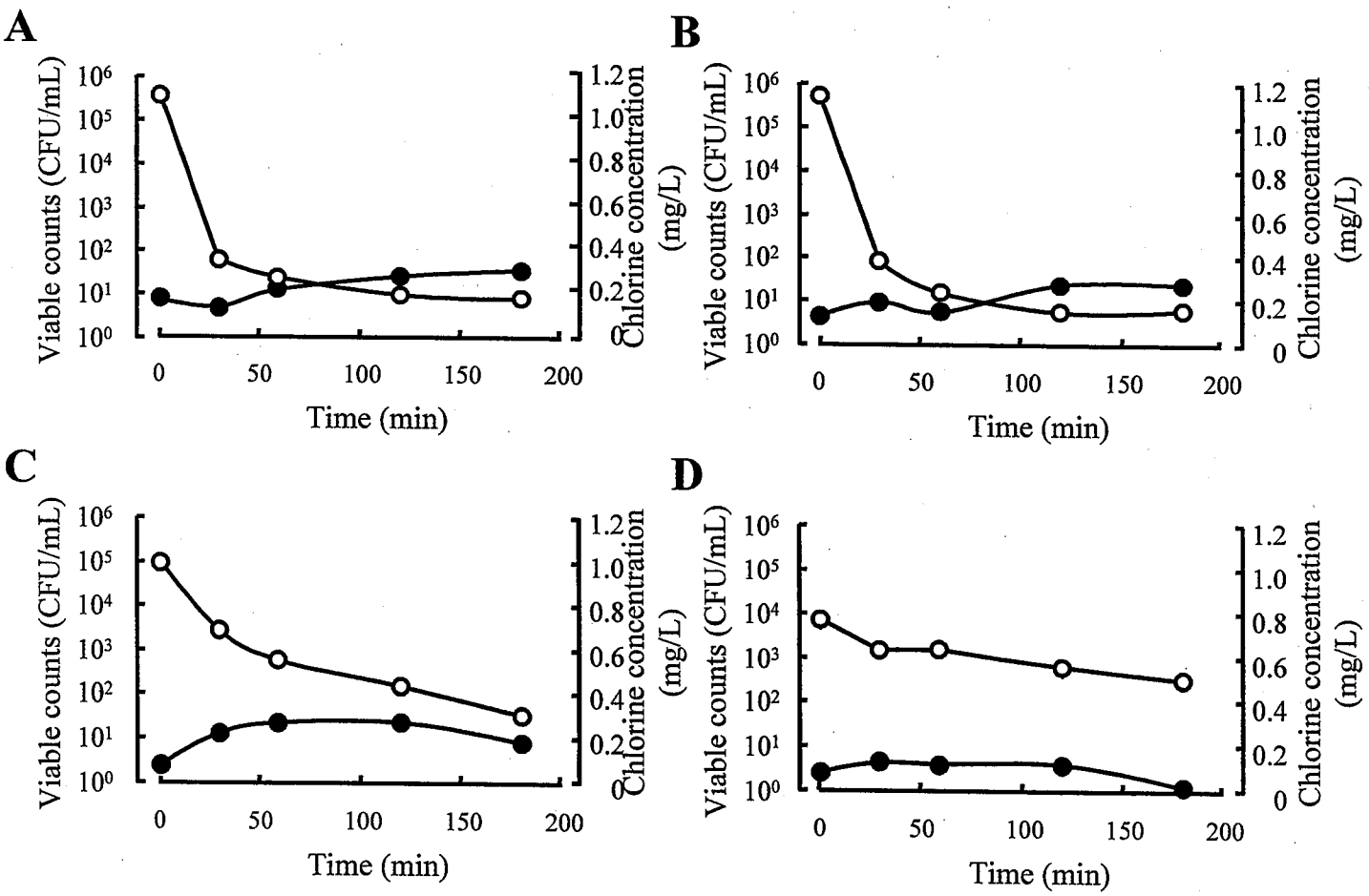


Fig. 4-3-1. Viable bacterial counts and chlorine concentration of electrolyzed seawater (300 L) in a fish holding tank (1 ton). Initial chlorine concentration of electrolyzed seawater was approximately 1mg/L. A: Electrolyzed seawater only. B: Electrolyzed seawater with 75 kg of ice. C: Electrolyzed seawater in the tank covered with thermal insulating sheet. D: With ice and thermal insulating sheet.

●: Viable bacterial counts, ○: Chlorine concentration.

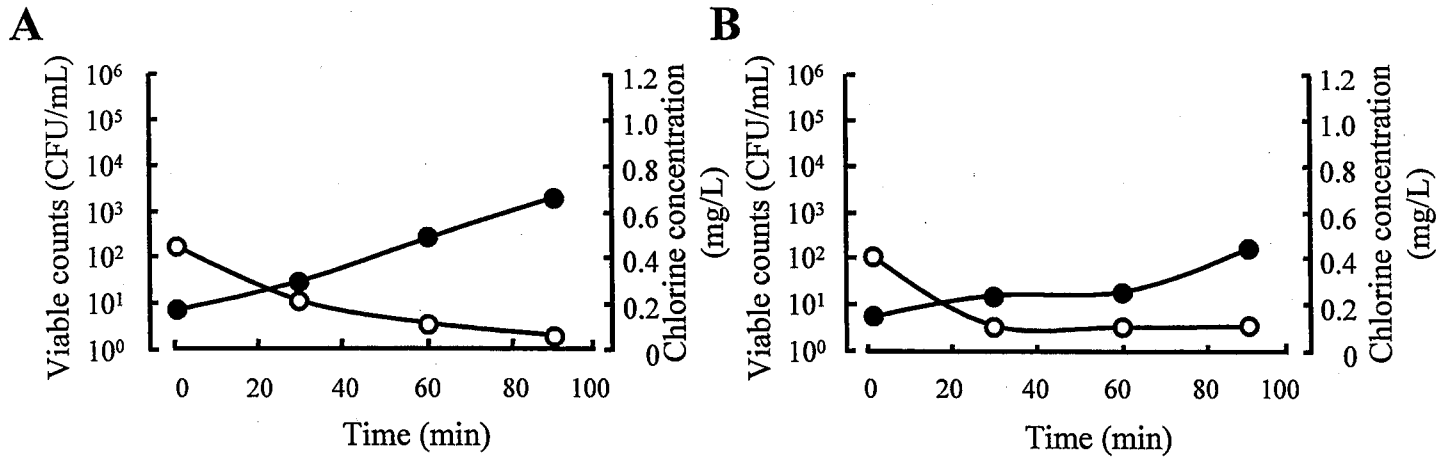


Fig. 4-3-2. Viable bacterial counts and chlorine concentration of electrolyzed seawater (2 ton) in a fisher-boat tank. Initial chlorine concentration of electrolyzed seawater was approximately 1 mg/L. A: Electrolyzed seawater only. B: Electrolyzed seawater with 390 kg of ice.

●: Viable bacterial counts, ○: Chlorine concentration.

Table 4-3-1. Effect of electrolyzed seawater on disinfection of fishery equipments

Materials	Treatment time (min)	Viable bacterial counts (CFU/cm^2)		Reduction rate (%)
		Before treatment	After treatment*	
Fish holding tank	1	1.7×10^4	$<1.8\times10^0$	>99.9
Separating estrade	1	5.2×10^3	2.7×10^0	>99.9
Thermal insulating sheet	1	2.8×10^4	8.3×10^2	97.1
Deck	1	6.9×10^3	2.7×10^2	96.2

*: Material surfaces (25 cm^2) were swabbed by swabs and then the swabs were suspended in 0.85% NaCl. Chlorine concentration was 0.93-1.17 mg/L.

Table 4-3-2. Disinfectant effect of continuous flow electrolyzer incorporated in a water supply system of fishing-boat

Place	Chlorine concentration (mg/L)	Treatment time (min)	Viable bacterial counts (CFU/cm^2)		Reduction rate (%)
			Before treatment	After treatment	
Shibetsu	0.51	5	1.4×10^4	4.7×10^0	>99.9
Hinode	0.55	5	6.1×10^2	1.8×10^0	99.7
Aidomari	0.52	5	1.2×10^3	8.4×10^{-1}	>99.9
Notsuke	0.52	5	1.7×10^4	5.6×10^0	>99.9
Utoro	0.50	5	1.1×10^4	4.0×10^0	>99.9

塩素の残留時間が長く，また1tタンクにおいては断熱シートで覆った方がより長く残留した。これらの条件は現状の秋サケ鮮度保持対策の条件と合致しており，持続時間も現場での作業時間を十分賄うものであった。しかし本試験において1tタンク，船倉共に有効塩素濃度1 mg/L程度の電解海水を入れたにもかかわらず，船倉では電解海水を入れ終わった直後，つまり入れ終わるまでの10分間で有効塩素濃度が半減し，試験前に電解海水で洗浄した1tタンクに比べて明らかな差がみられた。これは試験に使用した漁船の船倉内の汚れの影響と考えられ，生菌数の増加は壁面付着物中の細菌が混入したためと推察される。本装置設置後は事前に電解海水で船倉をよく洗浄すること等により，清浄度は高く保たれたと考える。さらに，本節では秋サケ漁をモデルとして試験を行ったが，他魚種を対象とした場合でも作業時間などに合わせた条件設定を行えば電解海水の利用は十分可能である。

試験目的である港内細菌の殺菌を考えた場合，電解処理後少なくとも0.5 mg/Lで1分間保持できれば海水中の細菌は十分殺菌されると期待できる。保冷タンクおよび船倉に1 mg/Lの電解海水を注入したが，最大で50 %の減衰が観察されたものの，0.5 mg/L以上の有効塩素濃度が測定され，海水の殺菌効果も99 %以上であった。前述の如く現場で使用中のタンクおよび船を使用したために，データのばらつきが見られたが，1 mg/L程度の有効塩素濃度が適正値であろう。

電解海水を注入した1tタンクに漁獲物を投入して有効塩素濃度の消長を検討したところ，カラフトマスを20尾投入しただけでも大幅な減少が認められ，実際の漁では一度に数百尾を投入するため，有効塩素濃度は漁獲物の投入と同時に検出限界以下となることが容易に推察された。一方，有効塩素濃度が約1 mg/Lの電解海水を用いて甲板ならびに漁業用具の消毒効果を検討したところ，1tタンクおよび選別台では1分間の洗浄により99.9 %以上，断熱シートおよび甲板では90 %以上の消毒効果が得られた。この結果は電解海水およびオゾン処理海水を用いた飼育器具の消毒成績とほぼ同様であり (渡辺・吉水, 1998)，消毒効果の違いについては，消毒対象物の材質が関与していると推察された。

本節で用いた海水電解殺菌装置は，ポンプや発電機が内蔵されたユニット型の試作機である。より簡便に利用できるよう船の吸水配管に電極部を組み込み，操舵室で濃度のモニターおよび調整が出来るよう改良した装置を試作し，港内海水に対する殺菌効果を検討したが，陸上での試作機と同様の成果が得られ，沖合いの海水の殺菌処理も可能と考える。ただ，食の安全性，安心感の提供が求められ，食品への殺菌・消毒剤の添加・残留が問題となっている (Reuter, 1998)。現在の食品衛生法では，食品への電解海水の使用は認められていないため，食材としての魚介類の洗浄，除菌，殺菌には食塩電解水を使用する必要がある。そのためにも電解海水の有効塩素濃度を十分な殺菌効果が得られ，かつ低濃度に設定する必要がある。本装置のイニシャルコストおよび処理能力を考慮すると，海水殺菌装置の有力候補と考えられ，温度管理や他の衛生管理対策との相乗効果で，本装置の使用は漁獲物の衛生管理の向上につながる。将来は漁獲時に使用した海水を処理して港あるいは沿岸に戻す設備を備えた漁港を整備する必要があるであろう。ただ，現状では電解海水を

そのまま港内に戻す利用法が採られると考える。その際の塩素の影響ならびに海水中の微量元素が電気分解された場合に生じる物質についても検討しておく必要があると考える(笠井・吉水, 2003b)。

総合考察

飼育用水の殺菌処理法として，各地の飼育施設で紫外線やオゾンを利用した殺菌装置が普及している。しかし，飼育排水の殺菌に利用する場合，大量の水を殺菌しなくてはならず，現在の紫外線，オゾン殺菌装置では対処できない (笠井・吉水, 2001a, 2002c; Kasai and Yoshimizu, 2002b)。そこで，本研究では大量の水を殺菌することを最終目的に，海水の電気分解による殺菌法について検討した。電気分解装置には隔膜を有するものとないものがあるが，隔膜を有するものでは大量の水の処理は難しい。本稿で供試した装置には隔膜がなく，原理は海水を約 3%の食塩水と見なし，この食塩水を直接電気分解すると，陽極では塩素が，陰極では水酸化ナトリウムが生成され，両者が反応して次亜塩素酸が生成するというものである。

まず，第一章では，流水式海水電解殺菌装置を供試し，魚類病原微生物を 3%食塩水中に懸濁し，電気分解した場合の殺菌・不活化効果を検討すると共に，純度の異なる食塩を用いて海水中に含まれている塩化ナトリウム以外の各成分が殺菌効果に与える影響を検討した。さらに，魚介類の飼育に用いられる海水を電気分解した場合の生菌数の変化を検討した。魚類病原細菌として *V. anguillarum* と *A. salmonicida* を，ウイルスとしてブリのウイルス性腹水症原因ウイルス YAV と，ヒラメラブドウイルス HIRRV を供試し， *E. coli* を対照に供試して殺菌および不活化効果を検討したところ，有効塩素濃度 0.07～0.14mg/L，1 分間の処理で供試細菌が 99.9%以上，0.49～0.58mg/L，1 分間の処理で供試ウイルスが 99.99%以上不活化された。次に，市販の次亜塩素酸と海水電解殺菌装置で生成される次亜塩素酸の殺菌効果を *V. anguillarum* を対象に同一塩素濃度と処理時間で比較すると，海水電解殺菌装置により生成される次亜塩素酸の方が市販の次亜塩素酸よりも高い殺菌効果が認められた。一方，用いた食塩の純度が殺菌効果に及ぼす影響を，天然の粗塩と食卓塩，試薬特級の NaCl を用いて比較したところ，試薬特級の方が優れていた (Kasai *et al.*, 2002)。このことから海水中に含まれる微量成分の存在が生成される次亜塩素酸の殺菌効果を低下させることが懸念され，今後の検討課題となった。

第一章より，電解殺菌法は魚類病原微生物ならびに飼育用水の殺菌に有効であることが確認されたことから，第二章では本来の目的である大量の水の処理，すなわち飼育用水や毎時数百トンにも及ぶ飼育排水の殺菌を試みた。日本栽培漁業協会厚岸事業場の飼育用濾過海水を電気分解し，有効塩素濃度 1.0 mg/L で 1 分間処理した場合の殺菌効果を検討したところ，生菌数が 99.99%以上減少し十分な殺菌効果が得られ，脱塩素処理すれば残留塩素の影響もなく，飼育用水としての使用が可能と考えられた。実際に脱塩素処理電解海水でマツカワを飼育したが異常は見られず，今後は長期の飼育試験が必要と考えられる (笠井ら, 2000)。次いで，同事業場の飼育排水を直接電気分解してその殺菌効果を検討した。有効塩素濃度が 0.60mg/L のときに，1 分間の処理で一般生菌数に対し 99%，1.28 mg/L では 99.9%以上の殺菌率が得られた。同時に紫外線殺菌装置($1.0\times10^5 \mu W\cdot sec/cm^2$)とオゾン殺菌装置(残

留オキシダント濃度 0.5mg/L, 1min)の殺菌率を測定したが，ともに 99.99%であった。より大量の排水を殺菌するために，実用規模の流水式海水電解殺菌装置 H-100 型機（荏原製作所）を供試し，排水の一部 2.0m^3/h を電気分解処理し，残りの 16.5m^3/h の排水と混合処理した場合，残留塩素濃度 0.5 mg/L 以上，1 分間の処理で 99%以上の殺菌率が得られた。H-100 型機は 100A の電流を流す能力があり，100g/h の次亜塩素酸を生成することができる。飼育排水を生成した次亜塩素酸で 1 分間処理する施設があると仮定し，0.5 mg/L の残留塩素濃度で 99%以上の殺菌効果が得られたことから推定すると，H-100 型機は 200m^3/h の飼育排水を処理できることになる。日本栽培漁業協会厚岸事業場の取水量は 100m^3/h であることから，一般的な規模の飼育排水の殺菌に用いるのに十分な能力を持っているといえる (笠井・吉水, 2001a,笠井ら, 2001b)。

流水式海水電解殺菌装置は海水が装置内の電極間を通過する際に電気分解されるため，配管やポンプを必要とする。しかし，水槽内に電極部を投入するバッチ式であれば，機械の持ち運びが可能になり，より簡便に電解水を得ることができる。そこで，第三章では，バッチ式海水電解殺菌装置を供試し，3%食塩水を電気分解して得られた電解水に魚類病原微生物を懸濁した場合の殺菌・不活化効果を検討した。また，飼育用水，飼育排水を対象に実際に電解処理した場合の殺菌効果を検討し，流水式海水電解殺菌装置との比較を行った。さらに，電解海水による飼育器具類の消毒効果についても検討した。細菌については，有効塩素濃度 0.47～0.62 mg/L で 3 分間処理することにより 99.9%以上の殺菌率となり，ウイルスでも HIRRV は 0.57 mg/L ，1 分間の処理で最大不活率が，YAV では 0.71 mg/L，3 分間の処理で 99.9%以上の不活化率が得られた。次に，実際の飼育用濾過海水を電気分解した場合，0.54 mg/L，1 分間の処理で 99%以上の殺菌率を示し，十分な殺菌効果が得られた。また，飼育排水の場合でも有効塩素濃度 0.64 mg/L で 1 分間処理することにより 99 %以上の殺菌効果が得られた。本装置による魚類病原微生物の殺菌・不活化効果を流水式海水電解殺菌装置での結果と比較すると，同程度の効果を得るための最小塩素濃度は 5 倍程度高い値となった。これは，流水式海水電解殺菌装置とバッチ式海水電解殺菌装置とで有効塩素濃度を測定するタイミングが異なったためと考える。すなわち，流水式海水電解殺菌装置では 3 %食塩水に病原微生物が懸濁されている状態で電気分解し有効塩素濃度を測定したが，バッチ式海水電解殺菌装置では 3 %食塩水を電気分解し有効塩素濃度を測定し，その後に病原微生物を懸濁したため，病原微生物と共に混入した培地成分に消費される分，高い塩素濃度を必要としたのであろう。しかし，両装置を並べて海水を電気分解すると，両装置は同程度の殺菌効果を示したことから，殺菌能力に差がないことが明らかになった (笠井ら, 2001a)。

疾病の水平感染を防止する上で飼育器具類の消毒は大変重要な課題である。そこで電解海水による飼育器具類の消毒効果を検討したところ，電解海水をかけ流しにして飼育器具類を 30～120 分浸漬することにより一般生菌数は 99.9 %以上減少した。電解海水は飼育用水および排水の殺菌のために海水電解殺菌装置を導入すれば容易に得られるものであり，

またバッチ式海水電解殺菌装置ならば配管の必要もなく場所も選ばない。さらに有効塩素濃度の調整も容易なことから，本装置による殺菌は飼育現場における実用性の高い優れた消毒法と言えよう (渡辺・吉水, 2001)。

最後に第四章では漁獲の際に使用される海水の殺菌を目的として，まず第一節で道東の標津川，伊茶仁川および古多糠川の細菌学的調査を，第二節で道内の漁港の細菌学的調査を行い，第三節において海水電解殺菌装置による漁港内海水の殺菌と漁獲物の衛生管理への応用について検討した。第一節では道東の標津川，伊茶仁川および古多糠川の水質，一般生菌数，大腸菌群最確数および大腸菌最確数を測定し，細菌叢について検討した。その結果，水質，生菌数および細菌叢に流域ごとのばらつきが見られなかったが，各定点の大腸菌群数は標津川では 1.8 以下～9200 /100mL，伊茶仁川では 1.8 以下～2400 /100mL，古多糠川では 26～1600 /100mL と幅広く測定され，春は少なく，夏場にピークを示し，秋から冬にかけて減少するという季節的な変化を示した。また地域的には牧場が集中する中流が最も高い値を示し，次いで下流，河口，上流の順となった。大腸菌数は大腸菌群数と比較しておよそ 1/10 の値を示した。道東の標津漁港周辺には標津川，伊茶仁川，古多糠川，薫別川など多くの河川の河口があり，それら河川は多くの牧場の間を流れてくる。国立感染症研究所(2000) の報告では, 1998～1999 年の屠殺場への搬入牛の O-157 保菌率が 6.5%とされ，乳牛 (1.8%) は肉牛 (黒毛和種 13.5%) より低いものの，O-157 が河川から検出されない保障はない。さらに大腸菌の海水中での生存性が，5 ℃で 7 日以内と比較的長かったことから，大腸菌が河川から根室海峡に出たあとの消長についても観察する必要があると考える (笠井ら, 2002b)。

そこで第二節では，標津漁港を始め道内の漁港の細菌学的検査を行った。標津漁港については漁港の奥から入り口にかけて数箇所と港外 1 km および 7 km の地点から採水し，水質面では季節的変化に加え天候，港湾における人の活動等により数値のばらつきがみられた。また港の奥に行くに従って一般生菌数が増加する傾向がみられ，漁港内の細菌叢は採取時期および採取地点により優占菌属が異なった。一方，大腸菌群数ならびに大腸菌数は，港の入り口に近いほど値が高い傾向がみられ，一般生菌数とは逆の傾向を示した。標津漁港は第一節で調査した標津川の河口に隣接しており，潮の流れからも河川水が漁港内に流入する可能性が考えられる。そのため，河川由来の大腸菌が港内に入り，生残した可能性が考えられる。ただ，時に港の奥の方が高くなることがあり，砂原漁港 (笠井ら, 2002c) のように漁港での作業等が影響している可能性を考慮する必要があろう (笠井ら, 2004b)。

道内 27 漁港のほぼ全ての港内海水からも大腸菌群および大腸菌が検出された。このことから，これら細菌が北海道沿岸の漁港に広範囲に分布していることが明らかとなった。より高度な衛生管理を目指す上で，大腸菌群陽性の海水で船体をはじめ，選別台，岸壁等を洗浄したり，漁槽や保冷タンクに港内海水を用いることは食品衛生上好ましくなく，改善の余地があると考える。そこで第三節では，海水電解殺菌装置による漁港内海水の殺菌と漁獲物の衛生管理への応用について秋サケ定置網漁をモデルに検討した。北海道東部の秋

サケ定置網漁では，船倉に氷を積み，港内海水を満たして出航し，漁獲物を船倉に納め寄港後選別している。漁獲物は選別後，あらかじめ港内海水と氷が入れられているFRP製1tタンクに入れ，温度の上昇および鳥害を防ぐために断熱シートをかけて保管し，セリ後に加工場へと搬送されている。1tタンクおよび船倉に注入した電解海水の有効塩素濃度の消長を検討したところ，氷投入区では未投入区に比べて塩素の残留時間が長く，また1tタンクにおいては断熱シートで覆った方がより長く残留し，現場での作業時間を十分賄うものであった。また電解海水が甲板ならびに漁業用具の消毒にも有効であった。続いて電解海水を注入した1tタンクに漁獲物を投入して有効塩素濃度の消長を検討したところ，カラフトマスを20尾投入しただけでも大幅な減少が認められ，実際の漁では一度に数百尾を投入するため，有効塩素濃度は漁獲物の投入と同時に検出限界以下となることが容易に推察された。従って電解海水による漁獲物の消毒効果は期待出来ないが，港内の大腸菌および大腸菌群による漁獲物の汚染を防ぐことが出来る。海水電解殺菌装置のイニシャルコストおよび処理能力を考慮すると，海水殺菌装置の有力候補と考えられ，温度管理や他の衛生管理対策との相乗効果で，本装置の使用は漁獲物の衛生管理の向上につながるであろう(Kasai and Yoshimizu, 2002a, 笠井・吉水, 2003b)。

海水電解殺菌装置を実際に運転させる際，海域ごとの海水成分が異なり，また飼育現場では排水の殺菌を行う上で魚介類の排泄物などの有機物の影響を受けることが考えられる。電解海水中に含まれる塩素の環境影響評価を行い，適切な運転条件を設定する必要があろう。漁港においては漁獲時に使用した海水を処理して港あるいは沿岸に戻す設備を備えた漁港の整備が理想であるが，現状では電解海水をそのまま港内に戻す利用法が採られると考える。その際の塩素の影響ならびに海水中の微量元素が電気分解された場合に生じる物質についても検討しておく必要がある。また，現在の食品衛生法では食品への電解海水の使用は認められていないため，食材としての魚介類の洗浄，除菌，殺菌には食塩電解水を使用する必要がある。幅広い分野で海水電解殺菌装置を利用できるようにするため，電解海水の承認を目的に基礎データを蓄積しなければならない。

謝　辞

稿を終えるにあたり，終始御指導，御鞭撻を賜り，また厳密な論文の御校閲を頂いた北海道大学大学院水産科学研究科応用生物科学講座教授吉水　守博士，同教授田島研一博士ならびに広島大学大学院生物圏科学研究科・生物生産学部水族生理学研究室教授難波憲二博士に深甚なる謝意を表するとともに，種々の有益なる御助言と御教授を頂いた北海道大学大学院水産科学研究科応用生物科学講座助教授西澤豊彦博士，澤辺智雄博士に深く感謝申し上げます。また，本研究の遂行にあたり，種々の便宜とご協力を頂いた独立行政法人水圏総合センター古満目栽培漁業センター渡辺研一博士，独立行政法人さけ・ます資源管理センター健康管理研究室長野村哲一博士に厚くお礼申し上げます。さらに実験上協力頂いた，北海道大学大学院水産科学研究科応用生物科学講座水圏細胞工学研究室の大学院生，4年目学生諸氏ならびにCOE榊田郁子技術補助員に感謝の意を表します。

参 考 文 献

Aboul-Ela, I. A. (1958): Effect of ultraviolet radiation on oyster. *Nature*, 181, 1013.

Baker, B. (1986): Ozonation of hatchery water supply at Coleman National Fish Hatchery, Proceedings of North West Fish Culture Conference, Springfield, OR.

Brown, C. and D. J. Russo (1979): Ultraviolet light disinfection of shellfish hatchery sea water. I. Elimination of five pathogenic bacteria, *Aquaculture*, 17, 17-23.

Burleson, G. R., T. M. Murray and M. Pollard (1975): Inactivation of viruses and bacteria by ozone, with and without sonication. *Appl. Microbiol.*, 29, 340-344.

Clemens, K. (1986): Water supply disease problems and ozonation. Proceedings of North West Fish Culture Conference, Springfield, OR.

絵面良男・清水　潮 (1990): 細菌叢に関する調査. 「沿岸環境調査マニュアルII 日本海洋学会編」, 恒星社厚生閣, 東京, pp. 357-372.

富士養鱒場 (1990): 富士養鱒場だより, 131, 569-570.

Hoffman, G. L. (1974): Disinfection of contaminated water by ultraviolet irradiation, with emphasis on whirling disease (*Myxosoma cerebralis*) and its effect on fish. *Trans. Ammer. Fish. Soc.*, 19, 541-550.

北海道水産林務部水産経営課 (2000): 北海道水産物品質管理高度化モデル計画. 北海道水産林務部水産経営課, 北海道, 43p.

Huss, H. H., A. Reilly, P. K. B. Embarek. (2000): Prevention and control of hazards in seafood. *Food Control*. 2000; 11: 149-156.

伊藤慎悟・吉水　守・絵面良男 (1997): 人工海水中における低濃度オキシダントの魚類病原微生物に対する殺菌・不活化効果. 日水誌, 63, 97-102.

伊藤慎悟・吉水　守・呉　明柱・日向進一・渡辺研一・早川　豊・絵面良男 (1996): 海水のオゾン処理による飼育水の殺菌効果とヒラメ (*Paralichys olivaceus*) およびマツカワ (*Verasper moseri*) の生存率に及ぼす影響. 水産増殖, 44, 457-463.

笠井久会・吉水　守 (2001a): 海水電解装置による魚類飼育用水と排水の殺菌, アクアネット, 4(4), 52-55.

笠井久会・吉水　守 (2001b): オゾンによる魚類飼育用水の殺菌法－特に海水への応用－, 日本医療・環境オゾン研究会会報, 8, 2-6.

Kasai, H. and M. Yoshimizu (2002a): Disinfection of seawater for aquaculture by electrolyzation and its application for hygiene and sanitation of fishing port. In 『Proceedings of the 2002 Autumn Joint Meeting of Korean Society of Fisheries Science』, pp. 15-25, October 18, 2002, Kunsan University, Korea.

Kasai, H. and M. Yoshimizu (2002b) Disinfection of seawater for aquaculture by electrolyzation. 『Proceedings of the Workshop for Core University Program on Fisheries Sciences, "Health managements of aquatic organisms: Disease problems and control strategy in seed production』, pp. 9-11, December 17-18, Cheju, Korea.

笠井久会・吉水　守 (2002c): 海水殺菌システムの現状とその効果. 月刊養殖, 臨時増刊号「養魚施設ガイド」: 89-94.

笠井久会・吉水　守 (2003a): 魚類病原微生物の紫外線感受性および種苗生産施設における飼育用水の殺菌効果.『第2回FiSCUP日韓共同セミナー講演要旨集』, pp. 142-143, 2002年8月20-23日, 札幌・大沼, 日本.

笠井久会・吉水　守 (2003b) 海水電解装置による漁港内海水の殺菌と漁獲物の衛生管理への応用, 日水誌, 69: 955-959.

笠井久会・石川麻美・堀　友花・渡辺研一・吉水　守 (2000): 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, 66, 1020-1025.

笠井久会・渡辺研一・吉水　守 (2001a): バッチ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. 水産増殖, 49, 237-241.

笠井久会・渡辺研一・吉水　守 (2001b): 流水式海水電解装置による飼育排水の殺菌. 日水誌, 67, 222-225.

Kasai, H., M. Yoshimizu and Y. Ezura (2002): Disinfection of water for aquaculture. *Fish. Sci.*, 68 (Supplement I), 821-824.

笠井久会・大沢秀一・小林　正・吉水　守 (2002a) 飼育用水の中圧紫外線処理によるヒラメスクーチカ症の防除, 魚病研究, 37: 199-200.

笠井久会・中村暢之・吉水　守 (2002b): 道東の標津川, 伊茶仁川および古多糠川の細菌学的調査. 北大彙報, 53, 75-82.

笠井久会・中村哲士・吉水　守 (2002c): 砂原漁港の細菌学的調査. 北大彙報, 53, 69-73.

Kasai, H., K. Sasaki, J. Kumagai and M. Yoshimizu (2004): Creating a safe and worry-free salmon products using a HACCP system from fishing through processing to distribution- the Shibetsu Town District HACCP program model, In 『Proceedings of the Japan-Thailand Joint Seminar on Fisheries Sciences』, in press, December 20-21, 2004, Bangkok, Thailand.

笠井久会・野村哲一・吉水　守 (2004a) : 秋サケの食品としての安全性確保について. 魚と卵, 170, 1-8.

笠井久会・杉山絵美・吉水 守 (2004b) 衛生管理型標津漁港の細菌学的調査, 日水誌, 70: 60-65.

柏木正章・佐藤亜紀子・坂東栄太郎・吉岡　基・上野隆二・中村雅昭・出野　裕 (2000a): 殺菌作用を有する電解水3種の物理化学的性質と保存性. 水産増殖, 48, 559-564.

柏木正章・前川　縁・田中洋美・吉岡　基・上野隆二・星合愿一・畑井喜司雄・出野　裕・中村雅昭 (2000b): 弱アルカリ性電解水のミズカビ病原菌, *Saprolegnia parasitica*に対する殺菌効果. 水産増殖, 48, 565-569.

Kimura, T. and M.Yoshimizu (1991): Viral diseases of fish in Japan. *Ann. Rev. Fish Dis.*, 1, 67-82.

木村喬久・吉水　守 (1991): 水産養殖システムの殺菌. 「新殺菌工学実用ハンドブック, 高野光男・横山理雄監修」, サイエンスフォーラム, 東京, pp. 220-226.

木村喬久・吉水　守・田島研一・絵面良男・坂井　稔 (1976): 養魚用水の紫外線殺菌について－I　魚病原因菌ならびに養魚水中生存菌の紫外線感受性について. 日水誌, 42, 207-211.

木村喬久・吉水　守・田島研一, 絵面良男 (1980): 養魚用水の紫外線殺菌について－II　魚病原因ミズカビの紫外線 (U.V.) 感受性について. 魚病研究, 14, 133-137.

小林立弥・山根綾子・李　南實・宮田雅人・宮崎照雄 (1999): 中性食塩電解水の殺ウイルス効果. 水産増殖, 47, 97-101.

国立感染症研究所 (2000): 肥育牛における腸管出血性大腸菌 O157 の感染発症事例. 病原微生物検出情報, 21(5), 96-97.

小宮山　機 (1998): 各種電解水装置と機能水の種類. 第5回機能水シンポジウムプロシーディングス, '98横浜大会, 1998, pp. 54-55.

厚生労働省 (2001): 腸炎ビブリオ食中毒防止対策のための水産食品に係る規格及び基準の設定について. 薬食審第120号.

松永　是 (1999): 電気殺菌の原理と応用. 「電気殺菌による微生物制御」, エヌ・ティー・エス, 東京, pp. 1-26.

三村　元 (1991): 排水処理技術の基礎と水産増養殖排水における留意点. 養殖, 28(12), 72-77.

三村　元・長瀬俊哉 (1996): 養魚排水処理システムの最新動向. 養殖, 33(3), 146-151.

村山智正 (1999): 電気殺菌の海生生物付着防止への応用.「電気殺菌による微生物制御」, エヌ・ティー・エス, 東京, 1999, pp. 65-94.

Muroga , K. (2001): Viral and bacterial diseases of marine fish and shellfish in Japanese hatcheries. *Aquaculture*, 202, 23-44.

日本水産資源保護協会 (1990): さけ・ます養殖における防疫事例集, 日本水産資源保護協会, 東京, p. 262.

日本薬学会編 (1996): 繁用衛生試験法と解説, 南山堂, 東京, p. 193.

野村哲一・笠井久会 (2003) : さけ・ます増殖における防疫対策. 魚と卵, 169, 1-12.

(財)農林統計協会 (2004): 図説水産白書平成 15 年度. (財)農林統計協会, 東京.

尾上洋一・品川邦汎 (1990): 黄色ブドウ球菌.「食品衛生検査指針　微生物編, 上田雄幹, 三瀬勝利, 熊谷　進編集」, (社)日本食品衛生協会, 東京, 160-167.

Ozawa, T. (1989): 9_{th} World Congress and Exhibition, June 3-9, New York.

Reuter, G. (1998): Disinfection and hygiene in the field of food of animal origin. *Int. Biodeterior. Biodegrad.*, 41, 209-215.

坂井　稔 (1956): 牡蠣に関する公衆衛生学的研究－特に細菌汚染とその浄化に就て－. 広島衛研報, 6, 65-112.

坂井勝信・太田博巳 (1990) : 飼育用水および魚病実験排水の殺菌処理システム. 養殖, 27(11), 82-84.

標津町地域 HACCP 推進委員会 (2000): 標津町地域 HACCP 推進マニュアル策定報告書, 標津町地域 HACCP 推進委員会, 北海道, p. 122.

(社) マリノフォーラム21 (1991): 海水殺菌装置評価基準, (社)マリノフォーラム21, 東京, p. 220.

(社)マリノフォーラム21 (1995): 中空糸膜精密ろ過装置 (水産用) 評価基準, (社)マリノフォーラム21, 東京, p. 120.

(社)マリノフォーラム21 (2000): 排水処理システムに関する技術資料. (社) マリノフォーラム21 技術資料 No.38, (社)マリノフォーラム21, 東京, p. 78.

Shewan, J.M., G. Hobbs and W. Hodgkiss (1960) The *Pseudomonas* and *Achromobacter* groups of bacteria in the spoilage of marine white fish. *J. appl. Bacteriol.*, 23, 463-468.

Sugita, H., T. Asai, K. Hayashi, T. Mitsuya, K. Amanuma, C. Maruyama and Y. Deguchi (1992): Application of ozone disinfection to remove *Enterococcus seriolicida*, *Pasteurella piscicida*, and *Vibrio anguillarum* from seawater. *Appl. Environ. Microbiol.*, 58, 4072-4075.

塚田　修・大東達明・坂本信二・山口勝信 (1996): 水槽透明度向上のため導入した海水電気分解装置の適正塩素注入量について. 動物園水族館雑誌, 38, 1-7.

Vlasenko, M. I. (1969): Ultraviolet rays as a method for the control of disease of fish eggs and young fishes. *J. of Ichtyol.*, 9, 697-705.

渡辺研一・吉水　守 (1998): オゾン処理海水を用いた飼育器具類および受精卵の消毒, 魚病研究, 33, 145-146.

渡辺研一・吉水　守 (2001): 電解海水による飼育器具の消毒. 日水誌, 67, 304-305.

Watanabe, K., T. Nishizawa and M. Yoshimizu (2000): Selection of brood stock candidates of barfin flounder using an ELISA system with recombinant protein of barfin flounder nervous necrosis virus, *Dis. Aquat. Org.*, 41, 219-223.

Waugh G. D. (1958): Ultraviolet sterization of water used for rearing oyster larvae. *Nature*, 181, 1747.

Wedemeyer, G. A. and N. C. Nelson (1977): Survival of two bacterial fish pathogens (*Aeromonas salmonicida* and enteric red mouth bacterium) in ozonized, chlorinated, and untreated waters. *J. Fish. Res. Bd. Canada*, 34, 429-432.

Wedemeyer, G. A., N. C. Nelson and C. A. Smith (1978): Survival of the salmonid viruses infectious hematopoietic necrosis virus, *J. Fish. Res. Bd. Canada*, 35, 875-879.

Wedemeyer, G. A., N. C. Nelson and W. T. Yasutake (1979): Physiological and biochemical aspects of ozone toxity to rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *J. Fish. Res. Bd. Can.*, 36, 605-614.

Yamamoto, H., Y. Ezura, T. Kimura (1982): Effects of antibacterial action of seawater on the viability of some bacterial species. *Nippon Suisan Gakkai Shi*, 48, 1427-1431.

山本竜太郎・中村　隆・宇賀神義宣・池田　順 (2002): 環境・衛生管理型漁港づくり計画手法. 第46回全国漁港漁場建設技術研究発表会講演集, 81-89.

吉水　守 (1981): 紫外線による養魚用水の殺菌. 養殖, 18(11), 150-156.

吉水　守 (1992): 魚類養殖および栽培漁業でのオゾンの利用. オゾン年鑑 93-94年度版, リアライズ社, 東京, pp. 401-409.

吉水　守 (1996): 魚類のウイルス. ウイルス, 46, 49-52.

吉水　守 (1998): 用水および排水の殺菌. 「魚類防疫 月刊海洋 号外No.14」, 海洋出版株式会社, 東京, pp. 112-117.

吉水　守 (2002): 標津川におけるサケ加工へのHACCP導入. 農林統計調査, 2002年3月号, 17-22.

吉水　守・野村哲一 (1989): サケマス採卵親魚の病原微生物検査法, 魚と卵, 158, 49-59.

吉水　守・日向進一 (1992): 養魚用水の殺菌法－紫外線およびオゾンの利用－. 工業用水, 404, 2-8.

吉水　守・笠井久会 (2002a): 飼育用水の中圧紫外線処理によるスクーチカ症の防除. 「FiSCUP第3部会水棲生物の健康管理：種苗生産期における疾病対策に関するワークショップ講演要旨集」, pp. 15-16, 2002年12月17-18日, 済州島, 韓国.

吉水　守・笠井久会 (2002b): 種苗生産施設における用水及び排水の殺菌. 工業用水, 523, 13-26.

吉水　守・笠井久会 (2002c): 水産物の安全性確保について－漁獲から加工・流通・消費まで－. 『第46回全国漁港漁場整備技術研究会講演集』, pp. 1-6, 2002年9月10日, 島原市, 日本.

吉水　守・笠井久会 (2004): 魚介類の飼育排水の処理について－環境に対する微生物負荷の軽減と病原体の拡散防止. アクアネット, 7(6), 26-30.

吉水　守・笠井久会 (2005): 魚類ウイルス病の最前線—その現状と防除対策. 化学と生物, 43(1), 48-58.

吉水　守・木村喬久・坂井　稔 (1976): サケ科魚類の腸内細菌叢に関する研究I 飼育魚の腸内細菌叢. 日水誌, 42, 91-99.

吉水　守・瀧澤宏子・木村喬久 (1986): 魚類病原ウイルスの紫外線感受性. 魚病研究, 21, 47-52.

吉水　守・佐見　学・小原昌和・山崎隆義・木村喬久 (1991): 限外濾過濃縮法による飼育水中IHNVの検出および紫外線のIHNV不活化効果について. 日水誌, 57, 555-560.

Yoshimizu, M., S. Hyuga, M.-J. Oh, S. Ito, Y. Ezura and G. Miura (1995): Disinfectant effect of oxidant produced by ozonization of sea water on fish pathogenic viruses, bacteria, and ciliata. In 『Diseases in Asian Aquaculture II (ed. by M. Shariff, J.R.Arthur and R.P.Subasinghe)』, pp.203-209, Asian Fisheries Society, Manila, October25-29, 1993.

Yoshimizu, M., K. Suzuki, T. Nishizawa, J. R. Winton, and Y. Ezura (1997): Antibody screening for the identification of nervous necrosis virus carriers in a flounder brood stock. In "New Approach to Viral Diseases of Aquatic Animals" (ed. by Y. Inui), NRIA, Ise, December, 21-24, 1996.