



Title	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
Author(s)	笠井, 久会; 渡辺, 研一; 吉水, 守
Citation	水産増殖, 49(2), 237-241
Issue Date	2001-06
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/38525
Rights	© 2001 日本水産増殖学会
Type	journal article
File Information	yoshimizu-146.pdf



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

笠井久会・渡辺研一・吉水 守

(2001年4月2日受理)

Disinfectant Effects of Hypochlorite Produced by Batch Electrolytic System on Fish Pathogenic Bacteria and Virus

Hisae KASAI^{*1}, Ken-ichi WATANABE^{*2}, and Mamoru YOSHIMIZU^{*1,3}

Abstract: The bactericidal and virucidal effects of hypochlorite produced by batch electrolytic system were examined for fish pathogens. Sodium chloride solutions, ranging from 0.5 to 3%, were electrolyzed and the concentration of chlorine produced was measured. Almost same concentration of chlorine was produced when 1.0% or more NaCl solution and seawater were electrolyzed. Fish pathogenic bacteria or virus was added to electrolyzed water and exposed to hypochlorite. More than 99% cells of *Vibrio anguillarum*, causative agent of fish vibriosis, were killed when the bacteria were exposed to 0.21 mg/l hypochlorite for 1 min. Yellowtail ascites virus (YAV) and hirame rhabdovirus (HIRRV), the causative agents of viral ascites disease and rhabdovirus disease of marine fish, were inactivated more than 99% after treatment with 0.42 mg/l hypochlorite for 1 min. The number of viable bacteria in the hatchery supply-seawater was reduced more than 99% when the water was treated with hypochlorite of 0.54 mg/l for 1 min. And more than 99% cells of viable bacteria in the waste-seawater were killed when the water was treated with hypochlorite of 0.64 mg/l for 5 min. The batch system developed in this study revealed remarkable bactericidal and virucidal effects, which were very similar to those in continuous flow-water system.

Key words: Electrolysis; Electrolyzed solution; Hatchery water; Disinfection

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¹⁻⁶⁾、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。著者らは前報において流水式海水電解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⁴⁾。また、その殺菌効果を利用し飼育用器具・機材の消毒効果についても検討し、十分な消毒効果が得られることを報告した⁵⁾。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報告した⁶⁾。

流水式海水電解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、今回試作機を供試し、前報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、また流水式とバッチ式の両装置の殺菌能力を比較した。

材料と方法

海水電解装置 本研究にはバッチ式海水電解装置

^{*1} 北海道大学大学院水産科学研究科 (Graduate School of Fisheries Sciences, Hokkaido University, Minato, Hakodate, Hokkaido, 041-8611, Japan).

^{*2} 日本栽培漁業協会厚岸事業場 (Akkeshi Station of Japan Sea-Farming Association, Chikushikoi, Akkeshi, Hokkaido, 088-1108, Japan).

^{*3} Correspondence author.

(セルフレッシャー[®]、試作機、(株)ホクト環境システム) および流水式海水電解装置 (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 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℃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 (YAV) 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。YAV 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、MEM₁₀Tris (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 cm² 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} TCID₅₀/ml であった。

電気分解処理水による殺菌・不活化効果判定試験 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0.2A 電圧を3V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10⁶CFU/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MEM₁₀Tris 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⁷⁾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装置による殺菌効果の判定 鳥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。

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次亜塩素酸産生量を Fig. 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 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 YAV および HIRRV に対する試験結果を Table 2 に示した。YAV 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

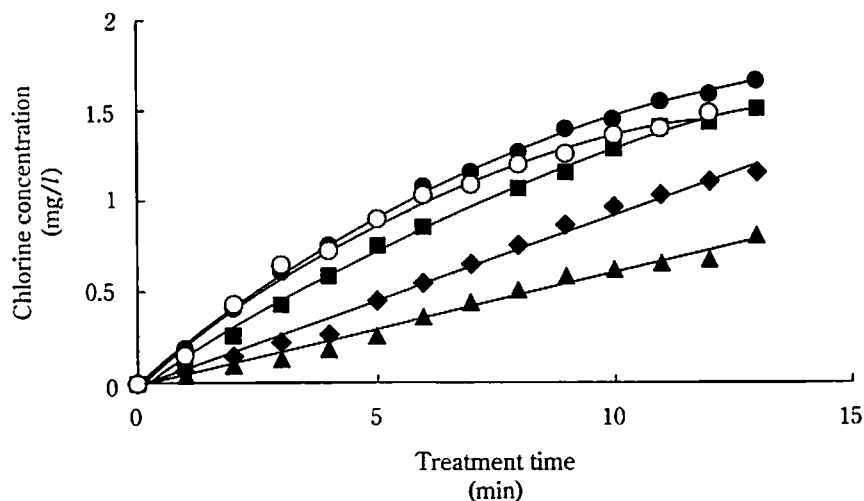


Fig. 1. Concentration of chlorine produced by batch electrolytic system (0.2A, 3V). ●: 3% NaCl, ■: 1% NaCl, ◆: 0.85% NaCl, ▲: 0.5% NaCl, ○: Seawater.

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

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

*¹ Initial viable bacterial numbers were 1.1×10^7 CFU/ml (chlorine concentration is 0.21 and 0.62) and 1.7×10^7 CFU/ml (chlorine concentration is 0.75 and 1.02).

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

率は91.75%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)。

飼育排水のバッチ式海水電解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

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

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
YAV * 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 $10^{4.1}$ TCID₅₀/ml.

*² Initial viral infectivity was $10^{5.3}$ TCID₅₀/ml.

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 4)。

流水式海水電解装置との比較 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 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。

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、本報で供試したバッチ式海水電解装置ならびに前報で供試した流水式海水電解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。

今回、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

Table 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 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 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

に増加した。そして1%以上の食塩濃度であれば、海水とはほぼ同程度の次亜塩素酸産生量が得られた。本報ではバッチ式海水電解装置の殺菌効果を前報の流水式海水電解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報で供試した *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 YAV と、最も感受性が高いヒラメラブドウイルス HIRRV を供試し⁸⁾、これらの殺菌および不活化効果を検討した。

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 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 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、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、電気分解による殺菌処理が容易であると考えられる (Table 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)。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ものとする (Tables 3-5)。

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と考える。しかし今回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できると考えられる。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、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。

要 約

バッチ式海水電解装置を用い、3%食塩水を電気分解して得られた電解水の魚類病原細菌あるいはウイルスの殺菌・不活化効果を検討した。同時に飼育用水ならびに飼育排水の殺菌効果も検討した。1%濃度以上の食塩水を電気分解すると海水程度の次亜塩素酸が生成した。有効塩素濃度0.21 mg/l, 1分間の処理で供試細菌が99%以上、0.42 mg/l, 1分間の処理で供試ウイルスが99%以上不活化された。飼育用濾過海水については0.54 mg/l, 1分間の処理で99%以上、飼育排水についても0.64 mg/l, 5分間の処理で99%以上の殺菌効果が得られた。また、流水式海水電解装置との比較試験により、両装置はほぼ同等の殺菌能力を有することが明らかにな

った。

謝 辞

本研究を行うにあたり、バッチ式海水電解装置の提供および助言を頂いた(株)ユニチカエンジニアリング事業本部の藤沢末代吉・小原秀人の両氏、鳥根県栽培漁業センターおよび日本栽培漁業協会厚岸事業場の関係各位に感謝申し上げます。また本研究は文部省科学研究費基盤研究 (B) 展開 (課題番号09556041) によった。ここに記して感謝申し上げます。

参考文献

- 1) 小林立弥・山根綾子・李 南実・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(1), 97-101.
- 2) 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 (2000): 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(3), 559-564.
- 3) 柏木正章・前川 緑・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 (2000): 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(3), 565-569.
- 4) 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(6), 1020-1025.
- 5) 笠井久会・渡辺研一・吉水 守 (2001): 流水式海水電解装置による飼育排水の殺菌. 日水誌, 受理済.
- 6) 渡辺研一・吉水 守 (2001): 電解海水による飼育器具の消毒効果. 日水誌, 受理済.
- 7) Yamamoto, H., Y. Ezura, and T. Kimura (1892): Effects of antibacterial action of seawater on the viability of some bacterial species. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 48(10), 1427-1431.
- 8) 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(1), 47-52.