HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	オゾンによる魚類飼育用水の殺菌法 ： 特に海水への応用
Author(s)	笠井, 久会; 吉水, 守
Description	ミニレビュー
Citation	日本医療・環境オゾン研究会会報, 8(3), 2-6
Issue Date	2001-08
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/39508
Type	journal article
File Information	yoshimizu-143.pdf

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

日本医療・環境オゾン研究会会報
Bulletin of Japan Research Association
for the Medical & Hygienic Use of Ozone
Vol.8, No.3
(通巻 No.28)
Aug. 2001
ISSN 1345-1669

ミニレビュー

オゾンによる魚類飼育用水の殺菌法-特に海水への応用-

北海道大学大学院水産科学研究科
笠井 久会、吉水 守

1．はじめに

養殖業の発展と作り育てる漁業の定着化にともない、養殖用あるいは放流用種苗としての人工種苗の生産量は年々増加し、養殖業の生産額も高水準を維持している。魚介類の増養殖において，飼育施設，飼育用水，餌料等の管理には十分な注意が払われているが，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，その生産に深刻な打撃を与え大きな問題となっている[1-3]。

これら病気の防疫手法として，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)[4]をはじめ，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[5]。なかでも飼育用水の殺菌は重要な課題である。

水の殺菌法としては古くから紫外線殺菌が用いられ[6-10]，魚類飼育用水の殺菌に関しても水道水のように，塩素による消毒を実施し病気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[11]。これらの殺菌法の他，オゾンを用いた殺菌装置も淡水魚の養殖現場を中心に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。最近では高分子濾過膜を使用した濾過除菌法も開発され，イセエビ等の種苗生産施設で使用されている[12]。しかし低コストで大量の水を処理しなければならない養魚用水の殺菌処理法としては，いずれの方法も技術的，経済的に解決しなければならない問題が多い。

水そのものの理化学的性質を変えることなく飼育用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。しかし、紫外線処理では殺菌が難しい魚類病原体も存在することから，今回、オゾンの魚類病原性微生物に対する殺菌あるいはウイルス不活化効果を検討し，飼育用水、特に海水の殺菌効果について検討した。ここでは、その経緯および具体的な使用方法等について紹介する。

2．オゾン殺菌法

水産現場におけるオゾン殺菌法は，高圧放電法あるいは電解質高分子膜を用いる電解法により発生した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ものである[12]。オゾンは強力な殺菌作用がある反面，人体や魚に対しても毒性を示すため，曝気あるいは活性炭によりオゾンもしくは反応生成物を除去し，飼育用水として用いる必要がある（図1）。特に海水中には種々の微量成分が存在し，これらと反応したオゾンはオキシダントとなり，かなり長期間残留し魚毒性を示す。

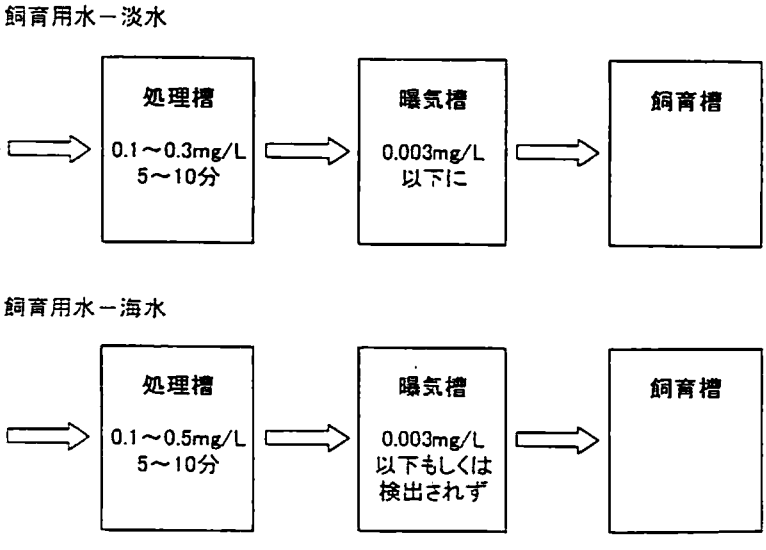

図1．飼育用水（淡水および海水）のオゾン処理図式

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[13-15]。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0.0083mg/L (体重7.0g群)～0.028mg/L (同150g群:オゾンガス量)と報告している[16]。上記の報告では、魚の飼育には0.003mg/L以下にする必要があるとされている。このような低濃度のオゾン量を測定することは現状ではなかなか困難であり，オゾン濃度を連続的に測定，監視できる装置の開発が望まれている。

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に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。しかし、低濃度のオゾンを直接飼育水中に吹き込む方法の場合、飼育水中のオゾン濃度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)。現在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伝染性造血器壊死症ウイルス (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，やはり図-1に示したような方法を採るべきと考える。

3．魚類病原微生物のオゾン (オキシダント) 感受性

オゾンの殺菌効果には他の殺菌剤と同様に選択性があり，グラム陰性菌は感受性が高いものの，大部分のグラム陽性菌，酵母，放線菌などは抵抗性が強いことが知られている[17]。魚類病原性微生物のオゾン感受性についても検討されて，代表的な魚類病原性細菌，ウイルスおよび寄生虫に対するオゾンの殺菌効果を表-1に示した。表-1では主として海水中での魚類病原性微生物のオゾン感受性(オキシダント感受性)を示し，比較のため淡水中での衛生細菌および病原性ウイルスのオゾン感受性を示した。淡水中での代表的な魚類病原性細菌，*Aeromonas salmonicida* (せっそう病原因菌) および*Yercinia ruckeri* (口赤病原因菌)，ならびにIPNV (伝染性膵臓壊死症ウイルス) およびIHNV (伝染性造血器壊死症ウイルス) を殺菌あるいは不活化するオゾン処理条件は0.01～0.04mg/Lで30秒であった[13,15]。一方海水中ではせっそう病およびビブリオ病原因菌をはじめとする6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ゾン量 (オキシダント量として測定)は，いずれも0.5mg/Lで15～60秒 (0.2～0.3 mg/Lでは60秒) であった[18,21]。一方魚類病原性ウイルスの感染価を99%以上減少させるオキシダント量は，ブリの膵肝壊死症原因ウイルス (YAV) およびヒラメのラブドウイル

表1．海水中での魚類病原性微生物のオキシダント感受性

微生物	環境水	オゾン濃度 (mg/L)	処理時間 (sec)	殺菌効果 (%)	処理時の菌数 (Log.)*	文献
YAV (ウイルス性腹水症原因ウイルス)	海水	0.5	60	>99	4.3	18
HIRRV (Hirame rhabdovirus)	海水	0.5	15	>99	5.5	18
IPNV (伝染性膵臓壊死症ウイルス)	海水	0.5	60	>99	4.0	18
IHNV (伝染性造血器壊死症原因ウイルス)	海水	0.5	15	>99	4.0	18
CSV (Chum salmon virus)	海水	0.5	60	>99	4.0	18
OMV (*Oncorhinchus masou* virus)	海水	0.5	15	>99	3.0	18
Aeromonas salmonicida ATCC 14174	海水	0.5	15	100	5.1	18
Aeromonas hydrophila IAM 1018	海水	0.5	15	99.9	4.6	18
Aeromonas punctata IAM 1646	海水	0.5	15	99.9	4.0	18
Viblio anguillarum NCMB 6	海水	0.5	60	99.9	5.6	18
Escherichia coli O-26	海水	0.5	15	99.9	6.5	18
Streptococcus sp. YT-3	海水	0.168	60	99.9	6.0	21
Viblio anguillarum ATCC 19264	海水	0.142	60	99.9	6.0	21
Pasteurella piscicida K-III	海水	0.086	60	99.9	6.0	21
スクーチカ繊毛虫	海水	0.8	30	99.9	5.5	18
Aeromonas salmonicida	淡水	0.04	30	100	4.0	13
Yercinia ruckeri	淡水	0.01	30	100	4.0	13
IPNV (伝染性膵臓壊死症ウイルス)	淡水	0.01	60	100	4.0	15
IHNV (伝染性造血器壊死症原因ウイルス)	淡水	0.01	30	100	4.0	15

*: TCID50/mL, CFU/mL もしくは虫体数.

ス (HIRRV)は，それぞれ1mg/L, 60秒および0.5mg/L，30秒であった。サケ科魚類の伝染性膵臓壊死症ウイルス (IPNV)，Chum salmon virus (CSV)，伝染性造血器壊死症ウイルス (IHNV)，*Oncorhynchus masou* viru(OMV) も海水中では0.5～1.0 mg/Lで15～30秒を要した[18]。魚類病原性寄生虫の場合，スクーチカ類繊毛虫では海水中で0.8mg/L, 30秒であった[18]。また，淡水中であるが，セラトミキサやミキソゾーマに対しても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[19,20]。同時にオゾンガス気泡そのもののウイルス不活化効果を検討したところ，同一条件で生成されるオキシダントのウイルス不活化効果とほぼ同程度の効果がありオゾン殺菌はオゾンガスそのものと生成オキシダントの効果の両者によることが明らかとなった[21]。

4．海産魚の陸上養殖あるいは栽培漁業でのオゾンの利用

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にこれら成分，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，かなりの長期間残留し魚毒性を示す。残留オキシダントの半減期は22時間以上[12]，魚毒性はマツカワの場合，0.1mg/Lのオキシダントを含む海水で16時間後，0.5mg/Lでは2時間後に全数死亡し (表-2)[23]，さらに孵化仔魚および変態期の稚魚では0.5mg/Lのオゾン処理海水で12.3分および21.1分後に死亡した[23]。ニシンの仔魚でも同様に12.9分と18.6分であった[23]。同様の魚毒性はヒラメ，マダイ，オオニベでも報告されている[12,24]。しかし甲殻類は比較的感受性が低く，ケガニおよびハナサキガニでは0.5mg/Lのオゾン処理海水で45時間および139時間生存した[23]。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。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[22,25]。

表2．オゾン処理海水のマツカワに対する魚毒性

実験区	飼育用水	接触時間 (hour)					
		0	0.5	1	1.5	2	16
I	無処理対照	5/5*	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5
	オゾン処理	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5
	オゾン濃度 (mg/L)	0.12	-**	-	-	-	0.065
II	無処理対照	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	-
	オゾン処理	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	-
	オゾン濃度 (mg/L)	0.45	0.39	0.43	0.45	0.46	-

*：生残魚数／供試魚数.
**：測定せず.

表3．青森県増殖センターでの飼育水のオゾン、紫外線試験の条件と処理水を用いたヒラメの飼育成績*

	オゾン処理	紫外線処理	対照
処理条件	1.0mg/L, 8.5分 (荏原実業K.K.製)	6.0×107 μW·sec/cm^2 (荏原実業K.K.製)	無処理
供試尾数	2,500	2,500	2,500
体長 (mm)	16.5	16.5	16.5
歩留まり (%)	70.2	76.8	71.5
平均全長 (mm)	49.6	47.9	48.0
平均体重 (mm)	1.19	1.07	1.11

*：30日間飼育後の歩留まり，体長，体重．0.5t円型FRP水槽を使用．流入水量10L/min.

種苗生産システム研究会 (マリノフォーラム21) が青森県増殖センターで行ったオゾン処理海水を用いたヒラメの飼育試験条件とそのときの飼育成績を表-3に示した[22]。このときの生菌数の変動は表-4のようになり，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ところ，飼育用水中の細菌数は約1/1万に減少し (紫外線処理の場合約1/100～1/10に減少)，オゾン処理の有効性が確認され，飼育魚の生存率も紫外線処理区とほぼ同等の値を示した。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[22]。また北海道内での同様の飼育試験でもほぼ同様の成果が得られ，さらにOzawa[26]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。日本栽培漁業協会では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。

表 4. 飼育用海水のオゾン処理、活性炭通過および紫外線処理による生菌数の変化（CFU / mL)

処理過程	6月11日 (mg/L)	18日 (sec)	25日 (%)	7月2日 (Log.)
飼育用水	5.7×10^{4}	3.1×10^{4}	4.3×10^{4}	6.1×10^{4}
オゾン処理後	2.4×10^{1}	3.5×10^{0}	4.4×10^{1}	1.3×10^{1}
活性炭通過後	8.6×10^{4}	4.7×10^{4}	2.4×10^{4}	1.4×10^{4}
紫外線処理後	7.9×10^{2}	1.4×10^{2}	1.1×10^{2}	1.5×10^{2}

一方、紫外線ランプとして低圧水銀ランプを使用した場合，波長185 nmと254 nmの紫外線を発生する。このうち185 nmの波長により空気中のO_2がO_3に変化する現象を利用してオゾンと254nmの紫外線による上述の殺菌法を併用した装置も市販されている。この装置で海水を処理すると残留オキシダントが蓄積し，魚毒性を示すことが心配され，循環飼育水への使用等には注意が必要である。

5．オゾン処理海水による飼育器具類の消毒

オゾン処理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。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る(表- 5)[27]。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った(表-5)[27]。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。

表 5. オゾン処理海水による飼育用器具類およびマツカワ受精卵表面の殺菌効果

試料	オゾン濃度 (mg/L)	処理時間 (min)	生菌数 処理前 (CFU/cm² or g)	生菌数 処理後 (CFU/cm² or g)	殺菌率 (%)
タモ網	0.5	30	3.0×10^{4}	2.3×10^{1}	>99.9
注水ネット	0.5	30	4.9×10^{4}	1.1×10^{1}	>99.9
キャンバス地	0.5	30	4.8×10^{4}	3.7×10^{0}	>99.9
ホース	0.5	30	2.2×10^{4}	3.5×10^{0}	>99.9
ビーカー	0.5	30	5.2×10^{3}	2.6×10^{0}	>99.9
バケツ	0.5	30	1.7×10^{3}	6.0×10^{-1}	>99.9
ゴム長靴	0.5	120	2.1×10^{4}	1.3×10^{0}	>99.9
受精卵	0.5	10	3.5×10^{4}	3.6×10^{1}	99.9

6．今後の課題

養魚用水は大量の水を必要とし，かつ魚などの生物を安全に飼育する必要がある。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ない。海水をオゾン処理した場合、活性炭によりオキシダントを除去する必要がある。淡水をオゾン処理する場合も，環境改善を目的に低濃度のオゾンを直接飼育池に吹き込む方式は別として，殺菌を目的とする場合には，有効オゾン濃度を一定時間保ち，その後、曝気により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減少させる必要がある。

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性原微生物が異なり，処理濃度の

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0.1mg/L，5分程度のオゾン処理で十分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，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には，オキシダント濃度として0.5mg/L程度にまで濃度を上げる必要があると考える。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必要がある。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る。

また病原体対策としては，単に飼育用水の殺菌のみにとどまらず，飼育排水を殺菌して河川あるいは海に戻す必要がある。この排水は量が多く、用水の殺菌以上に困難を伴うと考えられ，著者らは現在，海水の直接電気分解法を検討している[28-31]。飼育排水の殺菌は、飼育用水と同等あるいはそれ以上の重要性を持つと考えられ，これは近い将来の緊急かつ重要な課題である。

さらに飼育水槽，使用器具類等の消毒も重要な問題であるが，オゾン処理海水の一部を，活性炭を通す前に取り出すことにより，これらの消毒が可能となった。養殖場における具体的な殺菌方法に関しては別の成書[32]を参照願いたい。

7．参考文献

1) Kimura,T. and Yoshimizu,M. (1991)Ann.Rev.Fish.Dis.,1: 67-82.
2) 室賀清邦 (1995) 魚病研究，30: 71-85.
3) 西岡豊弘他 (1997) 水産増殖，45: 285-290.
4) 吉水　守・野村哲一 (1989) 魚と卵，158: 49-59.
5) 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，東京，p.262.
6) 吉水　守・日向進一 (1992) 工業用水，404: 2-8.
7) 木村喬久他 (1976) 日水誌，42: 207-211.
8) 吉水　守他 (1986) 魚病研究，21: 47-52.
9) 木村喬久他 (1980) 魚病研究，14:133-137.
10) 吉水　守 (1998) 海洋，号外No.14，112-117.
11) 吉水　守 (1981) 養殖，21:150-156.
12) マリノフォーラム21 (1991) 海水殺菌装置評価基準，東京，p.220.
13) Wedemeyer,G.A. and Nelson,N.C. (1977) J.Fish.Res.Bd Canada.,34: 429-432.
14) Wedemeyer,G.A. et al. (1978) J.Fish.Res.Bd Canada,35: 875-879.
15) Wedemeyer,G.A. et al. (1979) J.Fish.Res.Bd.Canada,36: 605-614.
16) 富士養鱒場 (1990) 富士養鱒場だより，131: 569-570.
17) 内藤茂三 (1993) オゾン年鑑93-94年度版，リアライズ社，東京，303-365.
18) Yoshimizu,M. et al. (1995) Diseases in Asian Aquaculture II,Phillipin, 203-209.
19) Clemens,K. (1986) Proceedings North West Fish CultureConference,Springfield,OR.
20) Baker,B. (1986) Proceedings North West Fish CultureConference,Springfield,OR.
21) 伊藤慎悟他 (1997) 日水誌，63: 97-102.
22) 伊藤慎悟他 (1996) 水産増殖，44: 457-463.
23) 渡辺研一 (1999) 日栽協，特別研究報告，15:1-71.
24) Ozawa,T. et al. (1989) 9th World Congress and Exhibition, June 3-9, New York.
25) 吉水　守 (1992) オゾン年鑑93-94年度版，リアライズ社，東京，401- 409.
26) Ozawa,T. (1990) オゾン応用技術の実際，サンユー書房，東京，65-75.
27) 渡辺研一・吉水　守 (1998) 魚病研究，33:145-146.
28) 笠井久会他 (2000) 日水誌, 66:1020-1025.
29) 笠井久会他 (2001) 日水誌, 67: 222-225.
30) 笠井久会他 (2001) 水産増殖, 49: 237-241.
31) 笠井久会・吉水　守 (2000) アクアネット, 4(4): 52-56.
32) 木村喬久・吉水　守 (1991) 新殺菌工学実用ハンドブック，東京，p.477.