

# 魚食性動物の人工餌料の開発とその経済的効果

## —海洋深層水を用いた新たな保存法について—

*The artificial food for marine mammals and its economical impact: the original method for the preservation of a raw food using the deep seawater*

太田光明・有嶋和義・大木 茂

麻布大学大学院獣医学研究科

Mitsuaki Ohta, Kazuyoshi Arishima, Shigeru Oki

Graduate School of Veterinary Science, Azabu University

---

**Abstract:** Most of the dolphins at the aquariums in Japan have been suffering from their health problem because of the deficit in the nutrients. They eat everyday nothing else the same food like mackerels and sardines that are not suitable for the foodstuff of people. Those foods have often been very old and less-watered. Consequently, the lifetime of dolphins in Japan is less than 15 years old, although that of a dolphin in the ocean is more than 40 years old. One of the backgrounds of the situation is that almost all the aquariums and the facilities keeping dolphins and marine mammals are in financial difficulties.

The major purpose in this study is to develop the well-combined and inexpensive foods for marine mammals kept in the artificial environments. In the first year, 2001, we have developed the new method to make an artificial food, with Nippi Inc. (Fujinomiya, Shizuoka), using the materials such as tunas and bony parts: the minced materials are filled up into a casing which is made from collagen (the collagen casing). Then, in 2002, we have discovered an original method to preserve raw foods with the deep seawater.

The deep seawater has properties such as cleanness and eutrophy. In recent years, its utilization in the field of fishery, the energy, the environment and the industry creation, has been studied. In some of these fields, it is put to practical use. Considering whole concept of port and costal zone in the future, the deep seawater seems to be very important as a precious resource in Japan. Therefore it is necessary to conduct multidisciplinary and technological studies of utilization of the deep seawater. In this study, we have demonstrated the possibility of the water quality to be used as the preservation of a raw food.

### 目 的

人の食品では食品の原材料、使用水、製造、包装工程に至るまで食品衛生法で食品区分ごとに規格が定められ、微生物殺菌が行われているが、これは人に限らずどのような動物用においても、留意しなけ

ればならない。現在の食品業界で使用されている殺菌方法には、加熱殺菌法 (heat sterilization) と冷殺菌法 (cold sterilization) の二通りがある。加熱殺菌法には蒸気、過熱蒸気、火炎、電熱、マイクロ波、赤外線、遠赤外線などによる加熱がある。一方、発熱を伴わない冷殺菌法としては、紫外線殺菌、放射

線殺菌，化学合成殺菌剤，静菌剤，天然抗菌剤，ガス殺菌，オゾン殺菌などによる化学的殺菌がある。しかし、『人工飼料』は生のまま保存しなければならない。さらに原材料から保存までの鮮度を維持するには，殺菌処理が迅速に行われ，なおかつ簡便に使用できるものでなければならない。また，殺菌処理に必要とされるコスト的なことも考慮すると，化学的殺菌も有効な方法とは言えない。

そこで，本研究では，人工飼料および主原料，イルカの腸管内壁，コールスローで食品の微生物汚染の程度を示す指標である一般生菌数，大腸菌群数を測定し，生で供する人工飼料の安全性，保存性，衛生的取り扱いを考えた。また，防腐剤を餌料の保存に用いず，少なくとも2週間の保存（5℃環境下）を可能とするため，自然界に存在し，低温安定性，富栄養性，清浄性，熟成性，ミネラル特性など多様な特性を持ち，電解処理でできた超酸化水と違い，時間経過によるpHの変化のない海洋深層水を用いた独自の殺菌方法について検討した。

## 方 法

海洋深層水原液のpHがpH0.5以下，pH1.6，pH3.3，pH13.0の4種類を用い，それらを段階希釈により100倍，1000倍希釈した海洋深層水計8種類を用いた。海洋深層水は蒸留水で希釈し，蒸留水は1度フィルターに通したもの（121℃，15分間高圧蒸気滅菌）を用いた。供試菌株は大腸菌（*E. coli*：Escherichia coli）：菌株名NIHJ JC-2を用いた。

培地は作用の確認に普通寒天培地（日水製薬）を，供試菌培養にはBHI平板培地およびBHI液体培地（DIFCO）を，平板に発育した菌種の判定にはDHL寒天培地（日水製薬）を用いた。

実験に使用する菌は，あらかじめBHI平板培地に培養し，活性化させた。前々培養として，BHI平板培地に培養した大腸菌を火炎滅菌した白金耳で少量取り，BHI液体培地5mlが入った試験管へ無菌的に混和後，37℃，24時間培養した。さらに，24時間後，前々培養した菌液をBHI液体培地5ml～50ml（BHI液体培地の1%の菌量）分注し，37℃，18.5時間培養した。

前培養菌0.3mlを滅菌生理食塩水2.7mlで段階希

釈し，10倍，100倍の濁度を2個ずつ島津紫外可視分光光度計（株式会社島津製作所）を用い，吸光波長600nmで測定し，求めた。ブランクとして生理食塩水を用いた。測定後，前培養から無菌的に0.1ml試験管へ分注し，滅菌生理食塩水0.9mlを加え，菌原液から $10^{-11}$ まで段階希釈した。その希釈倍数 $10^{-4}$ から $10^{-11}$ を平板培地へ培養後，前培養の原液菌量を測定した。

菌量 $10^{-7}$ CFU/mlの菌液0.1mlを，それぞれ100倍，1000倍に希釈した海洋深層水9.9mlによく混和した。（つまり，菌量 $10^{-7}$ CFU/mlの菌液は $10^6$ CFU/10mlと同じであり，海洋深層水1ml中には $10^5$ 個の大腸菌が作用していることになる。）

作用時間は混和直後の0分から1分，10分，30分，60分，180分，24時間後とした。また，海洋深層水に作用させたものと比較するためのコントロール群に，菌数 $10^{-7}$ CFU/mlの菌液0.1ml（100μl）を，滅菌蒸留水（121℃，15分間高圧蒸気滅菌）9.9mlによく混和したものをを用いた。

混和後（0分）直ちにあらかじめ作製（シャーレ底面に深層水希釈倍数，作用時間を記入）しておいた普通寒天培地へ2枚ずつ無菌的に0.1ml（100μl）滴下，コンラージ棒で培地全面に塗布し，次の滴下まで菌混和液は室温24℃で静置した。

全混和液の塗布が終了した後，電気恒温ふ卵器中で37℃，18時間培養し，一平板当たり30～300個の集落が生じたものについて集落数をカウントし生菌数を求め効果を調べた。

平板に発育した菌を滅菌済みの楊枝でDHL寒天培地へ塗布し，37℃18時間培養した。培養後DHL寒天培地上の菌の色が黄色から赤色に変化していたら，作用菌液を塗布した後平板へ発育した菌が大腸菌であったと判定した。

## 結果と考察

実験に使用した海洋深層水のpH測定結果はそれぞれ以下の通りであった。pH0.5以下の原液はpH0.27，100倍希釈は2.05，1000倍希釈は2.86であった。pH1.6の原液はpH1.66，100倍希釈は3.64，1000倍希釈は4.72であった。pH3.3の原液はpH3.38，100倍希釈は5.14，1000倍希釈は5.38であった。

PH13.0以上の原液はpH13.20, 100倍希釈は10.57, 1000倍は8.99であった。

それぞれの前培養菌 $10^{-4}$ から $10^{-11}$ を平板へ培養し、原液に存在する菌量を測定した結果、 $10^{-6}$ の平板へ60個(吸光度0.257)と34個(吸光度0.249)の集落が生じた。一般生菌数の測定と同様に計算した結果、供試菌原液は平均 $4.7 \times 10^{-8}$ CFU/mlであるとされ、その原液を10倍希釈した菌液は平均 $4.7 \times 10^{-7}$ CFU/mlとなった。希釈した菌液の吸光度は、10倍希釈が平均 $0.253 \pm 0.08$ , 100倍希釈が平均 $0.023 \pm 0.03$ であった。

コントロール, pH0.5以下(pH0.27), pH1.6の海洋深層水を使用した実験には、10倍希釈の吸光度が0.248の菌原液を用い、pH3.3, pH13.0の海洋深層水を使用した実験には、10倍希釈の吸光度が0.261の菌原液を用いた。

滅菌生理食塩水に菌原液を希釈したコントロール群においては、滴下直後0分から24時間後まで全平板のコロニーが接合し、集落数は測定不可の $\infty$ となり、減少が見られなかった。

海洋深層水に大腸菌を作用させた結果は以下の通りであった。

pH0.5以下(pH0.27)の100倍希釈液pH2.05においては、1分後には集落数が平均4個、10分後には0個となった。1000倍希釈液pH2.86においては、10分後には平均45.5個、30分後には平均10個、60分後には0個となった。

pH1.6の100倍希釈液pH3.64においては、10分後には、平均3.5個、30分後には0個となった。1000倍希釈液pH4.72においては、10分後には平均232個、30分後には平均218個であり、1分後から10分後の間で大幅な減少を示し、その後30分まで大幅な減少は見られず60分後には0個となった。

pH3.3の100倍希釈液pH5.14においては、滴下直後0分から24時間後まで全平板のコロニーが接合し、集落数は測定不可の $\infty$ となり、減少が見られなかった。1000倍希釈液pH5.38においては、1分後まで全平板のコロニーが接合し、集落数は測定不可の $\infty$ となり、10分後には平均2082個、30分後には平均832個、60分後には平均796個、180分後には平均566個、24時間後には平均54個となった。

pH13.0の100倍希釈液pH10.57においては、10分

後まで全平板のコロニーが接合し、集落数は測定不可の $\infty$ となり、30分後には平均2080個、60分後には平均1972個、180分後には平均836個、24時間後には平均45個となった。1000倍希釈pH8.99においては、滴下直後0分から24時間後まで全平板のコロニーが接合し、集落数は測定不可の $\infty$ となり、減少が見られなかった。

人工飼料製造に当たり、迅速かつ簡便で安全に取り扱うことのできる海洋深層水を殺菌溶液として用い、殺菌効力の即効性を示したpH値は、大腸菌の発育可能pH域が4.6~8.8, 最適pH域が7.0~8.0であるため、発育可能pH域外のpH0.5以下(pH0.27)の100倍希釈pH2.56, 次いでpH1.6の100倍希釈pH3.64, pH0.5以下(pH0.27)の1000倍希釈pH2.86, pH1.6の1000倍希釈pH4.72の水素イオン濃度(pH)であれば、殺菌時間に差は見られるがすべて24時間以内に平板発育菌数が0となり、殺菌効果は顕著であったといえる。PH3.3の1000倍希釈pH5.38およびpH13.0の100倍希釈pH10.57は前に述べた水素イオン濃度による効果に比べ、殺菌効力に即効性はないが確実に滅菌はされており、24時間後には40~50個程度にまで減少した。また、pH3.3の100倍希釈pH5.14およびpH13.0の1000倍希釈pH8.99における菌数減少の確認は測定不可だった、しかし菌が増殖した様子も見られなかったことから、24時間以内に完全な殺菌まで効力が及ばなかったにしろ、菌発育および増殖には抑制の作用があったのではないかと考えられる。またpH2.86よりもpH3.64の殺菌効果がやや効果的であったこと、pH5.38では24時間後に平均54個まで減少したのに対し、わずかなpHの差であるにもかかわらずpH5.14では24時間後も有効数字内にまで減少しなかったことについては、今回の実験ではこれ以上原因を検討することはできなかった。

海洋深層水は、深海すなわち陸棚外縁部より深い海水のことを総称した呼び方で、陸棚外縁部はおおむね水深200から300mにある。外洋においては水深200mより深くなると太陽光線のほとんどが海水に吸収され、弱いブルーライトの世界になり、さらに1000mを越すと暗黒の世界と云われている。従って水深200mより深い海水中では陸水由来の大腸菌

や一般細菌に汚染されておらず、海洋性細菌数も表層の海水に比べて非常に少ない。陸水や大気からの化学物質による汚染にさらされる機会も少なく、清浄性が高い。また、電解処理でできた強酸化水と異なり、時間経過によるpHの変化が少ないという特性もあり食品の殺菌溶液として効果的であると考えられる。

今日の野生イルカと飼育イルカの餌を比較した時、同じ種類の魚を与え続けることで栄養のバランスに偏りが起こり、仮に野生下と同様の種類を与えようとした場合、餌の種類と量が増え、不漁時・高騰時に対応できない。一般的には生魚が餌料とされることから、それらを保存するだけの $-25^{\circ}\text{C}$ ～ $-30^{\circ}\text{C}$ の冷凍庫の保存場所、冷凍庫の他に魚を解凍する場所、解凍時間などが必要で、さらに栄養の損失、鮮度の低下、細菌の増殖、調餌の手間がかかる、廃棄処分の量が増えるなど数多くの問題点が生じる。

しかし、この人工飼料を使用した場合、ひとつのソーセージの中へ様々な種類の魚を混合することが可能で、季節や不漁時などに関わらず常に一定の価格で提供することが出来、餌の種類、量の問題が解消されることで保存場所の問題も同時に解決される。ホール状の冷凍魚に比べソーセージ状のものは解凍時間が短いため、冷凍されていても解凍時間が短縮出来、解凍の場所をとらない上ケーシングに充填されているため解凍しても栄養が流出せず、1回で使う分ずつ包装が可能で鮮度も維持することができる。解凍時間が短いことから給餌直前に準備ができるので、調餌から給餌までの時間が空かず細菌の増殖も防止できる。また、ソーセージ作製の時点で鮮度の良いものを選別して使用するため、調餌の時に傷のついた部分、寄生虫などの確認作業の手間が省け、さらに疾病時などの消化を助けるために行っていた骨や頭部の除去が、すべてミンチになっていることにより使用時にソーセージの状態が使用可能かどうかの確認だけになり、廃棄部分の量が減量できる。今後、この人工飼料を与えることによって人側の負担が少しでも減少し、なにより動物にとって健康で安全なもので飼育下での寿命が伸びるよう、鮮度、品質、栄養価、寸法、消化などの諸点に留意し、さらなる検討および改良を進めていくべきである。また、将来的には各種動物ごとに、さらには魚

類にまで対応していくことが可能であると思われる。

## 要約

動物介在療法（アニマルセラピー）のなかで、イルカセラピーはとりわけ関心が高い。現在、イルカは水族館を始め多数の施設で飼育されているが、日本の施設で15歳を超えて生存しているイルカは極めて稀であり、野生下での寿命が40年以上と言われる現実から考えると極めて短命である。このことは、わが国の動物園、水族館のほとんどが赤字経営を余儀なくされ、設備経費の中で大きな割合を占めている餌料のコスト、および入荷の不安定性から一括購入された単一試料を与える傾向が強く、栄養的に十分な対応がなされていないことと関連している。どの動物も最大限の配慮をもって飼育管理されるべきであり、餌料の重要性は言をまたない。本研究は、安価にして、輸送および保存が容易な栄養学的にもバランスの良い『人工飼料』の開発を目的としている。

本年（平成14年）度の研究では、安全性、保存性、衛生的取り扱いに関し、防腐剤を用いずに少なくとも2週間（ $5^{\circ}\text{C}$ 環境下）保存できる方法を検討した。その結果、海洋深層水の殺菌作用・菌発育抑制効果について、1) 水素イオン濃度の違いによる効果の差が顕著にみられ、最も酸度の高いpH2.05では作用後10分で菌は死滅し、0まで減少した。2) pH4.72の海洋深層水を用いた場合、作用後24時間以内に菌は死滅し、0まで減少した。3) pH5.38及びpH10.57の海洋深層水では効果の即効性はなかったものの、徐々に菌数が減少していくことが確認され、24時間後には約50個程度まで減少した。

これらのことにより、水素イオン濃度を調節した海洋深層水は明らかな殺菌作用および菌発育抑制効果を持つことが示唆され、人工飼料の保存に有効な手段になることがわかった。

## 文献

- 1) 藤井建夫：水産食品の生菌数測定法の検討－I．培地組成、培養温度および平板法について、東海水研報，No.118，71-79（1985）。
- 2) 上平三江子・大瀧智子：生食用食品の洗浄・殺菌方法について、新潟県厚生連医誌，第9巻，1号，93-96（1999）。

- 3) アンソニー・マーティン：クジラ・イルカ大図鑑，平凡社。
- 4) 書三瀬勝利・井上富士夫編：食品中の微生物検査法解説，講談社。
- 5) 細貝祐太郎・川井英雄・広末トシ子：新訂版食品衛生学実習，恒星社厚生閣。
- 6) 高野光男・横山理雄：食品の殺菌～その科学と技術～，幸書房。
- 7) 鴻巣章二：魚の科学，朝倉書店。
- 8) 野中順三九ほか：水産食品学，恒星社厚生閣。