カキの浄化に及ぼす次亜塩素酸殺菌海水の影響について

井上典子*・角田光淳*・菅原龍幸**

(*杉並区衛生試験所・**女子栄養大学)

Effect of Hypochlorous Acid on Oyster based on Dehydrogenase Activity

Noriko Inoue*, Koujun Tsunoda* and Tatsuyuki Sugahara**

*Suginami City Institute of Public Health, 3-20-3, Takaidohigashi, Suginami-ku, Tokyo, 168-0072

**Kagawa Nutrition University, 3-9-21, Chiyoda, Sakado-shi, Saitama, 350-0288

*〒168-0072 東京都杉並区高井戸東 3-20-3

**〒350-0288 埼玉県坂戸市千代田 3-9-21

Oysters have to be cleaned using sterilized seawater so that they may be eaten raw.

We studied the effect of adding hypochlorous acid (HClO) to sterilize the seawater on oysters. Oysters with shells and without shells were prepared. Half of them were kept in seawater containing 2~3 $\mu\text{g/ml}$ of Cl_2 , while the other half was kept in seawater without HClO as the control. All changes were observed and the dehydrogenase activity on the oyster's gills for 5 days (with shells) and for 48 hours (without shells) was measured.

In the seawater containing HClO, the gills of oysters with shells became loose after 3 days. Oysters without shells looked smaller due to the HClO after 24 hours. The dehydrogenase activity of the oysters in contact with the HClO, both with shells and without shells, decreased 70~90% compared to the control.

Although the oysters were not killed by the 2~3 $\mu\text{g/ml}$ remaining Cl_2 , their gills were damaged. Since the gill's breathing helps oysters to be clean, the effect of clean up is thought to be reduced by the treatment.

1. 緒 言

古代日本人の食生活にカキは重要な蛋白源であった。「貝塚」からは必ずといっていいほどカキの殻が出土するが、蛋白源の選択枝が広がった現在も、殻つき換算で毎年20万トンを超えるカキが養殖されている¹⁾。その多くはフライ、鍋のように調理して食されるが、レモン酢、ポン酢などによる生食も好まれる。

日本の食生活における生食用魚介類の衛生確保については、古来からの経験則のみならず、科学的な解析も加えられている²⁻⁶⁾。

生食するカキの衛生確保のために食品衛生法は、細菌数50,000/g以下、*E. coli* 最確数230/100 g以下と成分規格を定めている。そのため、成分規格に合致するように「浄化」が行われている。カキは海水温が15℃前後のとき、約10l/hrの海水をえらでろ過して吸水し、6時間ほどで約85%の内容物を消化する。「浄化」はこの性質を利用して殺菌海水に入れて行われる⁷⁾。用いられる海水は紫外線殺菌海水、オゾン殺菌海水のほかに、高価でおおがかりな機器を必要としない次亜塩素酸で殺菌した海水も用いられる。また、生食用カキの加工基準が、浄化に際して次亜塩素酸ナトリウムの使用を認めている

ことから、殺菌効果を期待してむき身カキのバック詰め
のつけ水へ次亜塩素酸ナトリウムを添加することも見
られる。

次亜塩素酸は容易に細菌の細胞膜を浸透して酵素の働
きを止め殺菌作用を現す⁸⁾。フナには $0.5\mu\text{g/ml}$ 、コイに
は $0.33\sim 2.0\mu\text{g/ml}$ で致死させると言われている⁹⁾が、
ヘモシアニンを持つ貝類の呼吸活動に及ぼす影響につい
ての報告は見当たらない。

今回、次亜塩素酸がカキの浄化に関わるえらに及ぼす
影響について、えらの呼吸活動と密接な関係にある脱水
素酵素活性を著者らの報告¹⁰⁾によって試験し、あわせて
形態的变化を観察したので報告する。

2. 実験方法

(1) 実験材料

岩手県山田町産の殻つきカキを都内卸売市場から購入
した。実験ごとの実験材料は同一ロット品を用いた。

むき身の試験では、カキの外とう膜やえらなどを傷つ
けないようにペンチで殻を少しずつ碎き、貝柱部分の殻
を残してむき身とした。

(2) 試薬及び試液

2, 3, 5-トリフェニルテトラゾリウムクロライド (TTC) : 和光純薬工業 (株) 製

トリフェニルホルマザン (TF) : 関東化学 (株) 製

コハク酸ナトリウム (特級) : 関東化学 (株) 製

塩化ナトリウム (日本薬局方) : 大塚製薬 (株) 製

エタノール (特級) : 和光純薬工業 (株) 製

リン酸二ナトリウム (無水) (特級) : 和光純薬工業 (株) 製

TTC 試液¹⁰⁾ : 0.2% TTC- 0.1% コハク酸ナトリウム- 2.84% リン酸二ナトリウム- 2.34% 塩化ナトリウム溶液 (pH 9.2)

TF 標準原液 : エタノール 1 ml 中に TF 1,000 μg を含むように調製した。

人工海水 : ハイベット (株) 製 <成分> 塩化ナトリウム, 塩化カリウム, 塩化マグネシウム, 塩化カルシウム, 硫酸マグネシウム, 硫酸マンガン等 他微量成分

次亜塩素酸ナトリウム (食品添加物) : (株) オーヤラックス製 塩素濃度約 6 %

(3) 装 置

分光光度計 : (株) 島津製作所製 UV210A 型

恒温水槽 : トーマス科学 (株) 製 T-118 型

(4) 脱水素酵素活性の測定

図 1 に示した。1 回の TF 測定にはカキ 4 ~ 8 個を供

し、平均値をとった。

Fig. 1 Determination method of dehydrogenase activity in oyster's gill by colorimetry

Sample and TTC-reagent were previously kept below 5 °C.

(5) 次亜塩素酸との接触方法

殻つきのままのものと、開殻しむき身にしたものについて別々に試験した。

初期値測定分を取り分けたカキを、人工海水を張った水槽 (殻つきカキ場合は 30 l 容のプラスチックコンテナ、むき身の場合は、5 l のステンレスバット) に入れ、空気を通じながら海水温 8 ~ 12 °C で放置した。エアレーションは鑑賞魚用の小泡発泡器から通気した。はじめに、1 % 次亜塩素酸ナトリウムで残留塩素濃度を 2 ~ 3 $\mu\text{g/ml}$ に調整した後、水槽上部に 0.1 % 次亜塩素酸ナトリウム人工海水溶液を満たした分液ロートをセットし、残留塩素濃度が 2 ~ 3 $\mu\text{g/ml}$ を保つように滴下速度を調整した。残留塩素濃度はオルトトリジン法によって確認した。

経時的にカキを 4 ~ 5 個ずつ取り出し脱水素酵素活性を測定した。同時に形態学的な観察を行った。一方、対照としては次亜塩素酸ナトリウム溶液を滴下しない人工海水水中のカキの脱水素酵素活性を測定した。

殻つきカキは 5 日間 (6 日目まで)、むき身カキは 48 時間後まで試験した。

3. 結果及び考察

(1) 殻つきカキ

殻つきカキの脱水素酵素活性の経日変化を図2に示した。次亜塩素酸ナトリウムと接触させなかったカキの脱水素酵素活性はほとんど変化せず、6日目の脱水素酵素活性は初期値の約95%以上であった。これは、殻つきカキが完全な個体であることに加えて、人工海水、空気の補給等、生活の条件が整っていたためと推察された。ただし、栄養分はミネラルだけで、有機質の栄養分が不足していたことが微減の原因のひとつとも思われた。

Fig. 2 Time course of dehydrogenase activity in oyster's gill with NaClO 《With shells》

●: control ○: kept oyster in contact with NaClO

一方、次亜塩素酸ナトリウムと接触させたカキの脱水素酵素活性は低下した。2日目に初期値の約8割(81%)となった後はほぼ横ばいの活性度を示し、6日目には約78%であった。最初に影響を受けた後、対照のカキと同様に約2割の低下で活性を保ち続けているのは、生体のホメオスターシスによる次亜塩素酸の分解、排除が行われていることが考えられた。

次亜塩素酸ナトリウムと接触させたカキの殻の内液は塩素臭はせず、オルトトリジン法によっても残留塩素は検出されなかった。殻の状態は、対照は写真1のように開いているのに対し、次亜塩素酸ナトリウムと接触させ

Picture 1 Ecological observation of oyster
《With shells. Control》

たカキは固く閉じていた。外部との接触を物理的に断ち、えらによる呼吸を低下あるいは停止させて海水を直接体内に取り込むことを抑えている様子が伺われた。カキの殻の内液から塩素を検出しないことは、殻の内部で次亜塩素酸の分解が行われていることが推察された。えらの状態を観察すると、3日目まではしっかりと正常な状態を保っていたが、4日目から次第に張りがなくなりピンセットでつまんだとき崩れやすくなっていた。

カキを入れた人工海水は換水せずに使ったが、次亜塩素酸ナトリウム接触の有無にかかわらず6日目まで濁らず澄んだままであった。

(2) むき身カキについて

むき身は、殻つきに比べると環境の変化を直接に受けることになる。次亜塩素酸ナトリウム接触群、対照群のどちらも、殻つきカキでは見られなかった人工海水の汚れが観察された。これは外とう膜粘液によるものと思われる¹¹⁾、その放出は殻内においては進入物への防御とも考えられた。その汚れは次亜塩素酸ナトリウムに接触させた方が強く、10時間後に人工海水を換えた。対照は34時間後に交換した。

むき身カキの脱水素酵素活性の経時変化を図3に示した。次亜塩素酸ナトリウムに接触させなかったカキの脱水素酵素活性は、実験開始直後に急激に増加し、その後やや減少しつつ平衡を保った。このことはむき身に特徴的な挙動であった。

一方、次亜塩素酸ナトリウムに接触させたカキの脱水素酵素活性も対照と同じような「増加→微減」の経過を示したが、その値は常に対照に比べて低く、また経時に

Fig. 3 Time course of dehydrogenase activity in oyster's gill with NaClO 《Without shells》

● : control ○ : kept oyster in contact with NaClO

よる低下傾向は対照より大きかった。48時間後の脱水素酵素活性は初期値の約7割であった。殻という物理的な防御機構がなく次亜塩素酸殺菌海水に個体全面が接触することが、殻つきの場合より酵素活性が低下した原因であると考えられた。むき身は、殻以外の機関はそろって

いるが殻つきに比べ活性度の低下は明らかで、むき身パック詰めにつけ水へ次亜塩素酸ナトリウムを添加した場合は、呼吸器系の停滞により、ホメオスタシスの低下は鮮度の低下につながると推察した。

肉眼的な観察では、対照は写真2-左のように、カキの4枚のえらが花びらのように開いていた。表面積を大きくしてえら呼吸も活発に行われ、カキの浄化も進んでいると推察された。一方、次亜塩素酸ナトリウムと接触させたカキ（写真2-右）は、次亜塩素酸との接触を避けるようにえらをたたみ全体の表面積も小さくなっていた。24時間後には、次亜塩素酸ナトリウムを滴下させた水槽では、カキが占める面積が対照の約半分になっていた。これらのことから、次亜塩素酸はえらの活動を低下させると同時に、浄化能力を低下させるものと推察された。

まとめ

カキの脱水素酵素活性に対する、殺菌料次亜塩素酸ナトリウムの影響を残留塩素濃度2～3 μg/mlにおいて試験したところ、以下のことが明らかとなった。

1) 次亜塩素酸ナトリウムとの接触により、殻つきカキでは4日目からえらの張りがなくなり始め、むき身カキは縮んで小さくなった。浄化作用は低下しているものと推察された。

2) 脱水素酵素活性は、殻つきカキ、むき身カキともに対照に比べ約7～9割に低下した。また、むき身で身の収縮や粘液質の放出が見られた。

Picture 2 Ecological observation of oyster
《Without shells》

left : Control

right : kept oyster in contact with NaClO

3) カキは残留塩素濃度 $2 \sim 3 \mu\text{g}/\text{ml}$ において致死には到らなかったがえらをたたみ、呼吸器系の活動は低下し、生命維持には有害に働くものと思われた。

4) 以上から、カキは殺菌料・次亜塩素酸ナトリウムに対して抵抗性はあるものの、浄化がえらの呼吸活動によることを考えあわせれば、カキの浄化効果は低下するものと推測された。したがって、次亜塩素酸殺菌海水を用いる場合は、殺菌後直ちに次亜塩素酸を含まない清浄海水に入れ換えるか、残留する塩素濃度を $0.2 \mu\text{g}/\text{ml}^{12)}$ 以下の殺菌を目的とする最低限の低濃度に抑えて行う必要があると考えた。

参考文献

- 1) 農林水産省統計情報部：ポケット農林水産統計—平成11年版一，平成11年3月
- 2) 厚生省環境衛生局監修 “食品衛生検査指針（Ⅱ）” P 204 (1978) 日本食品衛生協会
- 3) 富山哲夫，米 康夫，井出克己：日本水産学会誌，**16**，538 (1950)
- 4) 福田博業：同上，**23**，486 (1957)
- 5) 福田博業：同上，**23**，490 (1957)
- 6) 持永泰輔，田口 昭：食品衛生学雑誌，**4**，217 (1963)
- 7) 佐藤忠勇：佐藤養殖場，的矢養蠶研究所資料 (1982)
- 8) (株) オーヤラックス 作成資料p. 2 (1979)
- 9) 好井久雄，金子安之，山口和夫：食品微生物学，技報堂，p. 400 (1971)
- 10) 角田光淳，井上典子，青山光雄，長谷部昭久：食品衛生学雑誌，**27**，487 (1986)
- 11) 小林新二郎：日本水産学会誌，**30**，893 (1964)
- 12) 水道法施行規則：厚生省令第45号，昭和32年12月14日