

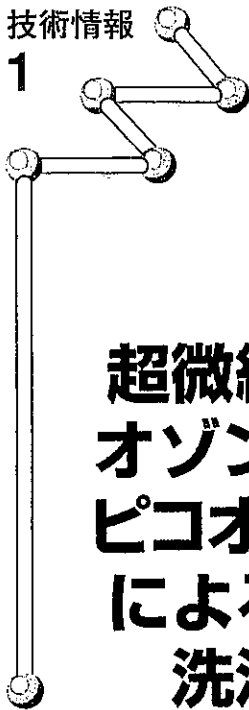
# 畜産技術

LIVESTOCK TECHNOLOGY 2007.10



在来牛2頭だてによる雑草の防除：インドネシア ジャワ島 (撮影：(社)畜産技術協会 西村 博)

<b>特集</b>	<b>家畜栄養管理技術の最近の進歩</b>	<b>2</b>
提言	輸入飼料の安全性を如何に確保するか	1
研究レポート1	全面有孔暗渠管を利用した切り返しをしない堆肥化技術	25
研究レポート2	硝酸態窒素を蓄積しにくいイタリアンライグラスの系統の育成	30
技術情報1	超微細高密度オゾン水（ナノピコオゾン水™）による畜舎の洗浄消毒	33
技術情報2	生産から食鳥検査までのデータを活用した肉用鶏農場の生産性向上事例	39
研究所だより	神戸大学大学院農学研究科附属 食資源教育研究センター	43
連載	畜産学をめぐる最近の話題 (9)「相利共生」と向き合う畜産学と畜産技術	45
国内情報1	全国飼料増産行動会議の現状	51
国内情報2	家畜改良センターにおける牛個体識別業務	55
地域の動き	安心で美しい郷づくり（富山県）	59
文献情報		61
用語解説	ビッグフロー	62
海外統計	減少している日本の海外援助	63
国内統計	畜産統計（平成18年2月1日現在）豚及び採卵鶏について	64
会員だより	福岡県畜産技術協会	65
会員だより	社団法人 日本装蹄師会	66
百舌鳥	「きっかけは眼の誕生だった」	67
地方だより		68
協会だより		54・69
学会・研究会・シンポジウム等のお知らせ		70
人の動き		29
今月の表紙		50
グラビア	研究所だより／地域の動き	



白井 淳資  
(しらい じゅんすけ)  
東京農工大学  
獣医伝染病学研究室

# 超微細高密度 オゾン水(ナノ ピコオゾン水™) による畜舎の 洗浄消毒

## 1. はじめに

口蹄疫、高病原性鳥インフルエンザおよび豚コレラのような重要家畜伝染病が発生し蔓延した場合、防疫措置による家畜・家禽の淘汰だけでなく、多くの場合、食の安全に対する不安から畜産物の消費が低迷し、畜産業に大打撃を与えることもあるので、大変な脅威となる。口蹄疫や豚コレラが国内に侵入しないよう、検疫により厳重に監視されているが、侵入した場合は早期発見と早期対応のみが被害を最小限に止める方法である。しかし、発生当初から、これらの疾病を特定することは難しく、ある程度蔓延した時点で発見される場合が多い。このようなことから、個々の畜舎の衛生管理を常に徹底し、また家畜の集まる家畜市場や食肉・食鳥処理場などで徹底した衛生管理をとることが、これら疾病の蔓延

を防止する重要な手段となる。

また、養豚現場においては、ワクチンが効きにくい、もしくはワクチンが存在しない、豚繁殖・呼吸症候群ウイルス (PRRSV) に起因する子豚の呼吸器障害や本ウイルスとサーコウイルス感染による離乳後多臓器性発育不良症候群 (PMWS) が多大の損害を与えている。

これらの疾病に対する徹底した衛生管理のためには、病原体の侵入防止や病原体の消滅のための徹底した消毒作業が必須である。しかし、一般の消毒薬を用いた消毒作業の繰り返しは、作業者に多大な労力を課すとともに健康にも悪影響を及ぼし、さらに多量の消毒薬を使用することによる環境汚染などの問題も起こる。ところが、これらの問題を解決するような新しい消毒薬は未だ開発されていない<sup>1)</sup>。

オゾン水とはオゾン ( $O_3$ ) が溶け込んだ水で、強い酸化力により各種細菌、ウイルスおよび原虫に対し消毒効果を示し、またオゾンは分解が早く、最終的に水と酸素になるので環境への汚染もない<sup>2, 3)</sup>。そこで、オゾン水生成装置を畜産現場や家畜市場、食肉・食鳥処理場に設置し、オゾン水を日常の水洗に使用すれば、消毒作業も簡便に行なうことができる。この消毒作業は労力も少なく、作業者への危険性もないと考えられる。また、オゾン水は短時間のうちに水に戻るために環境汚染がなく、徹底した消毒作業が可能である。

最近開発された技術により生成された超微細高密度オゾン水 (ナノピコオゾン水™: 以下: 超微細高密度オゾン水) は、10nm以下の気泡分布で、1 nm未満の超微細なオゾン気泡を多量に溶存させたオゾン水である。従来のオゾン水が1,000~5,000nm (1~5  $\mu$ ) 以上の平均気泡径であるのに比較すると、同じ溶存オゾン濃度で、10万倍を超える個数の泡を含有していることになる。塩類などの電

解質や添加物を含まず、また残留性のない新型の機能水なので、上述のように、生成装置を畜産現場や家畜市場、食肉・食鳥処理場に設置し、この超微細高密度オゾン水を使用すれば、日常の水洗感覚で消毒作業を行なうことができ、施設や機材の腐食も少なく作業者への危険性もない。

本研究では、超微細高密度オゾン水を用いた消毒により、畜舎の日常の衛生管理を行ない、口蹄疫や豚コレラなどの重要伝染病の侵入防止および蔓延防止を図るとともに、PRRSVなどの病原体の汚染を軽減することを目的として、超微細高密度オゾン水がこれらの病原体にどのような消毒効果を示すのかを実験室内で調べたところ、良好な成績が得られたので紹介する。

## 2. 超微細高密度オゾン水による殺ウイルス試験

### 1) 供試ウイルス

試験には、エンベロープのない小型球形ウイルスとして、口蹄疫ウイルス (FMDV) Asia 1 型 Shamir 株<sup>6)</sup> および O 型 O/JPN/2000 株<sup>7)</sup>、消毒薬などに対して強い抵抗性を示す豚水胞病ウイルス (SVDV) J 1 株<sup>7)</sup> を用いた。また、エンベロープを有するウイルスとして豚伝染性胃腸炎ウイルス (TGEV) h 株<sup>8)</sup>、水胞性口炎ウイルス (VSV) New Jersey 株<sup>9)</sup>、オーエスキー病ウイルス (ADV) 山形株<sup>10)</sup> および PRRSV の EDRD 株<sup>11)</sup> および Lelystad 株<sup>12)</sup> を用いた。

PRRSV 以外のウイルスは豚腎由来細胞株 SK-L<sup>7)</sup> で継代し、PRRSV はアカゲザル腎由来細胞株 MARK145<sup>13)</sup> で継代したものをを用いた。

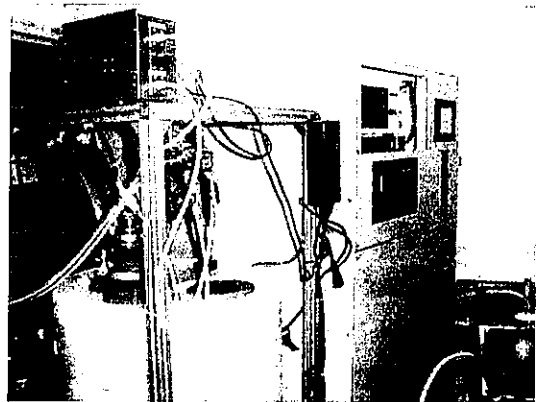
### 2) 超微細高密度オゾン水とその使用量

超微細高密度オゾン水は超微細高密度オゾン水生成装置 (ネイチャーズシステム NSNI-

2002、NSN120003: ネイチャーズ (株)、写真) を用いて製造した。

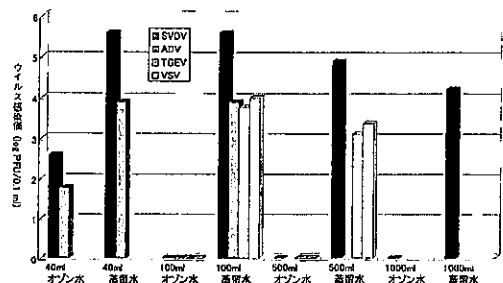
まず、実験に使用する超微細高密度オゾン水量を決定するための試験をした。試験区はオゾン濃度を 7 mg/l に設定した超微細高密度オゾン水 1,000ml、500ml、100ml および 40ml を用いた。各量の超微細高密度オゾン水に、SVDV、TGEV、VSV および ADV を含む培養液をそれぞれ 0.5ml 混合し、室温で 15 分間反応させた後、混合液をただちに 10% 血清を含む培地で 10 倍階段希釈を行ない、混合液中のウイルスの感染価を、それぞれ、前記の培養細胞を用いてプラーク法で測定した (図 1)。

対照区として、1,000ml、500ml、100ml および



この装置は畜舎用のオゾン水生成装置で、最高濃度 15mg/l の超微細高密度オゾン水を毎分 20 リットル生成できる

写真 超微細高密度オゾン水 (ナノピコオゾン水™) 生成装置 (ネイチャーズシステム NSNI-2002)



■ SVDV: 豚水胞病ウイルス、■ ADV: オーエスキー病ウイルス、□ TGEV: 豚伝染性胃腸炎ウイルス、□ VSV: 水胞性口炎ウイルス

図 1 オゾン水量と各種ウイルスに対する殺ウイルス効果

40mlの各滅菌蒸留水とSVDV、ADV、TGEVおよびVSVのそれぞれの混合液を用いた。これらの混合液は15分間室温においた後に、ウイルス感染価を試験群と同様の方法で測定した。

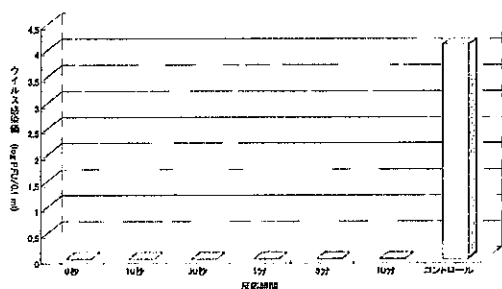
その結果、超微細高密度オゾン水量1000ml~100mlでは、4種類のウイルス全てに対して殺ウイルス効果が示された(図1)。しかし、超微細高密度オゾン水量40mlでは、SVDVとADVに感染価がみられ、これらのウイルスに対しては、この量の超微細高密度オゾン水では殺ウイルス効果がなかった。

### 3) 超微細高密度オゾン水が殺ウイルス効果を示すまでの時間

次に、超微細高密度オゾン水が殺ウイルス効果を示すまでの時間を調べた。オゾン濃度7 mg/lの超微細高密度オゾン水100mlとVSVを含む培養液0.5mlを混合し、混合直後、10秒後、30秒後、1分後、5分後および10分後に、直ちに10%血清を含む培地で希釈してオゾンの作用を止めた。それぞれの時間経過後のVSV感染価を測定した。対照群は蒸留水100mlとVSV 0.5mlを混合して10分後の感染価を測定した。

その結果、超微細高密度オゾン水とVSVの混合直後(0秒)で、すでに殺ウイルス効果が示された(図2)。

### 4) オゾン濃度と殺ウイルス効果



オゾン濃度7mg/lのオゾン水100mlと0.5mlのウイルス材料を混合し経時的にウイルス感染価を測定した

図2 オゾン水のVSVに対する殺ウイルス時間

オゾン濃度と殺ウイルス効果の関係を調べるために、1、2、3および4 mg/lの各オゾン濃度の超微細高密度オゾン水100mlとTGEV、VSV、SVDV、FMDVおよびPRRSVの培養液0.5mlをそれぞれ混合し、ウイルス感染価を測定した。

その結果、超微細高密度オゾン水はエンベロープを有するTGEVに対して1 mg/lの濃度でも殺ウイルス効果を示した(図3)。しかし、10%子牛血清を含む培養液のウイルス材料に対してはオゾン濃度2 mg/lで有効になり、血清蛋白など有機物が混在した場合にはオゾン濃度を高くする必要があった。また、エンベロープを有するVSVの成績でも同様であった。

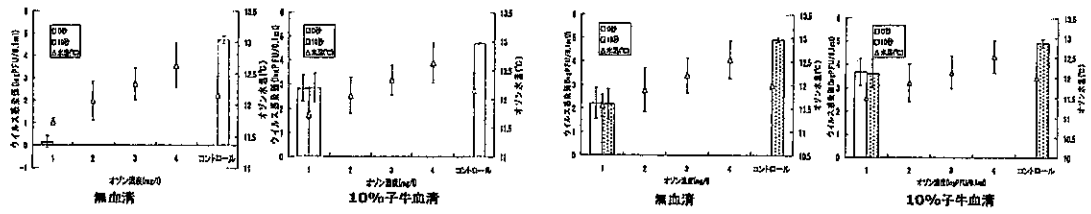
エンベロープを有しないSVDVに対する殺ウイルス効果には最低2 mg/lのオゾン濃度が必要で、完全な殺ウイルス効果には血清を含まない培養液内のウイルス材料でも3 mg/lの濃度が必要であった。一方、10%子牛血清を含む培養液内のウイルス材料では3 mg/lの濃度でも感染価が示された。SVDVで完全な殺ウイルス効果を得るには4 mg/lのオゾン濃度が必要であった。

2%の子牛血清を含む培養液内の2種類のFMDV株を用いて、オゾン濃度と殺ウイルス効果の関係をみたところ、両ウイルス株に対して、1 mg/lの濃度の超微細高密度オゾン水で殺ウイルス効果があった。

8%および24%子牛血清を含んだ培養液内の2種類のPRRSV株を用いて、オゾン濃度と殺ウイルス効果の関係をみると、エンベロープを有するウイルスと同様にオゾン濃度2 mg/lと低い濃度で完全な殺ウイルス効果が得られた。

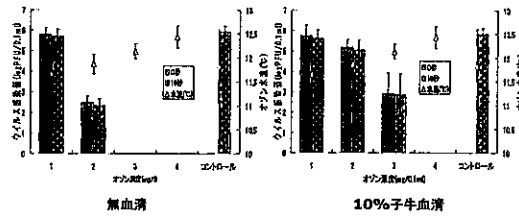
### 5) 超微細高密度オゾン水生成後の経過時間と殺ウイルス効果

オゾン濃度5 mg/lに設定した超微細高密度

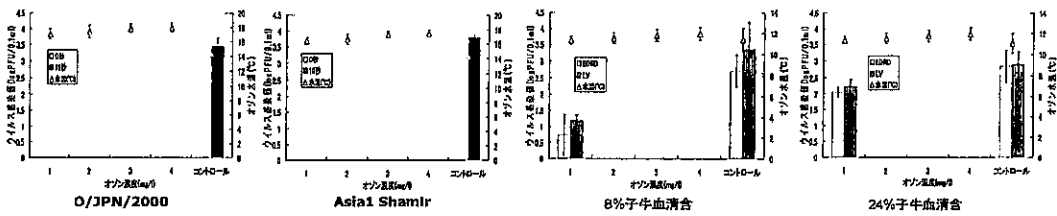


TGEVに対する有効オゾン濃度

VSVに対する有効オゾン濃度



SVDVに対する有効オゾン濃度

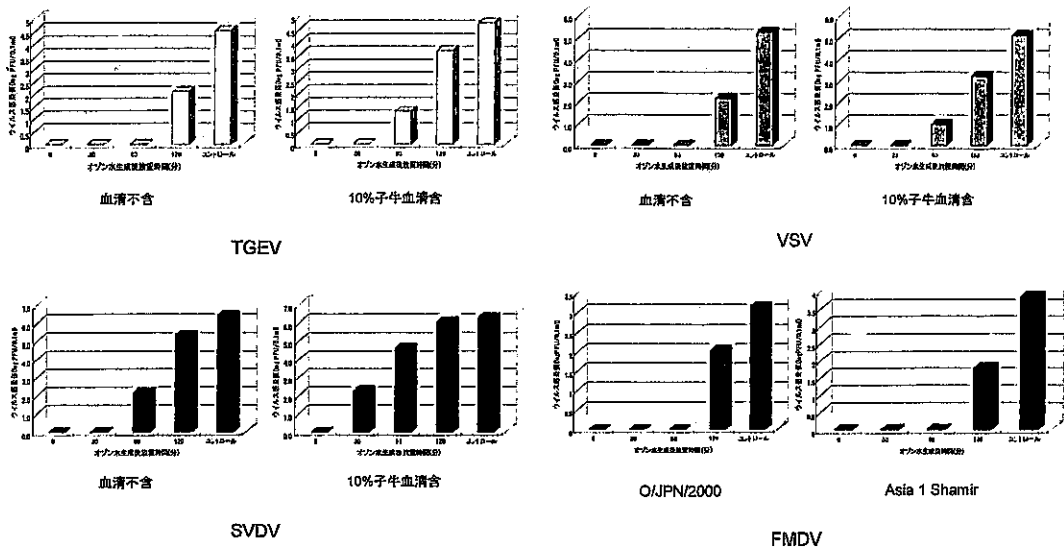


FMDVに対する有効オゾン濃度

PRRSVに対する有効オゾン濃度

オゾン水の量は100mlとし、ウイルス材料は0.5mlとした

図3 超微細高密度オゾン水の各種ウイルスに対する殺ウイルス有効濃度



オゾン濃度5mg/lに調整した100mlのオゾン水を開栓した状態で、室温(約20℃)に放置し、各時間経過後0.5mlのウイルス液を加え、攪拌して直ちにウイルス感染価を測定した

図4 超微細高密度オゾン水生成後の時間経過と殺ウイルス有効濃度

オゾン水について、生成直後、30分後、60分後および120分放置後に0.5mlのウイルス液を混合し、その直後にウイルス感染価を測定した。

60分間放置後の超微細高密度オゾン水でも、血清を含まない培養液内のエンベロープを有するTGEVとVSVでは感染価が全く消失し、10%子牛血清を含む培養液内のTGEVとVSVでは感染価が1/1,000以下になった(図4)。

FMDVの2株についても、60分放置後の超微細高密度オゾン水は明らかな殺ウイルス効果を示した。

しかし、FMDVと同様にエンベロープを有しないSVDVでは、血清を含まない培養液内材料を60分放置後の超微細高密度オゾン水で処理したところ、ウイルス感染価は1/10,000まで低下したが、完全な殺ウイルス効果はみられなかった。また、10%子牛血清を含む培養液内のSVDVでは、30分放置後の超微細高密度オゾン水で処理すると感染価が約1/10,000に低下したが、完全な殺ウイルス効果はみられなかった。SVDVは他のウイルスに比べて、超微細高密度オゾン水に対して抵抗することが確認された。しかし、生成直後の超微細高密度オゾン水は5mg/lの濃度でSVDVを完全に消滅させた。

なお、SVDV以外の供試ウイルスに対する超微細高密度オゾン水の殺ウイルス効果は60分放置後でもみられ、生成後の超微細高密度オゾン水の殺ウイルス効果は60分程度は持続すると考えられた。

### 3. 超微細高密度オゾン水消毒についての考察

オゾン水は、以前から、消毒や脱臭に使用されている。従来のオゾン水と称されるものは電解法、もしくは気液混合法により生成されたものである。

電解法では、水に電解補助剤である食塩や塩化カリウムを加えて、電流を流して電解反応により、オゾン水を生成する方法である。生成されたオゾン水は次亜塩素酸ソーダを含むため、pHが2.2 ~ 2.7の強酸性である。この電解法によるオゾン水はある程度の殺菌力を有するものの、安全性、金属への腐食性、および残留の面で問題があった。

気液混合法は溶存オゾン濃度が最高4mg/l程度で、オゾンが水に十分に溶け込んでいないため、すぐに水に復帰するので消毒力が低く、あるいは皆無の場合もある。

今回、試験した超微細気液濃縮混合法による超微細高密度オゾン水は、電解法のように補助剤を一切使用しないで、循環している水に、磁力によりできる限り微細な気泡にしたオゾンを通り返し注入するために、オゾン気泡が分散して溶解度が高い超微細高密度オゾン水が生成される。この方法で生成した超微細高密度オゾン水は純度が高く、最高15mg/lもの高濃度の超微細高密度オゾン水を1時間以内に1トン以上生成できる。

超微細高密度オゾン水は、オゾンが蒸散しにくいのでオゾンの作用濃度を長く維持できるために、消毒効果が極めて高く、またpHも中性である(表)。

超微細高密度オゾン水の酸化力は、同濃度の塩素に比較して、強さで7倍、酸化速度で3000倍である。したがって、ふん尿や排泄物で多少汚れた畜舎でも、多量の超微細高密度オゾン水を用いて水洗の感覚で消毒すれば、この強い酸化力によって消毒効果が得られると考えられる。

オゾン水による殺ウイルス効果の機序は、ウイルス核酸の破壊とウイルス蛋白のポリペプチド鎖の変性<sup>2)</sup>によるといわれ、ウイルス構成成分を破壊することから、オゾン水が

表 オゾン水の生成法の違いによる性状の比較

	電解法	従来気液混合法	超微細気液濃縮混合法
生成原理	電解質No類を含む水中にて電極放電により生成	オゾンガスを機械的なせん断により水中に溶解する	オゾンガスを微細粒子にし、高濃度に水中に溶解する
特徴	オゾン水濃度が低く、主成分は塩素(強酸性 pH2.5)腐食性あり	オゾン水のみを生成するが、脱気しやすく、濃度が低い(微酸性 pH5-6)腐食性あり	高濃度・高純度オゾン水のみを生成し、脱気が著しく少ない(中性 pH6.5~7.5)腐食性なし
殺菌効果	塩素による殺菌効果は認められる残留性あり	効果ほとんどなし残留なし	オゾンによる殺菌効果が認められる残留なし

\*超微細高密度オゾン水(ナノピコオゾン水<sup>®</sup>)は超微細気液濃縮混合法により生成される

ウイルスを完全に不活化する能力を有することは明白である。

しかし、オゾン水は一般の消毒薬のごく少量で消毒効果を示すものではなく<sup>1)</sup>、今回の超微細高密度オゾン水による試験においても、殺ウイルス効果を示すためには最低100mlが必要であった。また、有機物を含むウイルス材料で殺ウイルス効果を得るためには、有機物を含まないウイルス材料よりも、さらに濃度を1 mg/lほど高くすることが必要であった。オゾン水は有機物の影響を受けやすいので<sup>3)</sup>、このことを考慮して消毒に利用することが重要である。

オゾン水は、一般の消毒薬と異なり、消毒には多くの量が必要なこと、また有機物や容器の影響を受けやすいことから、単にオゾン水のオゾン濃度から殺ウイルス効果の力価を評価することはできないと考えられる。

しかし、超微細高密度オゾン水は生成後の安定性が高く、即効性があるため、畜舎消毒をこの超微細高密度オゾン水を用いて、水洗感覚で行なうことができ、効果的である。

超微細高密度オゾン水は強い殺ウイルス効果を示し、残留がないので安全で、また脱臭効果も強い<sup>2,3)</sup>。この超微細高密度オゾン水を用いた畜舎の水洗は優れた消毒効果が期待でき、有効な衛生対策の手段である。ただし、超微細高密度オゾン水を用いた消毒法は、上述のよ

うに、一般消毒薬とは全く性質が異なるものであることに留意する必要がある。

超微細高密度オゾン水による消毒で畜舎が常時清浄に保たれることにより、家畜の死亡率が低減し、また育成率も向上して農家の収益が増加する。また、家畜の健康レベルが向上するので、抗生剤の使用量が減少し耐性菌の出現も抑制される。さらに、超微細高密度オゾン水による消毒は家畜の無薬生産にも結びつくと考えられる。

今回、報告したウイルスのほかに、鳥インフルエンザウイルスやサルモネラ菌に対する超微細高密度オゾン水の消毒効果も試験しているが、いずれも良好な成績が得られている。

#### 参考文献

1. King,L.J. : Rev.Sci.Tech.Off.Int.Epz., 14, 41-46 (1995)
2. Kim,J.G., A.E.Yousef, S.Dave : J.Food Protect, 62, 1071-1087 (1999)
3. Kim,J.G., A.E.Yousef, M.A.Khadre : Adv. Food Nutr. Res., 45, 168-216 (2003)
4. 杉光英俊 : オゾンの基礎と応用, 光琳, 東京, 109-136 (2004)
5. 松尾昌樹 : 電解水の基礎と利用技術, 技報堂出版, 東京, 1-8 (2000)
6. Moss,A., B.Haas : J.Virol.Methods, 80, 59-67 (1999)
7. 白井淳資 : 日獣会誌, 55, 575-579 (2002)
8. Honda,E., et al. : Jpn J. Vet. Sci., 52, 217-224 (1990)
9. Shirai,J., et al. : J. Vet. Med. Sci., 62, 85-92 (2000)
10. Yamada,S., T.Nishimori, M.Shimizu : J. Vet. Med. Sci., 54, 541-549 (1992)
11. Murakami,Y., et al. : J. Vet. Med. Sci., 56 : 891-894 (1994)
12. Pol,J.M.A., et al. : Vet. Quart., 13, 137-143 (1991)
13. Kim,H.S., et al. : Arch. Virol., 133, 477-483 (1993)