

魚病細菌に対するウルトラファインバブルの殺菌効果

村田英恵^{1,O}・岡田佳歩^{1,O}・境健太郎²・黒木輝樹³・小土井靖博³・坂田衛星³・上村親士³
田岡洋介^{4,*}

¹ 宮崎大学農学部海洋生命科学コース, ² 宮崎大学 研究・産学地域連携推進機構, ³ 株式会社エアテック, ⁴ 宮崎大学農学部海洋生命科学領域

^O Presenter, ^{*} Corresponding author: yousuketao@cc.miyazaki-u.ac.jp

【目的】ウルトラファインバブル (UFB) は国際標準化機構 (ISO) により 1 μm 以下の微細な泡と定義されている。いわゆる養殖場などで酸素供給に用いられるバブルやマイクロバブル (1-100 μm) よりも水中での滞留時間が非常に長く、非常に微細なため UFB を含む水は濁らず透明である。UFB を製造する過程ではヒドロキシラジカル (OH) のような酸素ラジカルが生成されることが報告 (Liu *et al.* 2016) されている。さまざまな産業において UFB の応用がなされているが、水産・海洋分野での応用例は少ない。そこで本研究では、UFB とともに産生されるとされるラジカルに着目し、養殖業における魚病細菌に対する殺菌効果と殺菌メカニズムを検証することを目的とした。

【材料と方法】エアテック SW (エアテック社) を用いて UFB (エアテックバブル) を生成した。生成した UFB の平均サイズと数を NanoSight (Malvern Panalytical) を用いて測定したところ、気泡のサイズは $151.9 \pm 92.2 \text{ nm}$ 、1 mL 当たり $3.06 \times 10^8 \pm 1.19 \times 10^7 / \text{mL}$ の気泡を有していた。この UFB を培養した魚病細菌 (*Vibrio anguillarum*, *Lactococcus garvieae*, *Aeromonas salmonicida*, *Streptococcus dysgalactiae*) の洗浄細胞懸濁液と混合し、24 時間後の生菌数を、寒天平板法を用いて測定した。UFB に暴露した *L. garvieae* 細胞を遠心回収し、細胞内のタンパク酸化レベル及び脂質酸化レベルを、それぞれ G-PCA 法及び M-PCA 法を用いて測定 (Lovaas 1992, Du and Gebicki 2004) し、通常の細胞と比較した。また供試 4 株を液体培地で培養し、UFB の有無による成長への影響を評価するため、Optical density (600 nm) を定期的に測定、比較した。また UFB 暴露後の *Lactococcus garvieae* 細胞構造への影響を評価するために、走査顕微鏡 (SEM) による観察を行うとともに、細胞外に流出したタンパク質の濃度を測定した。

【結果】UFB への暴露により供試魚病細菌 4 株の生菌数は、対照区と比べて低下した。特に *A. salmonicida* 及び *L. garvieae* では統計的に有意な減少が認められた ($P < 0.05$)。UFB に暴露した *L. garvieae* のタンパク及び脂質酸化レベルを対照区と比較したところ、UFB 添加により細胞内の酸化レベルが増加し、特にタンパク酸化レベルは統計的に有意差が確認された ($P < 0.01$)。液体培地中の細胞増殖率を比較したところ、UFB の添加により供試 4 株全ての増殖が遅延した。SEM 観察結果及び細胞外に流出したタンパク質の挙動については、ポスター発表にて報告する。

【まとめ】

- UFB は魚病細菌、特に *A. salmonicida* 及び *L. garvieae* に対する殺菌効果が認められた。
- UFB 暴露により *L. garvieae* のタンパク・脂質酸化レベルが上昇した。