

活魚輸送技術研究 — IV

密閉容器による輸送試験

中 賢 治・岩 崎 治 臣

ポリエチレンフィルムを使用して、各種魚類の簡易輸送が広く行なわれている。Nemoto (1957)¹⁾、鈴木他 (1958)²⁾、Messerly (1958)³⁾、Anonymous (1959)⁴⁾、Richard (1962)⁵⁾、吉田 (1967)^{6), 7)} 等がポリエチレン、ビニール袋での活魚輸送を報告している。(薬剤を添加している場合もある。) 現在金魚、観賞用海水、淡水魚、等で盛んに使用されており、航空輸送等でその利用価値は大きい。最近では、養成アユもこの方式で極く少量ではあるが航空輸送されている。

本年はポリエチレンフィルムを使用した密閉式で、稚アユの輸送試験を室内で行って、その収容量、薬剤等について検討したので報告する。

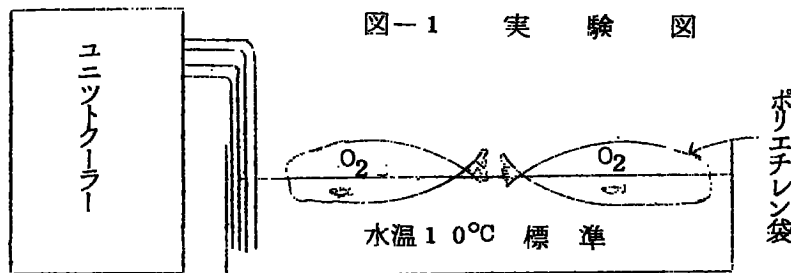
実験方法

供試魚：琵琶湖産アユ (*Plecoglossus altivelis* T et S) を平田試験池湧水、水温 13.9 ~ 14.6°C で投餌蓄養したもので、実験前 2 日間は餌止めをした。平均全長 7.0 cm、平均体重 9g

ポリエチレン袋： 厚さ 0.1 mm、巾 5.2 cm、長さ 9.0 cm

ダンボール箱： 40 cm × 50 cm × 25 cm 厚さ 20 mm の断熱材ポリスチロール内張り 水温調節： 三共ユニットクーラー uc-600E 型

水温順数 (16 ~ 20 時間で所定水温に降下させた) した上記稚アユを、冷却した所定水温の水 (当場が琵琶湖より揚水口過しているもの) 4 ~ 8 ℓ を入れ、酸素ガスを 16 ~ 20 ℓ 封入した。



水質分析

溶存酸素：ウインクラー常法

遊離炭酸：フェノールフタレン総酸度より算出

$\text{NH}_4\text{-N}$ ：ネスラー法による発色を光電光度計 (BAUSCH & LOMB Spectronic 20) で測定

P^{H} ： P^{H} メーターで測定 (堀場 H-3 型)

使用薬剤等

MS-222: トリカイン・メタン・サルフォネート (三共株式会社より提供を受けた)。

Tris-Buffer: トリスヒドロキシメチルアミノメタン $(\text{CH}_2\text{OH})_3\text{CNH}_2$

IR120: イオン交換樹脂・アンバーライト120 (オルガノ株式会社)

結果と考察

実験結果の概要は表-1に示したとおりである。表-1の項目についての説明は次のとおりである。

水温: 実験開始~終了までの間接冷却を行っているポリエチレン袋外囲の水温を表示した。数値は実験中の水温の範囲を示したものである。

P^H : アユおよび酸素ガス封入前の P^H と実験終了時の P^H を示した。1回の実験に使用した清水は、同一のものを各ポリエチレン袋に分けて入れた。トリス・バッファー使用のものについては、 0.01NHCl で P^H 調整したものと、無調整のものがある。 P^H の調整は McFARLAND⁸⁾ (1958) に準じた。

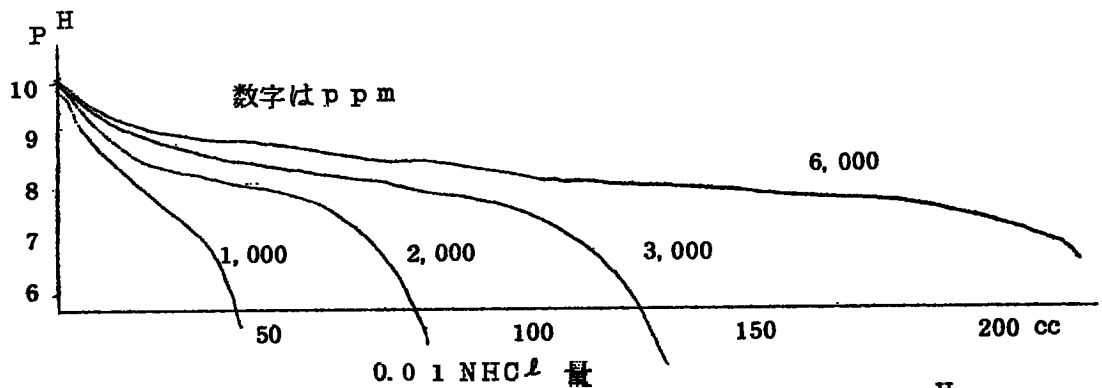
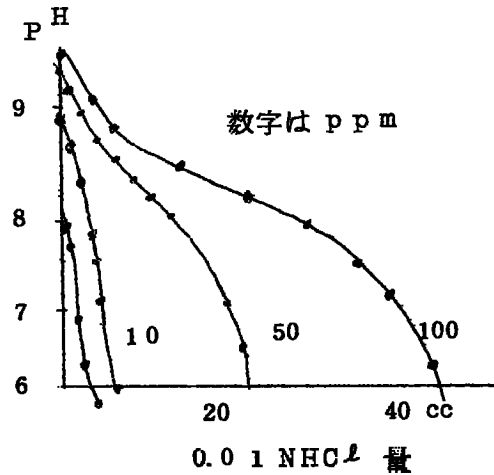


図-2 琵琶湖からの揚水(Blank) および各濃度の50 ccサンプルの P^H 変化

表-1 実験結果

番号	月日	アノ水量(L)	アノ量(g)	水1ℓ当りのアノ(g)	死亡率(%)	餌止め日数(日)	水温(°C)	P _H	D.O cc/ℓ	CO ₂	NH ₄ -N ppm	使用薬剤名	死亡 衰弱 等異常魚数			24h後の出アノ蓄積量mg
													6時間	12時間	18時間	
1	6月7日	615/6	103	103	100	2	8.4 ~13.8	7.60 ~6.42	27.65	-	17.04	ドライアイス600g, ダン残 10g, ポ				全死 0.69
		460/6	77	77	100	"	8 ~12.0	" ~6.42	11.13	73.08	15.12	ドライアイス600g, 残 0.1				" 0.82
		200/6	33	33	99	"	8 ~13.0	" ~6.46	15.74	56.36	11.28	ドライアイス600g, 残 0.4				生2 1.41
2	6月10日	227/4	57	57	8.3	"	9.6 ~9.8	7.60 ~6.39	24.28	33.40	18.78					11/132 1.38
		217/8	27	27	7.6	"	"	" ~6.30	27.78	27.41	11.28					9/118 1.73
		245/6	41	41	7.4	"	"	" ~6.30	23.70	27.37	14.52					10/135 1.48
3	6月15日	190/6	32	32	38.1	"	"	" ~6.32	23.56	28.03	5.52	1R120, 200cc				50/231
		190/6	32	32	16.0	19時間	9.7 ~3.9	7.59 ~6.30	16.75	29.52	15.36					16/100 2.02
		295/6	49	49	33.1	"	"	" ~6.18	17.79	86.42	15.96					51/154 1.35
4	6月17日	460/6	77	77	100.0	"	"	" ~6.16	20.51	57.07	19.62					208/208 1.07
		280/6	47	47	57.3	"	"	" ~6.19	15.88	40.04	17.76					80/139 1.59
		205/6	34	34	6.3	2日と19時間	9.7 ~9.8	7.60 ~6.20	22.23	24.64	16.56					7/112 2.02
5	6月22日	310/6	52	52	37.4	"	"	" ~6.15	19.48	36.52	18.78					51/147 1.51
		370/6	62	62	31.7	"	"	7.39 ~6.44	15.81	38.54	19.32	MS-222, 16ppm				57/180 1.31
		185/6	31	31	5.4	3日	9.6 ~9.7	8.10 ~6.99	21.39	154.79	17.04	トリスバッファ-1g/ℓ P _H 調整		8h 3	7/129 2.30	
6	6月28日	420/6	70	70	34.0	"	"	7.49 ~6.91	15.26	54.56	19.92					93/273 1.19
		385/6	64	64	15.3	"	"	7.70 ~7.04	19.83	402.96	20.76	トリスバッファ-3g/ℓ P _H 調整		1 6 20~23	41/259 1.35	
		365/6	61	61	16.7	2日	9.5 ~9.8	7.75 ~6.50	15.94	31.55	22.02			5h 0	43/257 1.51	
6	6月28日	250/6	42	42	4.5	"	"	8.11 ~6.50	20.39	-	18.54	トリスバッファ-50ppm P _H 調整		0 5	9/199 1.85	
		240/6	40	40	9.1	"	"	8.28 ~6.61	19.56	-	19.98	P _H 調整		0 8~10	17/178 2.08	

7	7月5日	350/6	58	17.8	"	"	8 20 ~6.70	19 79	-	19 02	トリスバッファ-500ppm PH調整	0	25-6	44 247	1 35
		400/6	67	12.0	3日	9.4 ~9.8	7 21 ~6.33	14 12	46 42	22 80	MS-222 16 ppm	3h 0	19h 13	28 233	1 42
8	7月19日	385/6	64	19.0	"	"	7 95 ~6.40	11 31	-	25 60	MS-222 16 ppm トリスバッファ-50ppm PH調整	0	17-20	52 274	1 66
		385/6	64	10.8	"	"	8 50 ~6.50	15 25	-	23 20	MS-222 16 ppm トリスバッファ-50ppm PH調整	0	14	26 240	1 51
9	7月22日	360/6	60	13.3	"	"	8 27 ~6.59	19 70	-	23 20	MS-222 16 ppm トリスバッファ-100ppm PH調整	3	25-26	32 241	1 61
		270/6	45	9.0	2	9.5 ~10.0	7 70 ~6.10	5 27 ~23 38	1 41 ~83 75	15 90		5h 1	21h 7	13 133	1 47
10	8月2日	390/6	65	7.0	"	"	"	"	"	19 95		1	8	14 187	1 28
		480/6	80	80.6	"	"	"	"	"	22 65		3	半致死	195 242	1 18
11	8月5日	630/6	105	100.0	"	"	"	"	"	23 40		11 ~12	少発生	297 297	0 93
		410/6	68	91.4	"	9.5 ~9.8	9 42 ~6.60	14 53	-	21 90	トリスバッファ-100ppm	0	7h 0	191 209	1 34
10	8月2日	420/6	70	97.2	"	"	9 30 ~6.70	16 56	-	22 95	" 200ppm	3	11	209 215	1 37
		410/6	68	90.7	"	"	9 60 ~6.80	10 96	-	22 65	" 300ppm	0	1	215 238	1 38
10	8月2日	410/6	68	98.5	"	"	9 64 ~6.85	24 42	-	22 95	" 400ppm	0	3	201 204	1 37
		310/6	52	0.9	"	9.1 ~9.8	7 46 ~6.40	5 29 ~23 17	2 2	14 40	MS-222 16ppm	0	21h 5	1 110	1 16
11	8月5日	330/6	55	7.8	"	"	7 50 ~6.34	"	"	16 00	"	0		9 115	1 21
		510/6	85	81.3	"	"	7 50 ~6.41	"	"	22 00	"	4	全致死	135 166	1 08
11	8月5日	300/6	50	0.8	"	"	7 50 ~6.56	"	"	15 20	"	0	4	1 121	1 27
		440/6	73	70.7	"	9.4 ~9.6	7 54 ~6.30	"	"	17 40	"	0	9h 1	103 146	0 99
11	8月5日	370/6	62	5.8	"	"	8 65 ~6.51	"	"	16 00	MS-222 16ppm トリスバッファ-50ppm	1	6	6 103	1 08
		220/6	37	0.4	"	"	8 11 ~6.46	"	"	10 00	"	0	0	3 85	1 14
11	8月5日	470/6	78	31.4	"	"	9 00 ~6.54	"	"	17 80	MS-222 16ppm トリスバッファ-100ppm	3	13	47 150	0 95

トリスバッファー（トリスヒドロオキシメチルアミノメタン）溶液による生物実験

トリスバッファーを使用するに当り、その薬害を知るために、簡単な生物試験を行なった。水温は輸送実験の水温より高く、15°C標準に行った。結果は100～1,000 ppmまで試験開始後2時間まで異常な激しい動きが見られ、その後、漸次状態は正常に近づいた。24時間では斃死はなく、48時間では1,000 ppmにおいて死1尾、衰弱2尾が認められた。72時間では、1,000 ppmで5尾全部が死、560 ppmで5尾共衰弱が見られた。試験期間中、対照魚に異常は認められなかった。

表-2 生物試験結果

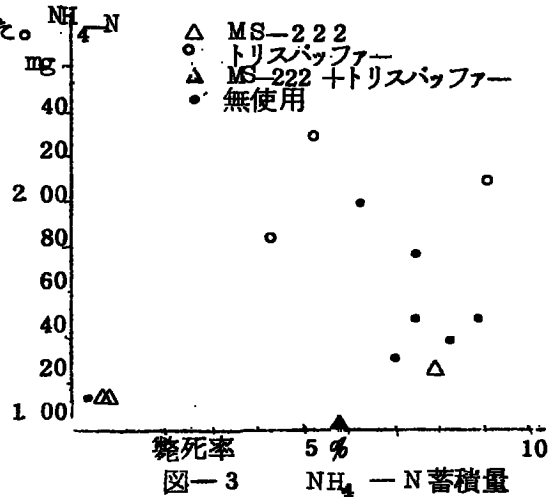
トリス濃度ppm		Control	100	180	320	560	1,000
実験開始	D.O cc/l	6.02	6.10	5.97	5.99	5.90	6.11
	P ^H	7.76	9.14	9.36	9.46	9.64	9.73
	NH ₄ -N ppm	発色せず	同左	同左	同左	同左	同左
	水温 °C	14.9	15.0	14.9	15.1	14.9	14.9
	アユ匹数 水量	5/10ℓ	5/10ℓ	5/10ℓ	5/10ℓ	5/10ℓ	5/10ℓ
経過時間	0時15分	正 常	動き激しい	同左	同左	同左	同左
	2:00	"	"	"	"	"	"
	4:00	"	やや異常	同左	同左	同左	同左
	5:00	"	"	"	"	"	"
	6:00	"	"	"	"	"	"
	21:00	"	"	"	"	"	"
	24:00	"	"	"	"	"	"
24時間後	D.O cc/l	3.37	3.90	4.10	3.23	3.30	3.14
	P ^H	7.68	8.55	9.03	9.19	9.45	9.60
	NH ₄ -N ppm	1.04	1.12	1.12	1.12	1.31	1.19
	水温 °C	14.9	15.3	15.2	15.2	15.0	15.0
経過時間	48時00分	正 常	やや異常	同左	同左	同左	死1衰弱2
	72:00	"	"	"	"	衰弱 5	死 5
供試	平均体重 g	2.2	1.8	1.6	2.0	1.6	2.1
アユ	平均体重 cm	7.3	6.9	6.8	7.2	6.9	7.1

溶存酸素：実験終了時のデータが、殆んどである。実験開始時は酸素封入の時に袋内の水に吹込んで、封入直後の酸素不足を防いだ。実験使用前の水は、第8、10、11回の時測定した5.27～7.91 cc/lの範囲といえる。

遊離炭酸：フェノールフタレン総酸度からの算出なので信頼し得る値とはいえない。又MS-222やトリス緩衝液等使用した場合、その値はいっそう信頼出来ない。だから遊離

炭酸の測定値は参考に止どめたい。

$\text{NH}_4\text{-N}$: 実験に使用した清水は、ネスラー法では発色がみられない。前報に述べた如く、その蓄積は直線的であった。24時間後の蓄積量は、実験の斃死が多い場合は小さな値となっている。薬剤を使用しない場合で斃死率10%以下のものについてみると、コアユ100g・1時間当り1.08mg~2.02mgであり、トリスバッファを使用したものは1.85mg~2.30mg、MS-222を使用したもので1.16mg~1.21mg、MS-222トリスバッファを併用したもので1.08mgであった。前報ではコアユ100g当り、1時間当り1.38mgであった。今回は $\text{NH}_4\text{-N}$ の測定する目的でなかったため、斃死魚があるため、時間当りの蓄積量は減少すると思われたが、やや多い傾向であった。トリスバッファを使用したものでは、 $\text{NH}_4\text{-N}$ が多く蓄積する傾向が見られた。



アユの量：封入時に必要量のコアユを、冷却水と共に計量したのであるが、計画通りにならなかった。

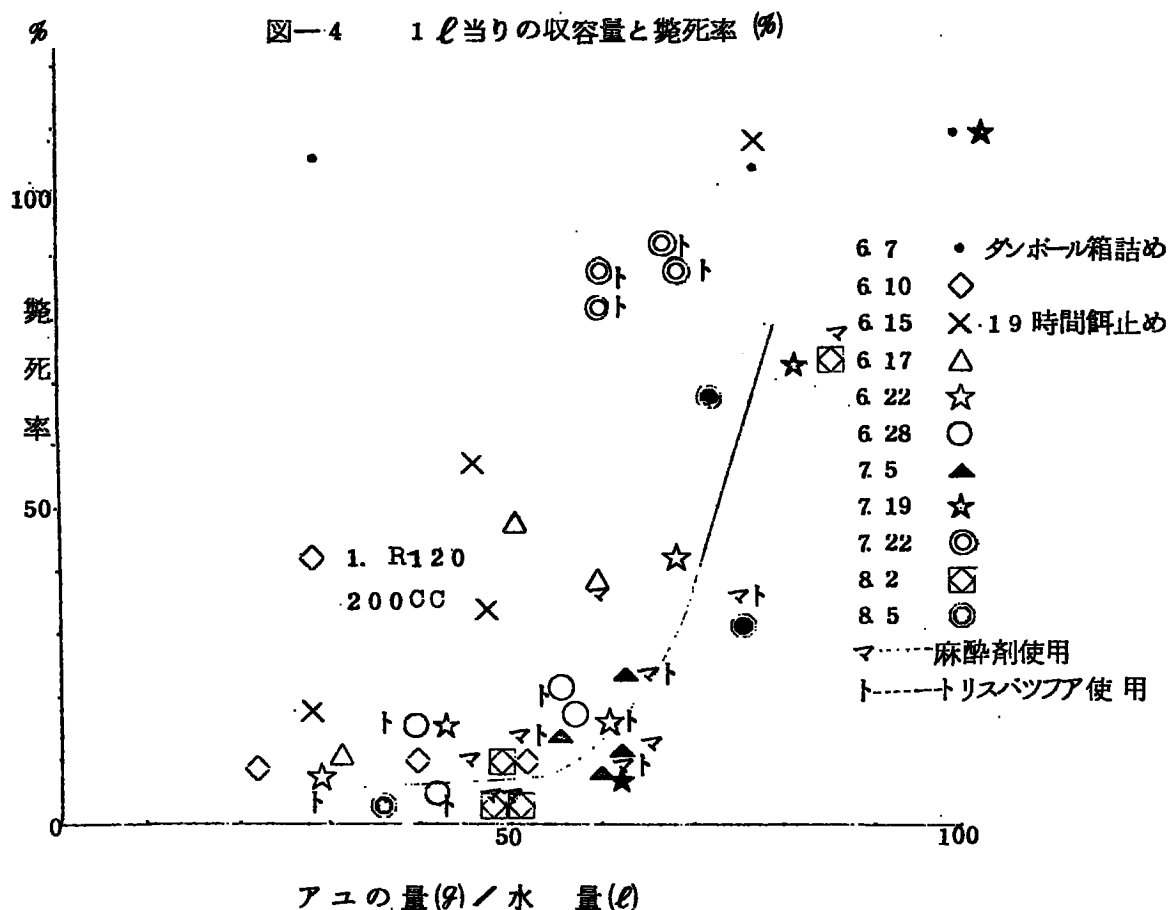
24時間後の開封時には、生、死の尾数と、水を切ってコアユの全重量を測定した。

単位水量当りの収容量と斃死率

実験結果をまとめて表-1および図-1に示した。実験順に述べると次の如くである。

第1回の実験は、ダンボール箱内を厚さ20mmのポリスチロール発泡材で外気と断熱出来るようにした。その内に8°Cに冷却した水6ℓにコアユを各々200g、460g、615g入れて、酸素ガスを16ℓ(流量計で測定)封入したポリエチレン袋を入れた。そして各々600gのドライアイスで包装して、ポリエチレン袋の上部に置いて、ポリスチロール発泡材の蓋をし、ダンボール箱をテープで封じて、24時間静置した。気温は封入時21.8°C、夜間18.8°C開封時24.6°Cであった。袋内水温は、袋下部で間接的に測定した結果、封入時が8.2~8.4°Cが漸次上昇し、開封時12.0~13.8°Cとなった。ポリスチロール発泡材による断熱効果は認められた。しかし、斃死率は200g/6ℓの袋で99%、他は100%で、非常に悪い状態であった。コアユ615g/水6ℓ、コアユ460g/水6ℓの2袋は収容量が多く、他の実験例から10°C標準でも70~80%の斃死率があるので、100%の斃死率も考えられない値ではない。しかし、コアユ200g/6ℓの袋の斃死率99%は、水温の上昇がその大きな原因と思わ

れ、水温の上昇は単位水準当りの魚の収容量を大きく左右するものと思われ、その原因が酸素消費量の増大にあると考えられるが、それと同時に24時間の遊離炭酸量が他の同程度の収容量と比較しても、約2倍と多いことから、水温の上昇が酸素消費量を増加させ、その結果、代謝排泄物の一つとして蓄積された遊離炭酸および他の有害物質が生残を困難にしたのではないだろうかと思われる。



第2回の実験では、ほぼ同量のコアユを、水量を変えて収容し、他の1つには、1R120、200ccを58メツミュのミユラーガーゼの小袋に入れて、コアユと同封した。第2回以後の実験は図一1に示した如く冷却した水面に各袋を固定して行い、水温は外囲の冷却水の温度で示した。1R120を入れた袋では、NH₄-Nは交換されて減少したが死亡率は、他のほぼ5倍であった。これは1R120を単独に用いた為かと思われる。アニオン交換樹脂も同時に使用すべきではないかと思われる。又その時の水の純水化に伴う弊害については、ほぼ等しく7.4~8.3%であった。これはコアユの収容量が比較的少いために、水量の変化が、死亡率に影響する段階になっていないものと思われる。

第3回の実験は、餌止め期間が19時と短時間であった。そして、各袋共、死亡率が他の実験例と比較して高い。水温、供試魚、収容量等の条件から推して、餌止め期間の短いのが大きな原

因と思われる。

第4回の実験では、MS-222をコアユ370g/水6ℓの袋で16ppmの濃度で使用し、コアユ310g/6ℓよりも死亡率が5.7%少なかった。

第5回の実験は、トリスバッファーを1,000, 3,000 ppmの濃度で使用し、 P^H の低下を小さくしようと試みた。塩酸による P^H 調整を行った。 P^H は24時間後1,000 ppmで6.99、3,000 ppmで7.04であった。トリスバッファーを使用しなかった袋でコアユ420g/水6ℓと収容量が多いのに、同 P^H が6.91であった。3日間の餌止めの実験数が少ないので、その原因が餌止めの効果か、否か分らない。

第6回の実験もトリスバッファーの効果を見たものである。いづれも、0.01N塩酸による封入時の P^H 調整を行っている。トリスバッファーを使用しなかったコアユ365g/水6ℓが死亡率16.7%、トリスバッファーを使用したコアユ350g/6ℓが死亡率17.8%とやや高い値である。 P^H 低下は防げるが、それが死亡率の低下への効果は分らなかった。他の2袋についても、使用したために死亡率が特に低いとは云えない。

第7回の実験では、MS-222とトリスバッファーを組み合わせて使用し、トリスバッファーについては P^H 調整をしていないものを加えた。コアユの収容量をほぼ一定にして行った。死亡率が低かったのはMS-222 16 ppmとトリスバッファー50 ppmを併用して、 P^H 調整を行なわなかった袋で、次いでMS-222 16 ppmのみの袋であった。死亡率の比較的高かったのは、MS-222, 16 ppmとトリスバッファーを50, 100 ppm併用し、 P^H 調整を行った2つの袋であった。 P^H 調整は、コアユの P^H 至適範囲が明確でないので、 P^H 8近くに調整して実験しているが、HCℓによる P^H 調整の必要性については、コアユの至適範囲の検討を今後しなければならない。又それによって、トリスバッファーが有効かどうかについても自ら明らかになる。

第8回の実験は、今回の様式の輸送の場合、コアユの収容量と死亡率が比例しない事を示している。即ち、ある収容量(約コアユ60g/水1ℓ)までは死亡率は少ないが、それ以上の収容量では急激に死亡率が増大することである。実験データは少ないがこの状態を図-1のフリーハンドの曲線で示した。これは第8回だけでなく、第10回、11回にもその傾向が現われている。収容量が多いために、急激な酸素不足を起すことは考えられるが、実験開始より6時間経過後に大量の死亡がみられない所から、酸素不足が大きな原因ではないと思われる。 NH_4-N も、コアユでは有害な程度(前報)とは考えられないし、 P^H が低い所から、その毒性も抑えられるものと思われる。もちろん、本実験で測定した項目以外に、有害な物質、収容量を制限する因子があるであろうが、その内で、比較的大量に蓄積されるものとして、表-1の水質について調べたのであるから、これら項目から要因を探ろうとすることは危険が併う。又遊離炭酸については測定方法が不十分であるので、今後研究したい。密閉式の輸送の状態が開放式での、より高密度に魚を収容した状態に等しいと考えられるならば、図-4のこの急激な死亡率の増大の原因を知ることが、輸送問題の解決になるのではないだろうか。

第9回の実験は P^H の抑制のため、トリスバッファーを無調整で使用した。 P^H の維持には効果が見えるが、異常に斃死率が高かった。その原因は不明である。

第10回の実験はMS-222を使用したもので、コアユ300g/水6ℓ、コアユ310g/水6ℓでは斃死率は0.8~0.9%と極く小さい。コアユ330g/6ℓで7.8%と普通と思われるが、コアユ510g/水6ℓでは81.3%と増大する。

第11回の実験は、MS-222、16ppmとトリスバッファー50、100ppmを無調整で併用したものである。いづれも、使用しないものより P^H は高く、斃死率も小さく、その効果が認められる。しかし、第9回の時も見られたのであるが、コアユの生残したものが、かなり強い衰弱を示すものが全んどであることに問題がある。

まとめ

ポリエチレン袋を用いて、酸素封入した密閉式で、アユの輸送実験を室内で行って、収容量、薬育等について検討した。

1. 断熱したダンボール箱内で、低水温を保持するため、ドライアイスを使用した所、開始時水温 $8.2 \sim 8.4^\circ\text{C}$ であったが、24時間後 $3.6 \sim 5.4^\circ\text{C}$ 上昇した。そして200g/6ℓの密度で斃死率は99%に達した。この密度は、水温 10°C 標準での斃死率は10%以下の密度であり、その原因は水温の上昇が代謝を高めた為であろうが、溶存酸素や、 $\text{NH}_4\text{-N}$ がその大きな原因ではなく、それ以外の因子によるものと思われる。
2. トリスヒドロキシメチルアミノメタンを使用すると、コアユ100g・1時間当りの $\text{NH}_4\text{-N}$ の蓄積が多くなる傾向が見られた。
3. トリスヒドロキシメチルアミノメタンとMS-222を併用して、HCℓによる P^H 調整をしない場合、 P^H 低下が少く、斃死率も減少の傾向にあったが、生残したコアユの衰弱がひどかった。
4. イオン交換樹脂、1R-120のみで $\text{NH}_4\text{-N}$ を処理するのはよくない。
5. 水温 10°C 標準、水量6ℓ、酸素ガス20ℓでコアユをポリエチレン袋に封入した場合、コアユの収容量が、60g/ℓ以上になると、急激に斃死率が高くなる。

文 献

- 1) * Nemoto, Carl M. : Experiments with methods for air transport of live fish. U.S. Fish and Wildlife Service, Prog. Fish Cult., vol.19, no.4, p.p.147~148 (1957).
- 2) 鈴木清蔵・土屋 実・渡辺国夫・玉河道徳：草魚の人工採苗に関する研究・埼玉県水産試験場業務報告・第11号 PP22~62, Plate Ⅱ, IV. (1958).
- 3) Messerly, George D. : Albino brook trout mailed from Washington, D.C., to Dallas, Texas U.S. Fish and Wildlife Service, Prog Fish Cult., Vol.21, no.4, p.160(1959)
- 4) * Anonymous: Plastic bags for transport of trout in South Africa. U.S.Fish and Wildlife Service, Prog. Fish Cult., vol.21, no 1, p.16 (1959)
- 5) Richard S.H.and Keith D.M.: Shipping Small Chinook salmon in closed plastic containers.U.S. Fish and Wild Service, Prog.Fish Cult., Vol 24, no.1 pp.135~136(1962).
- 6) 吉田俊一： 酸素封入式活魚輸送に関する研究Ⅰ・水質と生存条件について
- 7) 吉田俊一： 酸素封入式活魚輸送に関する研究Ⅱ・袋内の酸素の変化について
昭和42年度, 日本水産学会年会で発表 於東京都(1967)
- 8) Mcfarland, W.N.: The control of P^H by buffers in fish transport.Clif. Fish and Game. vol.44 no4. pp-291~310.(1958).

* 印 原文を直接見していないもの。