農・生物試料の実用放射化分析技術 (Ⅷ)[†]

(7) 魚体試料の非破壊放射化分析

渋谷 政 夫

農林水産省農業技術研究所化学部

114 東京都北区西ヶ原2-1-7

Key Words: tracing salmon, activable tracer technique, europium

1. 試料の調製

a) 現地から実験地までの輸送

魚体試料のように水分が多く、腐敗しやすい試料は試料採取後照射試料の作成までの取扱い方とくに注意する必要がある。また魚体の試料採取部位や器官によっても取扱い方にちがいがあ。たとえば、ウロコや骨格部のように比較的長期にわたって変化し難いものと、肉、内臓のように容易に変化しやすい器官の場合とでは試料採取時から分析調製時までの期間の保存のし方がちがってくる。

一般的には、採取した魚体を冷凍するか、ドライアイスまたは氷の箱に入れ、可及的短時間で実験室まで輸送したあと、照射試料作成処理までの時間が長い場合には、冷凍庫または冷蔵庫に保存する。しかし骨格部やウロコのような変化し難い部位器官については必ずしも冷凍の必要はない。

b) 照射試料の調製

魚体の解剖については、必要とするステンレス製解剖器具を使用し、手術用ゴム手袋をはめて行いが、このさい、魚体各器官相互間の混入、汚染のないように注意し、解剖器具はつねに蒸留水、アセトンの順に洗拭きとる。

肉、内臓などの自家消化の進みやすいものは、分離採取したのち直ちに、汚染のないビーカ、シャーレな

どに入れ、ガーゼでおおい、24時間冷凍真空乾燥するのがよい。魚体が小さく各器官に分離不可能なもの、または内臓の自家消化が進んで分離不可能な場合にはそのまま冷凍真空乾燥し粉碎する。

骨格部は汚染のないステンレス製小刀あるいは鉋などを用いて、表面に付着している肉その他をけずり取る。またウロコのようにゼラチン状のヌルは、手の指先きで容易にとれる。通常は可性カリ溶液に浸漬してとるが、カリ成分が試料に付着残留するおそれがあるため放射化分析試料の処理法としてはさけたい。

以上のことは、著者らが経験した一般的な処理法であるが、魚体の大小、実験の目的などによって、試料の採取部位、器官が異なるので、目的にかなった試料の調製法をくふうすべきである。要は汚染がなく、100 mg 程度を秤取しやすいように調整することである。

2. 使用例：鮭試料中のユーロピウム(Eu)の非破壊放射化分析

2・1 アクチバブルトレーサ法とは

放射化分析の一般的な特徴をあげると、

① きわめて定量感度が高いので微少な試料中の微量元素の分析ができる。

② 化学分離操作をはぶいた非破壊分析ができる。

③ 非破壊分析では同じ試料を何回でも供試することができる。

④ 非破壊法では多数の試料を能率的に処理できる。

⑤ したがって、従来の分析法では困難か不可能だった特殊微量元素の分析ができるようになったものもある。

著者の一人渋谷は以上のような放射化分析の特徴を

[†] Practical Techniques of Activation Analysis to Agricultural and Biological Samples (Ⅷ). (7) Non-destructive Activation Analysis for Eu in Fish Materials. Masao SHIBUYA: National Institute of Agricultural Sciences, 2-1-7 Nishigahara, Kita-ku, Tokyo 114, Japan.

生かして、農業研究試料に適する能率的な非破壊放射化分析法を基礎的に研究する一方、放射化分析を農水産研究へ応用し、茶、みかん、りんご、柿などの永年作物の微量金属元素の異常吸収による生理障害の解明、銅の水質汚濁による農作物被害の理論的解明、大気汚染によるみかん果実障害の汚染源の追跡判定などの実際問題の解決に役立ててきたが、放射化分析のもう一つの大きな特徴として、アクチバブルトレーサ法(activable tracer technique)がある。これは目印となる放射能をもたない元素を追跡子として用い、それを含む試料をあとで原子炉の中性子で照射して放射化させて検出する方法である。したがって、実験系内ではまったく放射能とは無縁のため、安全であり農林水産業のように野外を対象とする場合の追跡法としてきわめて有効な手法である。このような見地から、土壌、植物試料を対象としてアクチバブルトレーサ元素として希土類元素に着目して研究を進め、微量試料中の微量ユーロビウム(Eu)元素の非破壊放射化分析法を確立するとともにその応用を進めてきた。

2.2 アクチバブルトレーサ法による白鮭の回帰追跡

農水産研究における放射化分析を利用したアクチバブルトレーサ法の典型的な例¹⁾として、シロサケ回遊追跡への応用について述べる。

200カイリ問題以来、栽培漁業がにわかに注目されるようになったが、サケ・マスはまさに栽培漁業の先駆者であり、その人工ふ化技術は先進的といえよう。すなわち、産卵のために川に戻ってきた(母川回帰といわれている)親魚を捕獲して採卵し、人為的に受精させたあと設備されたふ化場でふ化させ、さらに人工餌料で約1か月ほど飼育したあと、河川に放流し、降海して北洋を回遊しながら4～5年後に親魚となり、ふたたび沿岸に回帰する。

わが国におけるふ化事業の大部分は北海道であり、ふ化事業対象河川は60河川あまりをかぞえる。近年の北海道のシロサケの回帰率は放流稚魚数に対して約2%といわれる。農作物の栽培では、良質な種子を用いて、発芽歩合を高くし、健苗をつくることが多収に結びつく重要な要因となる。苗代半作といわれる理由もここにある。サケの回帰率を高めることはまず放流稚魚数を増すことであるが、このためには、親魚から採取する卵を確保することが重要となる。親魚の乱獲は4年後の収獲につながることを忘れてはならない。

a) 従来の標識法

サケ・マスの稚魚の標識放流は、回遊経路、回帰率および生き残りなどを明らかにし、サケ・マス資源や増殖の方法に基礎的な知見を提供するうえにきわめて重要である。

したがって、従来は稚魚に対する標識はわが国ばかりでなく、ソ連、カナダ、アメリカでも鰭切り法やマグネチック、タグ法などいろいろな方法が採用されてきたが、魚体に対する損傷や大量処理など技術的な面で、必ずしも満足すべき方法は開発されていない。とくに放流時の稚魚に対する標識の鰭切り法は、体長数cm、体重0.6～0.7gの魚体の脂鰭、腹鰭はきわめて小さいものであり、これを魚体を損傷することなく、しかも正確に切る操作は困難であり、熟練を要するものと思われる。また大量の稚魚を処理することにも限度があろう。

b) アクチバブルトレーサ法の条件

これらの方法にかわるものとして、アクチバブルトレーサー法が試みられた。この方法は、標識元素を餌料に混合して稚魚に投与し、経口的に稚魚体内にとりこませるので、つぎのような条件が必要となる。

① 標識元素は極微量で放射分析につごうのよいもの。

② 追跡対象となる試料(魚体)に天然の状態ではほとんど存在しない(一般分析法では検出不可能はもちろんのこと、同一条件下の非破壊放射化分析法でも検出限界以下)希有元素であること。すなわち標識魚と非標識魚との区別。

③ 長期間魚体内に保持されること。

④ 毒性がないこと。

⑤ サケの商品価値をそこねない部位で容易に分析試料を採取できること。

などである。

すでに基礎的に進めてきたユーロビウム元素(希土類元素の一つ)が、上述の諸条件に合致する有効な元素であると考え、サケ・マスの稚魚にEuを投与して、体内への蓄積の状態やトレーサとしての有効期間、生体への生理的影響、魚体試料中のEuの非破壊放射化分析法などについての研究が慎重に進められた。

なお、この実験は水産庁遠洋水産研究所サケマス研究室(米盛保室長)、水産庁北海道サケ・マスふ化場(西野一彦現場長)と農業技術研究所化学部(著者)とのプロジェクト研究として着手し、西別川の実証試験では、ふ化場の小林課長、阿部室長、遠水研加藤技官、根室支場、虹別ふ化事業場の関係官の多大の協力により、10年の歳月をかけて実証されたものである。

2.3 アクチバブルトレーサ元素 Eu の非破壊放射化分析

(1) 淡水水槽実験試料

a) 供試魚

稚魚の飼育方法は、北海道サケ・マスふ化場千歳支場から、給餌開始直後のシロサケ稚魚を北海道サケ・マスふ化場（本場）調査実験室へ移送し、約5.5 l 容の水槽4個に各200尾ずつ飼育した。各水槽は毎分850 ml の流水式とし、水温は9℃～12℃で日変化はほとんどなく、夏季最高水温でも12℃であった。

Eu 標識餌料は、飼料中の Eu 濃度を100, 1,000, 15,000 ppm のものと無標識飼料とし、毎日魚体重量の約3%相当量を投与した。投与開始は43年4月10日。実験開始時の稚魚の平均体重は0.32 g、平均体長3.9 cm であった。

b) 照射試料の調製

魚体中より内臓を分離し約24時間冷凍真空乾燥したのち、各試料別に粉砕しその中より約100 mg を採取した。魚体が小さい場合または内臓の自家消化が進んで分離不可能な場合は内臓を含んだまま乾燥し粉砕した。

採取した約100 mg の試料は化学処理することなく、そのままの状態でもポリエチレン製の小袋に封入しさらに薬包紙で包んだ。このようにして調製された各試料10数個と5 μ g Eu スタンダードを1つのポリエチレン製短時間中性子照射用カプセルにおさめた。

c) 中性子照射

これらの試料を放射化するために日本原子力研究所の実験用原子炉 JRR-2 を利用した。照射は熱中性子束密度 $7 \times 10^{13} \text{ n/cm}^2 \cdot \text{sec}$ のものに5分間行った。

d) ^{152m}Eu の測定

上記の照射条件下では、魚体の主要構成元素である C, O, H, N などはほとんど放射化されないが、Na, Cl, K, Ca およびアクチバブル・トレーサとして用いた Eu が放射化される。放射化された元素は、その原子核特有の核反応を示し、特有の放射線を放出するのでその放射線の種類、エネルギーおよび半減期などによって元素が同定される。測定期は Ge(Li) 半導体検出器を1,024 チャネル波高分析器と組み合わせたものを用い、 ^{152m}Eu の同定および ^{152m}Eu の放射能を計測した。熱中性子照射によって $^{151}\text{Eu}(n, \gamma)^{152m}\text{Eu}$ 反応が起こり生成された放射性核種 ^{152m}Eu の主要な γ 線エネルギーは、0.122 MeV であり半減期が約9.2時間である。

図1は同一条件下で照射した ^{152m}Eu の標準スペク

図1 試料および Eu 標準体の ^{152m}Eu の γ 線スペクトル

トルと魚体試料中の ^{152m}Eu のスペクトルの例である。両者の ^{152m}Eu による γ 線スペクトルはまったく同一位置に位することが確認できる。

一方、これらのスペクトル波高値の減衰曲線を求めたのが図2である。すなわち、いずれの試料も9.2時間の半減期が求められ ^{152m}Eu 核種の半減期であることが確認できた。

図2 試料および ^{152m}Eu 標準体の減衰曲線

試料中の Eu の含有量は同一条件（照射カプセルごとに Eu の既知量標準体はいっている）で照射した Eu 標準体の ^{152m}Eu 放射能の強さとの比較法によって算出し、試料中の Eu 濃度を ppm で算出する。

他法、Eu 無標識餌料を与えた魚体には非破壊放射化分析によって Eu の存在を検知することができなかった（図3）。したがって、各試料にみられる Eu はすべて Eu 標識餌料からとりこまれたものであるという。

e) 稚魚中にとりこまれた Eu 含量の消長

図3 無標識魚のγ線スペクトル

実験初期の稚魚は小さいため、魚体を解剖して各器官別試料の採取ができなかったため、稚魚全体を試料として、魚体中の Eu の経時的消長をみたのが図4である。

図4 稚魚中にとりこまれた Eu 含量の消長

図によると、1か月間の Eu-標識餌料投与が終了して、通常の餌料を与える直前の全魚体中の Eu 含量は約 10 ppm (高いもの 20 ppm) と高濃度であったが (標識餌料の未消化部分がある状態)、Eu を含まない通常の餌料投与に切りかえ、稚魚の生長がしだいに増加するにしたがって、全魚体中の Eu 濃度は低下し、餌料切換え後 5 か月までは Eu の検出が明らかであったが、翌月の 6 か月後には検出がきわめて困難となった。しかしこの時期の魚体は大きく、各器官の摘出解剖が可能となる。そこで内臓、肉、骨、ウロコ、耳石とおもな器官に分けて Eu を測定したが、耳石、ウロコにのみ特異的に検出され、他の部分にはまったく検出されないというきわめて興味ある結果が得られた。

(2) 回帰魚 (西別川実証実験) 体中の Eu の放射化

分析

a) 供試魚

人工ふ化、稚魚への投餌法は一切常法にしたがって行い、放流時の鰭切り標識は、Eu 標識餌料で 1 か月飼育した稚魚に対して行ったので完全な二重標識をしたことになる。鰭切り標識は放流時期を区別するため脂鰭を切ったもの、腹鰭の左のもの右のものを切ったものの 3 種である。海に放流後 3 年目に、沿岸の定置網漁の中から発見された鰭切り魚を収集した (実際には研究費で購入)。これらの魚体を解剖して耳石 (左右 2 個の含量が 17~20 mg)、ウロコ 20~30 枚程度および肉、内臓、エラ、骨などに分けて採取した。

b) 放射化分析

放射化分析に用いられた試料量は、耳石は全量、ウロコは 10 mg~50 mg、他の試料は 100 mg で、日本原子力研究所の JRR-2 原子炉で 5 分照射したのち 5~6 時間冷却し、1,024 チャンネル波高分析器に Ge(Li) 半導体検出を組み合わせ、ガンマスペクトロメトリーを行い、 ^{152m}Eu の 122 keV の光電ピークを指標として試料中の Eu を検出した。

図5、6は標識魚のウロコ中の ^{152m}Eu のγ線エネ

図5 ^{152m}Eu のγ線エネルギーの同定 図6 ^{152m}Eu の物理的半減期の同定

ルギーと、物理的半減期を同定したものである。なお、エラ、肉、骨格部、内臓からは淡水水槽実験の場合と同様検出できなかった。また無標識魚（バックグラウンド）のウロコからも検出されなかった。

以上の結果から、河川→海→河川的环境下で生活するサケの回遊追跡法の一つとして、放射化分析利用に

よるアクチバブルトレーサ法の有用性を確立することができた。

文 献

- 1) 渋谷政夫：原子力工業，24，(10)，23—27(1978)