



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	ニジマス血清試料の保存に伴う血清成分の変動について：Ⅰ. ナトリウム, カリウム, カルシウム, マグネシウム及び浸透濃度
Author(s)	渡辺, 祥子; WATANABE, Shoko; 清水, 幹博 他
Citation	北海道大學水産學部研究彙報, 29(1), 7-18
Issue Date	1978-03
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/23625
Type	departmental bulletin paper
File Information	29(1)_P7-18.pdf



ニジマス血清試料の保存に伴う血清成分の変動について

I. ナトリウム, カリウム, カルシウム, マグネシウム及び浸透濃度

渡辺祥子*・清水幹博*・山田寿郎*

Effects of Storage on the Stability of Serum Samples
of the Rainbow Trout

I. Sodium, potassium, calcium, magnesium and
osmotic concentrations

Shoko WATANABE*, Motohiro SHIMIZU* and Juro YAMADA*

Abstract

The question how long fish sera can be stored for accurate measurements of physico-chemical factors is of practical importance in physiological studies of fish. The stabilities of sodium, potassium, magnesium and osmotic concentrations of serum of the rainbow trout (*Salmo gairdnerii irideus*) were investigated keeping the serum at about 20°C (room temperature), 4°C (in a refrigerator) and -15°C (in a freezer) for different periods.

Sodium and potassium concentrations showed a similar upward change with time; the stable periods were 2 weeks at room temperature, 2 months at 4°C and more than 4 months at -15°C. The calcium concentration dropped rapidly at any temperature, being stable for 2 days at -15°C. Magnesium also showed a downward change but was more stable than calcium and maintained the initial level for 20 days at -15°C. The osmotic concentration was found most unstable; it increased after 12 hr at room temperature and 24 hr at 4°C, while it decreased after 7 days at -15°C. Possible factors which cause these changes were discussed.

緒 言

近年、血清学や血液学の進歩に伴い、血液化学成分の測定は人体の生理的状態及び医療における診断の指標として、不可欠なものとなっている。魚類についても、環境変化に対する生理的反応の研究、魚病に関する研究、栄養学的研究等において、血清成分の分析が広く行なわれており^{1),2)}、魚類の血液成分の化学的研究はかなり進んできている。診断の指標とする場合のみならず、血液化学成分の測定に当っては、正確な測定値を得るために迅速な分析が必要とされる。しかし実際には、採血する場所と測定機器との空間的距離、あるいはその他の測定上の都合などによって直ちに測定が出来ず、血清をある期間保存した後に分析が行なわれることが多い。それ故、保存に伴う血清成分の変化が問題となってくる。

血清成分がある期間の保存によりどのような変化を示し、どれくらいの期間その安定性を維持し得るかを知らる事は、保存による変化についての対策を考える上で、あるいは適当な補正を加えることに

* 北海道大学水産学部生理学生態学講座
(Laboratory of Physiology and Ecology, Faculty of Fisheries, Hokkaido University)

より、より信頼し得る値を得るために必要と思われる。ヒト血清では Weissman and Pileggi³⁾、佐々木ら⁴⁾、松宮⁵⁾ 及び渡辺⁶⁾ などが、数多くの血清化学成分について、保存による安定期間を報告している。しかし魚類の血清化学成分については山下⁷⁾ がカサゴ (*Sebastes marmoratus*) を用いて保存による血清蛋白分画の変動をみている以外、保存血清成分の変化及び安定性についてほとんど報告されていない。

本研究はニジマスの血清成分が保存温度及び時間によってどのような変化を示し、どれくらいの期間安定性を保持し得るかを明らかにしようとしたものである。こゝでは先ず血清無機成分 (Na, K, Ca, Mg) の濃度及び血清浸透濃度の量的変動について報告する。

材料と方法

実験に使用した血清は七飯町石井養鱈場及び北海道大学水産学部七飯養魚実習施設より入手した平均体長 23.2 cm, 平均体重 231.9 g のニジマス (*Salmo gairdnerii irideus*), 約 80 尾から得た。これらのニジマスは入手後、本学部水槽センターの屋外流水式水槽内で市販の養鱈用ペレット (No. 7P, 日本配合飼料 KK) を毎日適量与えて飼育されていたものである。

血清の採取

採血に際してニジマスを屋外の水槽から実験室内の水槽に移した後、ストレスからの回復をはかるため、通気しながら約 30 分間静置した。魚をとり上げ直ちに頭部を強打し、尾柄部切断により、尾大動脈から試験管に採血した。採取した血液は凝固まで 20~30 分間放置後、3000 rpm にて 15 分間遠心分離し、直ちにピペットで血清層を吸い上げた。このようにして十数尾から得た血清をいったんひとつの試験管に集め、ガラス棒で軽く混和した。その後血清を一定量ずつそれぞれのガラス製毛細管に分取した。なおそれぞれの測定項目については同一の試料を用いた。

血清の保存

血清を入れたガラス製毛細管の両端を、テルモシールでふさぎ更にパラフィルムでおおって、試料の濃縮及び汚染を防いだ。保存は室温保存 (20°C 前後)、冷蔵庫保存 (4°C) 及び冷凍庫保存 (-15°C) の3つの温度条件で行なった。保存期間は測定対象により 14 日間~120 日間で、それぞれ Tables 1~5 に示してある通りである。

血清無機成分の測定

測定項目は、Na, K, Ca, Mg 濃度及び血清浸透濃度である。尚、冷凍庫保存の血清は 5 分間の室温解凍及び 2 分間の 37°C 恒温水槽による解凍の 2 つの条件で解凍し、血清の均一化をはかるため、よく振り混ぜた後それぞれの成分について測定を行なった。冷蔵庫保存の血清では凝固水が毛細管内部に付着するため、毛細管をよく振った後測定に供し、室温保存のものについても、血清の均一化のため毛細管を十分振った後測定に供した。

Na 及び K 濃度の測定: Na 及び K 濃度は原子吸光光度計 (日立 518 型) を使用して炎光分析法により測定した⁸⁾。Na 濃度測定には、血清 10 μ l をサンズ式マイクロピペットでガラス製毛細管より分取し、蒸留水で 1001 倍に希釈して、また K 濃度の測定には、血清 100 μ l を蒸留水で 51 倍に希釈して用いた。標準溶液には炎光分析用混合標準液 (血液用, 第一化学) を用い、Na 濃度については 701, 801, 1001, 1201, 1501 倍に、K 濃度については 71, 101, 131, 151, 201 倍にそれぞれ蒸留水で希釈した。

Ca 及び Mg 濃度の測定: Ca 及び Mg 濃度の測定は、原子吸光光度計 (日立 518 型) を用い、原子吸光分析法により行った^{8), 9)}。Ca 及び Mg のいずれの場合にも血清 50 μ l をサンズ式マイクロピペッ

渡辺ら： ニジマス血清の保存に伴う成分の変動-I

トで毛細管より分取し、蒸留水で121倍に希釈して測定に供した。標準溶液には蛍光分析用混合標準液(血液用, 第一化学)を用い、Ca濃度については61, 81, 101, 121, 141倍に、Mg濃度については121, 141, 161, 181, 201倍に蒸留水でそれぞれ希釈して検量線の作製に供した。

血清浸透濃度の測定: 血清浸透濃度の測定はOsmette浸透圧計(Precision System Inc., Model 2007)を用いて行なった。100mosM/kg H₂O及び500mosM/kg H₂Oの標準液(Precision System Inc.)により調整を行なった後、1回につき約200 μ lの血清を用いて浸透濃度を測定した。

安定期間の決定

採血直後の新鮮な血清と保存血清との間の成分濃度(Na, K, Ca, Mg及び浸透濃度)の差異を検討するため、血清分離直後にそれぞれの成分濃度及び浸透濃度をすみやかに測定し、その値を基準値とした。また室温保存、冷蔵庫保存及び冷凍庫保存の条件下におけるそれぞれの安定期間は、基準値と各測定値との間で有意水準=0.05により検定を行ない、その有意差の有無によって決定した。

結果及び考察

Na濃度

各保存条件下での血清Na濃度の経時的変化をTable 1及びFig. 1に示した。Fig. 1から明らかなように、室温保存ではNa濃度は1週間及び2週間の保存で僅かに増加する傾向が認められたが、基準値との間に有意差は認められなかった。しかし、20日目以降では血清Na濃度は急激な増加を示した。冷蔵庫保存ではNaの濃度は2カ月までは僅かな変動を示すのみであったが、その後急激な増加がみられた。一方冷凍庫においては、室温解凍及び37°C解凍共に保存期間が長くなるにつれて増加傾向を示したがそれほど大きな変化ではなかった。全体としてNa濃度は保存温度が高いほど強い増加傾向を示し(Table 1)、また全ての保存条件下で保存期間が長くなるにつれて増加する傾向を示した。

保存による血清Na濃度の増加の原因としてガラス器具からのNaの溶出が良く知られており、測定時における希釈を数百倍以上にした時にかなり大きな問題となっている⁹⁾。鈴木ら¹⁰⁾は分離後室温にて2日間放置したヒト血清ではガラス管からの溶出によりNaが顕著に増加する事を報告し、また長谷川¹¹⁾はガラスから溶出したNaによりヒト血清のNa測定値は5~20mEq/L程度上昇する事を

Table 1. Changes of sodium concentration (mEq/L) of serum samples stored at different temperatures.

Initial value: 157 \pm 1.0

Days	20°C (Room)	4°C (Refrigerator)	-15°C	
			Defrosted at room temp.	Defrosted at 37°C
1	156 \pm 2.2	155 \pm 1.4	—	—
3	155 \pm 1.9	157 \pm 1.9	156 \pm 2.0	156 \pm 1.6
7	163 \pm 1.9	159 \pm 0.9	159 \pm 0.7	159 \pm 0.4
14	165 \pm 2.1	160 \pm 1.4	158 \pm 1.4	159 \pm 0.7
20	180 \pm 1.6*	160 \pm 1.9	163 \pm 1.6	161 \pm 1.8
30	182 \pm 1.3	159 \pm 1.1	164 \pm 1.1	164 \pm 1.9
60	—	163 \pm 1.9	163 \pm 1.9	164 \pm 2.0
90	—	186 \pm 2.2*	165 \pm 2.2	161 \pm 1.0
120	—	187 \pm 1.4	162 \pm 1.4	165 \pm 1.7

The data represent the mean \pm SE of 4 samples.

* Significantly different (p<0.05) from the initial value including all later values.

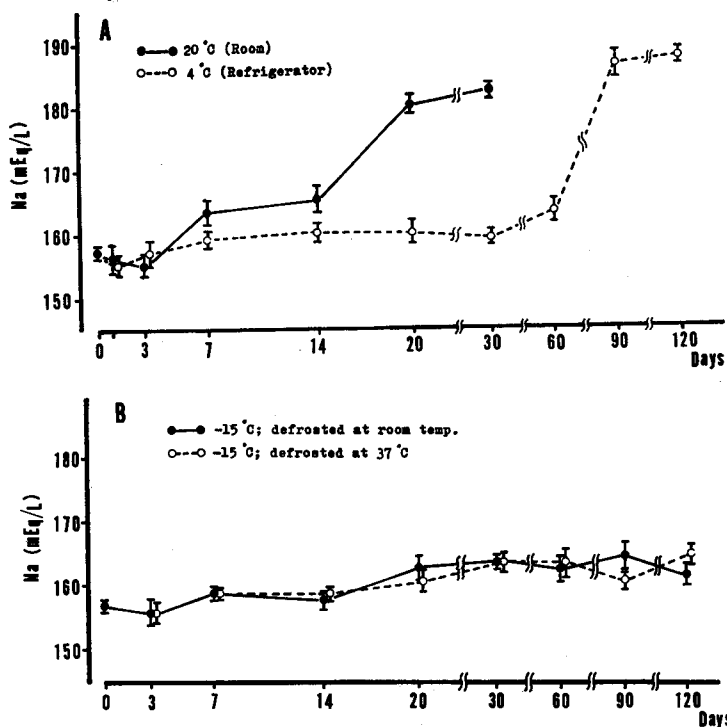


Fig. 1. Changes of serum sodium concentration with time of storage. A: at about 20°C (room temperature) and 4°C (in a refrigerator) B: at -15°C (in a freezer) ◎: initial value

述べている。本実験において Na 濃度測定の際の希釈は 1001 倍であり、血清はガラス製毛細管に保存してあるためこの毛細管からの Na の溶出は大きなものである事が推測される。ガラスの原料として使われている Na_2SO_4 は約 32°C 以下の温度で温度の上昇に伴い溶解する傾向にあることが知られている¹²⁾。冷凍庫よりも冷蔵庫、冷蔵庫よりも室温保存において、ガラス管からの Na の溶出が大きく、そのために室温保存での Na 濃度の増加が大きくなる事が推測される。また保存による血清 Na 濃度の増加を導く他の要因として、血清の濃縮も考えられる。本実験では保存用の毛細管の両端はテルモシール及びパラフィルムによりふさがれてはいるが、パラフィルムには多少通気性があるため⁴⁾、試料の濃縮も保存温度が高いほど大きく作用する可能性があるものと思われる。

血清 Na 濃度の保存による安定期間は、室温保存では前述のごとく 2 週間までは、基準値との間に有意な差はみられず、その後の急激な増加により有意差が認められたことから 2 週間以内と考えられ、これは Weissman and Pileggi¹⁰⁾ によるヒト血清を用いての実験結果と、ほぼ一致している。冷蔵庫保存では 60 日以降に有意差がみられ、安定期間は 2 カ月間であると思われる。冷凍庫保存においては、室温解凍及び 37°C 解凍共に 4 カ月間まで基準値との間に有意な差は認められなかった。それ故、冷凍庫保存 (-15°C) における血清 Na 濃度は 4 カ月以上安定していると考えられる。Caraway¹³⁾ はヒト血清を用いて -20°C で凍結保存した場合 Na 濃度は 1 年間は十分安定であると報告している。冷凍庫保存での室温解凍と 37°C 解凍との解凍操作の違いによる Na 濃度の変化には有意な差は認められなかった。

渡辺ら： ニジマス血清の保存に伴う成分の変動-I

Table 2. Changes of potassium concentration (mEq/L) of serum samples stored at different temperatures.

Initial value: 3.63 ± 0.02

Days	20°C (Room)	4°C (Refrigerator)	-15°C	
			Defrosted at room temp.	Defrosted at 37°C
1	3.62 ± 0.03	3.63 ± 0.03	—	—
3	3.65 ± 0.02	3.63 ± 0.02	3.63 ± 0.03	3.64 ± 0.02
7	3.67 ± 0.03	3.65 ± 0.02	3.63 ± 0.02	3.64 ± 0.02
14	3.66 ± 0.03	3.64 ± 0.02	3.63 ± 0.03	3.65 ± 0.02
20	$3.84 \pm 0.02^*$	3.63 ± 0.02	3.64 ± 0.02	3.64 ± 0.02
30	3.91 ± 0.03	3.65 ± 0.03	3.66 ± 0.04	3.65 ± 0.02
60	—	3.71 ± 0.02	3.67 ± 0.02	3.72 ± 0.03
90	—	$3.84 \pm 0.03^*$	3.66 ± 0.03	3.72 ± 0.03
120	—	3.82 ± 0.03	3.70 ± 0.02	3.71 ± 0.03

The data represent the mean \pm SE of 4 samples.

* Significantly different ($p < 0.05$) from the initial value including all later values.

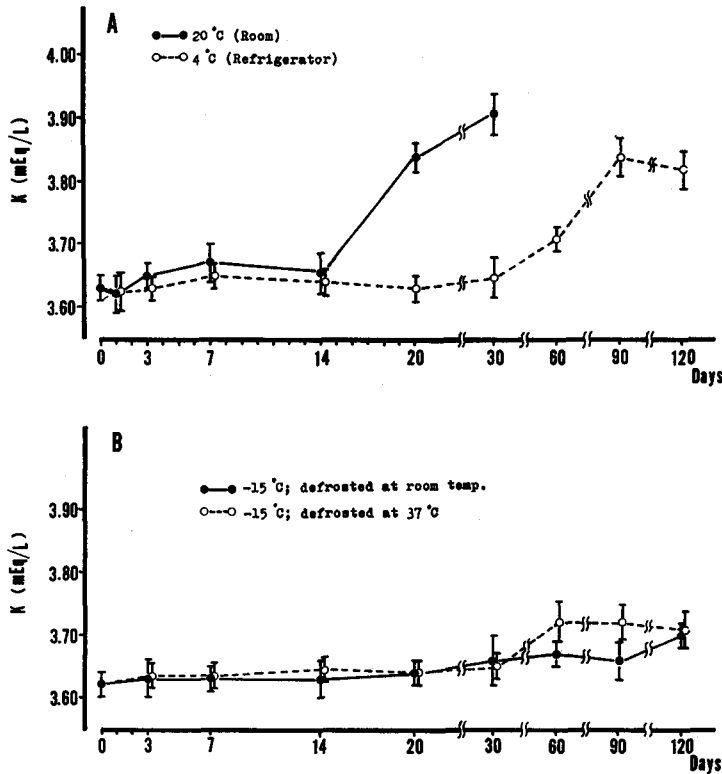


Fig. 2. Changes of serum potassium concentration with time of storage. A: at about 20°C (room temperature) and 4°C (in a refrigerator) B: at -15°C (in a freezer) ○: initial value

K 濃度

各保存条件下における血清 K 濃度の経時的変化を Table 2 及び Fig. 2 に示した。Fig. 2 から明らかのように、室温保存では血清 K 濃度は 2 週間に降に急激な増加を示し、冷蔵庫保存では 30 日以降保存期間が長くなるにつれて、徐々に増加する傾向を示した。冷蔵庫保存においても、室温解凍及び 37°C 解凍共に 30 日以降若干増加する傾向が認められた。保存温度が高いほど濃度の増加傾向は強く、いずれの保存温度においても保存期間が長くなるに従い、増加傾向はしだいに大きくなっている。

保存による血清 K 濃度の増加の原因は Na と同様に、保存用のガラス製毛細管からの K の溶出が考えられる。しかし長谷川¹¹⁾の報告によると Na と違って K の溶出は並質ガラスの場合でも問題にならないほど微量であるという。また鈴木¹⁰⁾はヒト血清を用いて、ガラス管壁からの K の溶出をみるために血清分離後室温に 2 カ月放置したが、血清 K 濃度には大きな変化が認められなかったと報告している。それ故、保存による血清 K 濃度の増加の最大原因は、保存用のガラス製毛細管からの K の溶出であるとする事は妥当ではないと思われる。また Na と同様、血清の濃縮が考えられるが、このことが本実験における K 濃度上昇の主要な原因であるか否かは明らかでない。

各保存温度における血清 K 濃度の安定期間は室温保存では 14 日間であり、Weissman and Pileggi¹²⁾のヒト血清を用いての実験結果とはほぼ一致している。冷蔵庫保存では 60 日までには有意な変動は認められず、安定期間は 2 カ月間であると思われる。冷凍庫保存では室温解凍及び 37°C 解凍共に、実験期間を通じて基準値との間に有意差は認められず、少なくとも 4 カ月間は十分安定していると思われる。

本実験によって得られたニジマス血清の K 濃度の安定期間は、佐々木⁴⁾がヒト血清を用いて得たものとはほぼ同様の結果を示している。それ故、保存による K 濃度の不安定性を導く要因はヒト血清とニジマス血清で類似しているものと考えられるが、今のところその要因が何であるか明らかでない。

冷凍庫保存での解凍操作のちがいでによる K 濃度の変化には、有意な差は認められなかった。しかし 4 カ月間のほとんどを通じて 37°C で解凍するよりも、室温解凍の方がより基準値に近い値をとっており、安定していた。

Ca 濃度

各保存条件下における血清 Ca 濃度の経時的変化を Table 3 及び Fig. 3 に示した。血清 Ca 濃度は、室温保存で 6 時間以降急激な減少傾向を示し、冷蔵庫保存では室温保存より急激ではないが、2 日目を降保存時間が長くなるにつれて減少する傾向を示した。冷凍庫保存による血清 Ca 濃度は、室温解凍及び 37°C 解凍共に保存によって 3 日目から減少する傾向を示してはいるが、他の保存条件に比べその減少傾向は最も小さかった。つまり、保存温度が高いほど血清 Ca 濃度は強い減少傾向を示した。

血清 Ca には蛋白質と結合した非透析性のものが存在し、Ca それ自身は安定な電解質であるが、蛋白質と結合して存在している Ca は蛋白質の変性と共に沈澱してしまうと言われている⁴⁾。このことから、蛋白質と結合した Ca が沈澱して毛細管壁に付着し、マイクロピペットで分取する際に吸い上げることができなくなるために血清 Ca 濃度の減少が生じた可能性が考えられる。本実験では、毛細管から血清を分取する際毛細管を転倒混和して測定に供しているが、内径約 2mm、長さ約 10cm の毛細管では転倒混和だけで内容物を十分均一にする事は困難であったように思われる。しかし、ヒトの血清蛋白質は室温放置では 10 日頃より軽度の減少傾向を示し¹⁴⁾、冷蔵庫保存で 1 カ月、凍結させると数カ月は安定であると報告されている⁴⁾。ニジマスの血清蛋白質の安定期間もヒト血清と同様であるとすると、蛋白質の変性に伴う Ca の沈澱が Fig. 3 にみられるような大きな減少に作用しているとは言いがたくなる。

一方、血清を長く保存すると、血清中脂肪酸の増加と共に Ca が脂肪酸と結合して沈澱を生じると言われている⁴⁾。Ca と脂肪酸との複合体が沈澱を生じ、蛋白質と結合した Ca と同様、マイクロピ

渡辺ら： ニジマス血清の保存に伴う成分の変動-I

Table 3. Changes of calcium concentration (mEq/L) of serum samples stored at different temperatures. Initial value: 7.51 ± 0.02

Days	20°C (Room)	4°C (Refrigerator)	-15°C	
			Defrosted at room temp.	Defrosted at 37°C
6 hr	7.49 ± 0.02	—	—	—
12 hr	$7.42 \pm 0.02^*$	—	—	—
1	7.31 ± 0.03	7.50 ± 0.01	7.51 ± 0.01	7.49 ± 0.02
2	6.56 ± 0.03	$7.43 \pm 0.02^*$	7.50 ± 0.01	7.49 ± 0.01
3	6.26 ± 0.06	7.38 ± 0.03	$7.45 \pm 0.01^*$	$7.43 \pm 0.01^*$
5	—	7.22 ± 0.03	7.40 ± 0.03	7.43 ± 0.01
7	—	7.16 ± 0.05	7.39 ± 0.04	7.38 ± 0.04
14	—	6.86 ± 0.03	7.09 ± 0.04	7.11 ± 0.03

The data represent the mean \pm SE of 4 samples.

* Significantly different ($p < 0.05$) from the initial value including all later values.

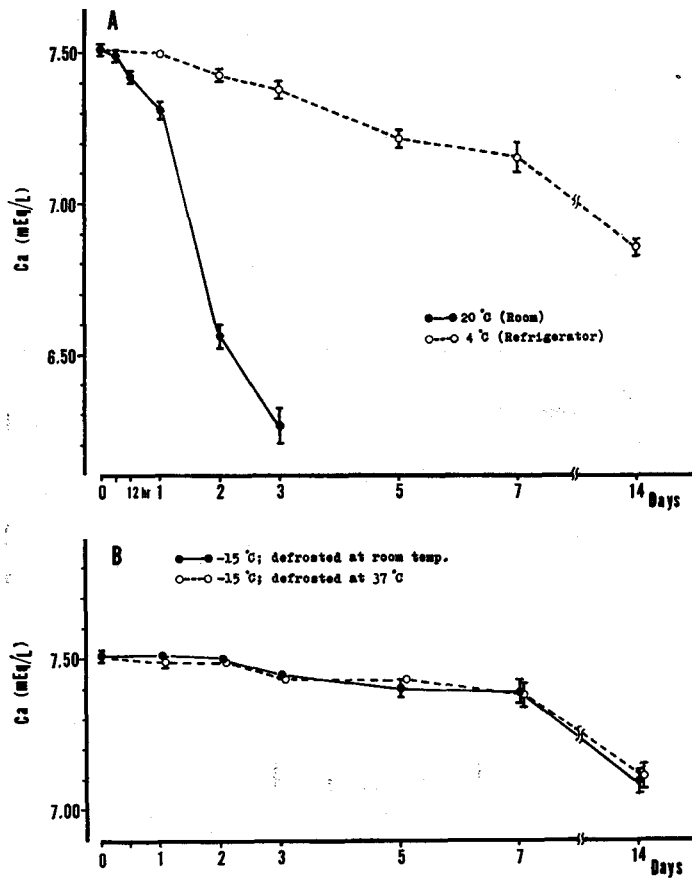


Fig. 3. Changes of serum calcium concentration with time of storage. A: at about 20°C (room temperature) and 4°C (in a refrigerator) B: at -15°C (in a freezer)
⊙: initial value

ペットで血清を分取する際に吸い上げることができないままに測定に供したことも考えられる。ヒト血清における血清脂肪酸は室温では保存不能な程不安定であり、その安定性は冷蔵庫でも24時間、凍結すると約1カ月であると報告されている¹⁵⁾。ニジマス血清のCa濃度の安定期間はヒト血清の脂肪酸の安定期間に比較的類似しているため、Fig. 3に示したCa濃度の減少は、血清蛋白質よりも血清脂肪酸との結合による沈澱によって引き起こされた可能性がより大きいものと考えられる。

さらに、保存による血清Ca濃度の減少の原因としてStarik¹⁶⁾はガラス表面が1種のイオン交換吸着体として働き、Caその他の陽イオンを吸着すると報告している。それ故、保存用のガラス管壁にCaが吸着している可能性もある。

以上のように血清Ca濃度の変化には種々の要因が考えられるが、室温保存における血清Ca濃度の安定期間は、Ca濃度が12時間以降の保存で基準値との間に有意な差が認められたため、6時間までであると思われる。冷蔵庫保存の場合には24時間は安定であるが、冷凍庫保存では室温解凍及び37°C解凍共に3日以降でCa濃度に有意差が認められたため、安定期間は2日間であると考えられる。佐々木⁴⁾は、ヒト血清のCa濃度は室温では1日間、冷蔵庫で3日間、凍結保存すると1週間は安定であると報告しており、それらの値は本実験の結果より比較的長期間である。この両者の違いの原因としては、ヒト血清とニジマス血清の化学成分の違い、保存条件の違いなどが考えられるが詳細の検討は今後の問題と思われる。

冷凍庫保存の場合の解凍操作の違いによる血清Ca濃度の変化には、2週間を通じて有意な差はみられなかった。

Mg濃度

各保存条件下における血清Mg濃度の経時的変化をTable 4及びFig. 4に示した。Fig. 4から明らかのように室温保存、冷蔵庫保存及び冷凍庫保存共に、保存期間が長くなるにつれて血清Mg濃度は減少する傾向を示し、保存温度が高いほどその傾向は強くあらわれている。

保存による血清Mg濃度の減少の原因としては、Mgにも蛋白質と結合した非透析性のものが存在し、非透析性のCaと同様に蛋白質の変性に伴う沈澱によって共沈を生じ、それ故Mg濃度の減少が引き起こされることも考えられる。

血清Mg濃度は3日目までの室温保存で基準値との間に有意な差はなく、3日間は安定であると思われる。また冷蔵庫保存では2週間以降基準値との間に有意な差を生じ、それ故安定期間は2週間である。

Table 4. Changes of magnesium concentration (mEq/L) of serum samples stored at different temperatures.

Initial value: 3.00±0.04

Days	20°C (Room)	4°C (Refrigerator)	-15°C	
			Defrosted at room temp.	Defrosted at 37°C
1	3.00±0.03	—	—	—
3	2.98±0.04	3.00±0.06	3.01±0.03	3.01±0.04
7	2.82±0.04*	2.93±0.02	2.99±0.08	2.98±0.04
14	2.56±0.03	2.92±0.05	2.94±0.03	2.95±0.05
20	—	2.74±0.04*	2.97±0.03	2.95±0.05
30	—	—	2.58±0.05*	2.65±0.08*
60	—	—	2.50±0.05	2.57±0.02

The data represent the mean±SE of 4 samples.

* Significantly different (p<0.05) from the initial value including all later values.

渡辺ら： ニジマス血清の保存に伴う成分の変動-I

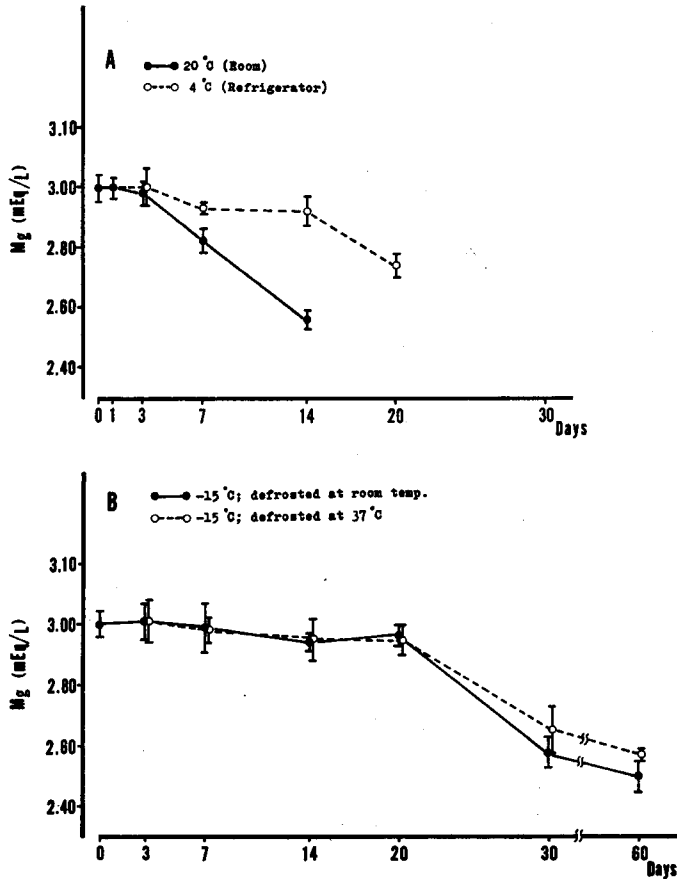


Fig. 4. Changes of serum magnesium concentration with time of storage. A: at about 20°C (room temperature) and 4°C (in a refrigerator) B: at -15°C (in a freezer) ○: initial value

あると考えられる。一方、冷凍庫保存では室温解冻及び 37°C 解冻共に、Mg 濃度は 20 日間までは安定している。冷凍庫保存における室温解冻及び 37°C 解冻の解冻操作の違いによる Mg 濃度の変化には、2 カ月間を通じて有意な差は認められなかった。

浸透濃度

各保存条件下における血清浸透濃度の経時的変化を Table 5 及び Fig. 5 に示した。Fig. 5 から明らかのように、室温保存では時間の経過に伴って血清浸透濃度は増加する傾向を示し、冷蔵庫保存でも全体的にみると、やはり緩やかな増加傾向を示している。これとは逆に冷凍庫保存では室温解冻及び 37°C 解冻共に、2 日間までは大きな変化はないが、保存期間が長くなるにつれて減少する傾向を示している。

室温保存及び冷蔵庫保存における血清浸透濃度の増加の原因として、血清を室温及び冷蔵庫で保存すると Na 濃度及び K 濃度が増加する傾向を示すことから、この Na 及び K 濃度の増加が浸透濃度の増加に関与してくる事が推測される。しかし、Na 及び K 濃度のそれぞれの増加分を単純に浸透濃度

Table 5. Changes of osmotic concentration (mosM/Kg) of serum samples stored at different temperatures.

Initial value: 307 ± 0.4

Days	20°C (Room)	4°C (Refrigerator)	-15°C	
			Defrosted at room temp.	Defrosted at 37°C
6 hr	309 ± 0.4	307 ± 0.7	—	—
12 hr	310 ± 0.7	307 ± 0.5	308 ± 0.7	309 ± 0.4
1	312 ± 1.4	308 ± 0.3	309 ± 0.5	309 ± 0.4
2	316 ± 3.8	316 ± 0.7	310 ± 1.3	309 ± 0.4
3	320 ± 3.0	310 ± 0.5	302 ± 3.6	306 ± 0.9
7	326 ± 0.9	313 ± 0.5	302 ± 2.9	305 ± 1.5
14	—	318 ± 0.7	300 ± 0.4	297 ± 2.5
20	—	320 ± 0.7	293 ± 0.6	296 ± 0.9

The data represent the mean \pm SE of 4 samples.

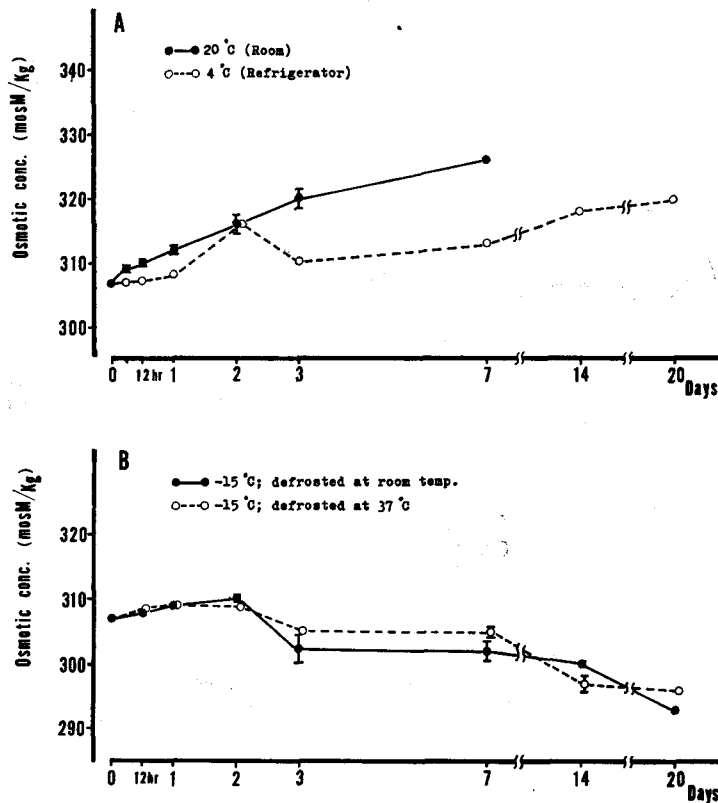


Fig. 5. Changes of serum osmotic concentration with time of storage. A: at about 20°C (room temperature) and 4°C (in a refrigerator) B: at -15°C (in a freezer)
 ○: initial value

渡辺ら： ニジマス血清の保存に伴う成分の変動-I

に換算し比較してみたが、それ以上に浸透濃度は増加していた。しかもこれらのイオンの増加が実際の浸透濃度に及ぼす影響はイオンの活動度を考慮すると単純な計算から得られる値よりも低いはずである。それ故、Na 及び K 濃度以外の要因も、この浸透濃度の増加に関与しているものと思われる。例えば、多少通気性のあるパラフィルムを通して大気中の CO₂ が血清中に溶けこむことによって、重炭酸ができ、これにより浸透濃度が高められるということも推測される。一方、冷凍庫保存における2日以降の保存血清の浸透濃度の減少には、前述した Ca 及び Mg 濃度の減少が関与してくることは予想されるが、数値計算上算出される Ca 及び Mg 濃度の減少分だけでは Fig. 5 にみられるような浸透濃度の減少は説明が出来ず、他の要因、つまり蛋白質、脂肪酸等の有機性の高分子化合物の沈澱による浸透濃度の減少も考えられる。

血清浸透濃度はいずれの保存条件においても、比較的早い時間で基準値との間に統計的有意差を示した。しかし、測定機器の精度を考えに入れ、基準値とそれぞれの測定値との差が1%以内までは安定であると考えて、それぞれの保存条件における安定期間を決定した。それによると、室温保存における安定期間は1日間、また冷蔵庫保存では2日目に血清浸透濃度が急激に増加しており、この値が真に血清内の変化によるものであるかは疑問であるが、冷蔵庫保存でも血清浸透濃度の安定期間は1日間と思われる。一方、冷凍庫保存による浸透濃度の安定期間は1週間であると考えられる。また室温解凍及び37°C 解凍の解凍操作の違いによる血清浸透濃度の変化には20日間を通じて、有意な差は認められなかった。

以上の結果から求めた各成分の安定期間を Table 6 にまとめた。表から明らかなように、Na 及び K は比較的安定な成分であり、室温で2週間、冷凍保存で4ヶ月は安定である。それに比べて、Ca 及び浸透濃度は非常に不安定であり、Ca は室温で6時間、冷凍保存でも2日間しか基準値を維持できない。それ故、Ca 及び浸透濃度の測定は採血後直ちに行うことが特に望まれ、もしそれが不可能な場合には出来るだけ早く冷凍しておくことが必要である。また血清の貯蔵用ガラス管はガラス管壁と血清成分との相互作用を防ぐため、シリコーン処理することが望ましく、特に Na 及び K について有効であると思われる¹⁰⁾。

Table 6. Maximum time of storage that maintained the initial value of each serum factor.

Factor	Maximum time of storage (Days)		
	20°C (Room)	4°C (Refrigerator)	-15°C (Freezer)
Na	14	60	120
K	14	60	120
Ca	1/4	1	2
Mg	3	14	20
Osmotic conc.	1	1	7

要 約

室温 (約 20°C)、冷蔵庫 (4°C) 及び冷凍庫 (-15°C) の三つの異なる保存条件のもとでのニジマス (*Salmo gairdnerii irideus*) 血清の Na, K, Ca, Mg 及び浸透濃度の保存期間による変化を調べ、それぞれの安定期間を求めた。

1) 血清 Na 濃度は保存温度が高いほど、また保存期間が長くなるにつれて増加する傾向を示した。室温保存で2週間、冷蔵庫保存では2カ月間、冷凍保存では少なくとも4カ月間は安定していた。

2) 血清 K 濃度は保存温度が高いほど、また保存期間が長くなるほど増加する傾向を示した。室温

保存では2週間、冷蔵庫保存では2カ月間、冷凍庫では4カ月間は十分安定していた。

3) 血清 Ca 濃度は保存温度が高いほど急激な減少を示し、保存期間が長くなるにつれて減少する傾向を示した。安定期間は室温で6時間、冷蔵庫で1日間、冷凍庫保存では2日間であった。

4) 血清 Mg 濃度は保存温度が高いほど、また保存期間が長くなると共に減少する傾向を示した。安定期間は、室温で3日間、冷蔵庫では2週間、冷凍庫保存では20日間であった。

5) 血清浸透濃度においては、室温及び冷蔵庫保存で保存期間が長くなるに伴い、濃度は増加する傾向を示したが、冷凍庫保存では反対に減少する傾向を示した。安定期間は、室温及び冷蔵庫で1日間、冷凍庫保存では1週間であった。

6) 冷凍庫保存での室温解凍及び37°C解凍の解凍操作の違いによる変化には、血清 Na, K, Ca, Mg 及び浸透濃度のすべてについて、有意な差は認められなかった。

終りに、実験魚を提供下さった北海道大学水産学部七飯養魚実習施設、久保達郎助教授に深く感謝致します。

文 献

- 1) 尾崎久雄 (1971). 魚類生理学講座. 第1巻, 血液・循環の生理. 第2版, 326 p. 緑書房, 東京.
- 2) 池田弥生 (1976). 養殖ハマチの血液成分に関する診断学的研究. 京都大学農学部学位請求論文.
- 3) Weissman, N. and Pileggi, V. J. (1974) Inorganic ions p. 639-754. In Henry, P. J., Cannon, D. C. and Winkelman, J. W. (ed.) *Clinical Chemistry. Principles and Techniques*, 2nd Ed., 1629 p. Harper and Row Pub. Inc., Maryland.
- 4) 佐々木匡秀・上田尚紀・北村元仕・中山年正 (1972). 人体成分のサンプリング, 血液, 344 p. 講談社, 東京.
- 5) 松宮和人 (1973). カルシウム他. p. 341-373. 馬場茂明, 奥田 清編, 臨床化学 II. 549 p. 山中書店, 東京.
- 6) 渡辺富久子 (1973). ナトリウム他. p. 329-340. 馬場茂明, 奥田 清編, 臨床化学 II. 549 p. 山中書店, 東京.
- 7) 山下秀夫 (1968). カサゴの血液学的研究-III. 保存時間による血清蛋白分画の変化, 日水誌 34, 1059-1065.
- 8) 北村元仕・斎藤正行・丹羽正治編 (1967). 臨床化学分析 V. 179 p. 東京化学同人, 東京.
- 9) 保田和雄, 長谷川敬彦 (1972). 原子吸光分析. 379 p. 講談社, 東京.
- 10) 鈴木美栄子・山口 考・大八木義彦 (1958). 炎光法による Na, K, Ca の分析値と採血, 処理方法との関連について. 臨床病理 VI, 194-199.
- 11) 長谷川 博 (1969). 血液ガス, pH, 電解質の手引き. 483 p. 文光堂, 東京.
- 12) 坂元義男・入江 達 (1973). 総合化学 (上). 428 p. 三共出版, 東京.
- 13) Caraway, T. (1962) Chemical and diagnostic specificity of laboratory test. *Am. J. Clin. Pathol.* 37, 445-464.
- 14) 河合 忠・青木紀生 (1972). セルロースアセテート電気泳動法による血清蛋白質分画. 178 p. 宇宙堂八木書店, 東京.
- 15) 久城英人・高野圭久・曾山浩吉・福井 巖 (1970). 血清遊離脂肪酸比色定量法に関する検討 (第4報). 臨床病理 XVIII, 533-537.
- 16) Starik, I. E. (1960). 放射化学の基礎. (市川富士夫, 岡下 宏, 石渡良志共訳, 1962). 355 p. 南江堂, 東京.