

魚類液浸標本の体色保存法

静岡県立沼津東高等学校
2年 岩附利英

1 動機

教育・学術目的で利用される魚類液浸標本には褪色するという欠点があり、標本の体色の情報が失われ、見た目も悪くなってしまふ。

この問題に対して従来、樹脂封入標本や剥製標本が用いられてきた。しかし、これらの方法にもそれぞれ欠点が存在する。このように、未だ実用的な魚類標本の体色保存法は普及しておらず、簡易さや費用面でも液浸標本が現在最も有用な標本の保存方法である。体色については現在画像による記録がされているが、表示画面や撮影環境によって微妙な体色変化はあると思われるので、完全な解決策にはなっていない。

液浸標本の褪色は酸化が原因だと知られており、先行研究において酸化防止剤としてL-アスコルビン酸ナトリウムを保存液に添加することが有効であるとされている(Yoshida 1962)。そこで、本研究では他種の酸化防止剤を用いたり、保管場所の条件を変えたりすることで標本の体色をより長い期間保たせる方法を探索した。

2 実験

(1) 共通手順

① 検体から鱗を剥離

ピンセットを用いて氷冷麻酔を施した体長 10cm 前後のキンギョ (*Carassius auratus*) の背部から鱗を剥離した。背部の鱗を用いたのは、目視では背部の鱗がもっと濃い色を持つためである。(図 1)

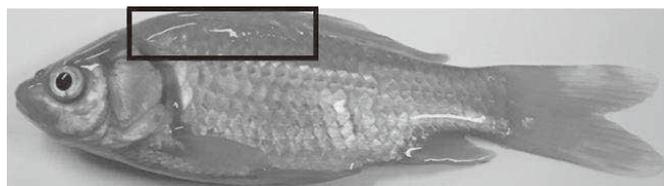


図 1 実験に利用したキンギョ

② 1 週間、鱗を 10%中性ホルマリンで固定

標本の腐敗防止のため 10%中性ホルマリン(中性でリン酸緩衝した 4%ホルムアルデヒド溶液)で固定した。

③ 2 週間各条件下で保存

固定した鱗をスクリー管に入れ、2 週間保存する。

基本保存条件は、保存液は 10%中性ホルマリン、保管場所は室温・暗所とする。

④ 鱗の褪色を数値で評価

ポータブルカラーアナライザ (iWAVE FRU WR10 : 図2) で鱗の色を L*a*b*色空間で数値化し、平均値を算出する。

L*a*b*色空間とは、L*(明度)、a*(色度)を数値で表したもの。

L*が大きいと白色成分が多い(負の値は黒色成分)、a*が大きいと赤色成分が多い(負の値は緑色成分)、b*が大きいと黄色成分が多い(負の値は青色成分)ことを表す。



図2 実験に使用したカラーアナライザ

(2) 保存液による影響

10%中性ホルマリンに対して濃度がL-アスコルビン酸ナトリウムと α グリコシルルチンは0.4%、没食子酸プロピルは0.1% * になるようにそれぞれ調製し、保存液を調製した。また、2週間の保存期間の後に、鱗を光学顕微鏡(×60)で観察をした。

*...先行研究(Yoshida 1962)ではL-アスコルビン酸ナトリウムの濃度を0.3~0.6%に調整していたため、没食子酸プロピルの濃度も同様にすることが望ましかったが、没食子酸プロピルは実験時の気温では水溶性が低く、濃度を0.1%とするのが限界だった。

<測定値の結果>

| | 固定前 | L-アス | 没プロ | α -グリ | 添加なし |
|----|-----------|-----------|-----------|--------------|-----------|
| L* | 86.7±0.27 | 89.7±0.33 | 85.2±0.48 | 88.9±0.39 | 89.6±0.26 |
| a* | 9.70±0.09 | 5.98±0.37 | 6.44±0.34 | 5.57±0.54 | 6.11±0.39 |
| b* | 20.2±0.18 | 14.3±0.63 | 13.8±0.62 | 17.8±0.80 | 14.6±0.60 |

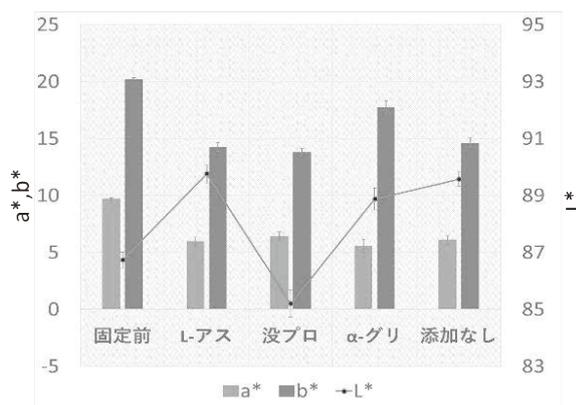


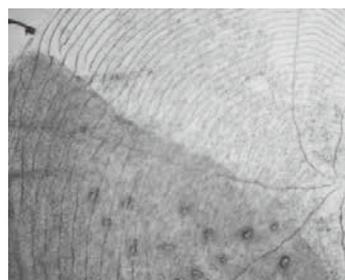
図3. 表1をグラフにしたもの

- L*と a*については没食子酸プロピルを添加したものが最も固定前に近い
- 没食子酸プロピルを添加したもののだけ、L*が固定前より低い
- b*は α グリコシルルチンを添加したものが固定前に最も近い
- L-アスコルビン酸ナトリウム添加は無添加を比較すると a*と b*が低い

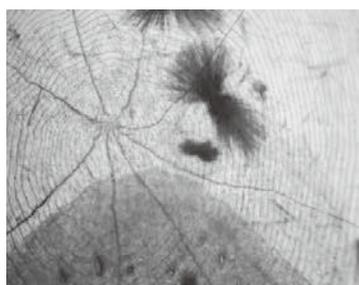
<顕微鏡観察の結果>



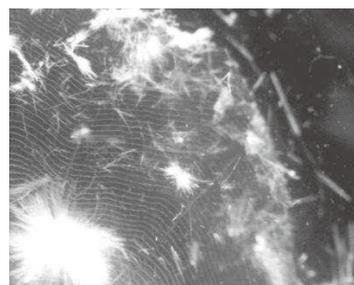
添加なし10%中性ホルマリン



L-アスコルビン酸ナトリウム添加



没食子酸プロピル添加



没食子酸プロピル添加（反射鏡を利用し撮影）
白く映っているものは全て没食子酸プロピル結晶

図4. 酸化防止剤添加 顕微鏡画像(×60)

- ・色は目視上では大きな違いは無かった。
- ・没食子酸プロピル添加で保存した鱗は没食子酸プロピルの結晶が析出していた。

(3) 保存温度による影響

保存条件のうち温度の影響を調べることで、標本の体色保存に適した保存温度を見出すことを目的として実験を行った。使用した実験器具はインキュベーター（島津製作所 BITEC-300B）、家庭用冷蔵庫（ツインバード工業株式会社 HR-DB07 型）である。庫内温度は25℃と約10℃である。比較対象は室温(実験時2月・平均気温9.6℃)である。

<結果>

| 表2. 温度条件下 測定値平均±標準誤差 (n=25) | | | | |
|-----------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| | 固定前 | 22℃ | 10℃ | 9.6℃ |
| L* | 86.7±0.27 | 91.6±0.47 | 89.9±0.47 | 89.6±0.26 |
| a* | 9.70±0.09 | 3.27±0.51 | 5.97±0.59 | 6.11±0.39 |
| b* | 20.2±0.18 | 9.75±0.93 | 13.7±0.82 | 14.6±0.60 |

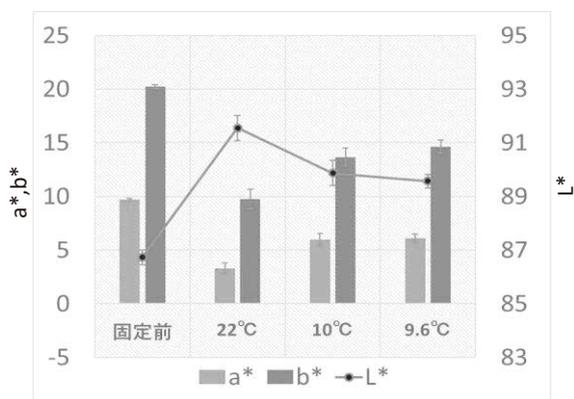


図5. 表2をグラフで表したもの

- ・L*a*b*全ての値において、低温であるほど固定前の値に近くなった。

(4) 照明による影響

保存条件のうち光の影響を調べることで、標本の体色保存に適した保存照明を見出すことを目的として実験を行った。使用した実験器具はスタンドライト（ツインバード工業株式会社 LK-H1V7 型）である。直射日光の条件は室内で窓際に標本を置いた。

<結果>

| | 固定前 | 直射日光 | 蛍光灯 | 暗所 |
|----|-----------|------------|-----------|-----------|
| L* | 86.7±0.27 | 94.3±0.17 | 93.8±0.33 | 89.6±0.26 |
| a* | 9.70±0.09 | -0.42±0.05 | 0.68±0.29 | 6.11±0.39 |
| b* | 20.2±0.18 | 2.13±0.06 | 5.38±0.47 | 14.6±0.60 |

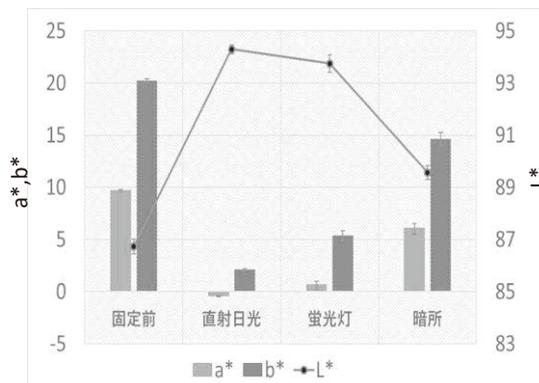


図6. 表3をグラフで表したもの

- ・L*a*b*全ての値において、暗所が固定前に最も近かった。
- ・直射日光は最も固定前に遠い値になった。

3 考察

L*a*b*測定値は、没食子酸プロピル添加標本で白化の程度が低く、赤色も保存されていることを示唆した。b*に関しては α グリコシルルチンが最も高いが、 α グリコシルルチン溶液自体が黄色であるため、色移りをしたと考えられる。よって、酸化防止剤では没食子酸プロピルが赤橙色の色素を保存する上で有効だと考えられるが、色素と反応し別の色素が生成した可能性もL*の数値から示唆される。目視上では大きな差は見られなかったが、また、没食子酸プロピルを添加したものには結晶が析出することがあると分かったので、保存温度と濃度を検討する必要があると考えられる。

保存条件については測定値より、標本の保存に適しているのは、低温・暗所であるということが分かった。

低温で褪色が抑制されるのは、酸化反応の速度が抑えられるためだと考えられる。

また、暗所で褪色が保存される理由は、標本の褪色は酸化だけではなく、光による色素の分解の影響もあると考えられる。直射日光が最も褪色が進んだ理由として、紫外線が関わっていると考えた。

しかし今回の実験では、各条件をより細かく設定することができず、自然条件に左右されてしまうため、より再現性のある実験が必要である。

4 実験のまとめ・今後の展望

これまでの実験では標本の褪色という課題に対し、ミクロで色素胞を観察することから始め、保存液と保存場所のそれぞれの視点から、実験を進めていった。

しかし、標本の褪色には紫外線や高温など酸化以外の要因も存在すると考えられる。

現段階での最も有効だと考えられる魚類液浸標本の体色保存法は保存液として没食子酸プロピルを0.1%添加した10%中性ホルマリンを用い、低温・暗所にて保管することであるが、没食子酸プロピルの結晶化や展示が難しいなど解決すべき課題はまだあると考えられる。

今後は、没食子酸プロピルの有効性と展示を行えるような保存法を調べていきたいと考えている。

没食子酸プロピルは魚類色素を変化させている可能性があるため、まずペーパークロマトグラフィーにより、色素を分析したいと考えている。そして、濃度を変えることで結晶の析出を防ぐことも考

えている。

また、展示を可能にするために紫外線の標本への影響を UV-A , UV-B , UV-C それぞれで調べ、市販の紫外線防止フィルムの利用も考えている。

さらに、標本の保存性を高めるために酸素存在下では生存できない微生物を培養する技術である嫌気培養の手法を利用し、空気そのものの侵入を防ぐ方法も検討している。

5 謝辞

本研究にあたって、研究の進め方について多くのアドバイスを下さった JST-GSC 静岡大学「未来の科学者養成スクール(FSS)」の先生方に感謝申し上げます。また、研究方針の助言や論文の校閲・添削をしていただいた FSS 担当教員の静岡大学理学部の竹内浩昭先生と高校での実験を指導して下さった渡邊伸一先生に深謝申し上げます。

6 参考・引用文献

藤井良三, 色素細胞, 東京大学出版, 東京, 1976.

廣田大輔・中島経夫, 魚類標本におけるグリセリン浸透法の検討, *Naturalistae*, 18: 47-52, 2014.

岩坪洗樹・本村浩之, 青色系スズメダイ科魚類の標本青色還元法と色彩保存標本作製法, *タクサ 日本動物分類学会誌*, 37: 21-27, 2014.

日本色研事業株式会社, いろのはなし “L*a*b*表色系”,
<http://www.sikiken.co.jp/colors/colors11.html> (2019-3-11)

岡村直道, メダカの色素胞と体色変化—生物学実験: 実験 6 について, *筑波医療科学*, 1(3): 63-66, 2004.

Yoshida Y., A way of making fish specimens with their original body-colours kept, *Bulletin of the Misaki Marine Biological Institute, Kyoto University*, 3: 67-68, 1962.

吉田陽一, 変色を防止せる生物標本の製造法, 特許 0286435, 1961-05-23.