

光および熱感作が牛血清中脂溶性ビタミン濃度に及ぼす影響

紀北家畜保健衛生所

○鳩谷珠希 山田陽子

黒田順史 豊吉久美

【背景及び目的】

検査材料の適正な取り扱い検査データの正確性を確保する上で重要である。ビタミンAやビタミンEなどの脂溶性ビタミンは光や熱に対して不安定と言われており、その血中濃度測定の際は、検体の輸送や保存、測定時の取り扱いで遮光が望ましいとされている[1]。しかし、実際にどの程度の影響を受けるのか不明な点が多く、例えば現場から遮光せずに輸送した検体や、非働化した検体が検査材料となり得るか判断が難しい場合があった。そこで今回、実際に検体を種々の条件で光および熱感作後、血清中のビタミンAおよびE濃度を測定し、その影響を調査、確認することとした。

【材料及び方法】

平成24年度ビタミン測定を実施した牛血清54検体および全血5検体を用いた。

感作条件は、光による影響として、血清の太陽光暴露（感作条件1）、全血の太陽光暴露（感作条件2）、血清のLED暴露（感作条件3）の3条件を実施した。また熱による影響として、血清の加熱（感作条件4）を実施した。各感作後、ビタミンAとしてレチノールを、ビタミンEとして α -トコフェロールを高速液体クロマトグラフィー法（HPLC法）で測定した（図1）

<光による影響>

感作条件1：血清の太陽光暴露が及ぼす影響

平成24年11月、地面から高さ約1mの窓際で、プラスチックチューブに分注した血清を直射日光に0, 15, 30, 45, 60分間感作し、濃度の推移を調べた。血清は複数混合したプール血清を15本のプラスチックチューブ（容量2ml）に分注し、各感作時間において3本ずつ太陽光に暴露した。なお、窓際の温度は感作60分間において17～22℃であった。

感作条件2：全血の太陽光暴露が及ぼす影響

平成24年8月、牛5頭の血液を真空採血管にそれぞれ2本ずつ採取し、1本はクーラーボックスに入れて遮光した状態で（保冷なし）、もう1本は遮光せずに移動中の車中に1時間放置し、遮光したものとしていないものとの間で濃度を比較した。なお、車中の温度は37℃

であった。

血液は車中に1時間放置後、速やかに血清分離を行い、いったん凍結保存後、各検体について3回の測定を実施した。

感作条件3：血清のLED暴露が及ぼす影響

ブラインドを閉めた室温20℃の検査室内で、プラスチックチューブに分注した血清を机上でLEDに0, 30, 60, 90, 120, 150分間感作し、濃度の推移を調べた。血清は複数混合したプール血清を18本のプラスチックチューブに分注し、各感作時間において3本ずつLEDに暴露した。

< 熱による影響 >

感作条件4：血清の加熱が及ぼす影響

レチノール濃度として5段階濃度のプール血清を作成し、ヒートブロックで56℃30分加熱し（非働化）、加熱していないものと濃度を比較した。レチノール濃度は濃度1が40.9IU/dL, 濃度2が66.9IU/dL, 濃度3が94.5IU/dL, 濃度4が120.8IU/dL, 濃度5が135.5IU/dLであった。なお、血清は各濃度について6本ずつプラスチックチューブに分注し、3本はヒートブロックで加熱、残りの3本は非加熱とした。

【結 果】

< 光による影響 >

感作条件1（図2）

レチノール濃度は0分と比較して30分以降有意に低下し（ $p < 0.01$ ）、60分では77%に低下した。 α -トコフェロール濃度は0分と比較して15分では有意に上昇（ $p < 0.01$ ）した後、30分以降有意に低下し（ $p < 0.01$ ）、60分では0分の87%に低下した。

感作条件2（図3）

レチノール濃度、 α -トコフェロール濃度共に、遮光したものとしていないものとの間で濃度に有意な差は認められなかった（ $p < 0.01$ ）。

感作条件3（図4）

感作150分間において、レチノール濃度に有意な変化は認められなかった。一方、 α -トコフェロール濃度は0分と比較して120分では有意に低下し（ $p < 0.05$ ）、150分では94%に低下した（ $P < 0.01$ ）。

< 熱による影響 >

感作条件4 (図5)

いずれの濃度においても、レチノール、 α -トコフェロール濃度共に、加熱したものとしていないものとの間で濃度に有意な差は認められなかった ($p < 0.01$)。

【考 察】

ビタミンAやビタミンEなどの脂溶性ビタミンは光や熱に対して不安定と言われているが不明な点が多い。今回、血清を太陽光に暴露したところ、レチノール、 α -トコフェロール濃度共に減少することを確認した。またその減少率は α -トコフェロールよりレチノールの方が大きく、レチノールの方が太陽光の影響を受けやすいものと思われた。高野の報告[2]でも同様に、血清の太陽光暴露により両ビタミン濃度は有意に減少し、その減少率はレチノールの方が大きい結果となっている。今回の減少率は太陽光暴露60分でレチノールが77%、 α -トコフェロールが87%であったが、宮本[3]の報告では太陽光暴露10分で0分の68%、暴露60分で7%と濃度の減少率がかなり大きい。これは太陽光暴露の実施時期が、宮本らが7月であるのに対し、今回は11月であり、太陽光の強さ(日射強度)の差によるところが大きいと思われる。その他の要因としては、血清を分注したプラスチックチューブの素材や厚みの違いも考えられた。

今回、全血の太陽光暴露により両ビタミン濃度に有意な変化は認められなかった。これは全血には赤血球があるため、赤血球の存在により太陽光が透過しにくくなっているものと思われた。全血の1時間の太陽光暴露により両ビタミン濃度に変化が見られなかったことから、真空採血管に採取した全血の状態では、急いで遮光しなくても直ちに測定値に影響するものではないことがわかった。しかし、全血の長時間放置により血清が分離してくることから、採取した血液は野外に長時間放置せず、クーラーボックス等に入れることが必要である。

血清のLED暴露によりレチノール濃度に有意な変化は認められなかった。一方、 α -トコフェロール濃度は感作120分以降有意に低下し、150分では94%に低下した。LEDは蛍光灯に比べて赤外線や紫外線の放出が少ないとされているが、今回 α -トコフェロールのみが低下した。ビタミンEは光や熱の他、酸化に対して不安定であるとされているので、酸化による影響等、光以外の要因も考えられた。

いずれにしても、血清のLED暴露により90分までは両ビタミン濃度に有意な変化は見られなかったことから、室内LED下での短時間の作業においては特に遮光の必要はないことがわかった。すなわち、通常血清分離や凍結血清溶解、測定時の血清分注作業では遮光しなくてもさしつかえないことがわかった。

血清の56℃30分の加熱により両ビタミン濃度に有意な変化は認められなかった。血清の56℃30分の加熱は血清の非働化と同じ条件であることから、非働化後の血清についてもビタミン測定の見査材料となり得ることがわかった。

今回、4種類の感作試験を実施した結果、血清中のビタミンAとEは、太陽光の影響によりその濃度は確かに減少するが、LEDや熱の影響は受けにくいことがわかった。

以上のことから、血清中のビタミン測定の際は検体の直射日光からの遮断を意識すればよいと思われた。すなわち、検体を野外に長時間放置しないこと、室内でもガラスは光をよく透過することから、太陽光の差し込む場所で作業しないことが求められる。

今後も見査材料は適正に取り扱い、正確なデータを出していきたい。

引用文献

- [1] ビタミン分析法（ビタミンハンドブック③） 日本ビタミン学会編
- [2] 宮本純子：平成21年度家畜衛生研修会（生化学部門）資料
- [3] 高野泰司：平成23年度家畜衛生研修会（生化学部門）資料