

## 13 光・熱および振動感作が血清中ビタミン A・E 濃度に及ぼす

### 影響

中央家畜保健衛生所

○畠中 優唯・御村 宗人

#### I はじめに

ビタミン A (VA) およびビタミン E (VE) は、発育や繁殖に関わるビタミンである。VA は視覚維持や骨の発育、繁殖機能維持に関与し、特に肉牛では脂肪の入り方に影響を与える。VE は粗飼料摂取量の指標となり、体内では抗酸化作用を示す。これらのビタミンは熱や光などによって失活する<sup>1,2)</sup>。したがって、血清中 VA・VE 濃度を測定する際には、検体の取扱いに注意を要する。しかし、測定成績に影響を与える因子にはいくつか報告がある<sup>4~7)</sup>ものの、依然として不明な点が多い。そこで今回、採血から血清分離までの時間、および血清への直接感作が、血清中 VA・VE 濃度に与える影響を検証した。

#### II 採血から血清分離までの時間が血清中 VA・VE 濃度に与える影響

##### 1 材料および方法

平成 26 年 8 月、搾乳牛 10 頭から採血後、アルミホイルで検体を遮光し、外気温 35°C 下で静置した。採血から 0.5、1、1.5、2 時間後に血清分離を実施し、血清中 VA・VE 濃度を測定した。濃度測定には高速液体クロマトグラフィー (HPLC) 法<sup>3)</sup>を用い、レチノールを VA の、 $\alpha$ -トコフェロールを VE の指標とした。測定後、0.5 時間後に血清分離を実施した時の VA・VE 濃度と、各感作時間での値について、t-検定により、統計処理を実施した。

##### 2 成績

血清分離を 0.5 時間後に実施した時の血清中 VA・VE 濃度と、1、1.5、2 時間後に血清分離した検体の濃度間に、有意な差はみられなかった (図 1)。

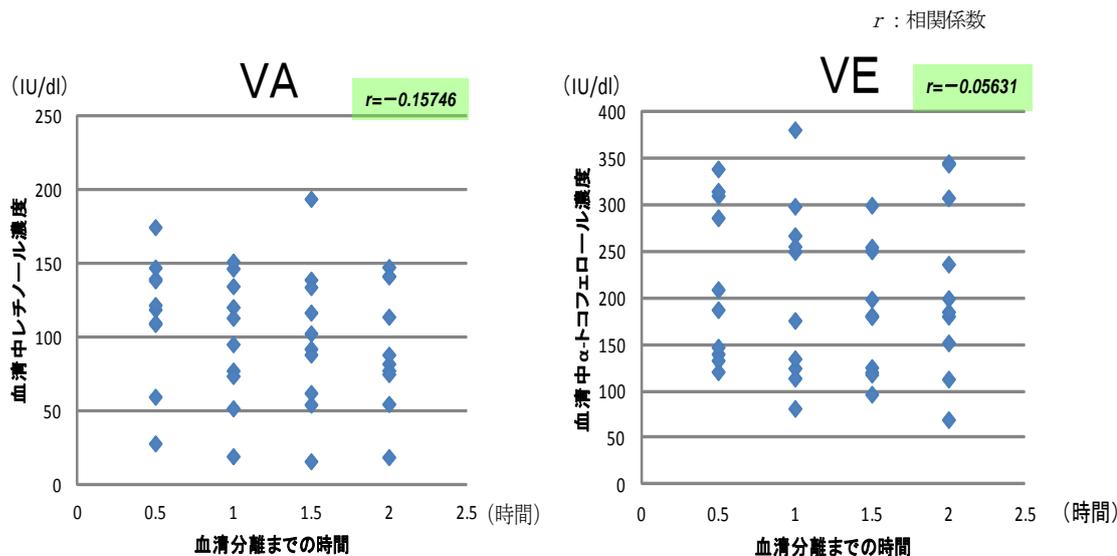


図 1 血清分離までの時間が及ぼす影響

### III 血清への直接感作が血清中 VA・VE 濃度に与える影響

#### 1 材料および方法

2時間以内に分離を実施した搾乳牛血清 58 検体の VA・VE 濃度を測定した。その後、両濃度を元に、高濃度区 (H 区)、中濃度区 (M 区)、低濃度区 (L 区) の 3 段階に区分し、各区毎にプール血清を作製後、 $-20^{\circ}\text{C}$  で凍結保存した。これらのプール血清を融解後、次の感作を加えた。

##### (1) 太陽光曝露

外気温  $31^{\circ}\text{C}$  の晴れた日に、室温  $26^{\circ}\text{C}$  の実験室内の直射日光が当たる窓際に、0、10、20、30、40、50、60 分間、遮光せずに検体を放置した。

##### (2) 蛍光灯曝露

室温  $26^{\circ}\text{C}$  の実験室内で、直射日光の当たらない実験台の上に静置し、0、10、20、30、40、50、60 分間蛍光灯を曝露した。

##### (3) 熱感作

検体を遮光し、冷蔵庫 ( $4^{\circ}\text{C}$ )、室温 ( $26^{\circ}\text{C}$ )、ヒートブロック ( $30^{\circ}\text{C}$ 、 $35^{\circ}\text{C}$ ) にそれぞれ 10 分間放置した。

##### (4) 振動感作

凍結融解した検体を、保冷材入りのクーラーボックスに入れ、振とう機にボックスごと固定した。その後、毎分 0、50、70、80、100、120 回の振とうを、10 分間ずつ加えた。

各感作後、それぞれの血清中 VA・VE 濃度を 3 回ずつ測定し、平均値を算出した。測定は、平成 26 年 10 月に実施し、II-1 と同様、HPLC 法を用い、結果は t-検定により、統計処理を行った。

## 2 成績

### (1) 太陽光曝露 (図 2)

血清中 VA 濃度については、いずれの濃度区においても、曝露開始後 20 分から 30 分経過すると、減少し始めた。特に H 区よりも、濃度の低い M 区および L 区の方が、早く減少し始めた。また、50 分以上の曝露で、全濃度区において、非曝露群より有意に濃度が減少した。曝露 0 分の濃度を 100 としたとき、曝露 60 分では、52% (全濃度区平均) まで減少した。

血清中 VE 濃度については、統計学的に有意な差はみられなかったが、全濃度区において、50 分以上の曝露で濃度が減少した。

以上より、太陽光は、血清中 VA・VE 濃度を低下させることが分かった。特に VA 濃度に関しては、太陽光曝露時間と減少率に相関性がみられ、また、低濃度の方が、太陽光の影響を受けやすかった。

### (2) 蛍光灯曝露 (図 3)

蛍光灯曝露による血清中 VA・VE 濃度の変化は認められなかった。

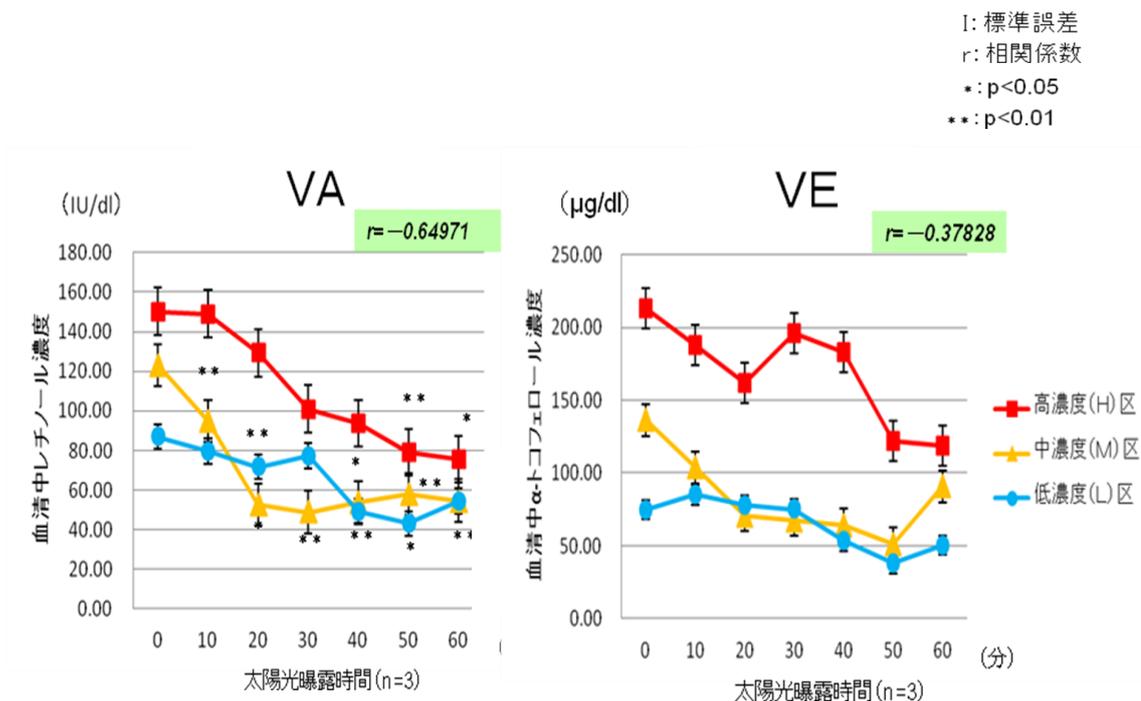


図 2 太陽光曝露の影響

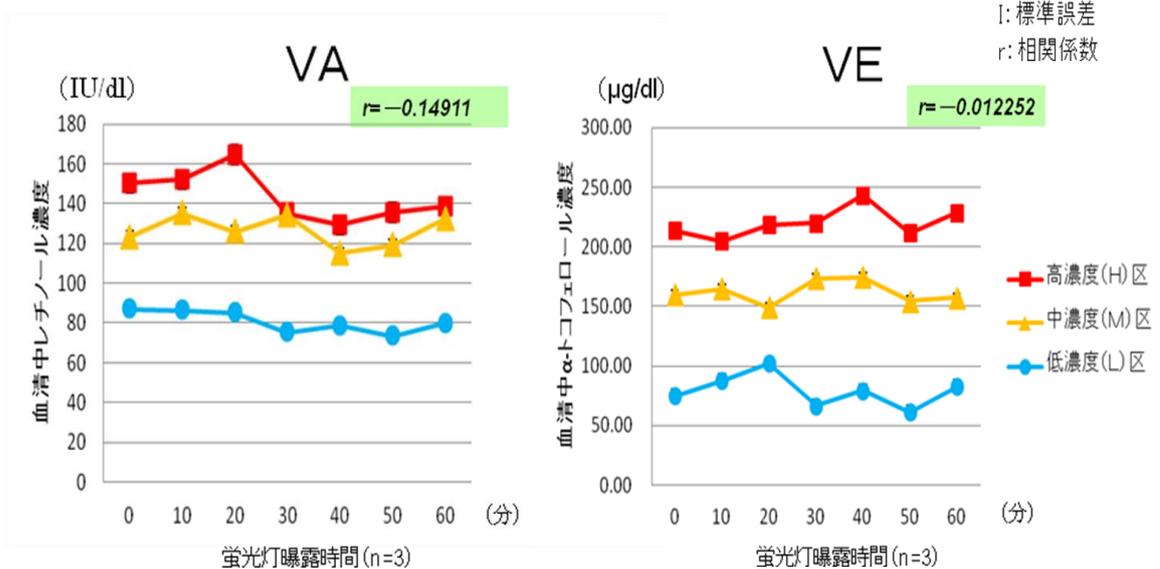


図3 蛍光灯曝露の影響

(3) 熱感作 (図4)

血清中 VA 濃度については、26°C以上の感作で、H区およびL区の濃度が、無感作の場合と比較し、有意に減少した。また、温度が高いほど、減少率も高かった。

血清中 VE 濃度については、統計学的に有意な差はなかったが、30°C以上の感作で、M区およびL区の濃度が減少した。

また、VA・VE のいずれにおいても、L 区の減少幅が他の濃度区に比べ、大きい傾向にあった。

(4) 振動感作 (図5)

血清中 VA 濃度については、毎分 50 回の振とうで、H区およびM区の濃度が有意に減少した。また、振とう回数を毎分 50 回以上に設定すると、濃度が低値で推移した。

血清中 VE 濃度については、毎分 100 回の振とうで H区が、120 回の振とうで L区が有意に減少した。また、H区およびL区において、毎分 70 回の振とうで濃度の増加がみられたが、その原因は不明であった。

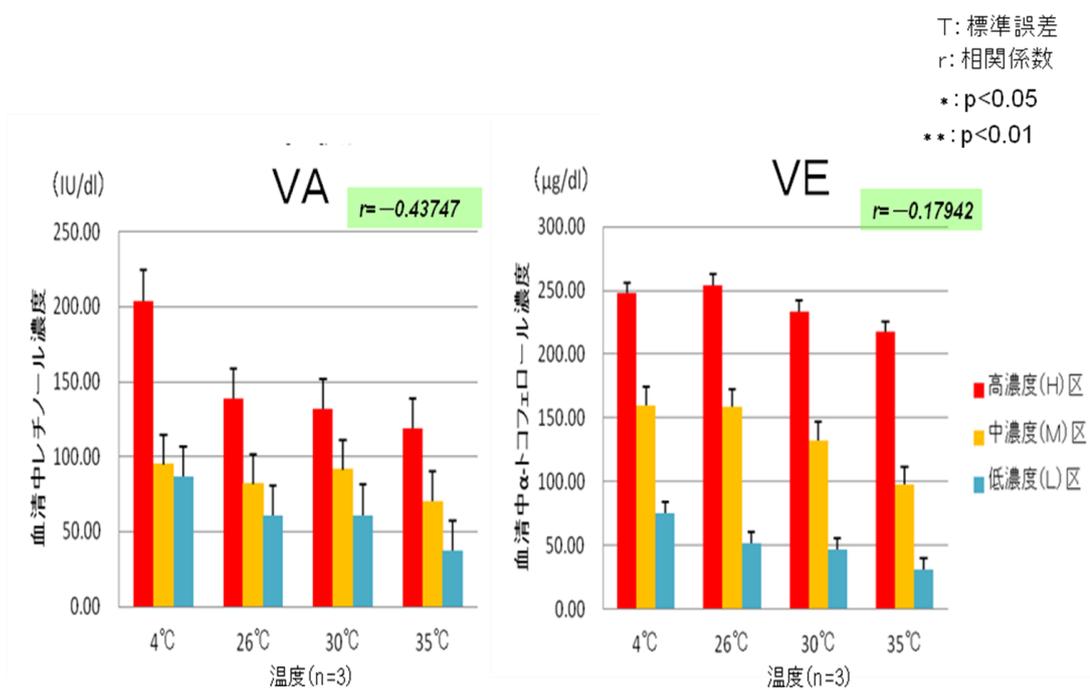


図 4 熱感作の影響

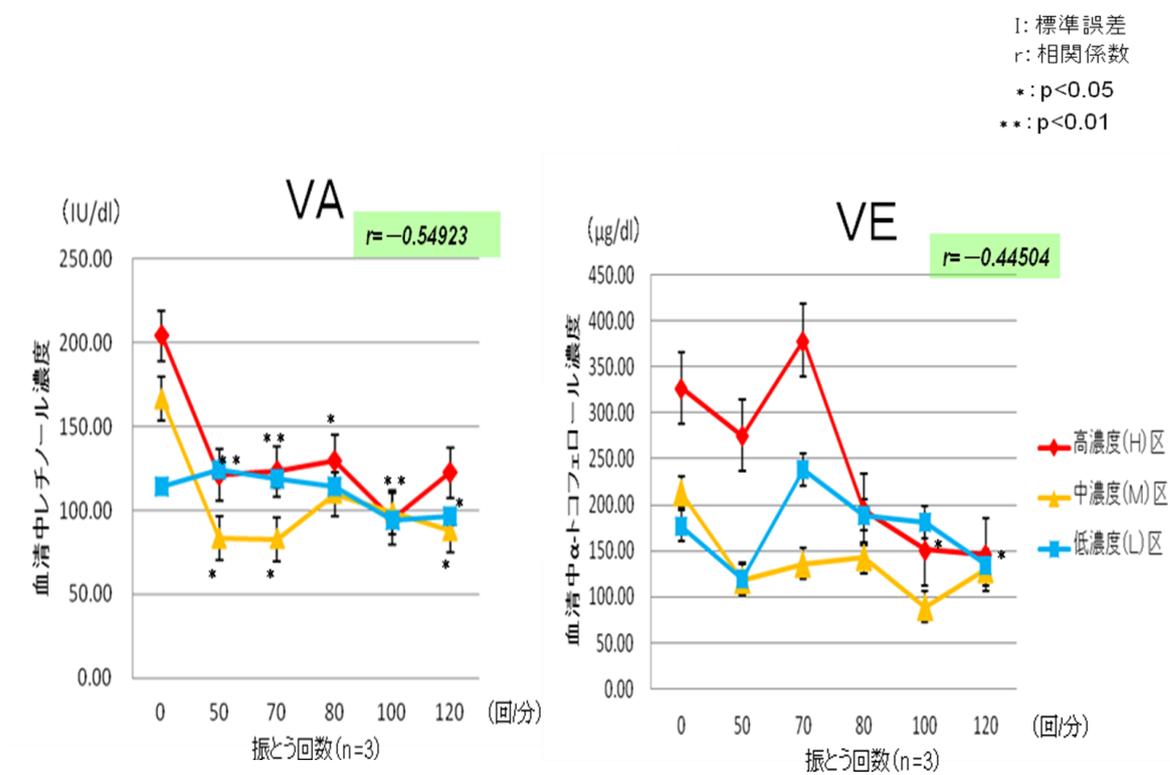


図 5 振動の影響

#### IV まとめおよび考察

平成 26 年 8 月から 10 月にかけて、光や熱などの感作が血清中 VA・VE 濃度に与える影響を調査した。過去の報告では、太陽光曝露、蛍光灯曝露、および熱感作が血清中濃度に与える影響が調査されている<sup>4~7)</sup>。今回の成績とこれらの調査成績は概ね一致したが、一部異なる結果も得られた。

太陽光曝露では血清中濃度の減少が見られ、蛍光灯曝露では濃度変化がみられなかったことから、過去の報告<sup>4~7)</sup>と同様、血清検体は直射日光からの遮光が必須であることが確認された。なお、鳩谷らは、LED の光でも、曝露 90 分後までは両濃度に変化がみられないことを確認している<sup>4)</sup>。さらに、太陽光曝露 0 分の濃度を 100 とした場合、太陽光曝露 60 分後の血清中 VA 濃度は、宮本らの報告<sup>6)</sup>では 7% (7 月測定)、今回は 52% (10 月測定)、鳩谷の報告<sup>4)</sup>では 77% (11 月測定) とばらつきがあった。また、9 月と 12 月に測定した報告では、9 月測定時の方が短時間の太陽光曝露で濃度が減少した<sup>7)</sup>。これらのことから、日射量もしくは日射強度によって、濃度変化に差が生じることが示唆された。その他に、日照による検体の温度上昇の影響も考えられた。低濃度の検体については、太陽光曝露による濃度変化がより大きいため、欠乏症を疑う場合は、直射日光が検体に当たらないよう、一層注意を払う必要があることも分かった。また、VE よりも VA の方が、太陽光曝露の影響を受けやすかったが、その理由は不明であった。

熱感作については、30℃以上の感作で、両濃度とも減少がみられた。しかし、非働化条件下(56℃ 30 分加熱)では有意な濃度変化はみられなかったとの報告<sup>4)</sup>もあることから、ビタミンの熱安定性や、結合タンパクの分解性などの検討も含め、更なる検証が必要である。

今回の検証では、血清中 VA・VE 濃度測定の際には、採血後、直ちに血清を分離する必要はないこと、具体的には、採血後、遮光して 35℃下に静置した場合、少なくとも 2 時間以内に血清分離を実施すれば、血清中 VA・VE 濃度への影響はなかった。したがって、採血から血清分離までの時間の目安は 2 時間以内とすることが望ましいと考えられた。

さらに、血清の振とう回数が増加するほど、濃度が減少する傾向にあったことから、血清分離後は、検体に振動を与えないよう工夫する必要があることも明らかとなった。濃度が減少した理由は、チューブ内の血清と空気が攪拌され、ビタミンが酸化したため、あるいは、堀の報告<sup>8)</sup>で示唆されたように、物理的な影響により、ビタミンと結合しているタンパクの構造が変化したためと考えられた。車で検体を運搬する際は、激しい振動を与えることは避けるべきである。

今回の検証では、測定成績にばらつきが見られた条件もあったため、今後は検体数を増やすとともに、血清分離前の振動感作や、凍結融解の頻度の影響なども検証し、より正確な測定が出来るよう検討を重ねていきたい。

#### V 参考文献

- 1) 川村清市ら：獣医内科学大動物編, 文永堂出版, 2005, 第一版：154-158, 311-312
- 2) 日本ビタミン学会編：ビタミン学 [I], 東京化学同人, 1989, 第四版：92-98, 208-216,

229-236

- 3) 日本ビタミン学会編：ビタミン学実験法[ I ], 東京化学同人, 1989, 第一版:23-26, 201-202

229-223

- 4) 鳩谷珠希ら：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. 和歌山県, 平成 2 4 年度家畜保健衛生・畜産技術検討会発表資料, 2012
- 5) 高野泰司ら：光および熱感作が牛血漿中脂溶性ビタミン濃度に及ぼす影響. 宮城県, 平成 2 2 年度家畜衛生研修会（生化学部門）資料, 2010, 11
- 6) 宮本純子ら：直射日光による牛血清ビタミンA濃度への影響調査. 香川県, 平成 2 1 年度家畜保健衛生業績発表資料, 2009
- 7) 松本拓也：各種の外感作が血清中脂溶性ビタミン濃度に与える影響. 姫路家畜保健衛生所広報「家畜衛生」, No. 151, 2013, 3
- 8) 堀明：振動のウサギ血液成分に及ぼす影響について. 東京女子医科大学雑誌, 1966, 36 (1/2), 1-6