

1 はじめに

ビタミンAは、日光や酵素、熱などにより容易に酸化分解され活性を失うことが知られているが、実際の影響については不明であったことから、平成20年度に直射日光における影響調査を実施した。その結果、100 IU前後のビタミンA濃度が、試験区の5分後は、90 IU、10分後には対照区との差が顕著となり80 IUを示した。30分後は30 IU前後、60分後は10 IUを下回った。対照区も60分後には80 IU前後に濃度が減少していた（図-1）。

直射日光の影響として、5分以内に遮光することが重要と確認されたが、対照区における減少が確認されたことから気温による失活が疑われ、温度感作での調査が必要と思われた（表-1）。

今回、同一血清による温度感作時間でのビタミンA濃度への影響調査を実施したので報告する。

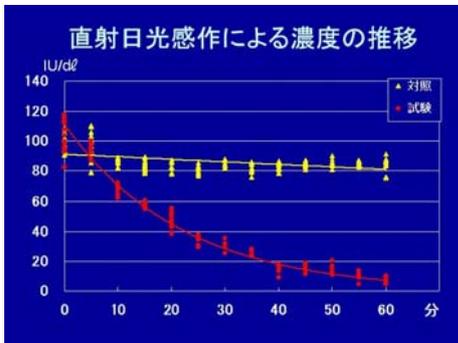


図-1

直射日光による失活まとめ	
• 感作時間5分: 約90%に減少	→ 5分以内での遮光が重要
• 対照区: 約80%に減少	→ 気温35°Cによる失活を疑う
• 温度感作による調査の必要性	

表-1

2 材料および方法

牛血清は、平成20年度調査時に作成したブルセラ検査等余剰プール血清を使用し2ml エッペンチューブに約500 μl分注、直ちにアルミ箔にて遮光したものを被検血清とした（表-2）。

温度設定は、調査日の室温28°Cを対照区とし、試験区にヒートブロックを用いた37°C区、56°C区を設定。感作時間は、直射日光調査時と同様に0分から60分までとし、5分間隔の検体採取を行い、対照区、37°C区、56°C区ともに各78検体、計234検体について検査を実施した（表-3）。

濃度の測定については、通常公定法である高速液体クロマトグラフィーを用いて測定し、血清前処理は、表-4のとおり実施し分析試料とした。分析機器の高速液体クロマトグラフィーは、島津社製のシステムを使用し、分析条件は表-5のとおり。

材料及び方法	
•材料	ブルセラ等余剰血清(凍結保存)を使用
血清の準備	プール血清をろ過し、2mlエッペンチューブに分注
•方法	エッペンチューブをアルミ箔で遮光 各温度条件下にて 0分~60分(5分毎)感作 温度条件 対照区: 室温(28°C) 試験区: 37°C、56°C

表-2

被検血清													
	0分	5分	10分	15分	20分	25分	30分	35分	40分	45分	50分	55分	60分
対照区	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
37°C区	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
56°C区	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6

表-3



表-4



表-5

3 成績

縦軸にビタミンA濃度 (IU/dl)、横軸は感作時間 (分)、各検体濃度を黄色プロットし、散布図から算出された近似曲線を赤線で示した。

対照区では、調査開始時の0分に約94 IU前後の濃度が、調査終了時の60分では約90 IUを示し、あまり濃度に変化は見られなかった (図-2)。

37°C区では、開始時の約92 IUが、ばらつきはあるが多少低下傾向が見られ、終了時では約80 IUになった (図-3)。

56°C区では、開始時の約92 IU前後が、15分後には82 IU、30分後には約60 IU前後まで減少したが、30分以降60分までの濃度減少は顕著ではなく、50 IUから60 IUの濃度を維持した (図-4)。

図-5では、対照区と試験区を重ねて比較し、感作時間5分までは対照区と全ての試験区に差が見られませんが、10分後からは徐々に56°C区が減少し、30分後にはもっとも差が顕著になり、以後の濃度差にはあまり変化が無かった。37°C区では、全ての感作時間において対照区とプロットが重なっており、ほとんど差がないと思われた。表-6では、各検体の平均値、標準偏差、0分時の平均を100としたときの割合を示し一覧表とした。感作時間15分では対照区96%に対し、56°C区は88%、30分後は87%に対して、61%になった。

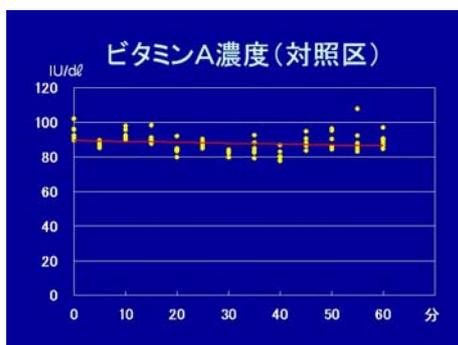


図-2

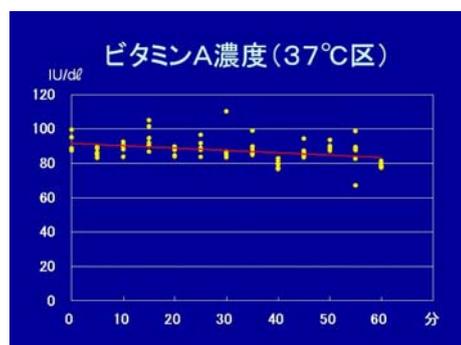


図-3

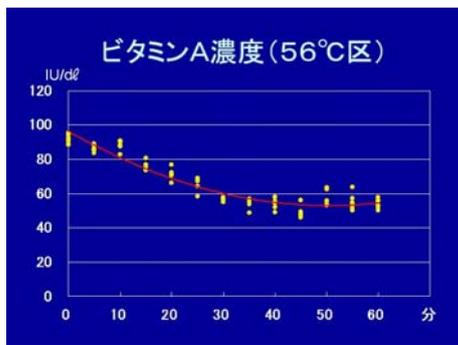


図-4

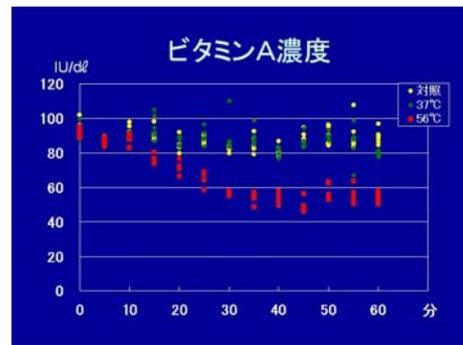


図-5

試験結果

	対照区			37℃区			56℃区		
	濃度平均	標準偏差	割合	濃度平均	標準偏差	割合	濃度平均	標準偏差	割合
0分	94.42	4.57	100%	92.33	4.95	100%	92.3	2.44	100%
5分	87.33	1.67	95%	86.32	2.35	95%	86.49	2.05	94%
10分	83.13	3.12	89%	89.1	2.94	97%	89.42	2.97	96%
15分	80.74	3.85	86%	95.00	6.83	100%	81.55	13.50	88%
20分	84.71	4.03	90%	87.24	2.37	94%	82.01	3.39	88%
25分	87.44	1.95	93%	89.53	4.24	97%	84.32	4.98	76%
30分	82.25	1.41	87%	89.5	10.20	97%	56.72	17.02	61%
35分	85.09	4.67	90%	88.95	5.20	96%	54.36	3.02	58%
40分	80.92	3.44	86%	79.13	2.65	86%	53.89	3.03	58%
45分	88.28	3.90	93%	86.91	3.87	94%	48.89	3.77	53%
50分	89.56	5.30	95%	89.35	2.30	97%	57.35	4.47	62%
55分	90.33	9.12	96%	85.69	10.53	95%	55.33	4.76	60%
60分	89.46	4.22	95%	78.88	1.48	86%	53.97	2.88	58%

表-6

まとめ

- 56℃区: 感作時間15分 約90%に減少
30分 約60%に減少
→ 夏季での輸送等に保冷が重要
- 対照区、37℃区:
感作時間終了時 約90%に減少
→ 測定までの4℃保存中の失活を疑う
- 失活速度: 抽出物 > 血清 > 全血

表-7

4 まとめ

今回の 56℃区、37℃区の結果、輸送時に高温状態になる夏季は保冷が重要であるが、37℃程度までであれば輸送時の保冷は必要無いと感じられた。対照区および 37℃区に見られた減少については、温度による減少も考えられたが、濃度測定まで 4℃冷蔵保存中に減少したことも考えられた。

また、ビタミン A は、抽出物質、血清、全血の順に活性が失われ易いため、今回の数値結果が直に野外におけるビタミン A 濃度の減少と見なすことは困難であり、推測の域を出ないのが現状である。

(表-7)

今後、全血を用いた調査方法について模索したい。