

8. 固相による簡易・迅速な脂溶性ビタミン抽出法の検討

大分家畜保健衛生所

○病鑑 手塚 溪

【はじめに】

ビタミンは生理機能の維持に必須の栄養素であるが、肥育牛においては肥育中期にビタミンAを制限することで脂肪交雑が上昇すると報告されており、肉質向上を目的としたビタミンコントロールが実施されている。当県では、黒毛和種肥育農場の生産性向上のため血清中ビタミンA濃度測定を行っているが、その数は年間約1500検体におよび、検査時間の大部分を占める。血清からの脂溶性ビタミン抽出法として液液抽出法（従来法）が知られており、当検査室でもこの手法が用いられてきた。従来法は試料に優れた洗浄効果を与える一方で、工程が多く手順が複雑であり、作業者の習熟と多大な作業時間を要する。昨今では様々な分野で固相抽出法が用いられており、適切な固相や前処理法を選択すれば簡易、迅速に目的物質が抽出可能である。今回、脂溶性ビタミンの固相抽出法について検討したので、その結果を報告する。

【材料】

固相は Captiva EMR-Lipid (Agilent 社)、脂溶性ビタミンの標準物は、ビタミンA (VA) は all-trans-Retinol (LKT 社)、ビタミンE (VE) は DL- α -トコフェロール (ナカライテスク社) を用いた。試料は当検査室にて凍結保存された黒毛和種繁殖・肥育牛の血清を材料に供した。

【試験】 VA、VE について、以下の試験を実施。

- 1：標準物の固相からの溶出に必要な洗浄回数・時間の検証。
- 2：標準物から検量線を作成、従来法と検出感度を比較。
- 3：血清試料を用い固相抽出を実施、従来法の測定値と比較検証。

【結果】

1：VAは未洗浄では78%溶出、VEは全く溶出せず、全量の溶出にはVAは1回以上、VEは3回以上の洗浄が必要であった。2：従来法と比較し試料の希釈度が大きく、測定誤差が大きくなるため、検出器の調整が必要であった。調整後はビタミンA、Eともに $R^2 \geq 0.999$ の検量線が得られた。3：ビタミンAについては従来法と高い相関が得られた一方で、ビタミンEについては回収率が約3割に低下、前処理法を検討した結果、約6割まで向上。

【まとめ及び考察】

今回使用した固相および前処理法で、ビタミンAの抽出が可能であることが判明。従来法と比較して抽出手順が簡易化し、時間も大幅に短縮。検査の初期費用は従来法より低下するものの、固相を使用することでランニングコストが増加するため、より低用量や低価格の固相の検討が必要。また、ビタミンEに関しては現状の前処理法では十分に回収できないため、今回の検討法が適用出来るのは肥育牛のビタミンA測定に限られており、今後さらなる検査手法の改良が必要。