

10 高速クロマトグラフィーとビタミンA簡易測定装置の分析能比較

中央家畜保健衛生所 ○井坂 紗英、黨 征志郎
筑後家畜保健衛生所 深水 大

福岡県産ブランド「博多和牛」は第12回全国和牛能力共進会では優等賞に入賞するなど高く評価されつつあるが、更なる肉質向上によるブランド強化を目指している。

肥育牛の肉質を向上させる上で血中ビタミンA (VA)のコントロールが重要であり、肥育中期にVAの給与を制限する飼養管理を行うことが一般的である。しかし、制限が過度になり血中VA濃度が著しく低下すると、食欲不振をはじめに、夜盲症などの眼症状や骨格筋麻痺などの神経症状を引き起こし、その後の増体に影響を与える[1]。そのため、VA欠乏を迅速に発見し、VAを補給することは重要である。VA欠乏の牛を発見するには高速液体クロマトグラフィー (HPLC) による血液検査で

測定する方法が確実だが、8時間/回を要する。一方、VA簡易測定装置 (A装置) を用いれば約10分/回と大幅に所要時間を短縮できる上、小型軽量であり現場での測定が可能となる。しかしながら、A装置はHPLCとは測定方法や原理が異なるため、分析性能は十分に検証されていない (表1)。そこで、血液検体をHPLCとA装置の両方で測定し結果を比較することで、当県で使用する場合の有用性を検討したので概要を報告する。

1 材料

令和3年6月から令和4年6月までに採血した、管内の黒毛和種肥育素牛の血液246検体を供試した。検体数の月齢別の内訳は、月齢1: 7~8か月齢 (41検体)、月齢2: 10~11か月齢 (40検体)、月齢3: 13~14か月齢 (44検体)、月齢4: 16~17か月齢 (44検体)、月齢5: 18~19か月齢 (35検体)、月齢6: 19~20か月齢 (42検体) である。

2 A装置の測定方法及び原理

(1) 測定方法

前処理として、エタノール0.3mlに、血清0.3mlを加えて軽く混和した後、ヘプタン0.9mlを加えてよく混和する。マルチスピンをを用いて1000rpmで1秒間攪拌した後、3500rpmで5分間遠心分離を行い、上清を測定セルへ移す。マルチスピがない場合は100回ほど手振りした後、遠心分離をする方法でも代用可能である。セルをA装置に差し込み、ボタン操作をすることで測定が完了する (図1)。

(2) 測定原理

吸光度の測定後、UV照射によりVAを破壊

表1 HPLCとA装置の比較

検査方法	HPLC	A装置
時間	8時間	10分
費用 (1検体)	約220円	約90円
場所	検査室で測定	現場で測定可能

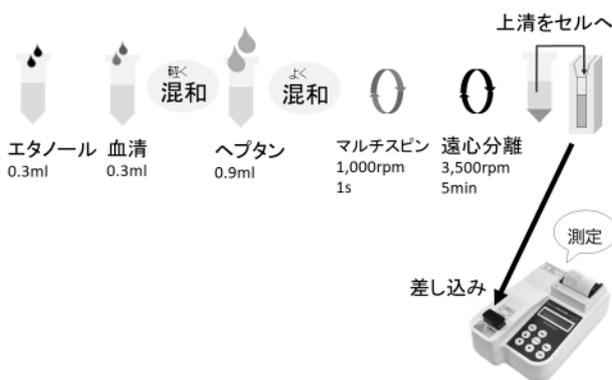


図1 A装置の測定方法

し、再度吸光度を測定する。UV 照射前と後、2 つの値の差を用いて VA 濃度を求める、UV 分解-吸光光度差測定法（測定波長：325nm、UV 分解波長：365nm）により算出される。

3 結果

全月齢のデータによる単回帰分析では、回帰式は $y = 1.0698x - 2.1666$ （決定係数 $R^2 = 0.5057$ ）であった（図 2）。また、月齢別の相関係数は、月齢 1 が $R=0.72$ 、月齢 2 が $R=0.38$ 、月齢 3 が $R=0.76$ 、月齢 4 が $R=0.51$ 、月齢 5 が $R=0.71$ 、月齢 6 が $R=0.70$ であった（図 3、4）。

4 考察・まとめ

HPLC と A 装置の測定値には、一部の月齢を除いて正の相関が認められたことから、A 装置による簡易測定は VA 欠乏症の補助診断に

使用できることが示唆された。生産現場では迅速に VA 濃度を把握することが望まれるが、A 装置による測定結果と臨床症状を合わせることで、治療を要するのか判断する一助となり得る。しかしながら、月齢 2 及び 4 の月齢別の相関係数は、他の月齢と比較して小さい傾向にあるため、HPLC による測定結果と併わせて判断することが望ましいと考える。

今回は肥育素牛の血液を用いて検査を行ったが、A 装置が有用な現場は多岐にわたる。飼料価格の高騰に伴い、 β カロテン量が一定ではない自給飼料の活用が増加したため、乳牛や繁殖牛においてもニーズが高く利用可能である。

今後は更なる採材を行い、検査検体を増やし、あらゆる場面での活用を目指していきたい。

引用文献

- [1] 佐藤繁：牛病学、第3版、67、近代出版（2013）

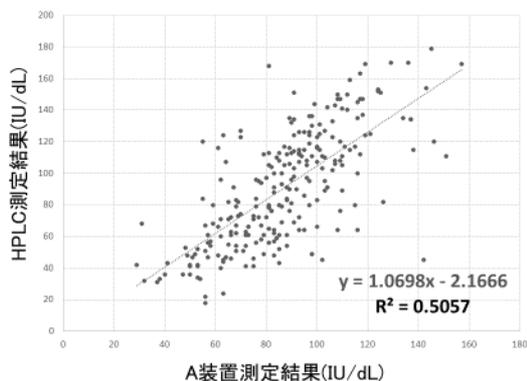


図 2 全月齢データによる HPLC と A 装置の単回帰分析結果

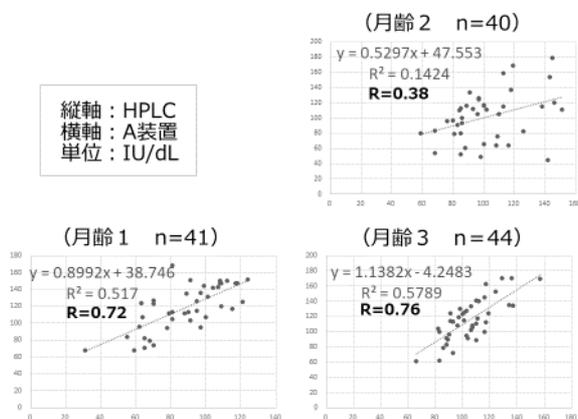


図 3 月齢別データによる相関係数（1）

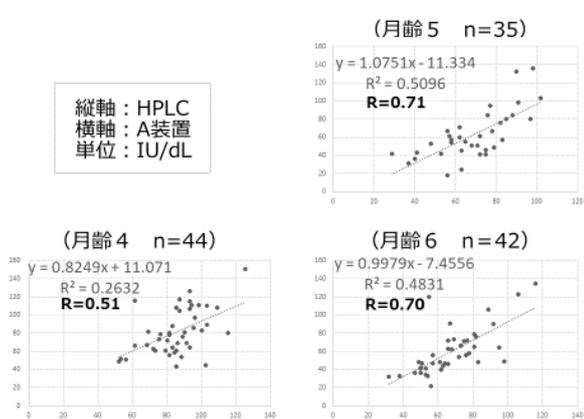


図 4 月齢別データによる相関係数（2）