

血清500 μ L + **エタノール** 500 μ L
 ↓ 攪拌30秒
ヘキサン 5mL
 ↓ 攪拌5分
 遠心3000回転 5分
 ↓
 上層のヘキサンをフィルターで濾過
 4mL採取
 ↓
 エバポレーターで留去
 ↓
イソプロパノールに溶解
 ↓
 HPLCへ（移動相・**メタノール**）
 （ α -トコフェロールとの同時測定可能）

- ・安全面
有機溶媒の使用
 特にヘキサン、メタノールは人体に有害
- ・コスト
 試薬、使用器具の費用
 HPLCのランニングコスト
- ・測定時間
 1検体あたり約1時間
- ・HPLCのメンテナンス

(図1) HPLC法の問題点

血清150 μ L + 0.1M NaCl 3mL
 ↓ 攪拌
 蛍光セルへ注入
 ↓
 蛍光分光光度計のセルホルダーへセット
 ↓
 5分以上静置
 ↓
 蛍光強度(OD値)測定
 励起波長 330nm
 蛍光波長 462nm

検査線: HPLC法レチノール濃度既知血清のOD値で作成



セルホルダー

(図2) 牛血清レチノール直接蛍光法

(表1) 検査材料

◆ 紀北家畜保健衛生所飼養の検査用鶏血清 3羽分
 ◆ 2009年10月~2010年10月に採材した残余血清

豚				鶏			
農家	家保	種類(用途)	頭数	農家	家保	種類(用途)	羽数
A	紀南	繁殖	5	G	紀北	採卵鶏	5
B	紀南	繁殖	2	H	紀北	採卵鶏	5
C	紀北	肥育	2	I	紀北	採卵鶏	5
D	紀北	肥育	4	J	紀北	採卵鶏	5
E	紀北	肥育	4	K	紀北	採卵鶏	5
F	紀北	肥育	2	L	紀北	採卵鶏	5
			6戸 19頭	M	紀北	肉用鶏	5
				N	紀北	肉用鶏	5
				O	紀北	肉用鶏	5
				P	紀北	肉用鶏	3
							10戸 48羽

注: 溶血しているものを除く

(表2) 安定性試験 <豚血清>

検体No.	1	2	3
HPLC測定 レチノール濃度	80.29 IU/dL	102.18 IU/dL	87.58 IU/dL
OD値			
5分後	74.66	83.14	81.02
10分後	74.44	84.04	78.64
15分後	73.39	81.73	80.00
20分後	73.46	82.50	78.73
25分後	74.76	83.16	79.08
30分後	72.33	79.70	78.39
35分後	71.70	78.67	77.84
40分後	71.40	78.17	78.39
45分後	73.02	77.46	76.63
50分後	71.16	75.90	77.95
55分後	72.28	76.46	78.24
60分後	72.24	77.37	77.86
平均	72.94	79.86	78.56
標準偏差	1.28	2.91	1.12
変動係数(CV値)	1.7	3.6	1.4

(表3) 安定性試験 <検査用鶏血清>

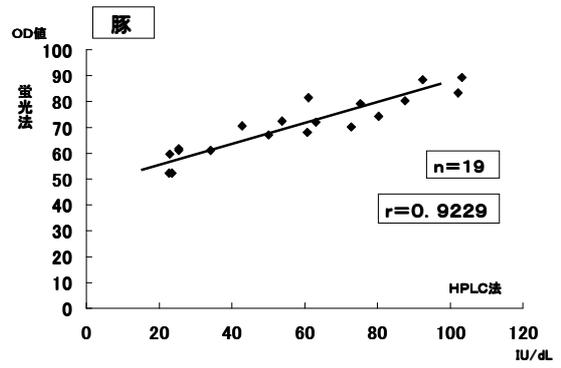
検体No.	1	2	3
HPLC測定 レチノール濃度	389.35 IU/dL	262.07 IU/dL	230.02 IU/dL
OD値			
5分後	136.36	127.30	127.09
10分後	137.32	125.34	126.64
15分後	136.23	126.91	126.21
20分後	135.74	125.12	127.08
25分後	134.04	125.85	122.83
30分後	134.83	125.58	124.36
35分後	136.11	125.55	123.74
40分後	136.30	125.89	125.91
45分後	135.72	125.52	124.23
50分後	134.95	126.48	126.30
55分後	136.74	127.18	124.81
60分後	135.81	126.21	122.68
平均	135.85	126.08	125.16
標準偏差	0.89	0.74	1.59
CV値	0.7	0.6	1.3

(表4) 同時再現性試験 <豚血清>

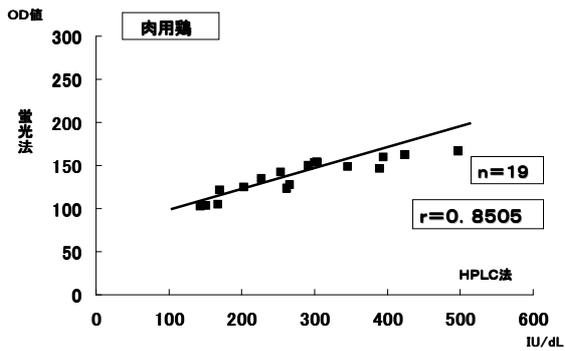
検体No.	1	2	3
HPLC測定 レチノール濃度	80.29 IU/dL	102.18 IU/dL	87.58 IU/dL
OD値			
1回目	77.15	83.19	80.95
2回目	74.50	80.66	79.84
3回目	74.09	81.63	83.59
4回目	73.33	86.65	80.49
5回目	71.31	82.95	78.25
6回目	75.07	85.37	79.05
平均	74.24	83.41	80.36
標準偏差	1.93	2.25	1.86
CV値	1.0	2.7	2.3

(表5) 同時再現性試験 <鶏血清>

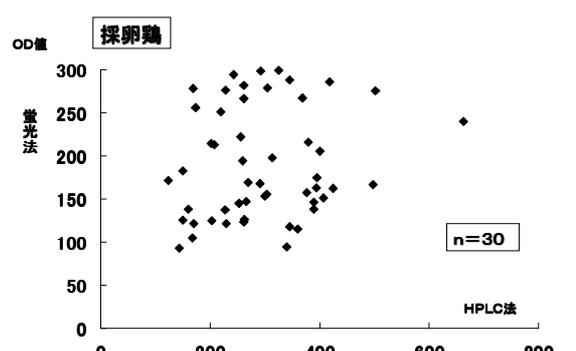
検体No.	1	2	3
HPLC測定 レチノール濃度	389.35 IU/dL	262.07IU/dL	230.02IU/dL
OD値			
1回目	136.36	127.18	119.03
2回目	137.66	127.30	124.06
3回目	140.35	125.34	121.43
4回目	138.23	126.91	120.97
5回目	138.44	125.12	122.94
6回目	138.76	125.89	120.99
平均	138.30	126.37	121.57
標準偏差	1.45	1.05	1.93
CV値	1.0	0.8	1.6



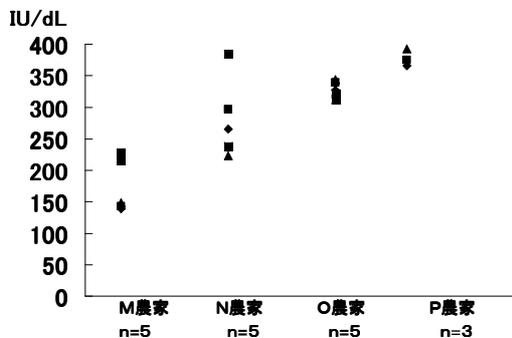
(図3) 測定法の比較1<x-y散布図>



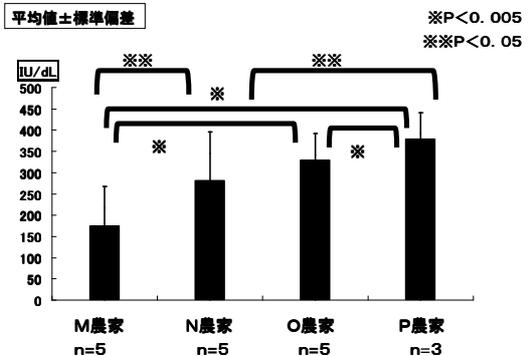
(図4) 測定法の比較<x-y散布図>



(図5) 測定法の比較1<x-y散布図>



(図6) 直接蛍光法による肉用鶏血清レチノール測定結果 1



(図7) 直接蛍光法による肉用鶏血清レチノール測定結果 2