

畜水産物中のテトラサイクリン系抗生物質試験法の 妥当性評価

佐々木 珠生 松木 司 村上 紀子 小中 ゆかり
松室 信宏

はじめに

当所では、テトラサイクリン系抗生物質については蛍光検出器付き高速液体クロマトグラフ (HPLC-FL) を用いた分析法¹⁾を実施している。食品中に残留する動物用医薬品について、食品衛生法に定められている規格基準への適合性の判断を行う試験については、「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドライン」²⁾(以下ガイドラインという)の定める目標値等に適合していることが求められている。そこで、ガイドラインに基づき、テトラサイクリン系抗生物質試験法の妥当性評価を行ったので、その結果について報告する。

方 法

1 試料

鶏の筋肉、鶏卵、乳、はちみつ、マダイ

2 試薬

標準品：オキシテトラサイクリン塩酸塩 (OTC)、クロルテトラサイクリン塩酸塩 (CTC) は関東化学 (株) 製の食品分析用、テトラサイクリン塩酸塩 (TC) は Dr. Ehrenstorfer 社製を使用した。

標準原液：各標準品をメタノールに溶解して $1000 \mu\text{g/mL}$ とした。

検量線用混合標準溶液：各標準原液を混合してメタノールで $20 \mu\text{g/mL}$ とし、この溶液を試料調製液 (10mM イミダゾール 1mM EDTA2Na 0.1M 酢酸マグネシウム溶液) で適宜希釈して調製した。

添加回収試験用混合標準溶液：添加濃度が基準値となるように各標準原液を混合し、メタノールで希釈して調製した。

その他の試薬：リン酸水素二ナトリウム 12 水和物、クエン酸一水和物、イミダゾール、EDTA2Na、酢酸マグネシウムは特級を用いた。ヘキサンは残留農薬試験用を用いた。メタノール、アセトニトリル、1-ヘプタンスルホン酸ナトリウムは高速液体クロマトグラフィー用を用いた。

固相抽出カラム：Waters 社製 Sep-Pak Plus PS-2 (265mg) を用いた。

3 装置及び分析条件

HPLC：LC-20A ((株) 島津製作所製)

カラム：Kinetex $2.6 \mu\text{C}18$ 100A $4.60 \times 50\text{mm}$ (phenomenex 社製)

移動相：(A 液) イミダゾール緩衝液：アセトニトリル = 100:15, (B 液) イミダゾール緩衝液：アセトニトリル = 100:30

イミダゾール緩衝液： 5mM イミダゾール緩衝液・ 7mM 1-ヘプタンスルホン酸ナトリウム・ 1mM EDTA2Na・ 50mM 酢酸マグネシウム水溶液

グラジエント条件：B 液；10% (0min) → 90% (10min) → 10% (11min) → 10% (16min)

カラム温度： 40°C ，流速： 1.0 mL/min ，注入量： $20 \mu\text{L}$ ，励起波長： 380nm ，蛍光波長： 520nm

4 試験溶液の調製

既報¹⁾に従って調製した。

5 妥当性評価

ガイドラインに従い、枝分かれ実験計画により、1 日 2 併行、5 日間の添加回収試験を実施した。添加濃度は、基準値 1 濃度とした。

結 果

1 定量限界

通知法³⁾で示されている定量限界濃度 (OTC $0.02 \mu\text{g/g}$, CTC $0.03 \mu\text{g/g}$, TC $0.02 \mu\text{g/g}$) に対応するピークが S/N 比 ≥ 10 であることを確認した。

2 選択性

ブランク試料を試験法に従って試験し、定量を妨害するピークの有無を確認した。ガイドラインに規定された許容範囲内であった。

3 真度及び回収率

真度 (回収率) は 70~120%，併行精度及び室内精度は添加濃度によりガイドラインに従って評価した。結果を表 1 に示す。5 食品すべてでガイドラインの目標値を満たした。

ま と め

5 食品について、テトラサイクリン系抗生物質 3 項目の妥当性評価を行ったところ、ガイドラインの評価基準を満たし、良好な結果であった。

表 1 真度(回収率)及び精度の結果

		基準値 (μ g/g)	添加濃度 (μ g/g)	回収率 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)
鶏の筋肉	OTC	総和で 0.2	0.06	84.9	6.8	7.0
	TC		0.06	78.9	6.8	7.2
	CTC		0.06	74.4	6.5	7.4
鶏の卵	OTC	総和で 0.4	0.12	87.2	2.8	4.2
	TC		0.12	84.3	4.1	6.0
	CTC		0.12	76.0	4.1	7.0
乳	OTC	総和で 0.1	0.03	97.9	3.4	13.3
	TC		0.03	85.7	1.7	11.3
	CTC		0.03	89.3	5.7	14.3
はちみつ	OTC	総和で 0.3*	0.1	97.7	2.4	4.2
	TC		0.1	87.7	2.4	5.5
	CTC		0.1	89.6	3.5	8.6
マダイ	OTC	0.2	0.2	85.6	5.0	5.0
	TC	-	0.02	79.9	4.7	4.7
	CTC	-	0.03	74.4	3.6	5.0

*: 平成 27 年 2 月 20 日改正, 改正後の残留基準値は OTC 0.3(μ g/g)

文 献

- 1) 広島市衛生研究所生活科学部: 広島市衛生研究所年報, 18, 79~80(1999)
- 2) 厚生労働省通知, 食安発 1124 第 1 号, 平成 22 年 12 月 24 日
- 3) 厚生労働省通知, 食安発 1129001 号, 平成 17 年 11 月 29 日