

## 6. 抽出ディスク法を用いた食肉中の残留抗生物質定量化の検討

ワタナベ ナミ  
○渡邊 菜美（豊橋市食肉衛生検査所）  
山崎 聡子（            "            ）  
福田 和弘（            "            ）  
吉川 雅己（            "            ）  
山内 俊平（            "            ）  
細井 美博（            "            ）

### 【はじめに】

食肉中の残留抗生物質の検査においては、汎用性が高く簡易な「畜水産食品中の残留抗生物質簡易検査法(改訂)(平成6年7月1日付け衛乳第107号)」(抽出ディスク法)が広く用いられる。同法は、一般的には定性法として活用されるが、定量評価が可能となれば検査の効率化に資すると考えられる。そこで今回、テトラサイクリン(TC)系及びペニシリン(PC)系薬剤の抽出ディスク法による定量化について検討した。

### 【材料および方法】

1 供試薬剤(1)TC系4薬剤:オキシテトラサイクリン(OTC)、クロルテトラサイクリン(CTC)、テトラサイクリン(TC)、ドキシサイクリン(DOXY) (2)PC系4薬剤:ベンジルペニシリン(PCG)、アンピシリン(ABPC)、アンピシリンナトリウム(ABPCNa)、アモキシシリン(AMPC)

2 供試培地:*Kocuria rizophilia* ATCC 9341(ML)、*Bacillus spizizenii* ATCC 6633(BS)、*Bacillus cereus* ATCC 11778(BC)の3菌種を用い、抽出ディスク法に基づいて調製した。

3 方法(1)検量線の作成:上記8薬剤標準品を抽出ディスク法で用いるクエン酸・アセトン緩衝液(緩衝液)に力価 1,000  $\mu\text{g/ml}$  の濃度で溶解したものを標準原液とし、緩衝液で希釈して 0.025、0.05、0.075、0.1、0.15、0.2、1、2、5  $\mu\text{g/ml}$  の標準溶液を調製した。ペーパーディスクに標準溶液を 65  $\mu\text{l}$  滴下して培地上に置き、4 $^{\circ}\text{C}$ で30分間放置後、30 $^{\circ}\text{C}$ で18時間培養し、形成された濃度別阻止円直径から回帰直線を求めた。(2)添加回収試験:OTC、CTC、TC各 1  $\mu\text{g}$ 、DOXY、PCG各 0.25  $\mu\text{g}$ 、ABPC、ABPCNa各 0.3  $\mu\text{g}$ 、AMPC 0.2  $\mu\text{g}$  を各々添加した豚肉 5g から緩衝液 20ml で抽出・分離した溶液(抽出液)を OasisHLB カートリッジに負荷してメタノール 10ml で溶出し、減圧乾固後、緩衝液 1ml で溶解したものを試験溶液とし、上記と同様に処理した。なお、PC系薬剤については抽出液に 25%塩化ナトリウム 5ml を加えた。形成された阻止円直径と検量線から回収率を算出した。

### 【結果および考察】

TC系薬剤はBS及びBC培地、PC系薬剤はML及びBS培地で、いずれも 0.025~5  $\mu\text{g/ml}$  の範囲において比較的良好な直線性が得られた( $R^2>0.94$ )。添加回収試験における回収率は、TC系4薬剤が94~158%、PCGが62%、ABPCNaが53%であった。ABPC及びAMPCは阻止円の形成を認めなかった。以上より、TC系薬剤は抽出ディスク法による一定の定量評価が可能と考えられる。