

畜産食品中の合成抗菌剤の残留に関する研究(第2報)

—アンプロリウム測定妨害物質のクリーンアップ法の検討—

Studies on Residues of Synthetic Antibacterials in Livestock Products (Part 2)

—Examination of Cleanup Method of Obstacles for Measurement of Amprolium—

藤森 裕悟 中島 純夫 大森 茂
川越 章善 富所 謙吉

Yugo Fujimori, Sumio Nakajima, Shigeru Omori,
Fumiyoshi Kawagoe and Kenkichi Tomidokoro

I 諸 言

我々は畜産食品中に残留する合成抗菌剤の分析法について検討を加えており、第1報ではカブリロヒドロキサム酸の定量法について報告した。今回は畜産物中の残留物質検査法第2集によるアンプロリウム分析法では、とり肉より溶出してくる蛍光物質の妨害を受けてしまうため、この妨害物質をカラムクロマトグラフィーによりクリーンアップする方法の検討を行ったところ好結果を得たので報告する。

II 実験方法

1. 試薬：水酸化ナトリウム・フェリシアン化カリウム・硝酸銀・トリクロル酢酸・塩酸・*n*-アミルアルコール・無水エタノールはいずれも試薬特級を用い、水は脱イオン水を用いた。イオン交換樹脂はアンバーライトIRC-50(オルガン)を用いた。

2. 分光蛍光光度計：島津RF 500

3. 実験操作(図1分析法フローシート)

若どりささみひき肉20gにトリクロル酢酸40mlを加え、10分間ホモジナイズ後4,000rpm

で5分間遠心分離、No.5Cのろ紙でろ過、10% NaOHを用いてpH4.5に調製する。アンバーライトIRC-50・10gを内径10mm長さ300mmのカラムに水を用いて湿式充填し、0.2N HCl 100ml、次いで水200mlを流して洗浄後前記試験溶液10mlを供し、pH4.5 HCl 5ml・次いで水50mlで洗い、0.2N HCl 40mlで溶出させる。溶出液に30% NaOH 8.0mlを加え混合、2%硝酸銀溶液0.8mlを加え混合後2分間静置、次いで2%フェリシアン化カリウム溶液4.0mlを加えて混合後1分間静置、さらに*n*-アミルアルコール8.0mlを加えて30秒間振り混ぜる。

次いで3,000rpmで10分間遠心分離後*n*-アミルアルコール層5.0mlをとり、無水エタノール10mlを加えて振り混ぜ蛍光を測定(励起波長400nm、蛍光波長500~420nm)する。

III 結果と考察

当初ビタミンB₁₂のクリーンアップに準じてパームチットを用いてみたが良好な結果を得ることができなかった。次にアンバーライトIRC-50を

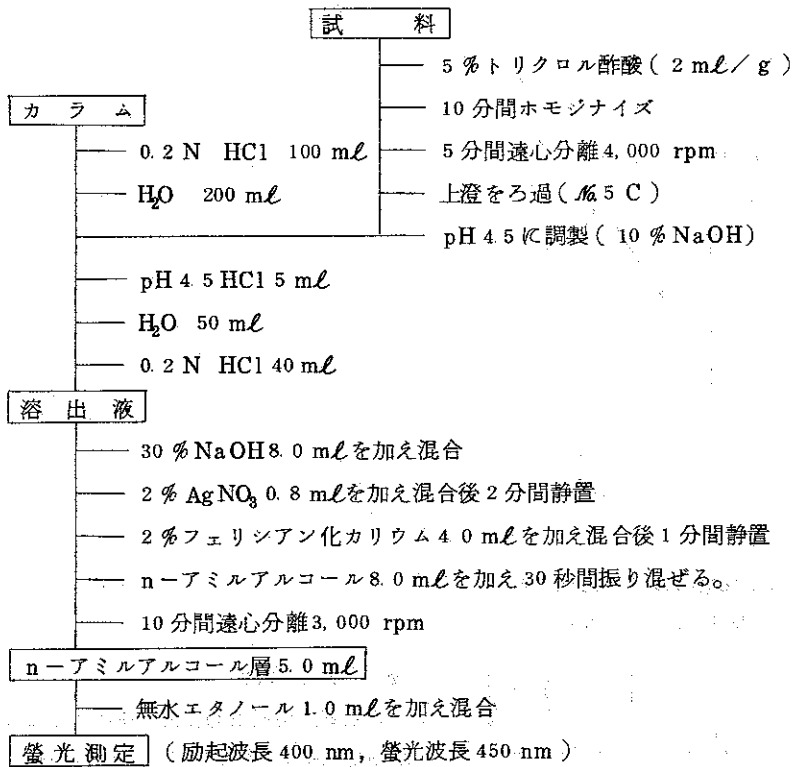


図1. 分析法フローシート

用いて 2 g・5 g・10 g・20 g, カラム内径では 10 mm・15 mm・20 mm においてクリーンアップを行ったところ 10 g・内径 10 mm で良い結果が得られた。溶離液については, 0.1 N HCl・0.2 N HCl・0.5 N HCl で検討を行い, 0.2 N 以上でほぼ安定した回収率が得られた (表1)。

表1. アンバーライト10g, カラム内径10mm における溶離液濃度の検討

	0.1N	0.2N	0.5N
回収率 (%)	50	78	76

各群3回の平均値

カラムの滴下速度は 1 ml/min ~ 5 ml/min の間で差は見られなかった (表2)。

このカラムによるクリーンアップ法の検討には若どりのささ身の抽出液と標準品 0.8 μg (0.2

表2. アンバーライト10g, カラム内径10mm 0.2N HCl における溶離速度の検討

	1ml/min	3ml/min	5ml/min
回収率 (%)	79	76	78

各群3回の平均値

ppm溶液)を用いて行い, アンブロリウムの最強蛍光波長は 450 nm・妨害物質の最強蛍光波長 440 nm であった (図2)。検量線については原法¹⁾では測定用標準液として 5%トリクロル酢酸溶液となっているが, 時として測定値が大きく変動することがあり, 0.2 N HCl 溶液としたところ安定した結果が得られ, 0.2 μg・0.4 μg・0.8 μg において直線性を示した (図3)。

以上の結果からクリーンアップ後の回収率を求めたところ平均 77% のほぼ安定した回収率を得ることができた (表3)。

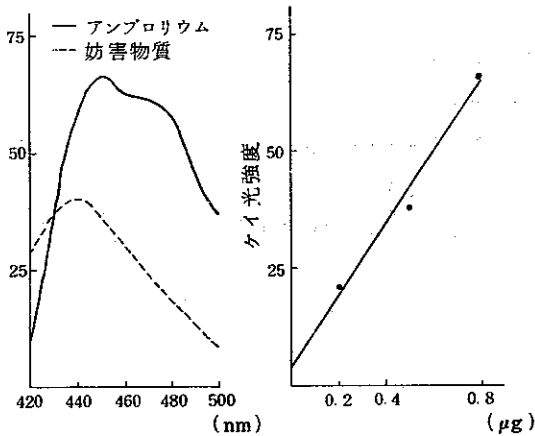


図2. 励起波長400 nmにおけるケイ光強度

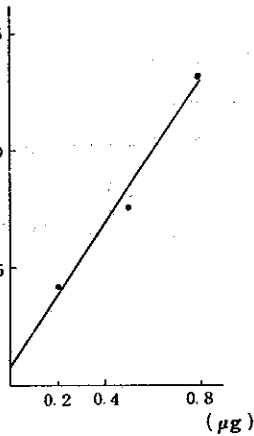


図3. アンプロリウム検量線

表2. アンバーライト10g, カラム内径10mm
0.2N HClにおける回収率(%)

	1	2	3	4	5	総平均
回収率	78	75	76	78	79	77

各群3回の平均値

IV 結 語

1. とり肉より溶出してくる蛍光物質はアンバーライトIRC-50によって除去することができた。
2. 測定用標準液が5%トリクロル酢酸では測定値が不安定であり、0.2N HClでは安定であった。
3. 今回の結果では回収率が平均77%であったが今後の検討で回収率を上げることは充分可能であると思われる。なお、イオン交換樹脂及び標準溶液の酸の種類については、今後も検討する予定である。

V 謝 辞

今回のクリーンアップ法の検討に当たり御指導いただいた国立公衆衛生院の白石慶子先生に深く感謝いたします。

VI 参考文献

- 1) 厚生省環境衛生局乳肉衛生課：畜産物中の残留物質検査法（第2集），14（1977）。