

食肉, 鶏卵, 牛乳中の残留動物用医薬品及び合成抗菌剤の迅速分析

園田 要¹・小林 英樹²・阿部 圭子²・廣中 博見²

Rapid and Simultaneous Determination of Animal Drug and Synthetic Antibacterials Residues in meat, egg and milk.

Kaname SONODA, Hideki KOBAYASHI,
Keiko ABE and Hiromi HIRONAKA

要 旨

畜産食品中の残留動物用医薬品の分析を同時に行う迅速分析法について, 畜水産食品中の残留合成抗菌剤の一斉分析法を応用し検討を行った。

1. 分析方法

試料からアセトニトリルによる抽出を行い, 脱脂操作後, 高速液体クロマトグラフ(HPLC)によるグラジエント溶出, フォトダイオードアレイ検出器及び蛍光検出器による多波長と蛍光の同時測定により行った。試料において妨害物ピークとの完全な分離ができなかった場合は吸収スペクトル測定及び異なるHPLC条件での再測定で定性を行った。

2. 検査精度

試料に対して0.1ppmの濃度に標準物質を添加し, 回収率を求めたところ, 動物用医薬品のスルファジミン, チアベンダゾール, 5-プロピルスルホニル-1H-ベンズイミダゾール-2-アミン, フルベンダゾール, ゼラノール及びβ-トレンボロンは70.0~118%, イソメタジウム及びクロサンテルは50.2~54.5%, 合成抗菌剤は50.7~120%であった。

3. 定量下限

本法では告示された個別の試験法の定量下限より高いものがあったが, 基準適否の判断には十分と考えられた。同時に分析を行った合成抗菌剤の定量下限は従来の分析法と同等と考えられた。

4. 結果

畜水産食品中の残留合成抗菌剤の一斉分析法の操作及びHPLC条件を一部変更することにより8種類の動物用医薬品及び合成抗菌剤の同時分析が可能であった。上記8種類の動物用医薬品の検査には告示試験法では6種類の個別の試験が必要であるが, 本法をスクリーニング試験として用いることにより合成抗菌剤も含めた検査を大幅に迅速化できると考えられた。

5. 実態調査

本法を用いて牛乳12検体, 牛の筋肉15検体, 豚の筋肉8検体, 鶏の筋肉11検体, 鶏卵40検体の検査を行ったが, 全検体から検査対象の動物用医薬品及び合成抗菌剤は検出されなかった。

Key Words : 高速液体クロマトグラフィー high performance liquid chromatography,
一斉分析 Simultaneous Determination, 動物用医薬品 Animal Drug,
合成抗菌剤 Synthetic Antibacterials, 食肉 meat, 鶏卵 egg, 牛乳 milk

1. 福岡市保健環境研究所 理化学課
(現所属: 福岡市水道局 水質試験所)
2. 福岡市保健環境研究所 理化学課

I はじめに

食品中に残留する有害物質の影響が危惧されるなかで平成7年以後二度にわたる食品の規格基準の改正により、計11種類の動物用医薬品に食品中の残留基準が設定された(表1)¹⁻⁴⁾。これらの試験法は個別に示されているものがほとんどであり(以下、公定法)、それぞれの検査は煩雑で多大な労力と時間を要することが難点である(表2)。畜水産食品中の残留合成抗菌剤検査については「畜水産食品中の残留合成抗菌剤の一斉分析法(改定法)」^{5,6)}(以下、一斉分析法)があるが、このような一斉分析法で新たに基準が設定された動物用医薬品の検査を行うことができれば検査の迅速化が期待できる。

近年、分析機器が飛躍的に発展し、高速液体クロマトグラフ(以下、HPLC)ではフォトダイオードアレイ検出器による多波長測定感度、グラジエント溶出分析の精度及び自動化等の性能が非常に向上している。そこでHPLCのこれらの性能を活用し、合成抗菌剤の一斉分析法を応用して動物用医薬品を含めた残留物質の迅速な分析法を開発し、検査を行ったので概要を報告する。分析対象は残留基準が設定されている動物用医薬品11物質のなかから水溶性が高く抽出方法の異なるオキシテトラサイクリン及び対象部位が異なり脂肪中に残留基準のあるイベルメクチンを除いた9物質とした。

II 検査方法

1. 試料

福岡市内の製造所及び販売店から保健所の食品衛生監視員により収去された食肉、鶏卵及び牛乳試料を検査に供した。

2. 試薬及び器具

- ・アセトニトリル、水：関東化学(株)高速液体クロマトグラフ用
- ・n-ヘキサン、無水硫酸ナトリウム：和光純薬工業(株)残留農薬試験用
- ・1-プロパノール：関東化学(株)特級
- ・リン酸一カリウム、リン酸：和光純薬工業(株)特級

表2 告示による食品中の残留動物用医薬品の試験法

- ・イソメタジウム試験法
- ・イベルメクチン試験法
- ・オキシテトラサイクリン試験法
- ・キノキサリン-2-カルボン酸試験法
- ・スルファジミジン試験法
- ・チアベンダゾール及び5-プロピルスルホニル-1H-ベンズイミダゾール-2-アミン試験法
- ・フルベンダゾール試験法
- ・ゼラノール、 α -トレンボロン及び β -トレンボロン試験法
- ・クロサンテル試験法

表1 牛、豚、鶏の筋肉、鶏卵及び牛乳中の残留動物用医薬品の基準値並びに告示試験法の定量下限 (単位：ppm)

名 称	牛筋肉	豚筋肉	鶏筋肉		鶏 卵	牛 乳
抗生物質						
オキシテトラサイクリン	0.10	0.10	0.10	(0.02)	0.20 (0.04)	0.1 (0.02)
合成抗菌剤						
キノキサリン-2-カルボン酸	—	0.005	—	(0.005)	—	—
スルファジミジン	0.10	0.10	0.10	(0.01)	—	0.025 (0.005)
内寄生虫用剤						
イソメタジウム	0.10	—	—	(0.05)	—	0.10 (0.05)
クロサンテル	1.0	—	—	(0.1)	—	—
チアベンダゾール (5-ヒドロキシチアベンダゾール)	0.10	0.10	—	(0.002) (0.02)	—	0.10 (0.002) (0.02)
5-プロピルスルホニル-1H- ベンズイミダゾール-2-アミン	0.10	0.10	0.10	(0.01)	—	0.10 (0.01)
フルベンダゾール	—	0.010	0.20	(0.002)	0.40 (0.04)	—
ホルモン剤						
ゼラノール	0.002	—	—	(0.002)	—	—
β -トレンボロン	0.002	—	—	(0.002)	—	—

(カッコ内は告示試験法の定量下限)

—：基準なし

- リン酸緩衝液: 10mmol リン酸一カリウム水溶液にリン酸を加えてpHを調整した。
- 検討対象物質: キノキサリン-2-カルボン酸, スルファジミジン, イソメタジウム, クロサンテル, チアベンダゾール及びこの代謝物5-ヒドロキシチアベンダゾール, 5-プロピルスルホニル-1H-ベンズイミダゾール-2-アミン, フルベンダゾール, ゼラノール, トレンボロン(α -トレンボロン及び β -トレンボロン)(以上, 動物用医薬品として告示済), アルベンダゾール(5-プロピルスルホニル-1H-ベンズイミダゾール-2-アミンの代謝前の物質)スルファキノキサリン, スルファジメトキシシ, スルファメラジン, スルファモノメトキシシ, オキサソリン酸, オラキンドックス, オルメトプリム, カルバドックス, クエン酸モランテル, クロピドール, ジフラゾン(パナゾン), チアンフェニコール, トリメトプリム, ナイカルバジン, ナリジクス酸, ピリメタミン, ピロミド酸, フラゾリドン(以上, 合成抗菌剤の一斉分析法での対象物質), スルファジアジン, スルファメトキシピリダジン, スルファメトキサゾール, スルファチアゾール, スルフィソミジン(以上, 衛生試験法注解に記載)²⁾, クロラムフェニコール(抗生物質), エトパペート, デコキネート(以上, 抗原虫剤), ニトロフラゾン(フラン剤), スルファクロルピリダジン, ゴーリン
- 標準原液: 各種標準品は林純薬工業(株), 関東化学(株), Riedel-de Haën 社を用い, アセトニトリル及び水の混合溶媒で濃度50mg/l を調製した。フルベンダゾール及びデコキネートはジクロロメタン, アセトニトリル, メタノールの混合溶媒で調製した。
- 混合標準溶液: 標準原液をアセトニトリル-水(1:1)で希釈し調製した。
- ろ紙: アドバンテック東洋(株) No. 5C
- ミニフィルター: 関東化学(株) HLCDISK13, 孔径0.20 μ m, 水溶系&溶媒系用

3. 装置

- 高速液体クロマトグラフ: ヒューレットパッカード社 (HP)1100シリーズシステム一式
- クォータナリポンプ: G1311A
- デガッサー: G1322A
- オートサンプラー: G1313A
- カラム恒温槽: G1316A
- フォトダイオードアレイ検出器: G1315A
- 蛍光検出器: ウォーターズ社製470型を上記に接続
- データ処理: HP 3DLCケミステーション

4. 試料溶液の調製

分析法のフローシートを図1に示した。

試料をフードプロセッサー等を用いて均一化後, 10gを採取し, アセトニトリル50mlを加えて10分間振とうした。試料が食肉の場合は振とう後, 1~2時間放置した。無水硫酸ナトリウム20gを加え, 10分間振とう後, 1,500rpm, 5分間遠心分離し, ろ過(ろ紙5C)した。ろ液にヘキサン20ml加え5分間振とう後, 静置した。試料の残留物にアセトニトリル50mlを加え, 10分間振とう後, 超音波洗浄器中で約30秒間かき混ぜ, 1,500rpm, 5分間遠心分離し, ろ過(ろ紙5C)した。これにさきに静置し分離したヘキサン層を移し5分間振とう

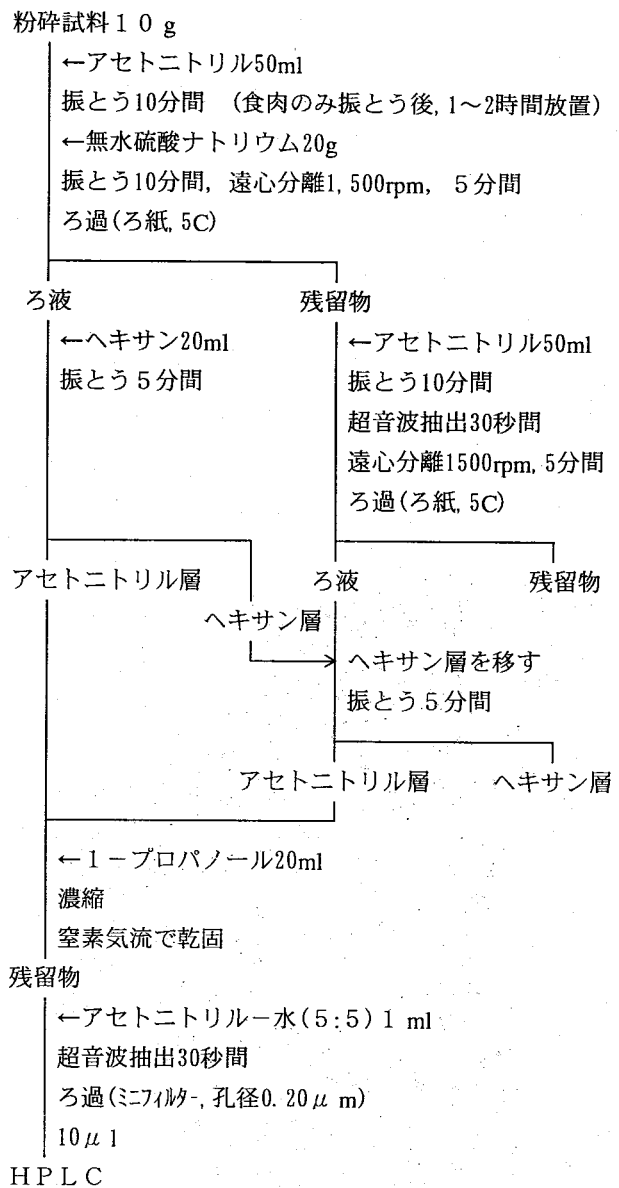


図1 食肉, 鶏卵, 牛乳中の残留動物用医薬品及び合成抗菌剤の迅速分析フローシート

後、ヘキサン層を除去した。アセトニトリル層を合わせ、1-プロパノール20 mlを加えロータリーエバポレーターにより30℃以下で溶媒を減圧留去した。窒素気流で完全に乾固させ、残留物にアセトニトリル-水(5:5) 1 mlを加え、超音波洗浄器中で約30秒間振り混ぜた。内容物をミニフィルター(孔径0.20 μm)でろ過した後、HPLCの試料溶液とした。

5. HPLC条件

- 分析カラム: 和光純薬(株) Wakosil II 3C18HG(150mm × 4.6mm i. d., 3 μm)
- カラム温度: 40℃
- 試料注入量: 10 μl
- 測定波長: 226, 265, 320, 350, 380nm
- HPLC条件1
 - リン酸緩衝液: 10mmol リン酸一カリウム(pH3.0)
 - 移動相 A液: アセトニトリル-リン酸緩衝液(2:98)
 - B液: アセトニトリル-リン酸緩衝液(80:20)
 - 流速: 1 ml/分

グラジエント溶出条件:

時間(分)	A液(%)	B液(%)
0	99	1 (60分間リアグランド)
60	0	100 (5分間ホールド)
65	0	100
70	99	1 (15分間コンデションング)

蛍光測定: 励起波長300nm, 蛍光波長370nm

HPLC条件2

- リン酸緩衝液: 10mmol リン酸一カリウム(pH2.5)
- 移動相 A液: アセトニトリル-リン酸緩衝液(2:98)
- B液: アセトニトリル-リン酸緩衝液(80:20)
- 流速: 1 ml/分

グラジエント溶出条件:

時間(分)	A液(%)	B液(%)
0	99	1 (12分間ホールド)
12	99	1 (48分間リアグランド)
60	0	100 (8分間ホールド)
68	0	100
73	99	1 (15分間コンデションング)

蛍光測定: 励起波長280nm, 蛍光波長320nm

6. 定性及び定量

試料溶液10 μlをHPLC分析条件1を用いて測定し、保持時間が一致したピークについては吸収スペクトル測定及びHPLC条件2での再測定で定性を行った。定量はピーク面積を用いた絶対検量線法で行った。一部

妨害物ピークと完全な分離ができなかったピークについては定量にピーク高さを用いた。

III 結果及び考察

1. 検査方法の検討

一斉分析法をもとに検討し、若干の改良を加えた。一斉分析法では脂溶性の対象物質の損失が大きかったため、脱脂操作はヘキサンとアセトニトリルの比を1対3に変更し、HPLC分析前の脱脂操作も行わないことにした。またHPLC分析試料溶液の溶媒をアセトニトリルの比を高め、水との比を1対1とした。検査対象物質の操作中の損失や分解消失等をできるだけ抑えるためカラム精製操作を行わないことにした。

2. HPLC分析条件の設定

一斉分析法では使用する移動相に酢酸が含まれるため、250nm以下の吸収スペクトルの測定を妨害する⁹⁾。このため、紫外吸収の少ないリン酸一カリウムを用いたリン酸緩衝液(pH3.0)を用いてグラジエント溶出分析を行った(HPLC条件1)。ただし試料によってはひとつの条件で妨害物ピークとの完全な分離が出来なかったため、確認のために条件2を設定し、この二つの条件で分析を行うことにした。条件2はキノキサリン-2-カルボン酸の公定法をもとにしたグラジエント溶出条件を設定した。グラジエント溶出分析を行うことにより、1検体当たりのHPLC分析時間は条件1で85分、条件2で88分と長くなったが、夜間等の自動運転を活用した。分析カラムは当初、和光純薬(株)のWakosil II 5C18HG, 250mm × 4.6mm i. d.を使用していたが、Wakosil II 3C18HG, 150mm × 4.6mm i. d.の方が保持時間の再現性が良かったため、以後、このカラムを使用した。

測定波長は食品衛生検査指針及び衛生試験法注解に示されている226nm, 265nm, 320nm, 350nm及びイソメタジウムの公定法での測定波長380nmの5波長を設定した。蛍光測定はチアベンダゾール及び5-プロピルスルホニル-1H-ベンズイミダゾール-2-アミンの公定法より励起波長300nm, 蛍光測定波長370nmを設定し、条件2で行う場合には厚生省乳肉衛生課長通知による5-プロピルスルホニル-1H-ベンズイミダゾール-2-アミンの試験法より、励起波長280nm, 蛍光測定波長320nmとした⁹⁾。

混合標準溶液各1 mg/l(チアベンダゾールは0.1mg/l)のHPLC条件1でのクロマトグラムを図2~4に、クロマトグラム上の略号を表3に示した。

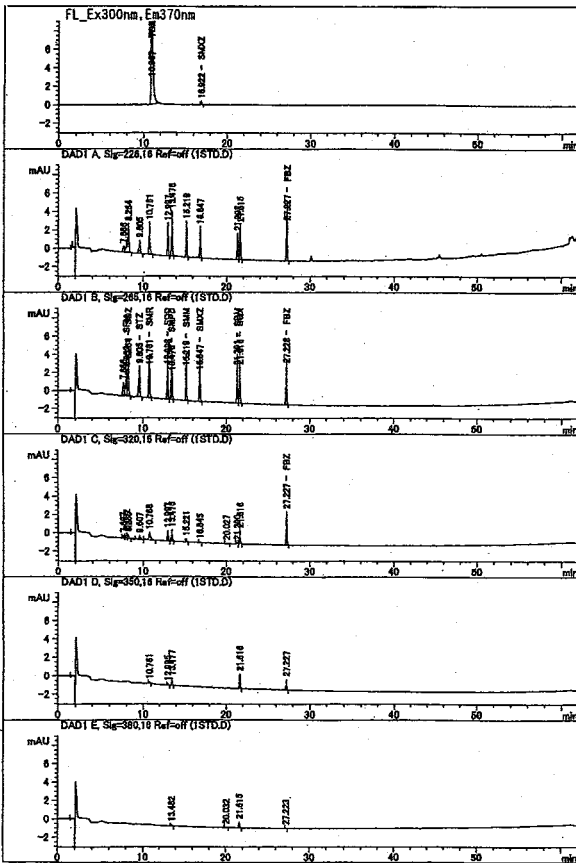


図2 混合標準溶液のHPLCクロマトグラム(各1mg/l, TBZは0.1mg/l)

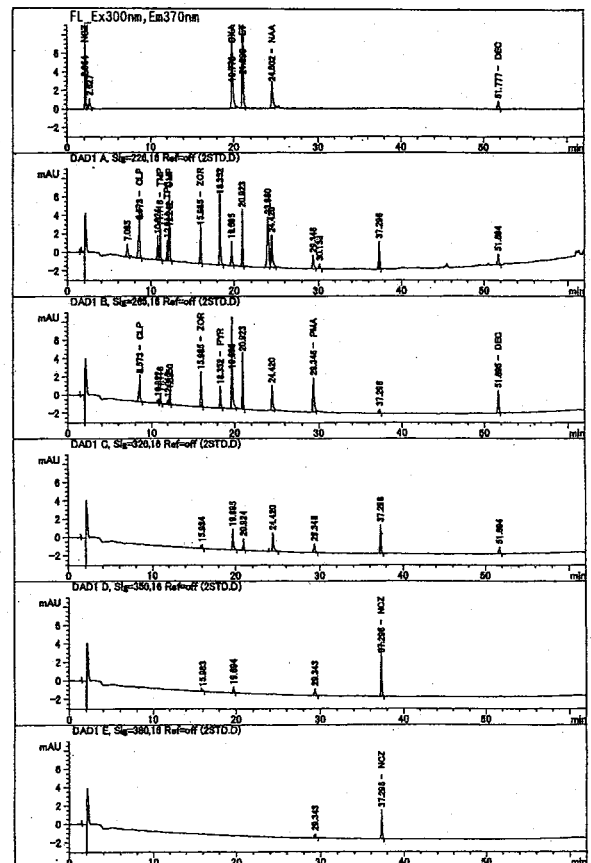


図4 混合標準溶液のHPLCクロマトグラム(各1mg/l)

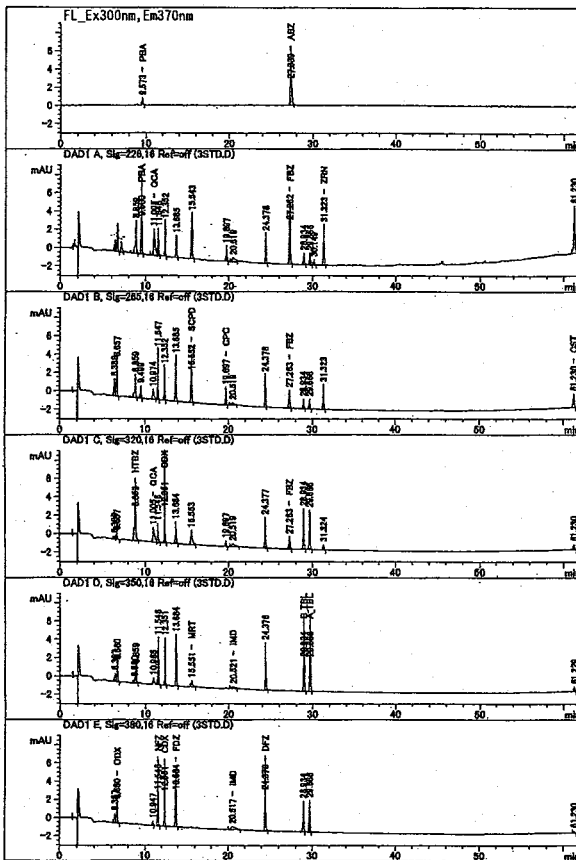


図3 混合標準溶液のHPLCクロマトグラム(各1mg/l)

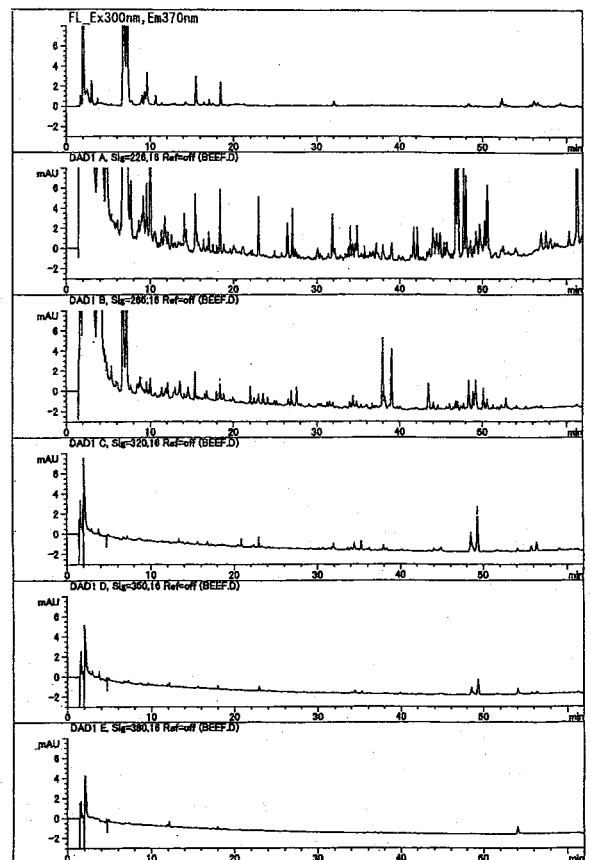


図5 牛肉試料のHPLCクロマトグラム

表3 標準物質の試料への添加回収率及び変動係数(n=5)

(単位: %)

名 称	略号	牛 肉	豚 肉	鶏 肉	鶏 卵	牛 乳
キノキサリン-2-カルボン酸	QCA	—	×	—	—	—
カルバドックス	CDX	—	51.4 (12)	—	—	—
スルファジミジン	SDD	81.2 (6.0)	83.3 (8.3)	91.7 (9.1)	118 (13)	88.5 (2.3)
イソメタジウム	IMD	52.3 (15)	—	—	—	50.2 (9.6)
クロサンテル	CST	54.5 (13)	—	—	—	—
チアベンダゾール	TBZ	85.0 (5.2)	70.0 (4.0)	—	—	79.5 (3.8)
5-ヒドロキシチアベンダゾール	HTBZ	71.6 (7.9)	72.3 (10)	—	—	72.0 (11)
5-プロピルスルホニル-1H-ベンズイミダゾール-2-アミン	PBA	90.8 (7.4)	—	109 (13)	85.2 (8.6)	86.3 (15)
アルベンダゾール	ABZ	62.7 (7.4)	73.9 (7.4)	75.1 (11)	68.3 (6.8)	69.4 (8.7)
フルベンダゾール	FBZ	—	72.4 (5.5)	87.4 (6.1)	77.7 (4.1)	—
ゼラノール	ZRN	90.2 (7.4)	—	—	—	—
α-トレンボロン	α-TBL	78.7 (3.5)	—	—	—	—
β-トレンボロン	β-TBL	79.9 (4.0)	—	—	—	—
スルファキノキサリン	SOX	77.5 (10)	77.2 (11)	93.2 (11)	70.2 (15)	70.6 (2.5)
スルファクロロピリタジン	SCPD	81.0 (3.2)	85.9 (7.9)	83.9 (9.6)	72.9 (11)	84.1 (8.5)
スルファジアジン	SDZ	87.2 (4.7)	78.3 (3.4)	88.8 (5.5)	71.2 (11)	76.5 (5.3)
スルファジメトキシシン	SDM	80.7 (14)	82.3 (8.8)	88.8 (9.9)	91.9 (12)	78.9 (5.4)
スルファチアゾール	STZ	91.1 (7.5)	71.9 (6.6)	88.5 (10)	87.4 (10)	78.8 (9.9)
スルファメトキサゾール	SMXZ	85.2 (7.3)	99.2 (7.4)	104 (12)	75.9 (6.1)	114 (3.0)
スルファメトキシピリタジン	SMPD	87.8 (7.0)	85.3 (9.0)	106 (8.8)	74.5 (10)	120 (5.2)
スルファメラジン	SMR	76.8 (9.0)	79.2 (5.5)	90.2 (9.0)	70.1 (9.1)	84.3 (3.5)
スルファモノメトキシシン	SMM	88.6 (6.3)	94.4 (6.3)	97.3 (8.7)	75.1 (10)	80.2 (7.4)
スルフィソミジン	SFM	88.8 (4.5)	91.9 (3.3)	110 (5.0)	70.4 (11)	74.4 (3.5)
エトパベート	ET	90.8 (2.8)	88.8 (6.1)	89.2 (4.8)	88.6 (5.0)	88.2 (5.7)
オキサソリン酸	OXA	90.4 (1.2)	88.4 (2.2)	88.8 (4.6)	70.2 (9.2)	82.1 (3.9)
オラキンドックス	ODX	—	50.7 (16)	—	—	—
オルメトプリム	OMP	93.6 (13)	90.0 (10)	95.0 (8.8)	86.6 (15)	—
クエン酸モランテル	MRT	—	70.9 (5.9)	70.1 (7.0)	—	93.4 (2.8)
クロピドール	CLP	87.5 (3.7)	81.1 (8.6)	79.7 (11)	105 (14)	—
クロラムフェニコール	CPC	83.3 (4.0)	70.1 (9.0)	83.8 (10)	81.7 (16)	72.4 (8.9)
ジフラゾン(パナゾン)	DFZ	55.9 (9.1)	58.6 (8.3)	64.1 (11)	62.1 (17)	59.7 (10)
ゾーリン	ZOR	101 (4.0)	94.5 (3.7)	93.8 (5.8)	79.4 (8.8)	88.1 (3.1)
チアンフェニコール	TPC	117 (6.6)	106 (9.9)	120 (6.6)	74.6 (15)	—
デコキネート	DEC	—	—	61.6 (9.5)	52.6 (11)	—
トリメトプリム	TMP	92.0 (2.4)	77.1 (9.6)	83.3 (14)	102 (8.9)	—
ナイカルバジン	NCZ	—	—	64.2 (9.3)	64.7 (14)	—
ナリジクス酸	NAA	83.1 (1.4)	78.4 (3.9)	83.3 (4.1)	71.1 (12)	83.7 (5.9)
ニトロフラゾン	NFZ	54.2 (7.7)	56.2 (4.4)	73.2 (5.5)	67.7 (14)	63.9 (7.6)
ピリメタミン(ジアミノピリタミン)	PYR	88.9 (13)	71.7 (6.3)	70.1 (5.6)	70.4 (8.9)	96.1 (5.4)
ピロミド酸	PMA	73.3 (10)	70.1 (7.3)	85.6 (6.9)	71.5 (12)	77.2 (4.8)
フラゾリドン	FZD	88.5 (3.9)	76.5 (6.7)	82.3 (9.0)	71.8 (4.8)	77.3 (6.4)

—: 検討せず, ×: 回収せず

これらのHPLC条件での標準物質の測定において、イソメタジウム及びクロサンテルは0.5~1.0ppm、チアベンダゾールは0.02~0.10ppm、5-ヒドロキシチアベンダゾール及び5-プロピルスルホニル-1H-ベンズイミダゾール-2-アミンは0.2~1.0ppm、スルファジミジン、フルベンダゾール、ゼラノール、α-トレンボロン、β-トレンボロンは0.02~1.0ppmの範囲でピーク面積は良好な直線性を示した。

グラジエント溶出分析による保持時間の再現性は試料測定時でも相対標準偏差が1%以内であった。

クロマトグラムはスルフィソミジン、オラキンドックス及びトリメトプリムのピークが複数に分裂し、1本の

ピークが得られなかったが、この原因として、これらが保持時間の短い物質であったことから試料溶液中のアセトニトリルの比がグラジエント溶出初期移動相の比よりも高いことが考えられた。

3. 検査精度

試料に対して0.1ppm(チアベンダゾールは0.01ppm)の濃度になるように混合標準溶液を添加し、回収率及び変動係数(n=5)を求め表3に示した。対象物質は動物用医薬品は基準値が設定されているもの、合成抗菌剤は用途及び使用状況から判断したものとした。結果はスルファジミジン、チアベンダゾール、5-ヒドロキシチアベン

ダゾール, 5-プロピルスルホニル-1H-ベンズイミダゾール-2-アミン, フルベンダゾール, ゼラノール, α -トレンボロン, β -トレンボロンの回収率は70.0~118%, 変動係数15%以内と良好な結果であった。イソメタジウムは牛乳50.2%, 牛肉52.3%, クロサンテルは牛肉54.5%と若干低い結果であり, キノキサリン-2-カルボン酸はほとんど回収されなかった。キノキサリン-2-カルボン酸はカルバドックスと共にタンパク質と結合しやすく抽出しにくいとされており, このことが回収の低い原因と考えられた⁹⁾。

上記以外の物質の回収率は50.7~120%であった。合成抗菌剤の一斉分析法では回収率50%以上の確認が望ましいとされており, 本法も一斉分析法と同等の精度と思われた。

回収率を全体的にみるとナイカルバジン, デコキネート, クロサンテル等の回収が低かったが, これらは保持時間が長かったため脂溶性が高いと推定され, 最終的に溶解させる溶媒への溶解度が低かったと考えられた。

回収できた全ての物質の再現性は相対標準偏差1.2~15%と良好な結果であった。

4. 定量下限

残留動物用医薬品の基準値及び定量下限は表1に示したように従来の残留合成抗菌剤検査での定量下限に比較して一桁以上低いものが多く, また検査の対象によって個別に示してある場合が多い。定量下限を検査対象によって個別に設定することは検査において煩雑となるため, 基準値よりも低く, 且つ検査対象で区別しない一律な値の設定を目標とした。

イソメタジウムはテーリング傾向のあるピークに特徴があり感度が高くなかったが, 妨害が比較的少ない位置にピークが検出されるため0.05ppmとした。

チアベンダゾールは蛍光の感度が高く測定上余裕があったが, 代謝物の5-ヒドロキシチアベンダゾールは感度が低かったため, 一律に0.05ppmとした。5-プロピルスルホニル-1H-ベンズイミダゾール-2-アミンは蛍光あるいは紫外吸収の測定であるが, いずれも感度が高くはなく, 試料によっては妨害物の影響を受けるため0.05ppmとした。フルベンダゾールは0.01ppmとした。ホルモン剤のゼラノール及び β -トレンボロンは基準値及び定量下限が0.002ppmと非常に低いが, HPLC測定で妨害物の影響を受けにくい位置にピークが検出されるため基準値の検査は可能と判断した。これらの定量下限の一覧を表4に, 本所の残留合成抗菌剤の定量下限を表5に示した。合成抗菌剤の定量下限は食品衛生検査指針で示してある定量下限をもとに設定した。

表4 食肉, 鶏卵, 牛乳中の残留動物用医薬品の定量下限

名 称	(単位: ppm)
スルファジミジン	0.02 *
イソメタジウム	0.05
クロサンテル	0.1
チアベンダゾール	0.05 *
5-プロピルスルホニル-1H-ベンズイミダゾール-2-アミン	0.05 *
フルベンダゾール	0.01 *
ゼラノール	0.002
β -トレンボロン	0.002

*印: 告示試験法の定量下限より高いもの

表5 食肉, 鶏卵, 牛乳中の残留合成抗菌剤の定量下限

名 称	(単位: ppm)
スルファキノキサリン	0.05
スルファクロロピリタジン	0.05
スルファジアジン	0.05
スルファジメトキシシ	0.04
スルファチアゾール	0.05
スルファメトキサゾール	0.05
スルファメトキシピリタジン	0.05
スルファメラジン	0.02
スルファモノメトキシシ	0.03
スルフィソミジン	0.05
エトバベート	0.05
オキサリジン	0.05
オラキンドックス	0.05
オルメトプリム	0.05
カルバドックス	0.05
クエン酸モランテル	0.05
クロピドール	0.05
クロラムフェニコール	0.5
ジフラゾン(パナゾン)	0.1
ゾーリン	0.05
チアンフェニコール	0.5
デコキネート	0.1
トリメトプリム	0.05
ナイカルバジン	0.03
ナリジクス酸	0.05
ニトロフラゾン	0.06
ピリメタミン(ジアミノピリタミン)	0.05
ピロミド酸	0.05
フラゾリドン	0.03

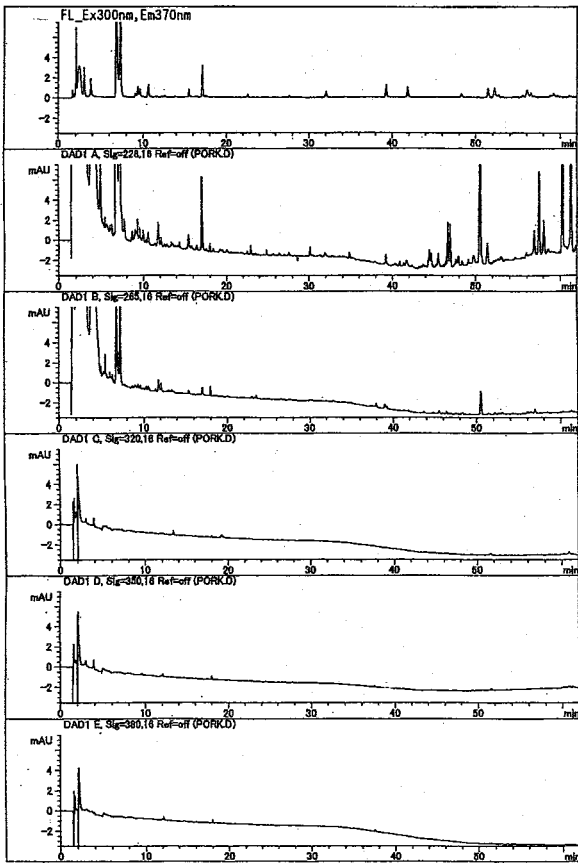


図6 豚肉試料のHPLCクロマトグラム

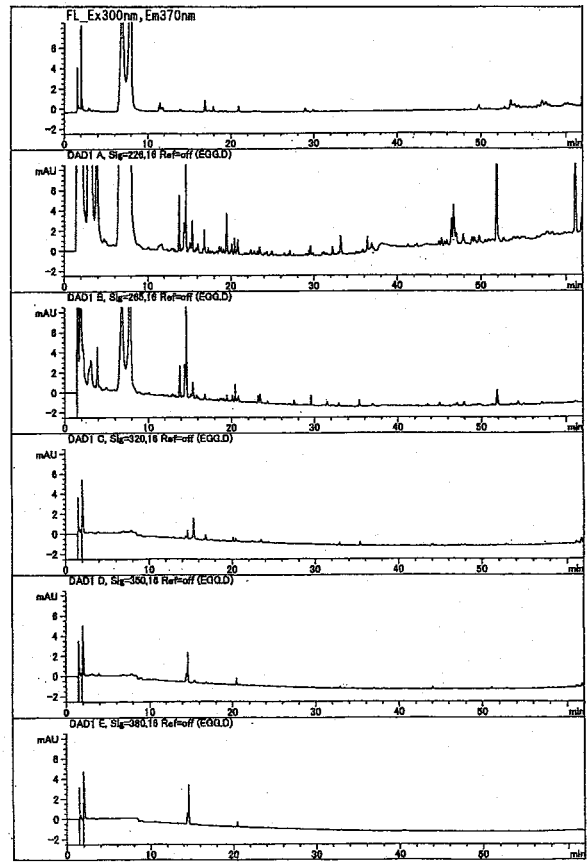


図8 鶏卵試料のHPLCクロマトグラム

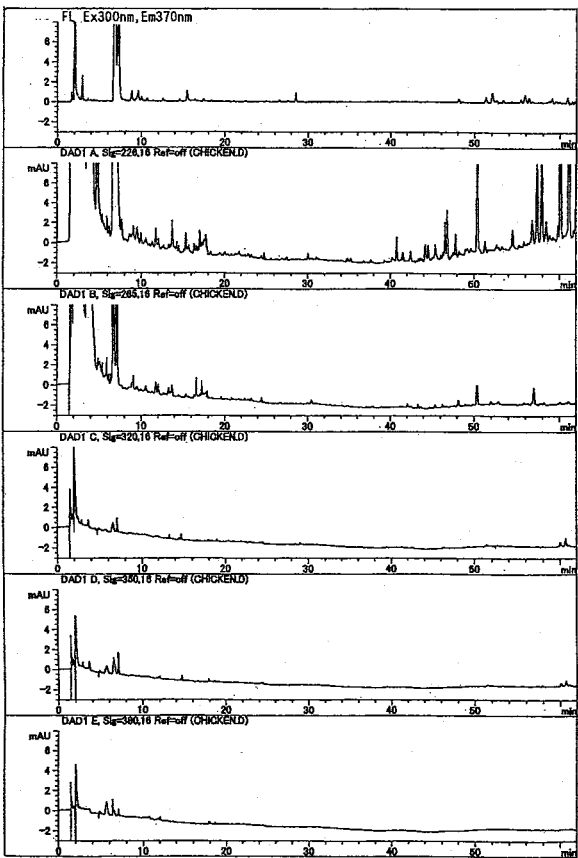


図7 鶏肉試料のHPLCクロマトグラム

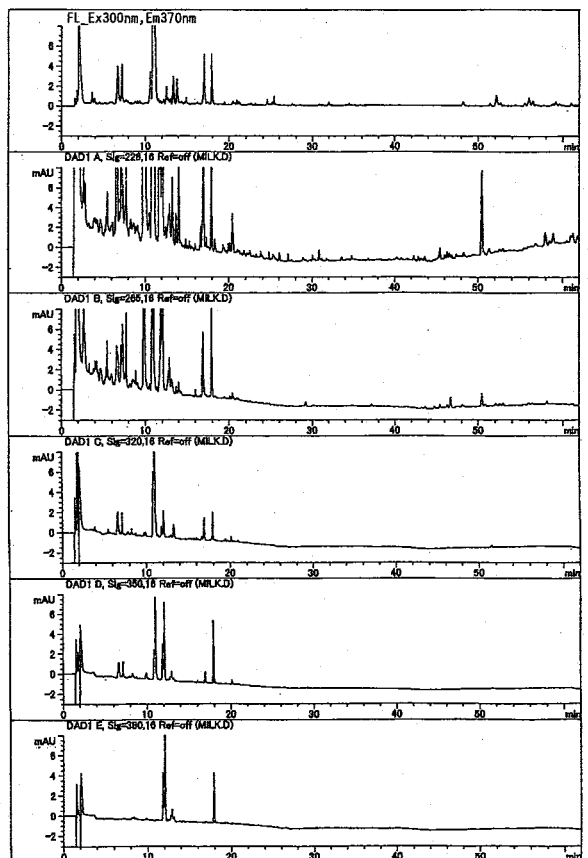


図9 牛乳試料のHPLCクロマトグラム

5. 試料の分析

いずれの検体でもHPLC測定時に溶出時間が短く低波長測定部に妨害ピークが複数みられたため、吸収スペクトル測定及び異なるHPLC条件での再測定等で定性を行った。

試料のクロマトグラム例を牛肉、豚肉、鶏肉の筋肉部分は図5, 6, 7に、鶏卵試料は図8に、牛乳試料は図9に示した。豚肉は比較的妨害ピークが少なかったが、牛乳は妨害ピークが多かったため、確認の作業に多くの時間を要した。

6. 残留実態調査

本試験法が実際の試料へ適用できるかを確認すること及びこれらの残留実態を把握することを目的として牛乳12検体、牛の筋肉15検体、豚の筋肉8検体、鶏の筋肉11検体及び鶏卵40検体の検査を行ったが、すべての試料から検査対象の動物用医薬品及び合成抗菌剤は検出されなかった。

IV まとめ

畜産食品中の残留動物用医薬品の分析を同時に行う迅速分析法について、畜水産食品中の残留合成抗菌剤の一斉分析法を応用し検討を行った結果、一部の操作及びHPLC条件に変更を加えることで合成抗菌剤と共に動物用医薬品8種類の同時分析が可能であることが分かった。検査が可能であった動物用医薬品はスルファジミジン、イソメタジウム、クロサンテル、チアベンダゾール、5-プロピルスルホニル-1H-ベンズイミダゾール-2-アミン、フルベンダゾール、ゼラノール、 β -トレンボロンであった。

本法は前処理操作に要する時間が非常に短かく、検査が迅速で検査時における対象物質の損失も少ない利点がある。

公定法による検査は上記の動物用医薬品のみ検査においても6種類の個別の試験が必要であり、本法でのスクリーニングで検査を大幅に迅速化できると考える。今回のHPLC使用は1台で行ったが、2台以上の同時使用により検査時間の短縮につながると思われた。

今後は低濃度レベルでの精度を確認し、さらに迅速で精度の高い検査が出来るよう本法の改良に努めていく考えである。

文 献

- 1) 厚生省令第62号：乳及び乳製品の成分規格等に関する省令の一部を改正する省令，平成7年12月26日
- 2) 厚生省告示第218号：食品，添加物等の規格基準の一部を改正する件，平成7年12月26日
- 3) 厚生省令第33号：乳及び乳製品の成分規格等に関する省令の一部を改正する省令，平成9年3月28日
- 4) 厚生省告示第72号：食品，添加物等の規格基準の一部を改正する件，平成9年3月28日
- 5) 厚生省生活衛生局乳肉衛生課：平成5年度畜水産食品の残留有害物質モニタリング検査の実施について，衛乳第79号，平成5年4月1日
- 6) 厚生省生活衛生局監修：食品衛生検査指針 追補Ⅰ，313～329，1993. 8. 30
- 7) 日本薬学会編：衛生試験法・注解1990付. 追補，1614～1621，1995
- 8) 残留動物用医薬品試験法検討委員会：畜水産食品中に残留する動物用医薬品の試験法，食品衛生研究，Vol. 46, No. 4～No. 5, 1996, Vol. 47, No. 8, 1997,
- 9) 厚生省生活衛生局乳肉衛生課長：衛乳第276号，畜水産食品の動物用医薬品のモニタリング検査に係る試験法について，平成9年10月1日