

畜水産食品中における残留動物用医薬品 及び抗菌性物質の迅速一斉分析

阿部 圭子¹・廣中 博見²

Rapid Simultaneous Determination of Residual Animal Drug and Synthetic Antibacterials in Livestock Products and Seafoods

Keiko ABE, Hiromi HIRONAKA

Summary

A method for rapid analysis was developed for residual animal drug and synthetic antibacterials in livestock products and seafoods by high performance liquid chromatography with UV (photodiode array) and fluorescence detection. The animal drugs and synthetic antibacterials were extracted with acetonitrile and acetonitrile-0.3% metaphosphoric acid (7:3). High performance liquid chromatography was carried out on a ZORBAX SB-C18 column using gradient elution with acetonitrile-sodium dihydrogenphosphate. The recoveries of animal drug and synthetic antibacterials from fish and meat products, egg and milk spiked at 0.1 ~ 4.0 $\mu\text{g/g}$ were 50 ~ 110%. The detection limits were 0.005 ~ 0.2 $\mu\text{g/g}$.

Key Words : 一斉分析 simultaneous determination, 合成抗菌剤 synthetic antibacterials

動物用医薬品 animal drug, 畜産食品 livestock products, 水産食品 seafoods, 高速液体クロマトグラフィー high performance liquid chromatography (HPLC), フォトダイオードアレイ検出器 photodiode array detector, 蛍光検出器 fluorescence detector, グラジエント溶出 gradient elution

はじめに

家畜や養殖魚介類には、その生産効率を上げるため、伝染病の予防や治療にさまざまな動物用医薬品や飼料添加物が使用されている。従来は、食品衛生法により「食肉、食鳥、卵及び魚介類は抗生物質のほか、化学的合成品たる抗菌性物質を含有してはならない」また「乳等は、抗生物質及びそのほかの化学的合成品たる抗菌性物質を含有してはならない」と厳しく規制がなされてきた。

このように、畜水産食品中に残留する抗菌性物質や寄生虫駆除剤及びホルモン剤等の人体への影響が危惧されているが、近年では、国内外で化学的な評価が確立し、これらが残留する食品を摂取しても影響がないレベルとしての安全基準を設定することが可能となっている。そこで安全性が確立されたものについて、食品衛生法が改正され新たに残留基準が設定されている。平成7年12月26日付、厚生省告示第218号により食品・添加物等の規格基準の一部が、また厚生省令第62号により乳及

び乳製品の成分規格等に関する省令の一部が改正されたのをはじめとして、現在までに18品目22物質について、基準が設定された^{1)~10)}。これらの試験法(表1)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)。その試験方法はかなり煩雑であるため、個別に検査するとなると多大な労力と時間を要する。したがって当所においては、平成9年度から新たに基準が設定された動物用医薬品を含め、厚生省通達の「畜水産食品中の残留合成抗菌剤の一斉分析法」^{11)~13)}(以下、一斉分析法)に改良を加えた検査法¹⁴⁾(以下、従来法)を開発し、検査を実施しているところである。しかし従来法は一検体の分析時間が70分間と長く、また試料の前処理において精製操作を省いたため夾雑成分の影響が多く、クロマトグラムの解析に時間を要した。残留基準が次々に追加指定され、さらに分析の迅速化が必要となっている中、分析及び解析時間を短縮するために、グラジエント条件を変更し、試料の精製操作も行うこととした。また、フォトダイオードアレイ検出器(PDA検出器)及び3D蛍光検出器付高速液体クロマトグラフによる測定は、保持時間

1. 福岡市保健環境研究所 理化学課(現所属 衛生化学部門)

2. 福岡市保健環境研究所 理化学課(現所属 環境科学部門)

表1 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
- ・イベルメクチン及びモキシデクチン試験法
- ・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
- ・クロサンテル試験法
- ・スピラマイシン試験法
- ・スルファジミジン試験法
- ・ゼラノール, α -トレンボロン及び β -トレンボロン試験法
- ・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
- ・トリクラベンダゾール試験法
- ・フルベンダゾール試験法
- ・ベンジルペニシリン試験法

表2 標準物質の濃度及び定量下限

No	混合標準法	種別	名称	略称	混合標準液中の濃度(ppm)	定量下限
1		合成抗菌剤(サルファ剤)	スルファミジン	SID	1	0.05
2		合成抗菌剤(サルファ剤)	スルファジアジン	SDZ	1	0.05
3		合成抗菌剤(サルファ剤)	スルファチアゾール	STZ	1	0.05
4		合成抗菌剤(サルファ剤)	スルファミジン	SMR	1	0.02
5	STD1	合成抗菌剤(サルファ剤)	スルファミジン(スルファミジン)	SDD	1	0.05
6		合成抗菌剤(サルファ剤)	スルファメトキサゾール	SMPD	1	0.05
7		合成抗菌剤(サルファ剤)	スルファモキシチン	SMMX	1	0.03
8		合成抗菌剤(サルファ剤)	スルファクロロピリジン	SCPD	1	0.05
9		合成抗菌剤(サルファ剤)	スルファメキサゾール	SMX	1	0.05
10		合成抗菌剤(サルファ剤)	スルファミチン	SDMX	1	0.04
11		合成抗菌剤(サルファ剤)	スルファキサリジン	SQ	1	0.05
12		合成抗菌剤	オキシテトラ	ODX	1	0.05
13		抗寄生虫剤	クロピドール	CLP	1	0.05
14		合成抗菌剤	トリメプリム	TMP	1	0.05
15		合成抗菌剤	オルメトロピム	OMP	1	0.05
16		合成抗菌剤	ゾール	ZOR	1	0.05
17	STD2	合成抗菌剤	ピリメチン(ジメチルピリメチン)	PYR	1	0.05
18		合成抗菌剤	オキサリジン	OXA	1	0.05
19		合成抗菌剤	ナジクサ酸	NA	1	0.05
20		合成抗菌剤	ピロリジン	PMA	1	0.05
21		抗寄生虫剤	ナイカルバジン	NCZ	1	0.03
22		抗寄生虫剤	ジクラリル	DCZ	4	0.2
23		内寄生虫用剤	5-ヒドロキシチアベンダゾール	5HTBZ	1	0.05
24		内寄生虫用剤	5-プロピルスルホニル-1H-ベンズイミダゾール-2-アミン	ABZ-Met	2	0.1
25		内寄生虫用剤	チアベンダゾール	TBZ	0.1	0.005
26		合成抗菌剤	チアフェニコール	TP	2	0.1
27		合成抗菌剤	フラゾリドン	FZD	1	0.03
28		合成抗菌剤	クエン酸モランテル	MOR	2	0.05
29	STD3	内寄生虫用剤	イソメタジウム	IMD	2	0.1
30		合成抗菌剤	ジフラゾン(ハナゾン)	DFZ	1	0.05
31		内寄生虫用剤	アルベンダゾール	ABZ	1	0.05
32		ホルモン剤	α -トレンボロン	α -TBL	0.5	0.002
33		ホルモン剤	β -トレンボロン	β -TBL	0.5	0.002
34		抗寄生虫剤	デコキネート	DEC	1	0.05
35		内寄生虫用剤	クロサンテル	CST	2	0.1
36		合成抗菌剤	ニトロラゾン	NFZ	1	0.06
37		合成抗菌剤	カルバドックス	CDX	1	0.05
38		合成抗菌剤	キノキサリン-2-カルボン酸	Q2CA	1	0.05
39		抗生物質	ネオスビラマイシン	NSPM	2	0.1
40	STD4	抗生物質	スピラマイシン	SPM	2	0.1
41		抗生物質	クロラムフェニコール	CP	2	0.1
42		抗寄生虫剤	エトハート	ETB	1	0.05
43		内寄生虫用剤	フルベンダゾール	FBZ	1	0.01
44		ホルモン剤	ゼラノール	ZER	1	0.1
45		内寄生虫用剤	トリクラベンダゾール代謝物	TCBZ-M	1	0.1
46		内寄生虫用剤	トリクラベンダゾール	TCBZ	1	0.1

だけでなく、設定した波長域の吸収スペクトルも得られ、検出と同時に確認、同定も同時に行なえるため、夾雑成分の多い畜水産物に含まれる化学構造の異なる多成分を同時に分析するには、非常に有用である。よって水溶性の高いベンジルペニシリン、オキシテトラサイクリン、クロルテトラサイクリン、テトラサイクリン及び脂溶性の高いイベルメクチン、モキシデクチンを除く40物質(表2)について、日常検査のスクリーニング法を検討したので報告する。

II 実験方法

1. 試料

試料は福岡市内で市販されていた牛肉、豚肉、鶏肉、鶏卵、牛乳、タイ、ハマチ、ブリを使用した。

2. 試薬・器具及び標準品

アセトニトリル、ヘキサン、メタノール、蒸留水：和光純薬工業(株)社製、高速液体クロマトグラフ用。

1-プロパノール：関東化学(株)社製、高速液体クロマトグラフ用。メタリン酸、リン酸一ナトリウム：和光純薬工業(株)社製、特級を使用した。

0.3%メタリン酸溶液：メタリン酸3gを量りとり、蒸留水を加えて1000mLとし加熱溶解した。

除タンパク抽出溶媒：アセトニトリル-0.3%メタリン酸(7:3)リン酸緩衝液：10mMリン酸一ナトリウム溶液にリン酸を加えてpHを調整した。

精製カラム：Waters社製 Sep-Pak Alumina N(original)

精製カラム：ジ-エルサイエンス社製 Bond Elut C18(500mg)

標準品及び定量下限は表2のとおり。標準品は標準原液を適宜溶解液に溶解し調整した。

3. 装置

高速液体クロマトグラフ：ヒューレット・パッカード社製、HP-1100シリーズシステム一式(以下)

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

3Dプログラムブル蛍光検出器：G1321A

データ処理装置：HP3DLCケミステーション

4. HPLC測定条件

分析カラム：Agilent社製 ZORBAX SB-C18

(3.5 μ m, 3.0mm i.d. \times 150mm)

カラム温度：40℃

試料注入量：20 μ L

測定波長：フォトダイオードアレイ検出器

UV 波長；235, 254, 270, 320, 360nm

3D 蛍光検出器(マルチ励起波長モード)

励起波長；230, 260, 320, 360nm

蛍光波長；390nm

リン酸緩衝液：10 mM リン酸一カリウム (pH2.5)

移動相 A液：リン酸緩衝液-アセトニトリル (98:2)

B液：リン酸緩衝液-アセトニトリル (2:8)

グラジエント条件を表3に示した。

表3 グラジエント条件

時間 (min)	流速 (mL/min)	移動相組成 (%)	
		A液	B液
0	0.5	90	10
5	0.5	85	15
10	0.5	70	30
15	0.5	40	60
20	0.5	30	70
23	0.7	0	100
30	0.7	0	100
31.10	0.5	90	10

(*ポストタイム 10min)

5. 試験溶液の調製方法

食肉及び魚介類は300gを量りとり、細切した後フードカッターで粉碎混和し試料とした。また鶏卵は300gを量り、割卵した後よく攪拌混和し試料とした。さらに牛乳は300mLを量りよく混和し試料とした。これら試料の抽出には、精製操作でアルミナカラムを用いるものはアセトニトリルで、またODSカラムを用いるものは除タンパク抽出溶媒を用いた。調製試料20gを250mL遠沈管に量りとり、各々の抽出溶媒を加え200mLとし、よく振とうした後一夜放置した。放置後遠心分離(3,000rpm, 5min)し、上澄液ろ過(ろ紙 No5C)した。ろ液100mLを分液漏斗に取り、アセトニトリル飽和ヘキサン50mLを加え3分間振とうする。静置後、アセトニトリル層またアセトニトリル-水層を分取した。さらにヘキサン層にヘキサン飽和アセトニトリル30mLを加え

3分間振とうし、静置後アセトニトリル層を分取し先のものと同量合わせた。これらに1-プロパノール30mLを加え40℃の水浴上でロータリーエバポレーターにより1mLまで減圧濃縮し、さらに窒素通気下で溶媒を留去した。この残渣をそれぞれアルミナカラム、ODSカラムに負荷し精製した後、HPLC試験溶液とした。以上のフローシートを図1～3に示す。

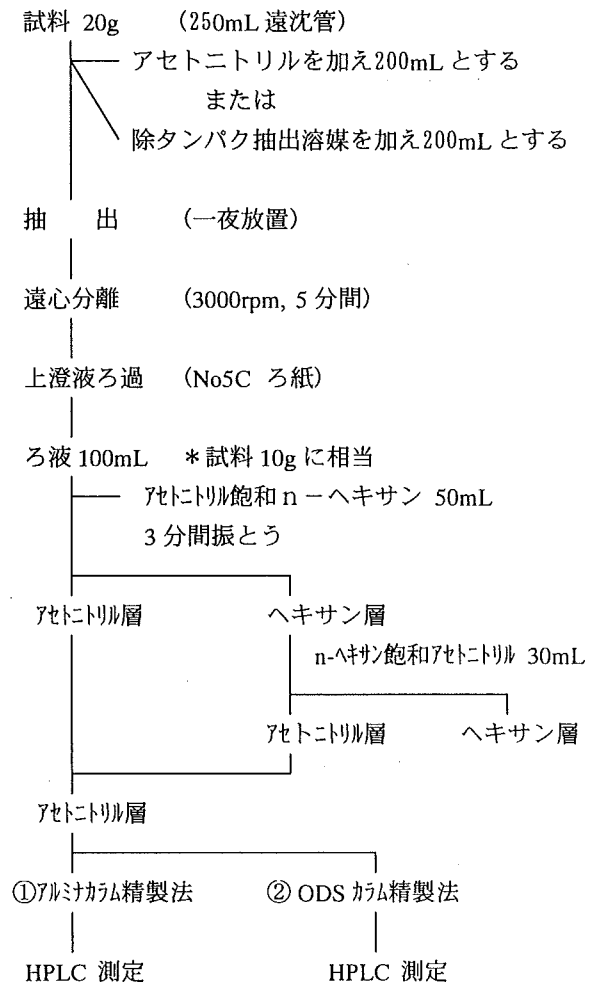


図1 残留動物用医薬品及び抗菌性物質の分析法

III 結果と考察

1. 標準溶液の検討

従来法では、一斉分析法に準じて混合標準溶液を3種類に分けていたが、新たに基準が設定され46物質となり、追加するだけではピークが重なるものが出てきた。したがって、混合標準溶液の分類を見直し4種類に分けた。混合標準溶液のHPLCクロマトグラムを図4~7に示した。

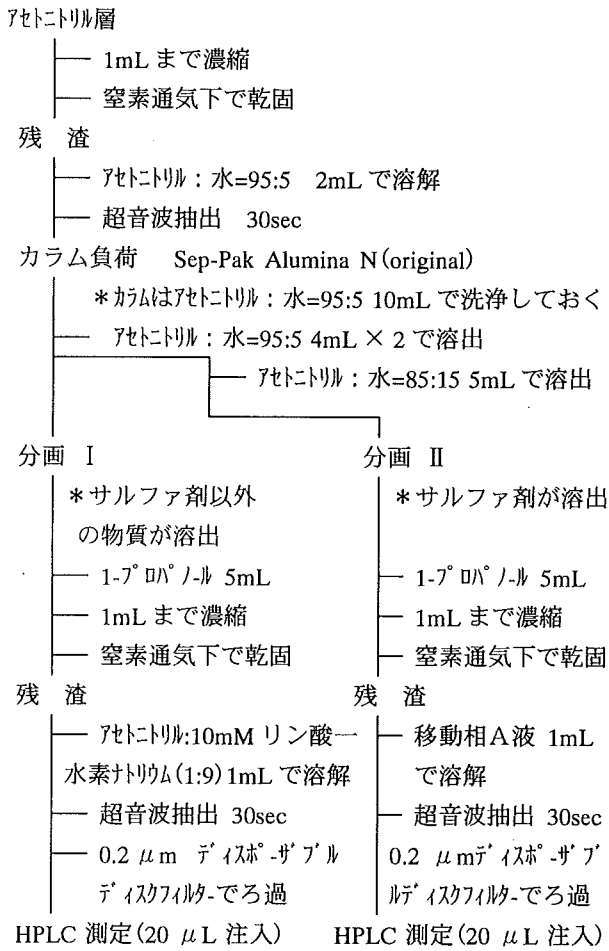


図2 アルミナカラム精製法

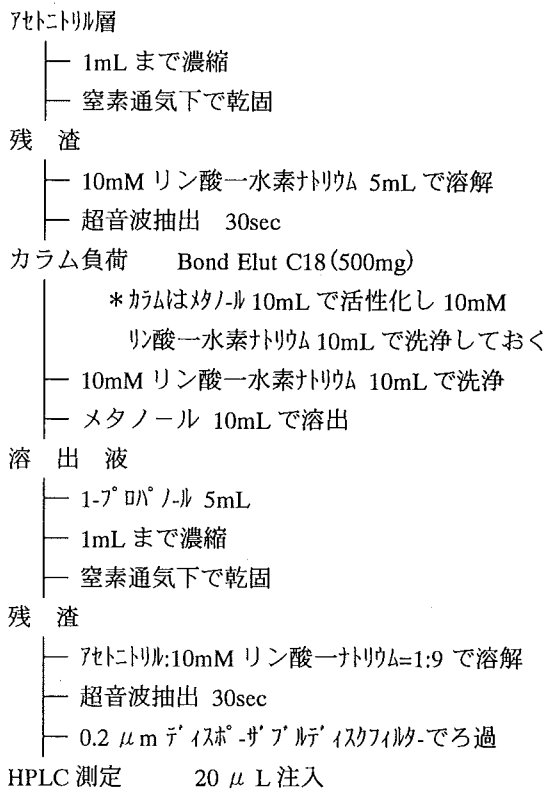


図3 ODSカラム精製法

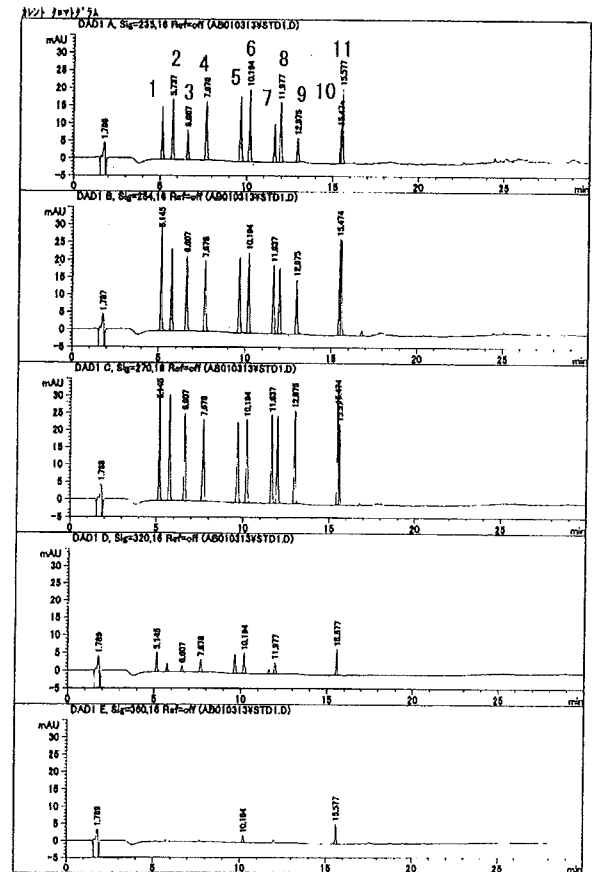


図4 混合標準溶液1のクロマトグラム

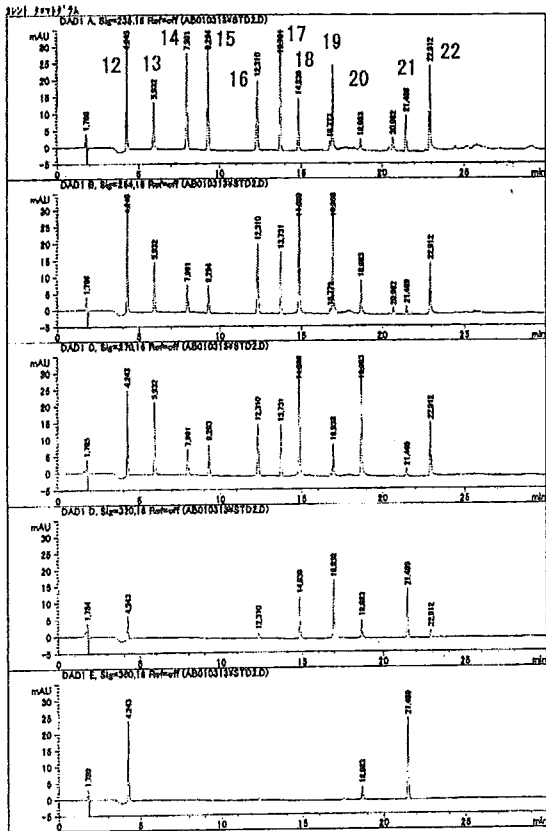


図5 混合標準溶液2のクロマトグラム

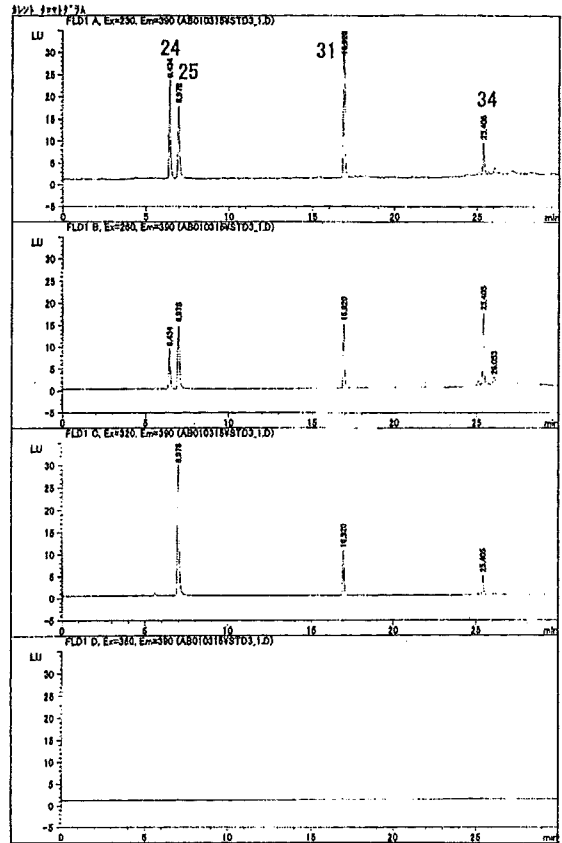


図6-2 混合標準溶液3の蛍光クロマトグラム

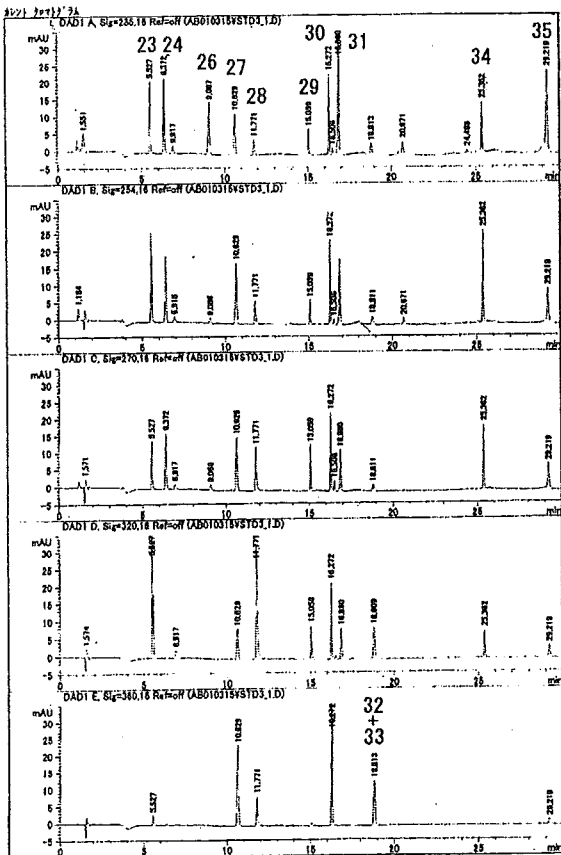


図6-1 混合標準溶液3のクロマトグラム

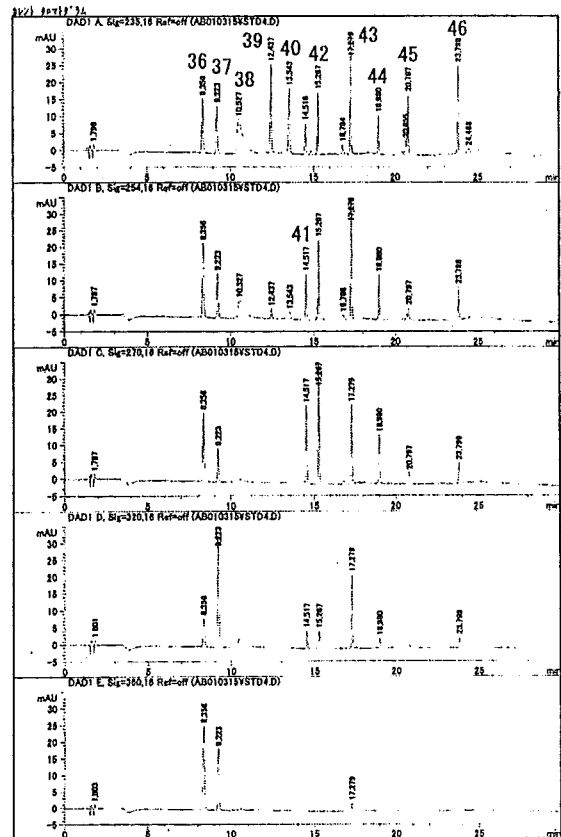


図7 混合標準溶液4のクロマトグラム

2. HPLC条件の検討

1) 分離カラムの検討

従来法の分離カラムは、和光純薬工業(株)社製、Wakosil II 5C18HG(粒子径 5.0 μm , 4.6mmi.d. \times 150mm)を使用していた。この時移動相の流速は 1.0mL/min であり、一検体に要する分析時間がポストタイムも含め 85 分間であったため、20 ~ 30 検体検査するのに約 3L の移動相を消費していた。そこで分離カラムの内径を 3.5 mmi.d.にすることで、理論的には流速を 2分の1にすることが可能であるため、Agilent 社製 ZORBAX SB-C18(粒子径 3.5 μm , 3.0mmi.d. \times 150mm)を使用し、流速を 0.5mL/min とした。その結果、保持時間もほぼ従来法と変わらずピーク形状も良好であったので、以後この分離カラムを使用した。

2) 移動相の溶出条件の検討

従来法では、移動相はA液からB液へ 60 分間でリニアグラジェント溶出し、さらにB液で5分間ホールドし分析していた。この条件では、デコキネートが約 51 分、クロサンテルが約 61 分に溶出する。ほとんどの物質が約 30 分までに溶出するにもかかわらず、検査対象物質の中では比較的極性の低いこれら2物質のみ溶出に時間がかかっていた。したがって段階的にグラジェント溶出し、B液への移行時間を早めるとともに、さらに流速も 0.5mL から 0.7mL に速めることで、2物質の溶出時間を短縮した。これにより分析時間が 30 分間に短縮できたため、使用する溶媒量も 2分の1にすることができた。グラジェント条件を図8に示した。

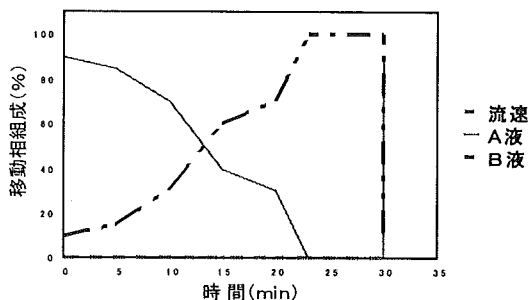


図8 移動相のグラジェント条件

3) 移動相の pH の検討

検査対象物質の中には pH の影響を受けやすいものがある。特に基準の設定された動物用医薬品のうち、個別試験法にリン酸緩衝液の pH が指定してあるものは、2 物質で、キノキサリン-2-カルボン酸が pH2.5 に、クロサンテルが pH3.3 となっている。そこで、移動相のリン酸緩衝液の pH を 2.5, 2.8, 3.3 に調製し、検査対象物質の挙動を確認した。混合標準溶液 1 は pH が高くなるに

つれ各々のピークの分離が悪くなり、pH3.3 では最初に溶出してくるスルフィソミジンとスルファジアジンが重なった(図9)。混合標準溶液 4 のキノキサリン-2-カルボン酸は pH が低いと早く溶出し、高いと遅くなった。また pH が低いほどピーク形状も良好で、pH3.3 ではすぐ後に溶出してくるネオスピラマイシンと重なった(図10)。混合標準溶液 2 及び 3 については各 pH で大きな変化はなかった。したがって移動相の pH は 2.5 とした。

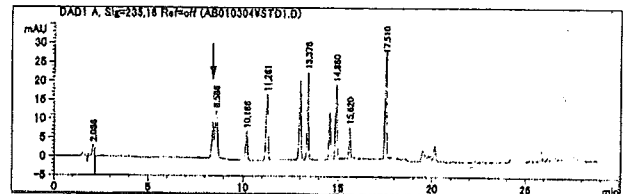


図9 移動相の pH3.3 での混合標準溶液 1 のクロマトグラム

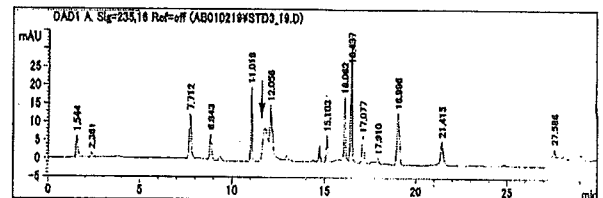


図10 移動相の pH3.3 での混合標準溶液 4 のクロマトグラム

4) 移動時間の再現性の検討

移動相のグラジェント溶出を行うため、移動時間に多少のずれが生じることが考えられる。そこで次の分析に移るまでの移動相が安定する時間について検討した。

ポストタイムを 5, 10, 15 分に設定し、スルフィソミジンを添加した試料を、繰り返し 10 回分析した時の移動時間の再現性を表4に示した。

表4 移動時間の再現性

変動係数 (%)	ポストタイム (min)		
	5	10	15
	0.74	0.14	0.13

分析時間をできるだけ短縮したいが、ポストタイムが 5 分の時は移動相が安定せず、また直前に分析した試料の夾雑物の影響も受けるため、ポストタイムは 10 分とした。

3. 標準物質の試料への添加回収

8 種類の畜水産食品に、試料 10g に対して 1.0 $\mu\text{g/g}$ の混合標準溶液を加えた時の、回収率及び相対標準偏差 (RSD) を表5に示した。なお、5-プロピル-スルホニル-1H-ベンゾイミダゾール-7-イルアミン、クロサンテル、チアンフェニコール、クロラムフェニコールについては、検出感度が良くないため、試料 10g に対して 2.0 $\mu\text{g/g}$ を、また α 、 β -トレネボロンは基準が低いいため 0.5 $\mu\text{g/g}$ を、チアベンダゾー

ルは蛍光があり、検出感度が非常に良いため 0.1 $\mu\text{g/g}$ を添加した。混合標準溶液の ODS カラム精製法用の標準溶液のクロマトグラムを図 11 に、ODS カラム精製法を行った場合の試料のクロマトグラムを図 12 に、ま

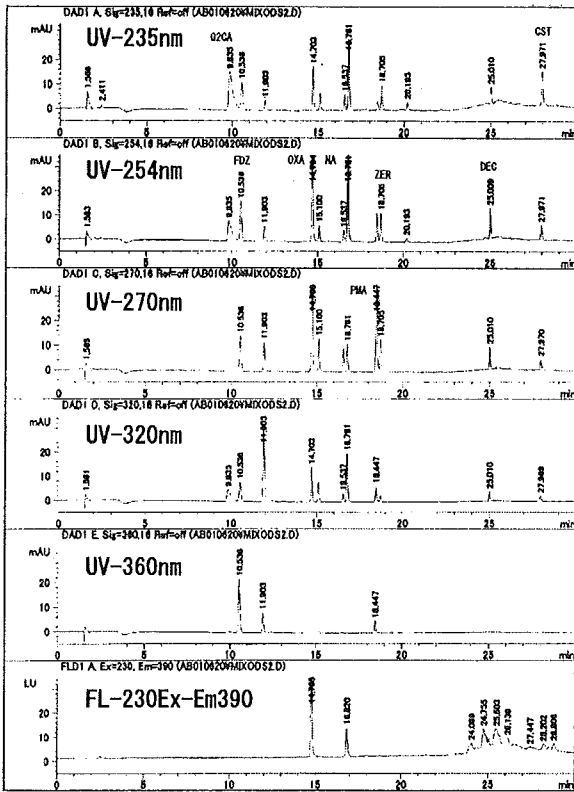


図 11 ODS カラム精製用の混合標準溶液クロマトグラム

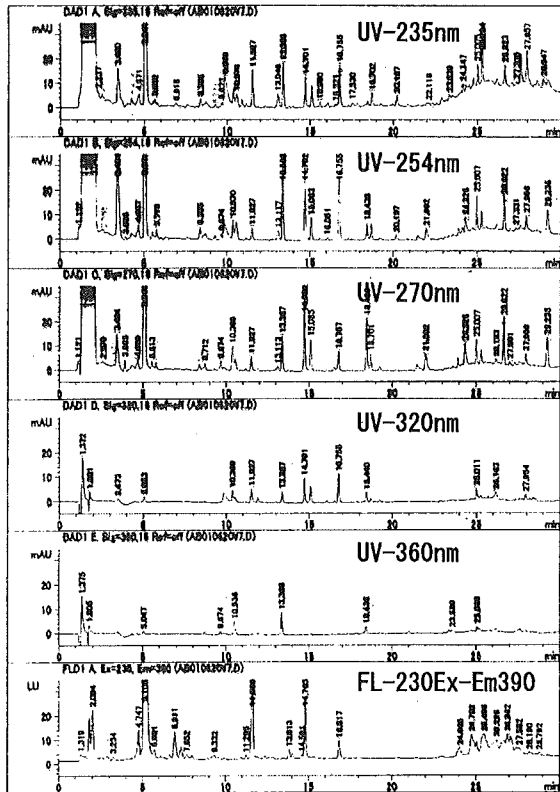


図 12 鶏卵に混合標準溶液を添加した時のクロマトグラム
(ODS カラム精製)

た混合標準溶液を畜水産食品に添加し、アルミナカラム精製法を行った場合の試料のクロマトグラムを図 13 ~ 16 に示した。

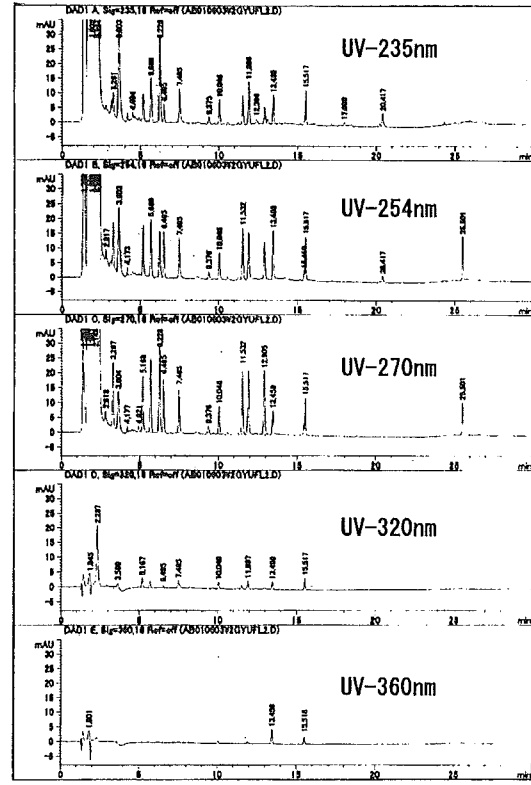


図 13 牛肉に混合標準溶液 1 を添加した時のクロマトグラム

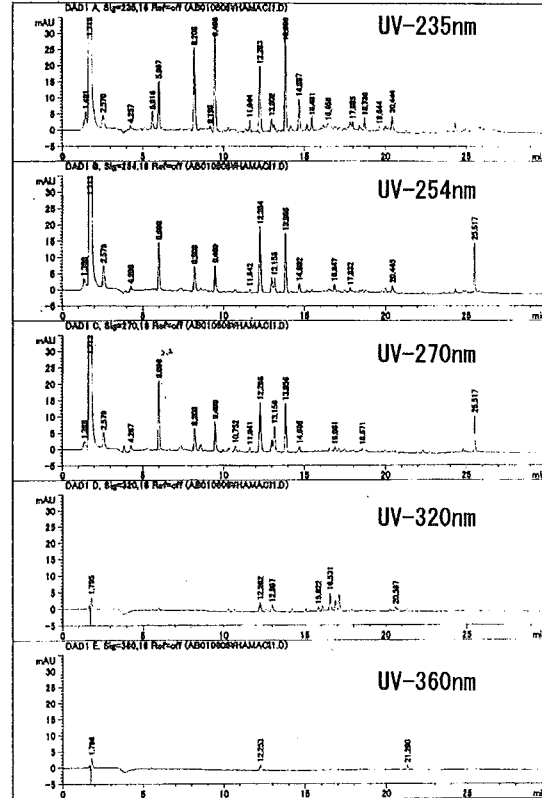


図 14 ハマチに混合標準溶液 2 を添加した時のクロマトグラム

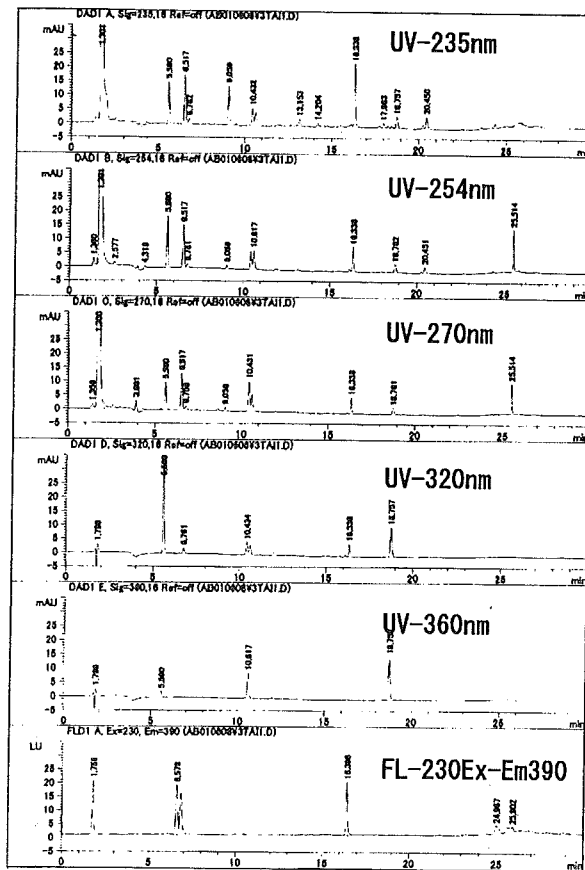


図 15 タイに混合標準溶液 3 を添加した時のクロマトグラム

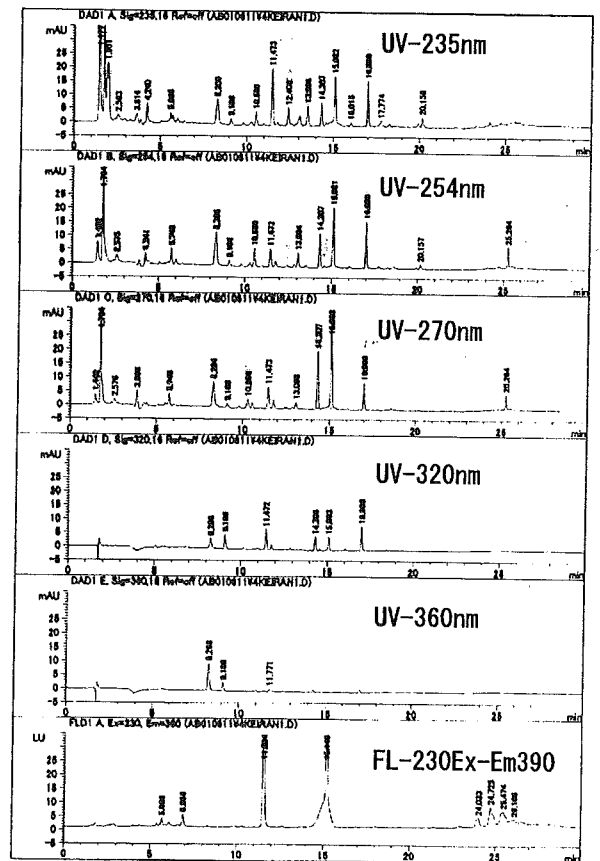


図 16 鶏卵に混合標準溶液 4 を添加した時のクロマトグラム

表 5 8 種類の畜水産食品に 4 種類の混合標準溶液を添加した回収率及び相対標準偏差 (RSD)

物質名	略号	回収率 (%)								RSD (%) (n = 3)							
		牛肉	豚肉	鶏肉	鶏卵	牛乳	タイ	ヒラメ	ハマチ	牛肉	豚肉	鶏肉	鶏卵	牛乳	タイ	ヒラメ	ハマチ
1 スルフィジジン	SID	83	99	90	84	88	-	60	-	4.0	1.9	9.8	4.6	8.8	-	-	-
2 スルファジジン	SDZ	86	89	91	88	84	-	74	-	4.9	4.2	10.2	2.4	11.1	-	-	-
3 スルファチアゾール	STZ	82	85	76	86	86	-	55	-	5.6	6.2	12.5	0.0	5.3	-	-	-
4 スルファミラジン	SMR	81	94	76	94	0	-	81	-	5.9	5.9	16.5	2.9	-	-	-	-
5 スルファミン(スルファミラジン)	SDD	80	97	87	89	70	-	85	-	12.5	3.0	8.8	6.9	12.4	-	-	-
6 スルファミンピリジン	SMPD	68	77	77	75	55	-	74	-	7.4	3.3	3.3	6.7	12.1	-	-	-
7 スルファミンキリン	SMMX	95	88	80	88	77	-	56	-	8.2	15.8	3.3	3.0	11.8	-	-	-
8 スルファミンピリジン	SOPD	87	77	71	78	61	-	49	-	8.7	6.5	9.4	0.0	12.4	-	-	-
9 スルファミンキリン	SMX	86	72	64	78	81	-	48	-	7.8	6.9	19.7	0.0	8.2	-	-	-
10 スルファミンキリン	SDMX	93	78	(25.6)	(33.3)	62	-	(26.9)	-	2.4	15.2	9.8	3.1	12.5	-	-	-
11 スルファミンキリン	SQ	*	*	*	*	*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12 オラキントックス	ODX	-	51	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13 クロドール	CLP	110	100	106	92	102	-	-	-	97	4.3	4.8	5.2	6.0	2.7	-	7.5
14 トリプトリン	TMP	98	88	91	79	91	-	-	-	89	2.2	4.9	2.3	5.4	2.3	-	7.2
15 オルトリン	OMP	99	85	88	77	89	-	-	-	94	1.9	5.8	4.2	4.2	5.5	-	6.0
16 ゴーリン	ZOR	90	84	90	87	89	-	-	-	94	5.3	13.1	5.3	8.3	8.2	-	5.9
17 ビリミジン(ジメチルビリミジン)	PYR	104	85	90	76	86	-	-	-	97	3.0	11.2	4.6	12.9	9.4	-	0.0
18 オキサリジン	OXA	-	-	-	69	89	75	-	-	-	-	-	-	10.5	15.7	-	-
19 ナリジクサ酸	NA	-	-	-	53	45	68	-	-	-	-	-	-	11.7	5.2	-	-
20 ヒロキサン	PMA	-	-	-	58	67	48	-	-	-	-	-	-	10.5	12.4	-	-
23 5-ヒドロキシチアベンダゾール	5HTBZ	72	95	82	79	82	79	-	-	11.6	11.1	3.7	0.0	3.7	0.0	-	-
24 5-フルオロメチル-2-チアベンダゾール	ABZ-Met	80	104	84	65	80	78	-	-	12.5	14.2	4.0	0.0	4.2	4.3	-	-
25 チアベンダゾール	TBZ	90	94	90	67	90	86	-	-	3.6	5.9	3.8	5.1	3.8	3.9	-	-
26 チアフェノール	TP	89	100	94	86	94	92	-	-	10.8	8.3	5.1	5.6	5.1	0.0	-	-
27 フラゾリジン	FZD	71	75	87	75	67	63	-	-	10.2	16.9	10.8	0.0	10.8	0.0	-	-
28 クロモニル	MOR	-	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
29 イミダゾール	IMD	-	-	-	-	63	59	-	-	-	-	-	-	10.2	0.0	-	-
30 シアラジン(チアラジン)	DFZ	56	59	64	62	60	-	-	-	9.1	8.3	11.0	11.0	10.0	-	-	-
31 アルベンダゾール	ABZ	58	59	31	73	38	69	-	-	9.8	6.2	17.1	2.9	13.1	12.4	-	-
32 α-トルンロン	α-TBL	53	64	50	51	46	63	-	-	12.1	3.8	0.0	16.9	16.2	11.5	-	-
33 β-トルンロン	β-TBL	*	*	*	*	*	*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
34 デカネート	DEC	-	-	-	-	66	69	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
35 クロサン	CST	-	-	-	-	81	39	-	-	-	-	-	-	12.9	8.3	-	-
36 コロファン	NFZ	58	83	111	67	86	50	-	-	14.3	0.0	4.3	0.0	5.6	16.7	-	-
37 カルバドックス	CDX	77	83	77	87	80	80	-	-	7.5	6.9	7.5	6.7	0.0	12.5	-	-
38 キネキサリン(2-カルボキシ)	Q2CA	-	-	-	-	77	70	-	-	-	-	-	-	7.5	0.0	-	-
41 クロムフェノール	OP	82	70	91	86	79	89	-	-	9.8	4.3	12.0	7.1	11.5	5.9	-	-
42 エトバート	ETB	93	67	98	99	86	93	-	-	4.0	0.0	4.4	5.7	8.9	6.9	-	-
43 フルベンダゾール	FBZ	49	57	51	57	51	61	-	-	10.3	6.0	11.5	6.0	6.7	8.3	-	-
44 ゼラール	ZER	-	-	-	-	74	52	-	-	-	-	-	-	7.9	9.7	-	-

□: ODSカラム精製 - : 検討なし * : 2物質の和

表5のとおり回収率はおおむね50～110%，RSDは0～18%であった。アルミナカラムは吸着性が高いので夾雑物と同時に検査対象物質も吸着され、溶出液がアセトニトリル：水（95:5）及びアセトニトリル：水（85:15）ではオキソリン酸、ナリジクス酸、ピロミド酸、フラゾリドン、クエン酸モランテル、イソメタミジウム、デコキネート、クロサンテル、ゼラノールの9物質は溶出しなかった。またキノキサリン-2-カルボン酸についてはタンパク質と結合するためアセトニトリルでは抽出されなかった。したがってこれら10物質は、抽出に除タンパク抽出溶媒として、0.3%メタリン酸：アセトニトリル（3:7）を用いた。アルミナカラムで精製する30物質については、抽出溶媒を短時間で濃縮するために、アセトニトリル100%とした。アルミナカラム精製の分画Ⅱに溶出してくるサルファ剤11物質の内、スルファジミジンは約50%が分画Ⅰに溶出し、またスルファジメトキシシンとスルファキノキサリンのピークが一部重なりスルファジミジンと同様に約50%が分画Ⅰに溶出した。サルファ剤の回収率は70～90%と非常に良好であった。混合標準溶液2のオラキンドックスはアルミナ及びODSカラムとも溶出が悪かったため精製は行わなかった。また混合標準溶液3の α 、 β -トレンボロンは異性体でありこの条件では完全に重なった。このグラジェント溶出条件で後半に溶出するものほど、比較的極性が低く、中でもジフラゾン、アルベンダゾール、 α 、 β -トレンボロン、ニトロフラゾン、フルベンダゾールは回収率も低くばらつきも大きかった。これは脱脂操作によるロスやHPLC試験溶液に対する溶解性の問題が考えられる。したがってこれら物質はわずかでもピークが認められた場合、スペクトルを確認したり測定条件を変えることで、検出の確認をする必要がある。またHPLC試験溶液の組成についてであるが、化学的性質の異なる多成分を同一に測定するため、各々の物質に最適とすることは難しい。したがって標準物質の調製溶媒から判断し、アセトニトリル：10mMリン酸緩衝液（1:9）とした。

IV ま と め

畜水産食品中の残留動物用医薬品及び抗菌性物質、40物質について、PDA検出器付高速液体クロマトグラムによる一斉分析法について検討した。前処理で全く精製を行わなかった従来法では分析開始後約15分間は、270nm以下の低波長側にクロマトグラムを妨害する夾雑物の影響が非常に大きく、解析が困難であった。本法

ではアルミナカラム精製を行うことにより測定波長域では夾雑物の影響をほとんど受けず、非常に良好なクロマトグラムが得られた。またアルミナカラムに吸着され検出が困難な物質については、同時にODSカラム精製を行うことで十分に補うことができた。性質の異なる多成分を同時に分析するので、回収率は50%以上の確認が望ましいとされていることから、本法についても一斉分析法及び従来法と同等の精度であり、日常検査のスクリーニング法としては、非常に有用と考える。今後高速液体クロマトグラフ質量分析計により、試料の濃縮を行わずより精度の高い分析が可能となるよう、検査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) 厚生省令第93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11年11月26日
- 6) 厚生省告示第239号：食品，添加物等の規格基準の一部を改正する件，平成11年11月26日
- 7) 厚生省令第107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12年6月30日
- 8) 厚生省告示第275号：食品，添加物等の規格基準の一部を改正する件，平成12年6月30日
- 9) 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
- 10) 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
- 11) 厚生省生活衛生局監修：食品衛生検査指針 追補1，313～329，1993.8.30
- 12) 日本薬学会編：衛生試験法・注解1990付・追補，1614～1621，1995
- 13) 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，
- 14) 福岡市保健環境研究所報，Vol.23, 111～119, 1998