

寄生虫剤イベルメクチンの HPLC による迅速分析法の検討
及びと畜場搬入獣畜における残留状況

豊橋市食肉衛生検査所 ○三浦義明 山内俊平 内藤 昇
合川敏彦 齋藤富士雄 井野 仁

はじめに

マクロライド系の寄生虫剤であるイベルメクチンは、内部及び外部寄生虫いずれにも駆虫効果を示すため、世界の動物用医薬品の販売高でトップの座を占める〔1〕。我が国においても、注射剤をはじめ飼料添加または外用剤として家畜に汎用されており、食肉への残留が懸念される。

本剤は平成 7 年に食品衛生法による最大残留基準値 (MRL) が設定され、同時にその試験法 (告示法) が示されたが、告示法は煩雑で長時間を要し多検体を検査することが困難であることから、国内の食用家畜における残留事例の報告〔2〕〔3〕は限られる。

そこで今回、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を用いたイベルメクチンの迅速分析法を検討したところ良好な成績が得られた。本分析法を用いて実施したと畜場搬入獣畜におけるイベルメクチン残留状況と合わせて報告する。

材料及び方法

1 イベルメクチン迅速分析法の検討

(1) 試料及び試薬

試料は豚及び牛の脂肪と豚肝臓を用いた。標準品は林純薬工業(株)製を使用し、厚生省通知 (衛乳 241 号、H11. 12. 22) に従い溶解希釈して標準溶液とした。アセトニトリル、メタノールは HPLC 用を、その他の試薬はすべて特級を使用した。

(2) 方法

① 試料の調製方法

Montigny ら〔4〕及び石井ら〔5〕の方法に準拠した。遠沈管に試料 5g と無水硫酸ナトリウム 15g、アセトニトリル 25ml を加え、2 分間ホモジナイズし、3, 500rpm で 10 分間遠心する。上清をあらかじめアセトニトリル飽和ヘキサン 25ml を入れた分液漏斗に移し 5 分間振とうする。静置後アセトニトリル相を分取し、肝臓を試料とする場合は 1-プロパノール 5ml を加え、40℃の水浴上で減圧乾固する。残留物に 1-メチルイミダゾール 600 μ l、トリフルオロ無水酢酸 400 μ l、ア

セトニトリル 1ml を加え、室温で 10 分間蛍光誘導体化し、その反応液を HPLC の試験溶液とした。なお、蛍光誘導体化の操作は遮光して行った。

② HPLC 装置及び測定条件

高速液体クロマトグラフ：(株)島津製作所製 LC-10A システム、蛍光検出器：(株)島津製作所製 RF10A、分析カラム：Mightysil RP-18 GP 150-4.6 (5 μm) (関東化学(株)製)、移動相：メタノール-水 (97 : 3)、流速：0.5ml/min、カラム温度：40 °C、測定波長：Ex 360nm、Em 460nm、注入量：40 μl

2 と畜場搬入獣畜におけるイベルメクチン残留状況

本分析法を用いて 2000 年 1 月から 11 月にと畜場に搬入された豚 935 頭（繁殖用母豚 732 頭、肉用豚 203 頭）、牛 205 頭（肉用牛 183 頭、乳用牛 22 頭）の脂肪と脂肪に残留を認めた豚 16 頭の肝臓について残留検査を実施した。

成 績

1 イベルメクチンの検量線及び添加回収試験

検量線は 1ng/ml から 100ng/ml の範囲で作成したところ、原点を通る良好な直線性 ($r > 0.999$) を示した。添加回収試験は豚及び牛の脂肪と豚肝臓にそれぞれ 1ng/g 及び 10ng/g になるよう添加して行い、いずれも回収率 75%以上で変動係数 10%未満の良好な成績が得られた (表 1)。なお、イベルメクチンの残留検査においては、定量下限を 1ng/g (0.001ppm) とし、これに満たなかった場合は検出せずとした。

表 1 イベルメクチンの添加回収率及び変動係数 (C.V.) (% ; n = 5)

添加量 (ng/g)	豚脂肪		牛脂肪		豚肝臓	
	回収率	C.V.	回収率	C.V.	回収率	C.V.
1	77.9	4.6	89.3	4.0	78.3	8.1
10	79.1	4.2	86.8	3.4	85.6	1.6

2 と畜場搬入獣畜におけるイベルメクチン残留状況

イベルメクチン (図 1) が豚 935 頭中 73 頭 (7.8%, いずれも繁殖用母豚) の脂肪から 0.001~0.106ppm、牛 205 頭中 6 頭 (2.9%, いずれも肉用牛) の脂肪から 0.001~0.027ppm 検出された (表 2)。また、脂肪での残留豚 16 頭中 10 頭の肝臓から本剤が 0.001~0.022ppm 検出され、いずれの個体でも脂肪の残留値より低値を示した。なお、本剤の残留を認めた 79 頭の脂肪については告示法に基づき再定量 (図 2) したところ、34 頭 (豚

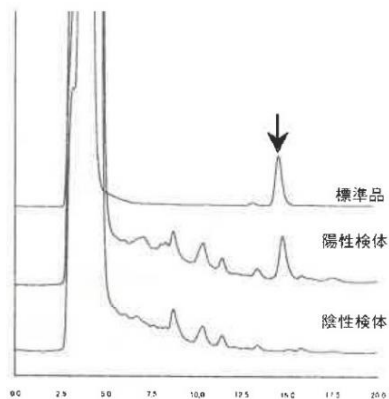


図 1 代表的クロマトグラム (矢印:イベルメクチン)

31 頭、牛 3 頭) で MRL (豚脂肪 0.020ppm、牛脂肪 0.040ppm) を超える残留を認めた。これら 34 頭についてはいずれも搬入前 3～約 60 日の間で本薬剤の使用が確認されたことから改めて、生産者に対して出荷制限期間等の使用基準の遵守を促す一方、法に基づき廃棄等の措置を講じた。

表 2 本分析法による牛及び豚の脂肪におけるイベルメクチン残留状況

	検査頭数	残留頭数
豚	935	73 (7.8%)
繁殖用母豚	732	73 (9.9%)
肉用豚	203	0
牛	205	6 (2.9%)
肉用牛	183	6 (3.2%)
乳用牛	22	0

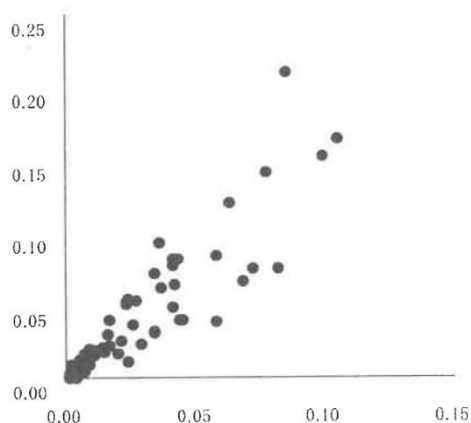


図2 本分析法と告示法における 79 頭の脂肪のイベルメクチン定量値の比較 (ppm;横軸:本分析法、縦軸:告示法)

考 察

イベルメクチンは、低用量で広範囲な駆虫効果を示すため、畜産業において使用頻度の高い薬剤であり、加えて脂肪蓄積性で体内から排泄されにくく、特に注射剤、外用薬を使用した場合 1 ヶ月以上の出荷制限期間が設けられている。また、今回の残留検査において多くの MRL を超える獣畜が摘発されたことから、本剤は食肉の規格検査において特に重要視する動物用医薬品と考えられる。しかし、国内の食用家畜については抗生物質を中心とした検査が主体で、本剤に対する十分な残留検査が行われているとは言い難く、煩雑で長時間を要する告示法では適切な行政対応が困難である。本分析法は前処理が簡易で迅速に多検体処理を行うことができるとともに、蛍光分析器を用いた高感度な方法であり、日常検査に導入したことによって大きな行政効果を得ている。今後も食肉への残留リスクの高い動物用医薬品の迅速分析法を検討し、規格違反食肉の排除に努めていきたい。

- [1] 小野浩臣：畜産の研究 47, 715～718 (1993)
- [2] 小田和則、大島克司、上條光喜、原田芳明、五味純、平山功：神奈川県食肉検査事業概要 (H10)
- [3] 大田充子、山本勝重、相馬要、三浦貞夫：千葉県食肉検査事業概要 (H9)
- [4] De Montigny, p., Shim, J. -S. K., Pivnichny, J. V. : J. Pharm. Biomed. Anal. 8, 507～511 (1990)
- [5] 石井里枝、堀江正一、星野庸二、中澤裕之：食衛誌. 39-1, 42-45 (1998)