

18 畜水産食品に残留する動物用医薬品アセトアミノフェン

の実態調査

○海野 明広、福田 博司、本多 幸康、富田 浩嗣、上野 英二、棚橋 高志

(愛知県衛生研究所)

【研究目的】

本研究では、公定法が確立されていないアセトアミノフェン(以下 AAP とする)について、当研究室で新規に開発した分析法(LC-MS/MS 法)を用いて、畜水産食品中の AAP の残留実態を把握し、食の安全・安心を確保することを目的とする。

【研究の必要性】

動物用医薬品は、畜産や魚の養殖などの現場で疾病の予防や治療等を目的に使用されるほか、栄養補給や成長促進を目的に飼料添加物としても利用され、畜水産動物の生産性の向上に寄与している。一方で、使用された動物用医薬品の畜水産物への残留が食品衛生上懸念されている。そのため、健康被害を未然に防ぐには、畜水産食品に含まれる動物用医薬品のモニタリング検査が重要である。

動物用医薬品のモニタリング検査は、公定法である「HPLC による動物用医薬品の一斉試験法Ⅰ～Ⅲ」と「個別分析法」により実施されている。しかしながら、平成 23 年に豚の経口投与剤として承認された中枢性鎮痛薬である AAP の検査は、「一斉試験法Ⅰ～Ⅲ」による分析に含まれておらず、また「個別分析法」としても示されていない。そのため、畜水産食品中の AAP の残留実態については十分に把握されていない。

申請者が所属する研究室では、これまでに豚肉等試料から抽出、精製、濃縮および測定法を検討することで、0.01 ppm レベルの AAP を検出可能な分析法を開発してきた¹⁾²⁾。本研究では、新規に開発した分析法(LC-MS/MS 法)を利用して、畜水産食品中の AAP の残留実態について把握することを目的とした。

【研究計画】

① 愛知県内に流通する畜産物における AAP 残留実態調査

愛知県内に流通する豚肉等を購入し、残留基準値(豚の筋肉の基準値は 0.6 ppm、脂肪は 0.3 ppm、肝臓・腎臓・その他の食用部位 2 ppm) の AAP が含まれているかどうか LC-MS/MS を用いた新規分析法にて実態を把握する。

② 愛知県内で流通する水産物における AAP 残留実態調査

AAP は極めて安定な化合物であり、環境中に放出されても分解・消失しにくいことから、河川等に残留する医薬品成分として、分析・調査等の対象になっている³⁾。環境水中に残留する AAP が水産物に取り込まれて残留・濃縮する可能性があるか実態を把握する。

【材料と方法】

1. 試料

令和 2 年 9 月から令和 3 年 8 月に愛知県内の小売店で購入した畜水産物 78 検体（畜産物 61 検体、水産物 17 検体、内訳は表 1 のとおり）を用いた。畜産物の筋肉、肝臓及び脂肪は、細切後フードプロセッサーで均一化したものを試料とした。鶏卵はフードプロセッサーで均一化したものを試料とした。あゆ、ます、うなぎ(頭部除く)は、可食部(内臓、骨及び皮も含む)を細切後フードプロセッサーで均一化したものを試料とした。あさり、しじみは、貝殻を除き目の細かい網にのせ 5 分間水切りを行った後、フードプロセッサーで均一化したものを試料とした。

表1 検体の内訳

	食品	部位	国産	外国産
畜産物 (61検体)	豚	筋肉	5	2
		脂肪	3	2
		肝臓	3	0
	牛	筋肉	3	3
		脂肪	2	1
		肝臓	0	1
	鶏	筋肉	5	0
		脂肪	2	0
		肝臓	2	0
牛乳		15	0	
乳製品		6	0	
鶏卵		5	0	
蜂蜜		1	0	
水産物 (17検体)	あゆ		4	0
	ます		2	0
	うなぎ		6	0
	あさり		2	0
	しじみ		3	0

2. 抽出

試料 10.0 g(脂肪、牛乳、乳製品、鶏卵及び蜂蜜は 5.0 g)を 100 mL 容ポリプロピレン製遠心管に採り、*n*-ヘキサン 15 mL を加え 1 分間ホモジナイズした後、アセトニトリル 30 mL と無水硫酸ナトリウム 30 g を加え、さらに 1 分間ホモジナイズ抽出した。シャフトジェネレータを 50 mL 容ポリプロピレン製遠心管に入ったアセトニトリル 15 mL 中で回転させて洗浄し、アセトニトリル洗浄液を得た。先の 100 mL 容ポリプロピレン製遠心管を毎分 3000 回転で 5 分間遠心分離し、有機溶媒層を別の遠心管に分取後、残渣に *n*-ヘキサン 15 mL 及びアセトニトリル洗浄液 15 mL を加えて 1 分間ホモジナイズ抽出し、毎分 3000 回転で 5 分

間遠心分離した。得られた有機溶媒層と前操作で分取した有機溶媒層を合わせ 1 分間振とうし、毎分 3000 回転で 5 分間遠心分離後、*n*-ヘキサン層を除去した。残ったアセトニトリル層に *n*-ヘキサン 30 mL を加えて 1 分間振とう後、毎分 3000 回転で 5 分間遠心分離し *n*-ヘキサン層を除去した。この操作を 3 回繰り返す、最後は下層のアセトニトリル層を分取した。分取液にアセトニトリルを追加し正確に 50 mL に合わせ抽出溶液とした。

3. 精製

抽出溶液 5 mL (脂肪、牛乳、乳製品、鶏卵及び蜂蜜は 10 mL) をナスフラスコに移し、40°C 以下で減圧濃縮し、窒素気流下で溶媒を除去した。上記濃縮残渣に 5% メタノール 5 mL を加えて超音波槽内で溶解し、15 mL 容ポリプロピレン製遠心管に移した。ナスフラスコを水 5 mL で洗浄後、洗浄液も同じ遠心管に移した。その溶液をあらかじめメタノール及び水各 10 mL でコンディショニングした OASIS HLB (150 mg/6 mL, Waters, USA) 固相カラムに負荷した。10% メタノール 5 mL でカラムを洗浄し、さらに毎分 3000 回転で 5 分間遠心分離してカラム内の水分を除去した。カラムに窒素を 10 分間通気して乾燥させた後、保持された AAP を酢酸エチル 10 mL で溶出した。溶出液を 40°C 以下で減圧濃縮し、窒素気流下で溶媒を除去した。得られた残渣に 0.05 vol% ギ酸含有アセトニトリル及び 0.05 vol% ギ酸 (1:9) 混液 1 mL を加え、超音波槽内で溶解し試験溶液とした。

4. 装置及び測定条件

装置及び測定条件は表 2 の通り行った。詳細は愛知県衛生研究所報²⁾に記載した。

表2 LC-MS/MS条件

MS条件			
測定モード	MS/MS		
イオン化モード	ESI(+)		
キャピラリ電圧	2 kV		
イオン源温度	150 °C		
デソルベーション温度	400 °C		
コーンガス	窒素、150 L/hr		
デソルベーションガス	窒素、800 L/hr		
コリジョンガス	アルゴン		
プレカーサーイオン	<i>m/z</i> 151.9 (アセトアミノフェン)		
プロダクトイオン	<i>m/z</i> 109.9 (コーン電圧：28V、コリジョンエネルギー：16eV)		
	<i>m/z</i> 92.8 (コーン電圧：28V、コリジョンエネルギー：22eV)		
	<i>m/z</i> 64.9 (コーン電圧：28V、コリジョンエネルギー：28eV)		
LC条件			
カラム	Inertsil ODS-3 (内径2.1 mm、長さ100 mm、粒子径3 μm)		
移動相流速	0.2 mL/min		
注入量	10 μL		
カラム温度	40 °C		
移動相	A液：0.05 vol% ギ酸含有アセトニトリル B液：0.05 vol% ギ酸		
グラジエント条件	時間 (min)	A液 (%)	B液 (%)
	0	10	90
	4	10	90
	6	90	10
	10	90	10
	10.01	10	90
	20	10	90

【結果及び考察】

1. 畜産物における AAP 残留実態調査

新規に開発した分析法(LC-MS/MS法)を適用して、畜産物 61 検体(表 2)中の AAP の残留実態調査を行ったところ、国産・外国産の別なく、すべて定量下限値 0.01 ppm 未満であった。

一部の食品(豚の肝臓及び牛乳)から、標準溶液(0.01 ppm)のピークよりも極めて小さなピークが観察された(図 1 に牛乳の 1 例を示す)。これらピークの保持時間やプロダクトイオンスペクトルが、AAP 標準品のそれと特徴が一致したことから、豚の肝臓及び牛乳中に定量下限値(0.01 ppm)未満のごく微量な AAP が残留していることが分かった。残留量が 0.01 ppm 未満と微量であり、かつ豚の肝臓や牛乳の一日平均摂取量が数十グラムから数百グラムであることを考慮すると⁴⁾、摂取される AAP 量は食品安全委員会が定める一日摂取許容量(ADI:0.03 mg/kg 体重/日)を大きく下回っていた⁵⁾。これらの結果から、上記食品の摂取による健康への影響は極めて低いと推定された。

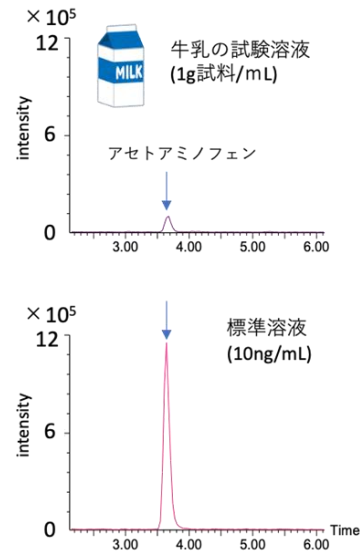


図 1 牛乳の試験溶液のクロマトグラム

2. 水産物における AAP 残留実態調査

水産物 17 検体(表 2)中の AAP の残留実態調査を行ったところ、すべて定量下限値 0.01 ppm 未満であった。

3. 食品中に観察された AAP 由来について

動物用医薬品である AAP は豚の経口投与剤として承認されている⁶⁾。豚の肝臓は筋肉や脂肪に比べ投与された AAP が残留しやすい傾向があるため⁵⁾、微量な AAP が肝臓から観察されたと考えられた。

一方、AAP の牛への使用は承認されていないが、牛乳から微量検出されたことから、牛への AAP の使用が疑われた。牛乳から検出される微量 AAP の由来を確認するため、AAP の投薬実績のない牛の原乳を調査したところ(牛 6 頭、異なる時期に各 2 回、n=12)、全ての原乳サンプルから微量の AAP を検出した(推定濃度 1.49-3.21 ppb)。投薬実績のない牛の原乳から AAP が検出されたことから、牛が摂取する飼料や飲料水等に AAP が含まれている可能性が考えられた。現在、飼料及び飲料水の調査を行っており、一部の牧草に AAP が含まれることを確認している。今後も引き続き調査を行い、牛乳中に検出された AAP 由来を解明していく予定である。

【まとめ】

新規に開発した分析法(LC-MS/MS 法)を用いて、畜水産食品中の AAP の残留実態を調査したところ、全ての検体において基準値を超過する検体はなかった。一部の食品から定量下限値未満の微量の AAP を検出したが、AAP の許容一日摂取量(ADI : 0.03mg/kg 体重/日)を考慮すると、ヒトの健康に影響を与えるものとは考えられなかった。

【謝辞】

本研究を進めるにあたり研究助成をいただきました公益財団法人大同生命厚生事業団に深く感謝いたします。また、本研究にあたり、牛乳及び飼料等を提供下さった岐阜大学農場の関係職員の皆様に感謝いたします。

【参考文献】

- 1)堀田沙希他:愛知衛所報, 68, 33-40 (2018)
- 2)海野明広他:愛知衛所報, 71, 29-40 (2021)
- 3)東京都安全研究センター研究年報 63:69-81
- 4)平成 22 年度 厚生労働省 食品等試験検査費事業
食品摂取頻度・摂取量調査の特別集計業務報告書
- 5)食品安全委員会:動物用医薬品評価書 アセトアミノフェン 第 2 版 2011
- 6)農林水産省令 “ 動物用医薬品の使用の規制に関する省令の一部を改正する省令”
平成 23 年 3 月 11 日付け農林水産省令第九号

【経費使途明細】

使 途	金 額
検体購入費(牛乳他)	18,146 円
試薬購入費(標準品、アセトニトリル、硫酸ナトリウム)	41,918 円
実験器具購入費(デジタルシリンジ)	108,284 円
ガラス製品購入費(メスシリンダー、メスフラスコ)	54,395 円
プラスチック製品購入費(固相カラム)	50,578 円
検体データ編集用ソフト(Adobe Photoshop Elements)	19,450 円
検体輸送費(宅配便)	6,680 円
振込手数料(5 件分)	550 円
合 計	300,001 円
大同生命厚生事業団助成金	*300,000 円
預金利息	1 円