

鶏糞肥料中のクロピドール残留について

Clopidol Residues in Chicken Fertilizers

新山 和人 岡田 迪徳 平間 祐志

Kazuhito Niiyama, Michinori Okada, Yuji Hirama

近年、畜産動物の飼養形態が大規模化し、それに伴って、伝染病の防止あるいは飼料効率を高める等のため、動物用医薬品が多く用される傾向にあり、養鶏においても飼料添加物として多くの抗菌性物質が使用されている。

クロピドール（3, 5-ジクロロ-2, 6-ジメチル-4-ビリジノール）は、飼料添加物として認められた合成抗菌剤で、鶏のコクシジウム予防薬として広く使用されており、市販の鶏肉および鶏卵に残留が認められる等、食品衛生上注目された^{1,2)}。しかしながら、鶏に摂取されたクロピドールは速かに排泄され^{3,4)}法律に定められるとおり⁵⁾屠殺する7日前にその投与を中止すれば、鶏肉に残留することはないとされている。著者らは、1980年度より8年間にわたり、鶏肉中のクロピドールの残留調査を行っているが、1982年度以降の約120件の鶏肉中には、クロピドールの残留はまったく認められなかった。今後もこのような監視体制を続けていく必要はあるが、現在鶏肉に関しては、投与休止期間が守られておりクロピドールによる食品衛生上の問題は起り難い状況にあると思われる。

一方、成育期間中に飼料とともに摂取されたクロピドールは、約50%が代謝を受けずに糞中に排泄されると考えられるが⁴⁾、鶏糞は肥料として再利用されることが多く、新たな問題が提起された。すなわち、クロピドールを含む飼料を摂取した鶏の鶏糞を原料とした場合、鶏糞肥料にクロピドールが残留している可能性があり、土壤中の微生物への影響あるいは農作物への移行残留等が考えられる。そこで著者らは、市販の鶏糞肥料についてクロピドールの残留を調べ、若干の知見を得たので報告する。

最初に、分析法について検討した結果を述べる。鶏肉中のクロピドールに関しては、ガスクロマトグラフィー（GC）法あるいは高速液体クロマトグラフィー（HPLC）法等確立された分析法が報告されている^{5,6)}。鶏糞についても、これらの分析法によってクロピドールの定量が可能であるか検討した。

まず、操作の簡便な堀の報告によるHPLC法⁶⁾について検討した。試料からアセトニトリルでクロピドールを抽出し、アルミナカラム及びSep-pak C18カートリッジでクリーンアップした後、逆相系カラム（Nucleosil 5 C18）によるHPLC分析を行った。その結果、最終溶液中にかなりの共存物質が残りUV検出によるクロマトグラム上に多くのきょう雜ピークが存在して、クロピドールの定量が困難であった。そこで、さらに陰イオン交換樹脂（Dowex 1 X 8）カラムによるクリーンアップ⁵⁾を試みた。しかしながら、鶏糞からの抽出液をカラムに負荷する際、おそらく共存物質の影響と考えられるが、クロピドールがカラムに完全に保持されず、一部流出してしまうことが分かった。以上の検討の結果、鶏糞中の共存物質を効率良く除く手段がなく、UV検出器を使用するHPLCによるクロピドールの分析は困難と考えられた。

次に、厚生省環境衛生局編畜産物中の残留物質検査法によるGC法⁶⁾を検討した。これは、クロピドールをジアゾメタンによりメチル化した後、ECD検出器を使用してGC分析を行うものである。鶏肉試料では妨害物質が存在する場合があるのでGC注入に先立って陰イオン交換樹脂（Dowex 1 X 8）カラムによるクリーンアップを行う必要があるが^{5,10)}先に述べたとおり鶏糞試料ではこれを用いてはできない。そこで、クリーンアップ操作を省き抽出液について直接メチル化を行ってGCに注入した。その結果、今回の鶏糞試料では、妨害ピークは認められず、クリーンアップ操作を省略しても定量が可能であった。図1にクロマトグラムの1例を示す。

最終的に定めた分析操作は次のとおりである。試料10gを100mlブレンダーカップに採取し、メタノール50mlを加えてホモジナイズする。次いで3000rpmで5分間遠心分離を行い、上清2mlを10mlネジ蓋付き試験管にとり窒素ガスを吹き付けて溶媒を除く。80%メタノール0.2mlを加えて残留物を溶解し、さらにジアゾメタンのエーテル溶液

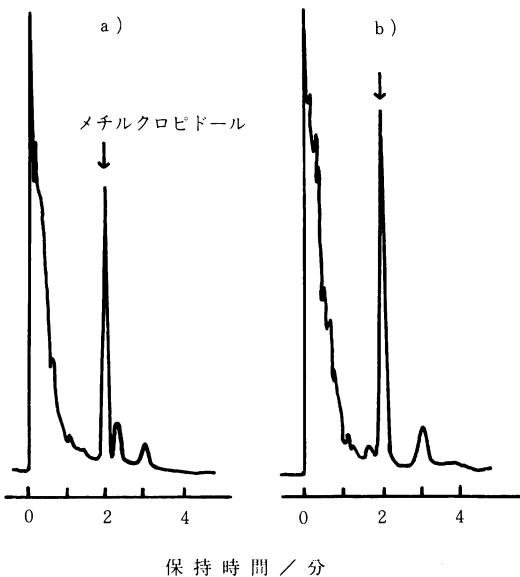


図1 メチルクロピドールのガスクロマトグラム

a) 標準溶液 0.03ppm

b) 鶏糞肥料 No. 9

カラム: 10% DC-200

1 ml を加えて密栓し, 70°C の水浴上で 5 分間加温する。冷後, 蒸留水 5 ml 及びベンゼン 1 ml を加えて 1 分間激しく振とうした後, 3000rpm で 5 分間遠心分離し, ベンゼン層を分取する。このベンゼン溶液の 2 μ l を ECD-GC に注入し, クロピドールを定量する。GC の測定条件は次のとおりである。

1) 分析カラム: 10% DC-200, カラム温度: 160°C, 窒素ガス圧: 1.4Kg/cm², 注入口温度: 230°C, 検出器温度: 330°C

2) 分析カラム: 2 % OV-1, カラム温度: 150°C, 窒素ガス圧: 1.2Kg/cm², 注入口及び検出器温度: 330°C

1) および 2) の両条件で, クロピドール標準品によるピークの保持時間と一致したピークをクロピドールとした。なお, クロピドールの検出限界は試料中濃度で 0.01 ppm である。

分析した試料は, 市販の鶏糞肥料 10 件及び 2 カ所の養鶏場から直接採取した鶏糞 4 件である。養鶏場から採取した鶏糞では, いずれもクロピドールが検出されなかったが, 今回採取した養鶏場では, 飼料にクロピドールを添加していないかった。

市販の鶏糞肥料 10 件についての分析結果を表 1 に示す。10 件中 9 件にクロピドールが検出された。残留濃度は, 各試料毎にばらつきがみられる。各肥料の製造方法等は不明であるが, 一般的にはクロピドールの含有量に著しい影響

表1 市販鶏糞肥料中のクロピドール

試料 No.	クロピドール含有量 / ppm
1	8.0
2	0.10
3	0.03
4	0.06
5	N.D.
6	0.05
7	0.07
8	0.01
9	0.50
10	0.03

を与える差はないと考えられ, このばらつきは, 原料となる鶏糞を提供した養鶏場でのクロピドールの使用状況の違いによるものと思われる。クロピドールの使用基準は飼料中濃度で 125—150ppm であり⁵⁾, このうち約 50% が代謝されずに排泄されるとすれば⁴⁾ 鶏糞中にかなり高濃度のクロピドールが残留すると思われ, このような鶏糞が原料に高い割合で含まれていた場合, 製品となる肥料中にも高濃度のクロピドールが存在する可能性がある。今回の調査は限られた件数であるが, 鶏糞肥料にかなり高率にクロピドールが検出されており, さらに残留濃度の範囲等詳細な実態調査を行う必要があると考えられる。また, クロピドールの他にも多数の抗菌剤が使用されており, それらについても同様の観点からの調査が必要と考えられる。

最後に, 有益な御助言を戴いた本間寛疫学部長に深謝致します。

文 献

- 星野庸二他: 衛生化学, 26, 186 (1980)
- 大森 茂他: 食衛誌, 21, 113 (1980)
- Smith, G.N.: Poultry Sci., 48, 420 (1971)
- 吉田耕一郎他: 衛生化学, 27, 237 (1981)
- 農林省令第35号, 昭和51年7月24日
- 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集の4)
- 堀 義宏: 道衛研所報, 33, 45 (1983)