

氏名	宮川 宗記
学位記番号	生博 乙第 24 号
学位記授与の日付け	平成 14 年 3 月 25 日
学位論文題目	養殖ウナギの抗菌性物質簡易残留検査法に関する研究
論文審査委員	主査 教授・上野 隆二 教授・柏木 正章 教授・宮崎 照雄 助教授・青木 恭彦 広島大学 助教授・中井 敏博

要 旨

近年、食品の安全性に関する消費者の関心は高く、養殖魚についても医薬品残留が懸念されている。養殖ウナギの出荷日は、その2週間ほど前に決まることから、出荷予定魚群を出荷前に検査し、安全性を確認した後に出荷する自主残留検査システムの実施が可能である。そのためには、技術的に簡便で、迅速に結果が判定し、維持経費の安い、信頼できる検査法が不可欠となる。本研究は、養鰻業界が行う自主検査システムの構築に必要な医薬品の簡易残留検査法を開発することを目的とし、養殖ウナギの食品としての安全性を確保するとともに、その客観的な安全性評価により付加価値向上をめざすものである。

まず、技術的な簡便さを最優先した直接バイオアッセイ法を開発した。すなわち、供試菌株に、ウナギ用医薬品全般に感受性を有する芽胞性細菌 *Bacillus subtilis* ATCC6633 を選定し、ウナギにおける検査条件の設定を行った結果、肝臓と体側筋の小片を検体として直接培地上に置き、30℃で18時間培養後に、検体周囲に形成される阻止帯の有無により判定できることがわかった。実際の養殖形態において、主要なウナギ用医薬品である塩酸オキシテトラサイクリン（OTC）、オキシリン酸（OA）およびミロキサシン（MLX）を給餌投薬したウナギを経時的に直接バイオアッセイ法に供した。養鰻場においても、同様に OTC と OA を供試して実用性を検討した結果、いずれも作業性、迅速性などに特に問題はなかった。また、厚生労働省の定めた公定法により供試魚の組織内濃度を測定した結果、直接バイオアッセイ法で検体周囲に形成される阻止帯の幅は、ウナギ組織内濃度の指標となり、それら医薬品に対する本法の検出限界値は0.3～0.4 $\mu\text{g/g}$ と推察された。本自主検査では、検査後から出荷日までの期間における組織内濃度の低下も

考慮できることから、OA と MLX では0.2 $\mu\text{g/g}$ を、OTC ではさらに残留基準値（MRL）も考慮して0.3 $\mu\text{g/g}$ をそれぞれ残留検出の目標値として、検出感度を向上させる必要があると考えられた。

次に、直接バイオアッセイ法の検出感度向上を図るため、まず、検査培地に Antibiotic Medium 8 を用いる改良法を開発した。OTC と OA を給餌投薬したウナギを経時的に供試し、公定法による組織内濃度と比較した結果、OTC では0.3 $\mu\text{g/g}$ 、OA では0.2 $\mu\text{g/g}$ までの残留が検出でき、従来の薬剤感受性試験用培地に比べ阻止帯の輪郭が明瞭であった。また、2種類の高感受性菌を用いた改良法を開発した。OTC には *B. cereus* var. *mycoides* ATCC11778 を、OA と MLX には *Escherichia coli* NIHJ を用い、OTC、OA および MLX を給餌投薬したウナギを経時的に検査し、公定法による組織内濃度と比較した結果、OTC では0.3 $\mu\text{g/g}$ まで、OA と MLX では0.2 $\mu\text{g/g}$ まで各々検出できると判断された。これらバイオアッセイ改良法により、目標値とした検出感度はそれぞれ確保された。

上記バイオアッセイ法を技術補完し、公的指導機関が行う高感度で迅速な検査法として高速液体クロマトグラフ（HPLC）簡易法を設定し、その実用性について検討した。抗生物質（OTC）と合成抗菌剤（OA、MLX、スルファモノメトキシシ；SMMX）を2系統で前処理し、単一カラムで2種の移動相を用いて分析することにより、これら4剤を一斉に分離定量でき、また、MLX と SMMX の主要代謝物も同時定量できることが明らかになった。OTC、OA および MLX を給餌投薬したウナギを経時的に HPLC 簡易法で検査した結果、いずれの医薬品も0.05 $\mu\text{g/g}$ まで十分に検出することが可能であった。従って、この HPLC 簡易法は、バイオアッセイ法で判定が不確実な場合や残留濃度の定量が必要な場合な

どに非常に有効な検査法であると判断された。また、将来的には、本自主検査システムにおける主要な検査法として HPLC 簡易法の導入を積極的に検討すべきであると考えられた。

開発した直接バイオアッセイ法を用いて養鰻業界が実施する自主残留検査を指導した。愛知県では、一色うなぎ漁協における試行を経て、1992 年から県下全域の出荷予定魚群を対象に自主検査が実施された。同漁協における検査件数は年間平均約 2,000 件で、うち約 0.4% が陽性と判定され出荷延期となり、公定法も併用した再検

査で安全性を確認した後に出荷された。一方、検査結果が陽性の魚群から残留医薬品を消失させる対処法を検討した結果、池水の大量換水が最も実用的かつ効果的であり、50%換水を3日間隔で2回実施することで0.4~0.5 $\mu\text{g/g}$ の医薬品残留を消失できることが明らかになった。現在、本自主検査の実施は、出荷先である流通業界から高く評価されている。今後、養殖ウナギの安全性は、本研究で開発した高感度な簡易法の導入により一層確保されると共に、安全性評価による付加価値向上が期待され、我が国養鰻業の振興に大きく貢献できると確信される。