

# スッポンにおける塩酸オキシテトラサイクリン及び スルファモノメトキシンの経口投与後の残留期間

景平 真明

## Residual Period Following Oral Administration of Oxytetracycline Hydrochloride and Sulfamonomethoxin in Soft-shelled Turtle *Pelodiscus sinensis*

Masaaki Kagehira

スッポン *Pelodiscus sinensis* 養殖における疾病は他の魚類養殖と比較すると少ないがエロモナス症等の細菌性疾病がしばしばみられる。細菌性の疾病の治療には各種抗菌剤が有効である<sup>1)</sup>が、スッポンは水産用医薬品の使用規制対象魚種に指定されておらず薬剤投与後の残留性に関する知見は乏しい。

そこで、細菌性疾病の発生時に使用頻度が高いと思われるスルファモノメトキシシン（以下SMM）、塩酸オキシテトラサイクリン（以下OTC）について、その投薬後の残留期間を明らかにするため本試験を実施した。また、OTCについては煮沸調理後の残留濃度の変化についても試験を行った。

なお、この試験は水産庁の平成7・8年度魚病対策技術開発研究の委託を受けて実施したものである。

### 材料と方法

#### 1.SMM

##### 供試亀

1994年にふ化し、加温養成した投薬歴のない平均体重622.6gのスッポン100尾を使用した。

##### 試験期間

1997年12月1日から7日までの1週間、練り餌に混入させたSMMを自由摂餌により経口投与し、翌12月8日から翌年の1月17日までの間に6回の分析検体のサンプリングを行った。

##### 飼育条件

飼育池は加温設備を備えた、縦×横×深さがそれぞれ4×5×1.3mの角型コンクリート水槽を用い、底には砂を敷き、水深は1mとした。

飼育水温は自動温度調節機によって常に30℃に保

った。

飼育用水は河川水を使用し、換水は行わず止水飼育とし、注水は蒸発分を補充する程度行った。

給餌方法は、スッポン養成用配合飼料（練り餌）を1日に1回、1kgを16時頃に水面より斜めにせり上がった板（摂餌板）上に置いて給餌した。残餌がある場合は翌朝計量しこれを差し引き、摂餌量とした。

##### 投薬条件

SMMは第一製薬製の水産用ダイメトン散で、ウナギ *Anguilla japonica* に対して示されている単位体重あたりの投薬基準の上限の2倍にあたる、スッポンの体重1kgあたり1日4g（SMMとして400mg）を配合飼料に混合した。

##### 分析検体のサンプリング

投薬最終日の翌朝のサンプリングを0日目とし以下5、10、20、30、40日の計6回サンプリングした。各サンプリングでは無作為に5個体ずつ取り上げ、体重、雌雄の別を記録した後解剖し、肢からは筋肉部分を、内臓からは肝臓を、甲羅からは軟骨組織からなる縁辺部分をそれぞれ摘出して分析用検体とし、-60℃で凍結保存した。

##### 残留SMMの分析

分析は0日目のサンプルから行い、全検体から残留が認められなくなった時点で終了した。

#### 2.OTC

##### 供試亀

1995年に孵化し、加温養成した投薬歴のない平均体重833(±150)gのスッポン111尾を使用した。

試験期間

1996年11月29日から12月5日までの1週間、練り餌に混入させたOTCを自由摂餌により経口投与し、翌12月6日から翌年の1月18日までの間に6回の分析検体のサンプリングを行った。

飼育条件

SMMと同じ。

投薬条件

OTCはファイザー製の水産用テラマイシン散で、ウナギに対して示されている単位体重あたりの投薬基準の上限の2倍にあたる、スポンの体重1kgあたり1日1g (OTCとして100mg)を配合飼料に混合して、自由摂餌により7日間経口投与した。

分析検体のサンプリング

SMMと同じ。

調理後の残留濃度変化

検体サンプルは前記サンプリングで採取した各部位を等分して使用した。煮沸処理は大鍋の中に並べた300mlの三角フラスコを通す間接加熱により行った。三角フラスコには水道水250mlと日本酒50mlを入れ、鍋の水が沸騰した後、それぞれのフラスコにサンプルを入れ、30分加熱後にサンプルを回収し、-60℃で凍結保存した。

残留OTCの分析

分析は0日目のサンプルから行い、OTCの残留濃度が連続して検出限界以下になった時点で終了した。

なお、残留薬剤の分析はSMM、OTCともに(財)日本冷凍食品検査協会に依頼し、高速液体クロマトグラフ(以下HPLC)法で測定した。

結果及び考察

SMM残留試験

投薬期間中残餌はみられずSMMを当初の目標どおり投与することができた。

サンプリングしたスポンの個体測定値とSMMの残留濃度の分析結果を表1に示した。

0日目のSMMの蓄積濃度は極めて高く、最高値を示した体重713gの雄の場合、甲羅縁辺部で113.5ppmに達した。その他の個体も、特に低かった

表1. 採材亀の個体測定及び各部位のSMM残留濃度

休業期間	性	体重(g)	SMM残留濃度(ppm)		
			筋肉	肝臓	甲羅縁辺部
0日	♂	713	101.9	92.92	113.5
	♀	616	2.49	0.92	3.41
	♂	604	46.24	53.88	67.93
	♂	573	22.97	19.82	29.08
	♀	517	58.75	58.97	77.53
	平均		46.47	45.30	58.29
5日	♂	525	7.75	8.39	15.70
	♂	537	1.17	1.66	2.55
	♂	715	0.55	0.68	1.20
	♂	705	0.46	0.40	0.45
	♀	649	0.33	0.30	0.34
	平均		2.05	2.29	4.05
10日	♀	601	0.30	0.25	0.68
	♀	671	0.49	0.58	0.90
	♀	585	0.35	0.45	0.86
	♂	534	1.02	1.76	2.25
	♀	651	0.35	0.32	0.49
	平均		0.50	0.67	1.04
20日	♂	738	0.36	0.68	1.09
	♂	829	0.26	0.62	1.37
	♂	592	0.21	0.37	0.82
	♀	552	0.31	0.28	0.50
	♀	742	0.32	0.33	0.52
	平均		0.29	0.46	0.86
30日	♂	783	<0.03	<0.03	<0.03
	♀	795	<0.03	<0.03	<0.03
	♂	831	<0.03	<0.03	<0.03
	♀	769	<0.03	<0.03	<0.03
	♀	504	<0.03	<0.03	<0.03
	平均		<0.03	<0.03	<0.03

1個体を除き2桁台の濃度を示し、5個体の平均値は筋肉が46.47ppm、肝臓が45.30ppm、甲羅縁辺部が58.29ppmであった。

投薬後5日目には各部位の濃度は急激に低下し、平均値は筋肉が2.05ppm、肝臓が2.29ppm、甲羅縁辺部が4.05ppmになった。

投薬後10日目は1ppmを超える個体は1個体のみで、平均値は筋肉が0.50ppm、肝臓が0.67ppm、甲羅縁辺部が1.04ppmとなった。

20日目には平均値で筋肉が0.29ppm、肝臓が0.46ppm、甲羅縁辺部が0.86ppmとなった。

投薬後30日目になると全ての個体、全ての部位でSMMは検出されなかった。

投薬後40日目のサンプルについては、30日目に検出限界以下になったため分析は行わなかった。

各採取部位間の残留濃度についてみると、筋肉と肝臓間では20個体中12個体で肝臓の値が高かった。なお、0日目の平均値は僅かに筋肉が上回っていたが、時間経過にともない肝臓の残留濃度が筋肉よりも高くなる傾向がみられた。

そこで、各個体ごとの筋肉と肝臓の残留濃度をWilcoxonの符号順位検定法で比較してみたが有意な差(危険率5%)は認められなかった。

一方、甲羅縁辺部の残留濃度はサンプリングした全個体で他の部位よりも高い値を示し、筋肉と甲羅縁辺部、肝臓と甲羅縁辺部の間で、Wilcoxonの符号順位検定法検定を行った結果、有意差(危険率1%)が認められた。

スッポン養殖においてしばしばみられる細菌性の疾病であるエロモナス症には100mg/kgbwのSMMの投薬で治癒効果がみられるとされている<sup>1)</sup>。本試験ではウナギに対する単位体重あたりの投薬基準の上限の2倍にあたる400mg/kgbw/日のSMMを、水温30℃の条件下で7日間投与したところ、投薬終了後30日の検体からは残留がみとめられなかった。よって、通常考えられるSMMの投薬量である100~200mg/kgbw/日を7日間投与した場合、休薬期間を30日以上とれば可食部位に残留する可能性は少ないものと推定される。

また、甲羅縁辺部にはSMMが高濃度に蓄積されるため、SMMの残留濃度を検討する場合には検体の採取部位としては甲羅縁辺部が適当と考える。

#### OTC残留試験

投薬期間中、残餌はみられずOTCを当初の目標どおり投与することができた。

OTC検出の公定法はバイオアッセイ法であるが、HPLC法の方が検出感度が良い<sup>2)</sup>ので、分析は後者の方法でのみ行った。HPLC法の検出限界は0.03ppmで、各部位の3個体平均のOTCの回収率は筋肉が88.5%、肝臓が77.6%、甲羅縁辺部が81.6%であった。(回収率とは各部位に定量浸透させた既知の量のOTCの、HPLC法による抽出率を示す)

サンプリングしたスッポンの個体測定値および生サンプルと煮沸処理サンプルのOTCの残留濃度の分析結果を表2に示した。

投薬終了後0日目のOTCの平均残留濃度値は、筋肉が1.02ppm、肝臓が0.34ppm、甲羅縁辺部が0.38ppmであった。

投薬終了後5日目には各部位の残留濃度は急激に下がり、筋肉、肝臓、甲羅縁辺部でそれぞれ2、2、3個体が検出限界値以下になり、検出された値も限界値に近く、平均検出値は筋肉部、肝臓部、軟骨部でそれぞれ0.05ppm、0.05ppm、0.04ppmであった。

投薬終了後10日目には全ての検体が検出限界値以下になり、20日目も同様であった。

30、40日目のサンプルは、10、20日目と連続して検出限界以下になったため分析を行わなかった。

なお、同一個体において筋肉部の残留濃度が他の部位よりも高い傾向がみられたが、Wilcoxonの符号順位

表2. 採材亀の個体測定値及び各部位の処理前と煮沸処理後のOTC残留濃度

休薬期間	性	体重(g)	OTC残留濃度(ppm)			
			筋肉	肝臓	甲羅縁辺部	
			処理前→処理後	処理前→処理後	処理前→処理後	処理前→処理後
0日	♂	1157	1.76 → 0.18	0.41 → <0.03	0.39 → <0.03	
	♂	708	1.37 → 0.11	0.51 → 0.04	0.38 → 0.17	
	♀	848	1.15 → 0.11	0.48 → 0.03	0.77 → 0.04	
	♂	844	0.55 → 0.05	0.04 → <0.03	0.31 → <0.03	
	♀	748	0.25 → <0.03	0.24 → <0.03	0.03 → <0.03	
	平均		1.02 → 0.18	0.34 → <0.03	0.38 → 0.04	
5日	♂	847	0.06 → <0.03	0.03 → <0.03	<0.03 → <0.03	
	♀	460	0.05 → <0.03	0.07 → <0.03	0.06 → <0.03	
	♀	876	0.04 → <0.03	<0.03 → <0.03	<0.03 → <0.03	
	♀	707	<0.03 → <0.03	0.04 → <0.03	<0.03 → <0.03	
	♂	848	<0.03 → <0.03	<0.03 → <0.03	0.03 → <0.03	
	平均		0.03 → <0.03	<0.03 → <0.03	<0.03 → <0.03	
10日	♀	1116	<0.03	<0.03	<0.03	
	♂	1087	<0.03	<0.03	<0.03	
	♀	942	<0.03	<0.03	<0.03	
	♀	753	<0.03	<0.03	<0.03	
	♂	742	<0.03	<0.03	<0.03	
	平均		<0.03	<0.03	<0.03	
20日	♂	1222	<0.03	<0.03	<0.03	
	♀	965	<0.03	<0.03	<0.03	
	♀	721	<0.03	<0.03	<0.03	
	♂	703	<0.03	<0.03	<0.03	
	♂	689	<0.03	<0.03	<0.03	
	平均		<0.03	<0.03	<0.03	

位検定法で検定してみたところ、有意な差(危険率5%)は認められなかった。

一方、煮沸処理後は各検体内に残留するOTCの濃度が著しく減少し、0日目の処理サンプルでは筋肉の1検体が検出限界以下になり、肝臓と甲羅縁辺部はどちらも3検体が限界値以下になった。

5日目の処理サンプルは全て検出限界値以下になった。

ところで、テトラサイクリンは魚類に対しては副作用や毒性が少なく<sup>3)</sup>細菌の感染症には広くかつ強力な抗菌作用を示す優れた抗菌剤とされる一方、Ca<sup>2+</sup>と強いキレートを作り骨や歯などに沈着し、胎児に対しては催奇形性が確認されている<sup>4)</sup>。

一般にOTC投与後の魚体内分布濃度は肝臓>腎臓>血液>筋肉の順であるとされている<sup>3)</sup>が、本試験では筋肉部の残留濃度が総じて高い値を示した。Wilcoxonの符号順位検定を行った結果はサンプル数不足のためか有意差(危険率5%)は認められなかったが、横松の試験<sup>2)</sup>でも検出されたOTC残留濃度は肝臓より筋肉が高い値を示しており、スッポンにおいては筋肉部に蓄積しやすい性質を持つことが考えられる。

投薬終了後の残留濃度の減少は速やかで、5日目からは一部の検体が、10日目からは全ての検体が検出限界以下になった。

スッポンの鍋料理では日本酒を水の2割程度加え、解体したスッポンを鍋に入れた後、灰汁を取りながら30分ほど煮込む。このように日本酒を添加することにより、スープのみかけの清澄度が増し、旨味も引き

出される<sup>6)</sup>。

魚体に残留している薬剤が加熱調理後、その一部が肉汁やスープへ溶出する事例が知られている<sup>6)</sup>が、本試験で行った煮沸処理では各部位に残留していたOTCは加熱処理後その大部分がスープの中に溶出し、処理前の濃度の1割以下になった検体が多かった。

OTCの抽出溶媒としてHPLC法ではメタノールが用いられる(図1)ことから、前述の結果は日本酒の成分であるエタノールが溶媒として作用した結果と思われる。

本試験により、経口投与したOTCはスッポン料理の主な可食部位である筋肉、肝臓、軟骨に長期間残留しないことがわかったが、不食部位である硬骨については依然未確認である。軟骨と硬骨はどちらも骨として扱われているものの、その組成は著しく異なり、硬骨はリン酸カルシウムや炭酸カルシウムに富んでいるが、軟骨はコラーゲン等の硬蛋白質を構成基盤とし、カルシウムはほとんど含まない<sup>7)</sup>。OTCはCa<sup>2+</sup>と強固なキレートを作るため、硬骨部に長期残留する可能性は高い。一般に硬骨は食材とされないため薬剤の残留が関心を集めることは少ないが、スッポンの場合、日本酒を加えた鍋で甲羅や骨付きの四肢を煮沸調理す

るため、残留OTCが硬骨部からスープ中へ溶出することが考えられる。スッポン料理では鍋を食した後にそのスープを利用して雑炊を作るのが定番となっており、OTCの硬骨部への残留性とスープへの溶出度の解明が今後の課題である。

摘 要

- 1) 飼育水温30℃において、SMMを400mg/kgbw/日以下の量を7日間投与する場合、主な可食部位である筋肉、肝臓、軟骨に残留がみられなくなるためには、30日以上の上休薬期間が必要である。
- 2) 飼育水温30℃において、OTCを100mg/kgbw/日以下の量を7日間投与する場合は主な可食部位である筋肉、肝臓、軟骨に残留がみられなくなるためには、10日以上の上休薬期間が必要である。

文 献

- 1) 昭和49年度指定調査研究総合助成事業病害研究報告書(スッポン),大分県内水面漁業試験場(1975).
- 2) 横松芳治:スッポンにおける薬剤残留について,平成6年度魚病対策技術開発研究成果報告書,82-89(1985).
- 3) 江草周三:魚病学辞典,近代出版,東京,1982,pp.52-53.
- 4) 久保亮五他:理化学辞典,岩波書店,東京,1987,p.834.
- 5) 安部テル子:地域総合研究論文集-宇佐・院内・安心院地域,大分大学教育学部,pp.255-266(1995).
- 6) I. steffanak, V. Hormazabal and M. Yndestad: Effect of Cooking on Residues of the Quinolones Oxolinic Acid and Flumequine in Fish. *Acta vet. scand.*, 35, 299-301(1994).
- 7) 獣医学大辞典編集委員会: 獣医学大辞典,チクサン出版社,東京,1989,p.1119

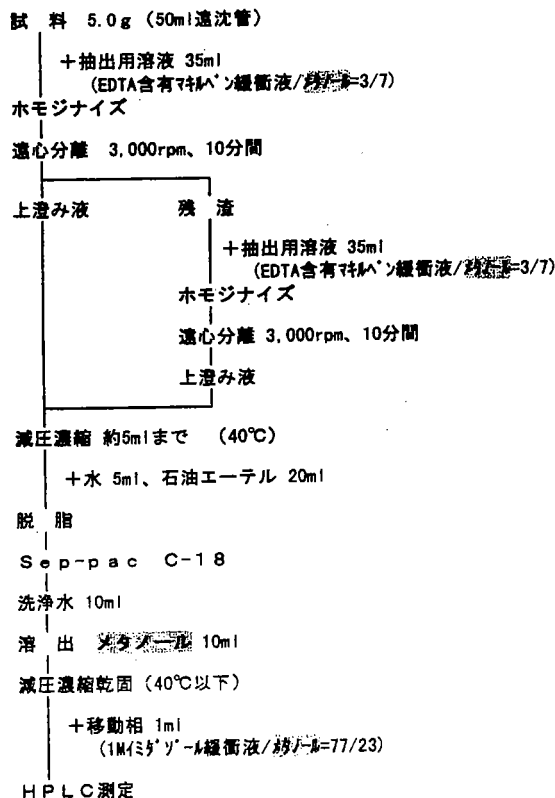


図1. HPLC法分析フローシート