

浦の内湾における水産用抗生物質の分布と残留性に関する研究

宗景志浩*・Kyaw Min Naing**

閉鎖性湾の強い浦の内湾では、40年前から湾中央部を中心に海面養殖が行われており、餌と共に各種の水産用抗生物質が使用されている。アンピシリンおよびオキシテトラサイクリンの分布と残留性、拡散性、蓄積性を明らかにする目的で、湾内全域で海水と底泥を採取し濃度分布を調べた。投与された抗生物質は、海水中に溶出したりプランクトンに吸収されたりしながら海水の輸送に乗って移動し、養殖域外の湾奥や湾外にまで広がっていることが分かった。特に難分解性の AMP は残留性が強く、底泥中にも大量に蓄積されていることから、耐性菌の発生を促進する一方で有用微生物の増殖と環境浄化を抑制することが危惧される。

1. はじめに

浦の内湾では40年ほど前から湾中央部の目の糞を中心に養殖が盛んに行われている。魚に与えられる餌の中には魚病の治療や予防の目的でアンピシリン (AMP) やオキシテトラサイクリン (OTC) をはじめとした各種抗生物質が添加されている。海水中に溶け出した難分解性の抗生物質は浦の内湾のような閉鎖性湾では徐々に蓄積されるため (宗景ら, 1996, 2001, 2002; Munekage ら, 2002), やがて耐性菌を生み出す環境ができることが心配されている (平松, 2000; Hansen ら, 1992; Samuelsen ら, 1992; Tendencia ら, 2002)。これまで、抗生物質の分布は湾中央部でしか調べていなかった。そこで本研究では、抗生物質の分布と残留性、拡散性、蓄積性を明らかにする目的で、湾内全域で海水と底泥を採取して抗生物質の濃度分布を調べた。

2. 方 法

(1) 観測点および観測項目

2003年6月28日～2004年7月16日に図-1に示す浦の内湾 St.A～St.H において、多項目水質測定器 (FSI 社製 MCTD3) を用いて、水温、塩分、溶存酸素、クロロフィル、透視度等を測定した。さらに、浦の内湾全域か

ら海水および底泥を採取した。2000年に湾中央部の養殖域 St.D でトラップを用いて採取した沈降懸濁物のデータを用いて AMP および OTC の沈降量を推算した。

(2) 抗生物質の回収および分析法

海水、懸濁物および底泥中の水産用抗生物質 (アンピシリンとオキシテトラサイクリン) を定量した。海水 (濾過海水100 ml) を純水で2倍希釈し、固相抽出カラムに通して抗生物質を固定させ、60%アセトニトリル (pH = 1.3) 1 ml で離脱・回収した。懸濁物 (海水を濾過した際のフィルター) と純水10 ml および人工海水10 ml を乳鉢に入れて15分間ホモジネイトする。その後遠心分離 (3000 rpm × 20 min) し、上澄み液 (約10 ml) を、海水の場合と同様に固相抽出カラムに通して抗生物質を回収した。底泥10 g と1N の HCl 20 ml を遠沈管に入れ、十分に混ぜ合わせた。その後遠心分離 (3000 rpm × 30 min) し、上澄み液 (約20 ml) を固相抽出カラムに通して抗生物質を回収した。これらの離脱液を高速液体クロマトグラフ (HPLC) にかけ抗生物質濃度を測定した。分析用カラムは、ODS-AQ (YMC-Pac) を使い、カラム温度30℃で使用した。移動相には15%アセトニトリル水溶液に20 mM 磷酸二水素アンモニウムを加え、pH を2に調整した。移動相を流量1 ml/min で流し、UV 波長250 nm で測定した。

3. 浦の内湾の塩分分布と密度流

(1) 2003 年 度

図-2に示す塩分の縦断分布から見ると、8月21日以降の観測期には、湾外水の湾内底層への侵入が生じている。これは湾外水の差し込み (宗景ら, 1996) と呼ばれる密度流の一種によるもので、浦の内湾では湾外水の密度が湾内水のそれに比較しやや高い場合にしばしば生じる。特に8月21日～8月28日、9月17日～9月27日の期間は、湾内の底層の塩分濃度の上昇が大きく、差し込みの規模も大きくなっていると考えられる。

(2) 2004 年 度

図-2によると、5月26日の湾内表層は降雨により、

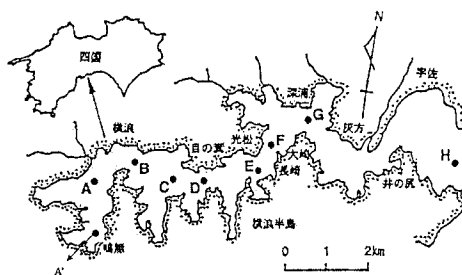


図-1 浦の内湾観測点

* 正会員 農博 高知大学教授農学部生産環境工学科
** 愛媛大学大学院連合農学研究科

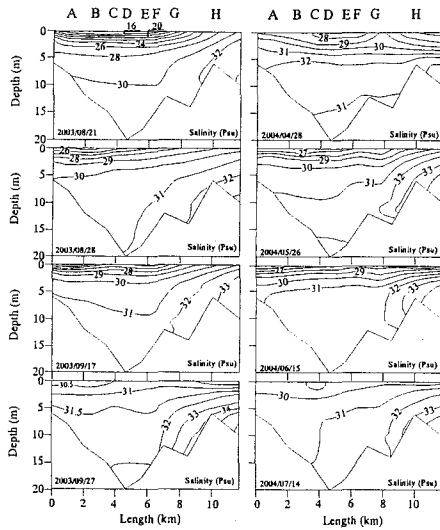


図-2 塩分縦断分布 (2003, 2004年度)

やや低塩分化した。しかし、6月には降雨量が少なかったため、仁淀川から流出が少なく、湾外の塩分は必ずしも低下していない。そのため、5月26日～6月15日の間も湾外塩分が湾内に比較しやや高い状態で推移し、徐々にではあるが湾外水の差し込みが生じていたと推測される。この時期、例年湾外水は中層～卓越して侵入し、底層の水塊が取り残されるため底層水質の悪化が著しいが、2004年度は差し込みが卓越したためやや良好であった。

4. 抗生物質分布

(1) 懸濁物および抗生物質の沈降量

図-3は、上から2000年度のSt.Dでのトラップ試料から得た単位面積当たりの沈降懸濁物量、懸濁物1g-wetに含まれる抗生物質量(AMP, OTC)を示す。湾中央部養殖域では、海底直上では、沈降懸濁物量は50～100 g-wet/day/m²の割合で沈降し、AMPおよびOTCはそれぞれ100～300 μg/day/m²/1 g-wet、8～140 μg/day/m²/1 g-wetが含まれていた。従って、養殖域での平均沈降懸濁物量を75 g-wet/day/m²とすると、それぞれAMPは7.5～22.5 mg/day/m²、OTCは0.6～10.5 mg/day/m²の割合で海底に蓄積することになる。

浦の内湾では1辺8mの矩形養殖生け簀を4個程度連続して使用している。これらの生け簀連が50個程度存在する。そこで、養殖生け簀の実面積をこれらの積算値0.012 km²とすると、一月当たりAMPで2.7～8.1 kg、OTCで0.22～3.8 kgの沈降があると考えられる。年間7ヶ月間投与した場合、AMPで20～60 kg、OTCで2～27 kgの割合で蓄積する。表-1に推算結果を示した。

(2) クロロフィル分布

図-4には、2003年度のクロロフィル、透視度、懸濁

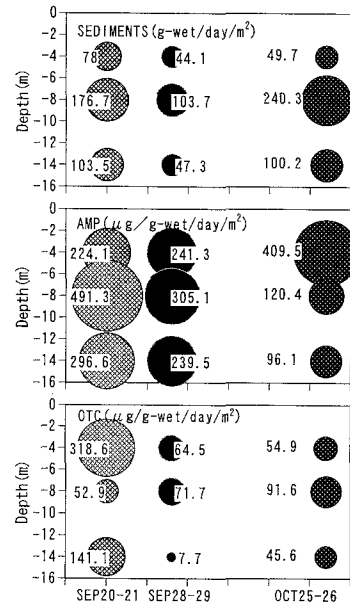


図-3 沈降懸濁物量およびAMP, OTC含有量(2000年度)

表-1 沈降懸濁物と抗生物質含有量

実養殖面積	0.012 km ² = 12000 m ²		
懸濁物 平均沈降量	Unit	2000年	
	g-wet/day/m ²	50～100(平均75)	
抗生物質 沈降速度		AMP	OTC
	mg/day/m ²	7.5～22.5	0.6～10.5
	Kg/month	2.7～8.1	0.22～3.8
	Kg/year(7month)	19～57 (平均38)	1.5～26.6 (平均14)

物中のAMPおよびOTCの縦断分布を示した。図-5には2004年度のクロロフィル、透視度、海水中および懸濁物中のAMP分布を示した。クロロフィルはいずれも相対値である。

a) 2003年度(図-4)

クロロフィルは、表面下2～3mに濃度ピークを有し、湾奥から湾央にかけて舌状に広がるような分布を示している。クロロフィル高濃度域は(6月28日から)8月21日および28日にかけてみられるように湾央に向かって徐々に移動しており、順に湾奥に新たな高濃度域が出現する。

中層以浅では低透視度(高濁度)域は、クロロフィル高濃度域すなわちプランクトン高密度域と一致して分布した。しかし、(図は省略するが、6月28日にはSt.G付近で)8月21日以降にはSt.E～G付近で海底直上でも低透視度域(高濁度域)が存在した。これはSt.F～G付近の滞留域表層部で死滅したプランクトンが沈降した後、底層部に侵入する差し込みに乗って湾央部に運ばれたものと思われる(宗景, 1998)。死滅プランクトン中のク

クロロフィルは減少しても、未分解成分に起因して濁度が容易に低下しないため、先に示した海底直上のクロロフィル低濃度域に高濁度域が出現すると考えられる。

b) 2004年度 (図-5)

クロロフィルは4月から5月にかけて湾奥部斜面部直上(底層)に高濃度域が見られ、湾中央部に舌状に広がる分布をしている。これはプランクトンの増殖初期に湾奥部斜面直上で発芽が始まること(宗景ら, 1999)によると考えられる。

4月29日には *Skeletonema costatum* は St.F で5270 cells/ml, St.A~D で5500~11405 cells/ml と全域に広がっていた。クロロフィルは、5月26日は湾奥部の4~5m層が極めて高濃度(>100 $\mu\text{g/l}$)で、プランクトンも大量に発生しており、赤潮を呈していた。検鏡の結果 *Gymnodinium mikimotoi* が優先種で St.A では1275 cells/ml, St.B, C では130~205 cells/ml の細胞密度を有していた。この種は湾中央部で行われている養殖フグの斃死をもたらした。6月15日には高濃度域は湾中央部に移動した。

透視度(濁度)は、先に述べたクロロフィル分布層よりやや上部に低透視度層がみられるが、水平的に見れば分布域はほぼ一致する。

(3) 海水および懸濁物中の抗生物質分布

懸濁物中の抗生物質は大部分はプランクトンに吸収されたものと仮定して考察する。

a) 2003年度 (図-4)

7月15日には湾奥部 St.B で極めて濃密度の赤潮プランクトン(*Chatonella* sp.)による高濃度(2080 cells/ml)パッチが生じた。このときの懸濁物中の抗生物質濃度を測定した結果、AMP および OTC は、それぞれ0.84 ng/cell, 1.47 $\mu\text{g/cell}$ を得た。また、海水中の抗生物質濃度は AMP で3.5 ppb, OTC で405 ppb であった。海水中の OTC 濃度は AMP のそれに比べ100倍ほど高いが、プランクトンによる OTC 吸収量は AMP のそれに比べ2000倍大きい。プランクトン種や抗生物質の種類によっては吸収特性が異なることを示唆している。

9月16日になると再び湾奥からクロロフィル高濃度域が出現していた。これに対応するように8月21日、28日には懸濁物中の AMP はプランクトン高濃度域に一致して多く分布している。また、OTC 高濃度域も8月21日および9月26日に湾奥部のプランクトン高濃度域に一致してみられる。

AMP は8月21日の養殖域外に位置する St.C の海底直上や湾外にも高濃度域がある。また、OTC は9月16日の St.B や9月27日の St.D でも海底直上に高濃度域がみられる。これは、抗生物質を吸収したプランクトンが大増殖を遂げた後、死滅して海底直上まで沈降したことによるもので、海底直上ではクロロフィルは消滅し、濁度が増加(透視度は低下)する結果(宗景ら, 1998)と一致している。クロロフィルや OTC に比較し AMP は分

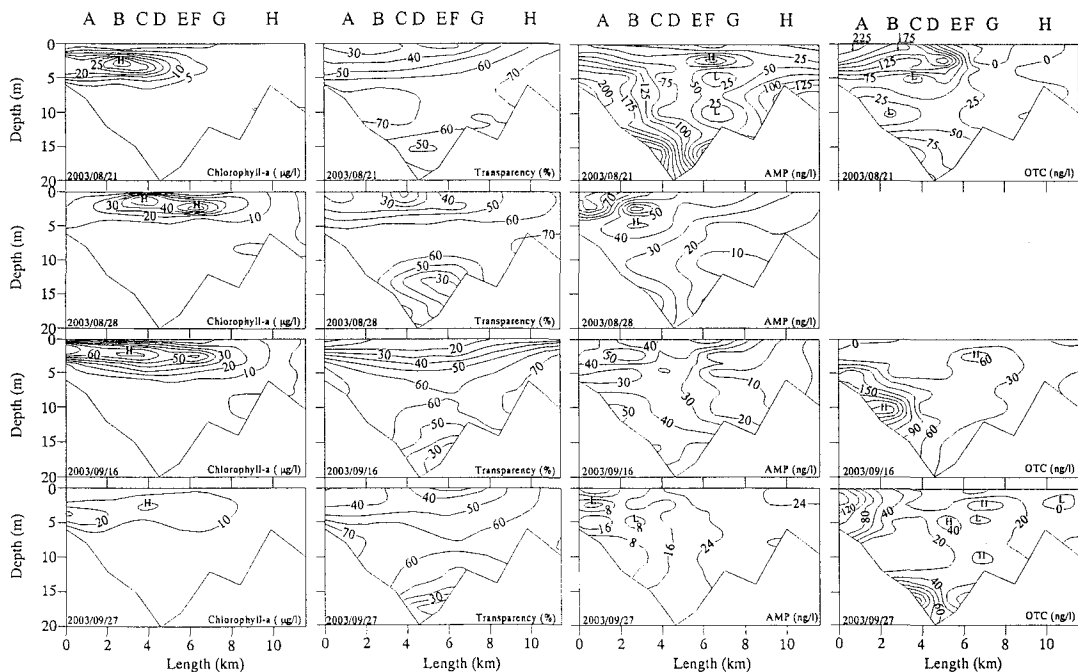


図-4 クロロフィル、透視度および懸濁物中の AMP の縦断分布 (2003年度)

解されにくい、底泥直上の高濁度域に一致して懸濁物中の AMP が出現するものと思われる。

2003年度は AMP, OTC とも 8 月以降も定常的に使用されているようだが、むしろ養殖の行われていない湾奥部表層付近に顕著な高濃度域が存在することに注目すべきである。AMP, OTC とも高濃度域は概ねプランクトン高濃度層に一致することから、海水中に溶出した抗生物質がプランクトンに吸収されたまま、死滅プランクトンとなって沈降し、やがて湾奥にまで運ばれて行くと考えられる。

b) 2004年度 (図-5)

海水中の AMP 濃度は、4 月 28 日には湾内全域で低い。しかし、5 月 26 日には湾奥でやや上昇し、6 月 15 日湾奥部表層および湾口側で最大濃度 (0.8~2 ppb) となった。7 月 14 日には湾奥表層部にあった高濃度域は湾央に移動し、湾央部底層にやや高濃度域が生じた。AMP は海水の輸送に伴って湾奥まで輸送されるが、湾奥部 4 m 層でプランクトンが大増殖していた 4 月、5 月には吸収されてしまい、海水中から除かれたものと思われる。7 月 14 日の湾奥 5 m 層でも同様なことが言えるが、プランクトン量が少なく懸濁物中の濃度も前者に比較して低い。一方、海水中の AMP 濃度はやや高い。

(4) 底泥中の抗生物質分布特性

図-6 には 2004 年度に行った底泥中の AMP および OTC の含有量を観測点ごとにまとめて示した。

AMP 含有量は 2001 年 11 月の湾内全域観測値 (宗景ら,

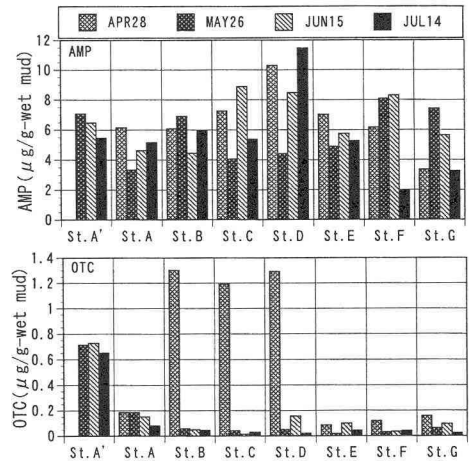


図-6 底泥中の AMP および OTC の含有量 (2004)

2002) に比べて、湾央部で若干低下していた。しかし、湾奥部ではほとんど変動していない。また、他の観測点に比べて季節変化も少ない。湾央部の含有量は 4 月 28 日に比べて 5 月 26 日には若干減少し、6 月 15 日には再び増加している。逆に湾口部では、4 月 28 日に比べて 5 月 26 日は増加し、6 月 15 日には減少している。7 月 14 日になると養殖場直下の St.D を除く観測点では含有量の減少がみられるが、St.D では大幅に増加している。これより養殖魚の餌の中に大量に AMP を投与したことが推測される。

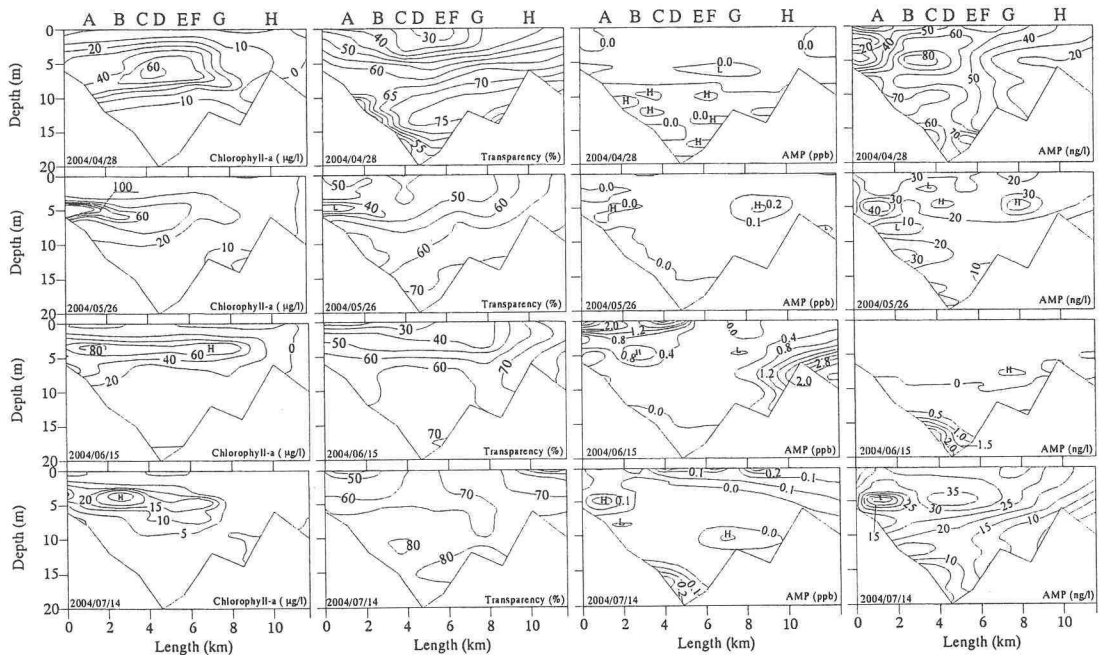


図-5 クロロフィル、透視度、海水中および懸濁物中 AMP の縦断分布 (2004年度)

OTC 含有量は、St.A'では常に高濃度（湿泥 1 g 当たり 0.26~0.29 μg ）で検出された。底泥中の抗生物質（AMP および OTC と）含有量は、海水交換が小さく養殖も行われていない湾奥部で、高濃度に、かつ安定して存在することが分かった。湾奥部で餌と共に直接投入された抗生物質が、沈降しながら差し込みに乗って湾奥部まで輸送され、蓄積されるような輸送機構が存在することが考えられる。同様に St.A でも他の観測点に比べて年変化が少ないことが特徴的である。St.B~D の観測点では 4 月 28 日の観測で最大の含有量（湿泥 1 g 当たり 0.48~0.52 μg ）を示したが、約 1 ヶ月後の 5 月 26 日には 1/30 程度に激減した。海水や懸濁物中にも顕著な差を見出すことはできず、OTC がどのように移動したか、または消失したかを明瞭に説明できない。このような変化は今年度の採泥方法に大きく依存していることも考えられる。しかし、4 月 28 日に St.B, C, D で高濃度が観測されたことから、これらの観測値を否定することも出来ず、採泥の工夫と継続的な観測がさらに必要と思われる。また、湾口部では湿泥 1 g 当たり 0.01~0.06 μg で、他の観測点に比べてやや低い含有量であった。

St.A'および St.B, C, D の 4 月 28 日の結果は、2001 年度（宗景ら、2002）と比較すると著しく高濃度であるが、これを除く観測点ではほぼ同程度といえる。AMP は養殖場直下に多量に含有しているが、OTC はむしろ湾奥で多量に残留していた。

5. ま と め

浦の内湾全域において、海水、懸濁物中および底泥中の抗生物質の分布を調べ、以下の結果を得た。

①養殖域（生け簀の総面積 = 0.012 km^2 ）の海底直上における平均沈降懸濁物量は 50~100 g-wet/day/ m^2 であった。その中には AMP で 8~23, OTC で 0.6~11 mg 含まれていた。年間 7 ヶ月の投与があったとすると、海底には AMP で年間 20~60 kg, OTC で 2~27 kg の割合で蓄積することになる。

②2003 および 2004 年度の湾全域の観測結果から海水中の OTC は 0.2~3 ppb, AMP は 0.1~4 ppb 程度であった。

③養殖域外の湾奥部にも高濃度域が見られ、懸濁物中の抗生物質は、概ねクロロフィル高濃度域と一致していたことから、海水中に溶出した抗生物質がプランクトンに吸収されたのち海水の鉛直循環に伴って運ばれたものと思われる。

④海水中および懸濁物中の抗生物質は、海底直上にも高濃度域が見られた。この水塊にはクロロフィルが含まれていないが、濁度が高いことから抗生物質を吸収したプ

ランクトンが死滅・沈降したのち海底直上で滞留しながら差し込みに乗って湾奥から湾奥にまで輸送されていくものと考えられる。

⑤養殖域底泥中の抗生物質含有量は、乾泥 1 g 当たり AMP で約 20 μg , OTC で約 100 ng であった。また AMP, OTC 共に 2001 年が最も濃度が高く、2002, 2003 年にはやや減少する傾向にあった。また、湾外調査点では養殖域の 1/30~1/50 程度の含有量であったが、湾外にまで拡がっていた。

以上の結果、餌料と共に投与された抗生物質は、海水中に溶出したりプランクトンに吸収されたりしながら海水の輸送に乗って移動し、養殖域外の湾奥や湾外にまで広がっていることが分かった。特に難分解性の AMP は残留性が強く、底泥中にも大量に蓄積されていることから、耐性菌の発生を促進する一方で有用微生物の増殖と環境浄化を抑制することが危惧される。

参 考 文 献

- 平松啓一(2000): 抗生物質が効かない, 集英社, 270p.
- 宗景志浩, 中川倫寿, 長谷川 浩, 井関哲也(1996): 浦ノ内湾における差し込みの直後の水質悪化と物質輸送について, 海岸工学論文集, 第43巻, pp. 1106-1110.
- 宗景志浩, 岩崎 望, 秋沢歌織, 長谷川 浩, 大原 聡(1998): 浦の内湾における植物プランクトンの分布構造と短期変動について, 海岸工学論文集, 第45巻, pp. 1136-1140.
- 宗景志浩, 小林千秋, 岩崎 望(1999): 浦ノ内湾における渦鞭毛藻プランクトンの発芽特性と出現状況について, 海岸工学論文集, 第46巻, pp. 1131-1135.
- 宗景志浩, T. X. Le, 足立伸也, 蒲生啓司, 岩崎望(2001): 沿岸海水中の微量化学物質 (ABPC, OTC) の分布と消失に関する研究, 海岸工学論文集, 第48巻, pp. 1251-1255.
- 宗景志浩, Le Xuan Tuan, 夏川優樹, 岩崎 望(2002): 内湾域における残留化学物質の分布と生物濃縮に関する研究, 海岸工学論文集, 第49巻, pp. 1096-1100.
- Hansen P.K., B.T. Lunestad and O.B. Samuelsen (1992): Effects of oxytetracycline, oxolinic acid, and flumequine on bacteria in an artificial marine fish farm sediment. Can. J. Microbiology, Vol.38, pp. 1307-1312.
- Munekage Y., N. Iwasaki, T. X. Le, H. Hasegawa, Y. Natukawa, S. Kikuhara (2002): Studies on the distribution of antibiotics in water, suspended solid, bottom mud in semi-enclosed sea and its accumulation in plankton. Proceedings of 12th (2002) International Offshore and Polar Engineering Conference ISOPE-2002, pp. 425-431.
- Samuelsen, O.B., T. Vigdis and E. Arne (1992): Long-range changes in oxytetracycline concentration and bacterial resistance towards oxytetracycline in a fish farm sediment after medication. The Science of The Total Environment, Vol.114, pp. 25-36.
- Tendencia E. A. and D. P. Leobert (2002): Level and percentage recovery of resistance to oxytetracycline and oxolinic acid of bacteria from shrimp ponds. Aquaculture, Vol.213, pp. 1-13.