

家畜に投与した抗菌性物質の排出および堆肥化による抗菌性物質の分解に関する研究

岩手大学 学生会員 ○成田翔 相馬美咲
岩手大学 正会員 石川奈緒 伊藤歩
岩手大学 前田武己 笹本誠
東北農業研究センター 東山由美 嶺野英子

1 背景

近年、家畜への抗菌性物質の使用量が増加している。家畜に投与した抗菌性物質の一部は完全に消化されず、その家畜の排泄物が環境中に放出されており、排泄物を堆肥として使用する際に土壌やその周辺の水環境にも悪影響が及ぶことが予想される。

本研究では、牛のモデル動物であるめん羊を用い、抗菌性物質を投与した後、排泄物とともに体外に排出される抗菌性物質量を求めた。また家畜糞を堆肥化することによる抗菌性物質の分解性を検討した。

2 実験方法

2-1 対象抗菌性物質

投与試験ではスルファモノメトキシシン(SMM)、堆肥化試験ではタイロシンを対象抗菌性物質とした。これらは動物用抗菌性物質として日本での販売量が比較的多い。

2-2 めん羊への SMM 投与試験

SMM の投与履歴の無いめん羊 2 頭(A、B)を消化試験ケージにいれ、1 週間順致させた後、体重 1 kg あたり 30 mg の SMM を筋注投与した。投与後、分離器を用いて糞と尿を別々に採取した。試料採取は経時的に 1 週間行った。

糞試料 2 g に McIlvaine buffer (pH 8.0) を 10 mL 混合し、10 分間超音波抽出を行った。遠心分離(3,000 rpm で 5 分)後、上澄みを採取し、これを抽出液とした。抽出工程は 2 回繰り返した。次に固相抽出処理を行った。Oasis HLB カートリッジのコンディショニングのためにメタノールを導入した後、抽出時と同じ McIlvaine buffer の 20 倍希釈液 (5 mL) を導入した。その後、抽出液を超純水 200 mL で希釈して導入し、空気乾燥し、メタノール (2 mL) で溶出した。溶出液中の SMM 濃度を高速液体クロマトグラフ-タンデム質量分析装置 (LC-MS/MS ; Waters、

XevoTQD) で分析した。

尿試料も固相抽出処理を行ったが、HLB カートリッジのコンディショニングは超純水を使用した。200 mL の超純水で希釈した尿試料 (10 mL) を導入し、糞と同様の手順で固相抽出及び分析を行った。

次式を用いて、各採取時の糞尿からの SMM 排出量および排出率を算出した。

$$\text{SMM 排出量 (mg)} = c \times m$$

c :糞または尿中の SMM 濃度 (mg/kg)

m :糞または尿の回収量 (kg)

$$\text{排出率 (\%)} = \frac{\text{SMM 排出量 (mg)}}{\text{SMM 投与量 (mg)}} \times 100$$

2-3 堆肥化試験

タイロシン無投与のめん羊から採取した糞にタイロシン溶液を添加し、タイロシン含有糞を作成した。小型堆肥化装置 2 台 (リアクター A、B) にタイロシン含有糞を乾燥質量で 600 g (湿潤質量で約 2,000 g) 入れ、室温で堆肥化を開始した。材料は自己発熱により昇温させ 2 日後には約 55 °C に達した。その後、強制的に 65 °C までに上昇させて 7 日目まではその温度を維持した。8 日目以降は 60 °C で一定とし、合計 28 日間堆肥化を行った。経時的に試料を採取した。

採取した試料中タイロシン含有量の分析は pH 6.0 の McIlvaine buffer を使用すること以外、糞中の SMM 分析と同様の手順で前処理を行い、LC-MS/MS で分析を行った。各試料採取時間でのタイロシン残留率は次式を用いて求めた。

$$\text{残留率 (\%)} = \frac{\text{残留タイロシン量 (\mu g)}}{\text{初期タイロシン量 (\mu g)}} \times 100$$

3 結果と考察

3-1 めん羊への SMM 投与試験

めん羊 A について回収された糞及び尿中の SMM 濃度の経時変化を図-1 に示す。糞からは投与後 24 h

キーワード：抗菌性物質、タイロシン、スルファモノメトキシシン、堆肥化、家畜排泄物

連絡先：岩手大学（盛岡市上田 4-3-5 TEL019-621-6449）

で最大 SMM 濃度 45.6 mg/kg(めん羊 A)を検出した。その後は経時的に濃度が減少し、120 h 以降はめん羊 A、B とともに 1 mg/kg 以下になった。尿の場合は、投与後 4 h という糞よりも早い時間で SMM 濃度が最大値を示した。その後は糞と同様に減少し、140 h 以降は 1 mg/kg 以下に減少した。

図-2 にめん羊 A の SMM 排出量の経時変化を示す。尿の場合は投与後 4 h から 8 h の間に比較的高い排出量を示した。糞の場合は投与後 8 h から 30 h の間に高い排出量を示した。また、尿の排出量(A: 6.51 mg、B: 15.17 mg)は糞の排出量(A: 0.89 mg、B: 0.44 mg)に比べて 7 倍以上であり、排出される SMM の大半が尿からであった。

最終的に、平均すると投与した SMM の 10.6%が尿から、2.0%が糞から、合計約 12.6%が体外に排出されることが明らかになった。

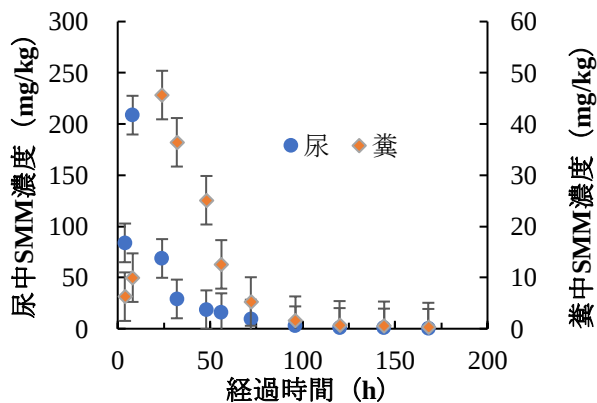


図-1 各排泄物中の SMM 濃度の経時変化(めん羊 A)

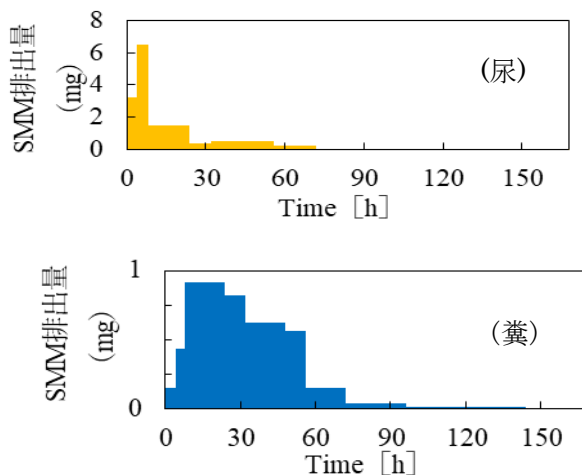


図-2 SMM 排出量の経時変化（めん羊 A）

3-2 堆肥化試験

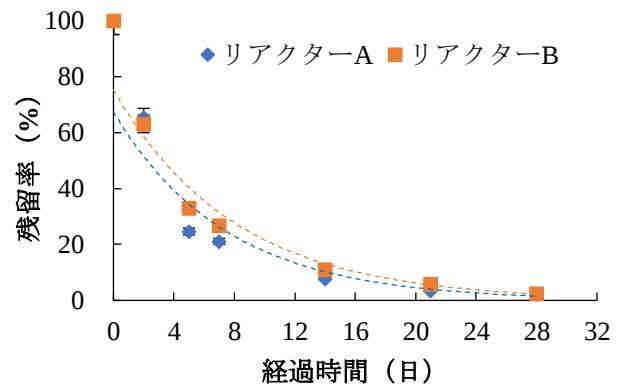


図-3 堆肥化中のタイロシン残留率の経時変化

表 1 各リアクターでの一次反応式での係数

	リアクターA	リアクターB
C_m	67.4	75.2
k	0.135	0.125
半減期(日)	5.1	5.5

図-3 に堆肥化糞中のタイロシン残留率の経時変化を示す。堆肥化初期からタイロシンの残留率は経時的に減少し、堆肥化開始 2 日目でリアクターA、B どちらもタイロシン残留率は 70%を下回り、その後も時間とともに減少し、堆肥化 28 日目では 5 %以下となった。この残留率は次のような式に当てはめることができた。各リアクターで求められた係数を表 1 に示す。

$$\text{残留率} = C_m \times e^{-kt}$$

C_m, k : 係数、 t : 経過日数

半減期 (日) は $\ln 2/k$ で求めることができるため、堆肥化によるタイロシンの分解における半減期は平均 5.3 日と算出された (表 1)。

4 まとめ

本研究では、動物用抗菌性物質の環境移行を検討するため、めん羊に投与したスルファモノメトキシンの排泄物への排出量を経時的に求めた。その結果、投与後 4 日間で平均して 12.6%が体外に排出されていた。まためん羊糞中のタイロシンの分解には堆肥化が有効であることが示された。

謝辞

本研究の一部は文部科学省ダイバーシティ研究環境イニシアティブ（牽引型）および住友財団環境研究助成の支援を受けています。