

鉱物接触処理における抗菌剤分解性生物の *Raphidocelis subcapitata* に対する毒性評価

岩手大学 学生会員 ○齋藤晴天 小林大晟
岩手大学 正会員 石川奈緒 伊藤歩 非会員 笹本誠

1. 背景

近年、家畜への抗菌剤使用量が増加している。家畜に投与された抗菌剤の一部が完全に消化されず、排せつ物とともに畜産廃水となり、その周辺の水環境に影響を及ぼすことが予想される。

鉱物(ゼオライト、イライト)との接触処理により溶液中のタイロシン(TYL)やオキシテトラサイクリン(OTC)が分解される¹⁾が、分解生成物の安全性について検討されていない。そこで本研究では、抗菌剤溶液を鉱物で接触処理した処理液を用いて淡水単細胞緑藻 *Raphidocelis subcapitata* に対する短期毒性試験を行い、分解生成物の藻類への毒性を確認した。

2. 実験方法

2-1 鉱物接触処理

ゼオライトまたはイライトを 1 L の容器に 5 g 量り入れ、TYL または OTC の溶液(10 mg/L)を 500 mL 加えた。振とう機により 6 時間振とうさせた後、遠心分離機により 3,000 rpm で 5 分間の遠心分離を行った。その上澄み液をガラス繊維濾紙(孔径 0.3 μm)で濾過したろ液の抗菌剤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; LC: Waters, Acquity, MS/MS: Waters, XevoTQD)で分析した。残留していた抗菌剤濃度を表 1 に示す。処理液中では全体として 8.5~9.9 mg/L の抗菌剤が分解し、分解生成物として存在していると考えられる。液相中に残存している分解生成物の藻類への生態毒性を短期毒性試験により評価した。

表 1 処理液中の残留した抗菌剤濃度

	TYL [mg/L]	OTC [mg/L]
ゼオライト	0.14	0.10
イライト	1.24	2.49

2-2 継代培養

短期毒性試験は OECD のテストガイドラインに基づいて実施し、被験生物として緑藻 *R. subcapitata* を用いた。継代培養は室温 23±2℃の恒温室で、植物育成ランプと蛍光灯により、60~120 μmol/m²/s で 24 時間明期の環境下で行い、培地は C 培地を使用した。

2-3 短期毒性試験

試験はそれぞれ 4 連で行った。試験液に 100 倍濃縮培地と前培養を行っていた藻類培養液を緑藻 *R. subcapitata* の初期細胞濃度が 5×10³ cells/mL となるように添加した。試験液は処理液(表 1)と TYL 溶液(Control, 0.1 mg/L, 1.0 mg/L, 10 mg/L)、または OTC 溶液(Control, 0.1 mg/L, 1.0 mg/L, 2 mg/L)とした。培養開始後、0、12、24、48、72 時間目に試料を採取し、プランクトン計数板で藻類の細胞数を計数した。相対細胞濃度を次式より算出した。

$$\text{相対細胞濃度(-)} = \frac{C_t}{C_0} \quad (1)$$

C_t : t 時間目の細胞濃度 [cells/mL]

C_0 : 0 時間目の細胞濃度 [cells/mL]

また、比生長速度 μ を次式より算出した。

$$\mu = \frac{\ln N_2 - \ln N_1}{t_2 - t_1} \quad (2)$$

t_1 : 藻類が対数増殖し始めた時間 [min]

t_2 : 藻類が対数増殖している任意の時間 [min]

N_1 : t_1 時の細胞濃度 [cells/mL]

N_2 : t_2 時の細胞濃度 [cells/mL]

3 結果と考察

3-1 短期毒性試験(TYL の場合)

図 1 に TYL の場合での相対細胞濃度の経時変化を示す。比生長速度 μ は 0~24 h で求めた。 μ と試験液中の TYL 濃度の関係を図 2 に示す。ゼオライト接触による処理液の μ の値は残留濃度に相当する 0.1

キーワード: 粘土鉱物 タイロシン オキシテトラサイクリン 分解生成物 藻類 短期毒性試験

連絡先: 岩手大学 岩手県盛岡市上田 4-3-5 TEL: 019-621-6982

mg/L での値と同定であり、処理後の分解生成物による生長阻害は見られなかった。一方、イライト接触による処理液での μ 値($0.60 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$)は 10 mg/L の TYL 溶液での μ 値($0.63 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$)と同程度であった。このことからゼオライトで処理した TYL の分解生成物は毒性を示さず、イライトで処理した TYL の分解生成物は処理前の TYL と同程度の毒性を持つことが考えられる。

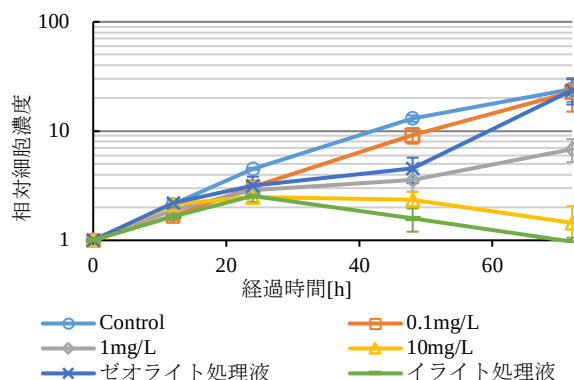


図 1 相対細胞濃度の経時変化(TYL)

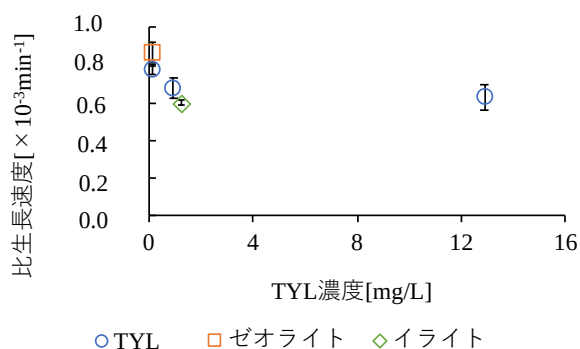


図 2 TYL 濃度と比生長速度の関係

3-2 短期毒性試験(OTC)

図 3 に OTC の場合での相対細胞濃度の経時変化を示す。比生長速度 μ は 24~72 h で求めた。 μ と試験液中の OTC 濃度の関係を図 4 に示す。ゼオライト接触処理した溶液での μ 値は Control より高く、イライト接触処理をした溶液での μ 値は同濃度の OTC 溶液よりも低い可能性が示された。イライトで処理された分解生成物は OTC と変わらない、またはより強い毒性を持っていると考えられる。ゼオライトで処理された OTC の分解生成物は毒性を持たないことが示唆されるが、Control より μ 値が高い理由について今後検討する必要がある。

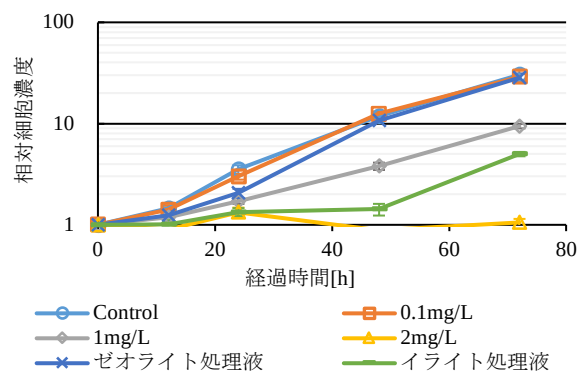


図 3 相対細胞濃度の経時変化(OTC)

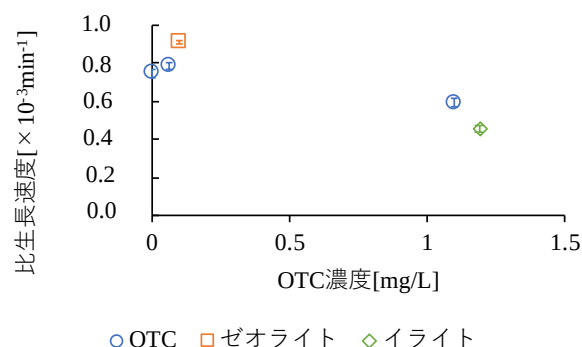


図 4 OTC 濃度と比生長速度の関係

4 まとめ

本研究では、藻類を用いて鉱物接触処理における抗菌剤分解生成物の毒性評価を実施した。ゼオライト接触処理によって生じる分解生成物は TYL、OTC のどちらも藻類に生長阻害を及ぼさないことが明らかとなった。一方でイライト接触処理によって生じる分解生成物は TYL と OTC のどちらも元の抗菌剤と変わらない毒性を持つ可能性が示された。したがって TYL、OTC を含む廃水処理にはゼオライト接触処理の方が環境への負荷が少ないと考えられる。

謝辞

本研究の一部は岩手大学共同研究支援の支援を受けています。

参考文献

- 1) 小林大晟ら、家畜ふんの堆肥化、および鉱物接触による廃水処理での家畜排せつ物中抗菌剤除去の試み、令和元年度土木学会東北支部技術研究発表会要旨、2020。