

土壌中でのスルファメサジンの挙動に対する影響因子の探索

岩手大学理工学部 学生会員 細野太一

岩手大学理工学部 非会員 小山内優之介、笹本誠

岩手大学理工学部 正会員 石川奈緒、伊藤歩

1. はじめに

現在、抗菌性物質は人や家畜の病気の治療や予防、生産性の向上など、幅広く利用されている。しかし、家畜に投与された抗菌性物質の一部は体内で分解されず、排泄物として排出される。それらが堆肥利用されることにより抗菌性物質が土壌中に拡散し、さらに周辺水域へ拡散することで水域生態系に悪影響を及ぼすだけでなく、薬剤耐性菌の出現に寄与する可能性が問題視されている。したがって、抗菌性物質の土壌から環境への移行を解明するためには、土壌中の抗菌性物質の挙動を明らかにする必要がある。さらに、土壌中の抗菌性物質の挙動とその影響因子を解明することは、環境への悪影響を軽減する対策を構築する事につながる。

本研究ではスルファメサジン(SMZ)を対象とし、SMZの土壌への収着および分解に対する影響因子について微生物と土壌の理化学特性に着目し、検討した。

2. 実験方法

2.1 微生物による影響

黒ボク土 A と灰色低地土 A の 2 種類の土壌を用いて、バッチ実験を行った。土壌は非滅菌、滅菌（オートクレーブ滅菌）、グルコースを添加し、土壌の微生物活動を好気条件で活性化した 3 条件を用いた。褐色沈殿管に 3 g の土壌試料を入れ、10 $\mu\text{g/L}$ の SMZ 溶液(CaCl_2 0.01 mol/L を含む)を 30 mL 添加し、振とう機で振とうした。経時的に試料を採取し、5 分間 3,000 rpm で遠心分離した後、上澄み液を孔径 0.3 μm のガラス繊維濾紙で濾過したる液中の SMZ 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)で測定し、液相中

に残留した SMZ 量を算出した。次に沈殿管に残った土壌中 SMZ 量を求めるため抽出作業を行った。メタノールを 10 mL 加え、10 分間超音波抽出した後、5 分間 3,000 rpm で遠心分離し、上澄みを回収した。この抽出作業は 2 回行った。褐色瓶に回収した溶液と超純水を 1 L 加え、固相カートリッジ(Waters, Oasis HLB Plus)に流量 10 mL/min で通水した。その後、カートリッジを 10 分間空気乾燥させ、メタノール 2 mL を用いて溶出した。溶出液と超純水を 1:1 の割合で混合した試料液中の SMZ 濃度を LC-MS/MS を用いて測定した。各試料採取時間における沈殿管に加えた初期 SMZ 量に対する存在割合を液相への残留率(P_L)、土壌への収着率(P_S)、SMZ の分解率(P_D)をそれぞれ次式で表す。

$$P_L(\%) = \frac{C_L}{C_i} \times 100 \cdots (1)$$

$$P_S(\%) = \frac{C_S \times W_S}{C_i \times L} \times 100 \cdots (2)$$

$$P_D(\%) = 100 - (P_S + P_L) \cdots (3)$$

 C_L : 液相中に存在した SMZ 濃度(mg/L) C_S : 固相中から抽出された SMZ 濃度(mg/kg) C_i : 沈殿管への SMZ 添加量(mg/L) W_S : 固相重量(g) L : 液量(L)

2.2 土壌中の SMZ の挙動と土壌の理化学特性の関係

2.1 で使用した黒ボク土 A と灰色低地土 A に加え、灰色低地土(1種)、褐色低地土(1種)、グライ低地土(1種)、低地水田土(1種)、グライ台地土(1種)、黄色土(1種)、褐色森林土(2種)、黒ボク土(1種)の 11 種類の土壌を用いて実験を行った。表-1 に土壌の理化学特性の概要を示す。

キーワード: 抗菌性物質 土壌の理化学特性 相関分析 滅菌

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

表-1 使用した土壌の理化学特性の概要

	C (g/kg)	silt (%)	pH (H ₂ O)	塩基置換容量 (meq/100g)
Min	8.1	10.4	5.5	10.5
Max	103	43.1	6.7	37.0
Mean	27.0	22.7	6.0	17.4

褐色沈殿管に3gの土壌試料を入れ、10 µg/LのSMZ溶液(CaCl₂ 0.01 mol/Lを含む)を30 mL添加し、3日間振とうした。試料を5分間 3,000rpmで遠心分離した後、上澄み液を孔径 0.3 µmのガラス繊維濾紙で濾過したろ液中のSMZ濃度をLC-MS/MSで測定した。土壌への収着量は2.1と同様の方法で分析し求めた。

3.実験結果および考察

3.1 バッチ収着実験

図1~2に各土壌、各条件におけるSMZの液相への残留率、固相への収着率および分解率の経時変化を示す。どちらの土壌もSMZの分解率は時間が経過するにつれて増加した。微生物活性を高めた条件であるグルコースを添加した土壌では添加しない土壌(非滅菌)、および滅菌土壌よりも分解率が高いことから、SMZの分解には微生物が寄与している可能性が示唆された。また、黒ボク土ではグルコース添加以外の土壌では時間とともに収着率に増加傾向が見られた一方、灰色低地土では収着率は黒ボク土と比較して小さく、時間変化も見られなかった。土壌の種類や理化学特性の違いにより、収着率や分解の程度が異なる事が示された。

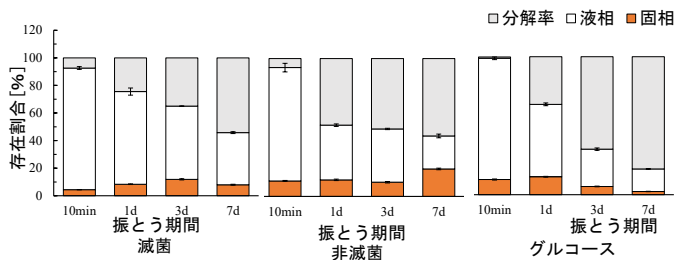


図-1 SMZ 存在割合の経時変化(黒ボク土 A)

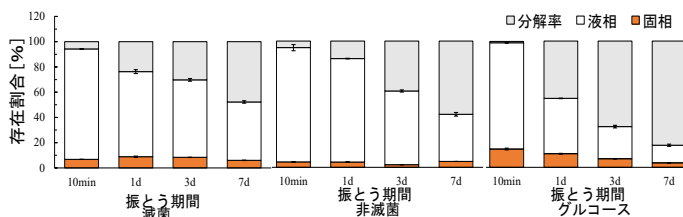


図-2 SMZ 存在割合の経時変化(灰色低地土 A)

3.2 土壌中の SMZ の挙動と土壌の理化学特性の関係

図3に土壌種ごとのSMZ存在割合を炭素含有量降順に示す。全体的にSMZは土壌への収着率は小さく、土壌-土壌溶液分配係数(K_d (L/kg) = 土壌へのSMZ収着量(µg/kg)/液相中SMZ濃度(µg/L))は<5.00/kgであり、SMZの土壌への収着性が低いことが示された。また分解率は土壌種により大きく異なっていた。土壌の理化学特性による影響を明らかにするため、表1に示す土壌の理化学特性と収着率、分解率および K_d との関係について多変量解析の相関分析を実施した。その結果、どの値も対象とした土壌の理化学特性と有意な相関を示さなかった。Conde-Cidら¹⁾は K_d と土壌中の有機炭素量に有意な相関を見いだしたが、本研究では、土壌中炭素含有量と K_d に相関は見られなかった。

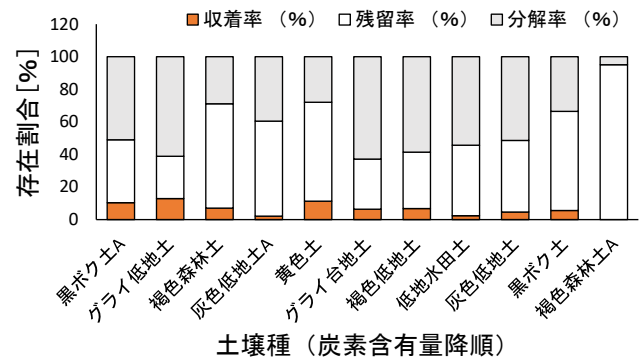


図-3 土壌種ごとの SMZ 存在割合

4 まとめ

土壌中のSMZの分解は黒ボク土、灰色低地土ともに、微生物による寄与が考えられた。また、本研究で用いた11種類の土壌について土壌の理化学特性との間に有意な相関が見られなかった。今後はより多くの土壌のデータを収集し、本研究で対象とした理化学特性との関係を検討するとともに土壌中のSMZの分解生成物に関して明らかにする必要がある。

引用文献

- 1) M.Conde-Cid et al., Experimental data modeling for sulfachloropyridazine and sulfamethazine adsorption on agricultural acid soils.Microporous Mesoporous Mater.,288,109601,2019.