

黒ボク土でのスルファモノメトキシンの収着と分解に関する基礎的研究

岩手大学 学生会員 ○若松駿登

岩手大学 正会員 石川奈緒 伊藤歩 非会員 笹本誠

1. 背景

現在、抗菌性物質は主に動物用医薬品、農薬、飼料添加物、食品添加物などとして幅広く使用され、家畜の治療や生産性の向上、食品の保存に大きく貢献している。一方で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、糞尿として排出され、それらが堆肥利用されることにより、環境中に拡散している。さらに、抗菌性物質の環境への拡散が薬剤耐性菌の出現に寄与している可能性が問題視されている。したがって、抗菌性物質の環境中への拡散を防止するための知見として、土壌中の抗菌性物質の挙動を明らかにする必要がある。

そこで本研究では、抗菌性物質のひとつであるスルファモノメトキシン（SMM）を対象とし、SMMの土壌への収着および分解動態を検討した。

2. 実験方法

2.1 スルファモノメトキシン

SMM（図1）は、サルファ剤の一種であり、日本での年間販売量（2019年）は11,482.5 kgで豚に用いられている¹⁾。

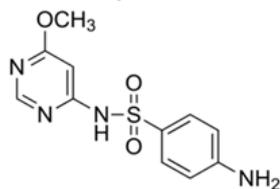


図1 SMMの構造式

2.2 土壌試料

本研究では、岩手大学滝沢農場から採取した黒ボク土を用いた。土の強熱減量は25.3%、粘土含有量は15.2%である。

2.3 土壌中のSMMの動態把握試験

土壌 3 g を褐色ガラス沈殿管に入れ、SMM 溶液（10, 50, 100, 500, 1000 $\mu\text{g/L}$ ）を 30 mL 加え、振とう機を用いて振とうした。また、SMM 溶液（10 $\mu\text{g/L}$ ）にグルコースを添加し、同様の実験を行った。振とう中の温度は 25°C とした。抗菌性物質の長期的な挙動を確認するために、振とうは 7 日目まで行い、経時的に試料を採取した。採取試料は遠心分離機を用いて 3,000 rpm で 5 分間遠心分離を行い、上澄みを孔径 0.3 μm のガラス繊維ろ紙でろ過した。ろ液中の SMM 濃度を LC-MS/MS を用いて測定した。これを液相中 SMM 濃度 (C_L) とした。続いて、固相中の SMM 濃度 (C_S) を測定した。McIlvaine 緩衝液を用いて、土壌から SMM を抽出し、Oasis HLB Plus カートリッジで固相抽出した後得られた試験液の SMM 濃度を LC-MS/MS で測定した。本分析法での回収率は 107.3% である。当初沈殿管に入れた SMM 量に対して液相中に残留している SMM 量の割合を液相への残留率 (P_L)、固相に収着した割合を収着率 (P_S)、残留率と収着率の合計を残留率 (P_R)、残留率と収着率の合計を 100% から差し引いた分を消失率 (P_D) とし、各項目について次式で求めた。

$$P_L [\%] = \frac{C_L}{C_i} \times 100 \quad (1)$$

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

$$P_R [\%] = P_L + P_S \quad (3)$$

$$P_D [\%] = 100 - (P_S + P_L) \quad (4)$$

C_L : 液相中 SMM 濃度 (mg/L)

C_S : 固相中 SMM 濃度 (mg/kg)

C_i : 遠沈管への SMM 添加量 (mg/L)

W_S : 固相重量 (kg) L : 液量 (L)

3. 実験結果および考察

図2に各濃度条件での液相への残留率と固相への収着率および消失率の経時変化を示す。どの濃度条件も収着率は低く、SMMが黒ボク土に収着しにくいことが示された。また、初期濃度10 μg/Lについて、グルコース添加の有無で結果を比較すると、グルコース添加時のSMMの消失率が無添加時より速いことからSMMの分解には微生物の関与が示唆された。

図3はSMMの残存率の経時変化を示す。経過時間とSMM残存率の関係は一次反応速度式(5)に近似できた。各条件の結果を(5)式にあてはめ、反応速度定数kを、さらにkから半減期 $t_{1/2}$ を求めた。

$$\ln P_R = -kt + \ln A \quad (5)$$

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k} \quad (6)$$

A: P_R の初期残存率(%) k: 反応速度定数(d^{-1})

t: 経過時間(d) $t_{1/2}$: 半減期(d)

表1に各条件のk値と決定係数(R^2)および半減期を示す。初期濃度による半減期の違いが明確にはみられなかったが、グルコースを添加した条件の方が半減期は短く、微生物活性を高めることによりSMMの分解が促進されることが推察できる。

4. まとめ

黒ボク土にはSMMが収着しにくく、時間と共にSMMは消失した。半減期は1.58~2.24日であったが、グルコースを添加した場合は0.94日と短かった。したがって、土壌中のSMMの分解には微生物の関与が示唆された。

参考文献

1) 農林水産省動物医薬品検査所, 各種抗生物質・合成抗菌剤・駆虫剤・抗原虫剤の販売と販売量, 2019, https://www.maff.go.jp/nval/iyakutou/hanbaidaka/pdf/R1_hanbaidaka.pdf

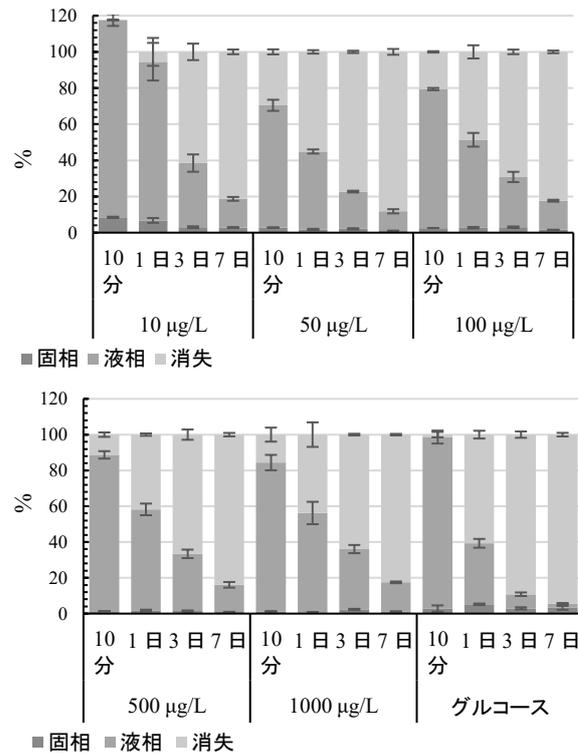


図2 黒ボク土におけるSMMの液相への残留率と固相への収着率及び消失率の経時変化(エラーバーは標準偏差)

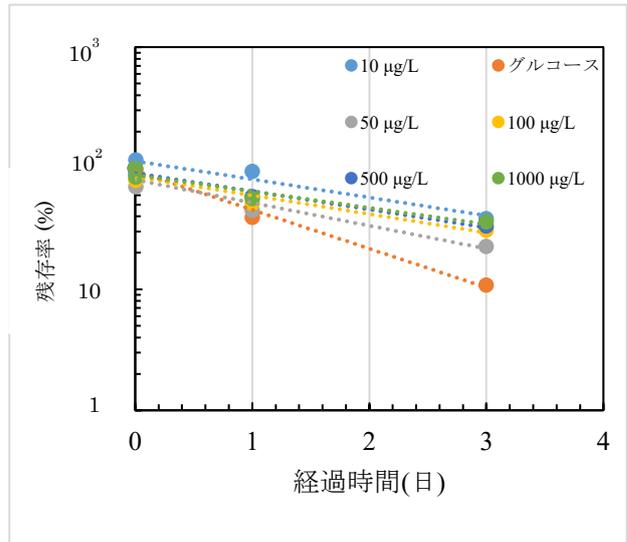


図3 黒ボク土におけるSMMの残存率の経時変化

表1 一次反応速度式のパラメーター

初期濃度 (μg/L)	k (d^{-1})	R^2	$t_{1/2}$ (d)
10	0.35	0.89	1.98
50	0.44	0.85	1.58
100	0.35	0.89	1.98
500	0.35	0.96	1.98
1000	0.31	0.91	2.24
10 (グルコース添加)	0.74	0.99	0.94