

## 土壤中のスルファメトキサゾールの挙動解明のための基礎的研究

岩手大学 学生会員 ○安田響 若松駿登

岩手大学 非会員 笹本誠 正会員 石川奈緒 伊藤歩

### 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、家畜の治療や家畜の生産性の向上、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は体内で分解されず、糞尿とともに排出され、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、土壤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メトキサゾール（SMX）を対象とし、土壤中のSMX分析法を検討した。その後、SMXの土壤への収着および分解動態を把握した。

### 2. 実験方法

#### 2.1 スルファメトキサゾール

SMX（図1）は、サルファ剤の一種であり、日本での年間販売量（2020年）は48,481.4kgで豚に用いられている<sup>1)</sup>。

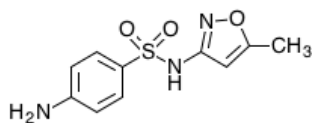


図1 SMXの構造式

#### 2.2 土壤試料

岩手大学滝沢農場と滝沢演習林から採取した黒ボク土を用いた。強熱減量は、黒ボク土（滝沢農場）で25.3%、黒ボク土（滝沢演習林）で21.5%である。

#### 2.5 添加回収試験

実験手順を図2に示す。土壤試料は黒ボク（滝沢農場）を用いた。抽出溶媒（図2の※部分）にはメタ

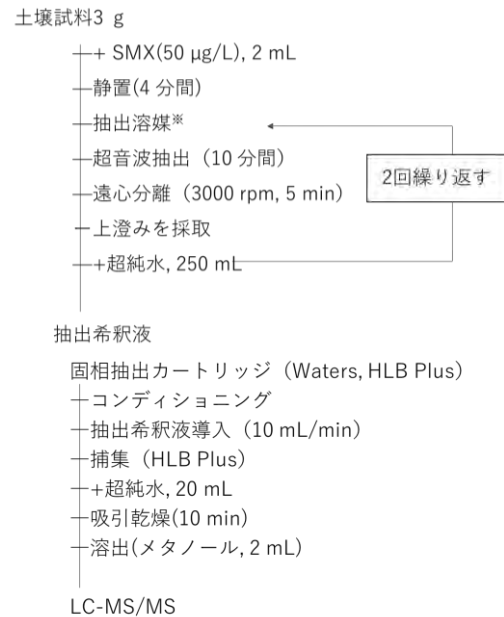


図2 土壤中SMX分析手順

ノール 10 mL, McIlvaine 緩衝液 10 mL (pH 8) または McIlvaine 緩衝液 30 mL (pH 8) を用いた。希釈抽出液を孔径 0.3 µm のガラス繊維ろ紙を設置したコンセントレーターで固相抽出処理した後、溶出液中のSMX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）で測定した。

また、抽出溶媒として McIlvaine 緩衝液 10 mL (pH 8), EDTA 溶液 (EDTA : MeOH : McIlvaine 緩衝液 = 1:2:1, pH 9) 20 mL を用いた場合には、コンセントレーターの負荷を軽減させるため、抽出後の上澄みをあらかじめガラス繊維ろ紙でろ過したろ液に超純水を加え抽出希釈液とし、ろ紙を設置せずにコンセントレーターで固相抽出処理した。

#### 2.4 土壤中のSMXの動態把握試験

土壌 3 g を褐色ガラス沈殿管に入れ、SMX 溶液（初期濃度  $C_i$ : 1,000 µg/L）を 30 mL 加え、振とう機を用いて 25 °C で振とうした。抗菌性物質の長期的な挙動を確認するために、振とうは 10 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

抗菌性物質 収着 消失 黒ボク土 添加回収試験

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

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 SMX 濃度を LC-MS/MS を用いて測定した。これを液相中 SMX 濃度 ( $C_L$  (mg/L)) とした。

続いて、固相中の SMX 濃度 ( $C_S$  (mg/L)) を測定した。McIlvaine 緩衝液 10mL で土壌から SMX を抽出し、固相抽出後に得られた試験液の SMX 濃度を LC-MS/MS で測定した。本分析法での回収率は 54.4% であった。当初沈殿管に入れた SMX 量に対して液相中に残留している SMX 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存率 ( $P_R$ )、残留率と収着率の合計を 100% から差し引いた分を消失率 ( $P_D$ ) として、各項目について次式で求めた。

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

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

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

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

$W_S$  : 固相重量 (kg)  $L$  : 液量 (L)

### 3 結果および考察

#### 3.1 添加回収試験

図 3 に各条件での回収率の結果を示す。各条件における 2 回繰り返し抽出を行った場合の回収率はそれぞれ、44.5%, 74.4%, 76.9% であり、特にメタノールでは低い結果となった。McIlvaine 緩衝液は抽出液量を増やしても回収率は変化しなかった。

コンセントレーター導入前にあらかじめ抽出液を

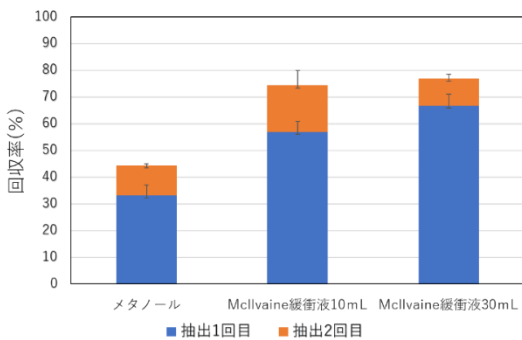


図 3 添加回収試験結果 (エラーバーは標準偏差)

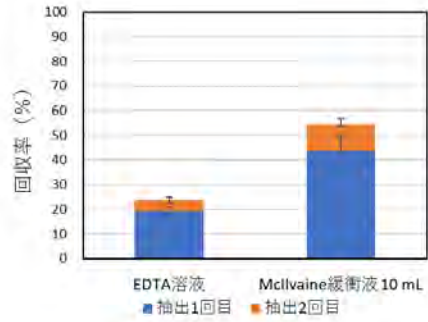


図 4 添加回収試験結果 (エラーバーは標準偏差)

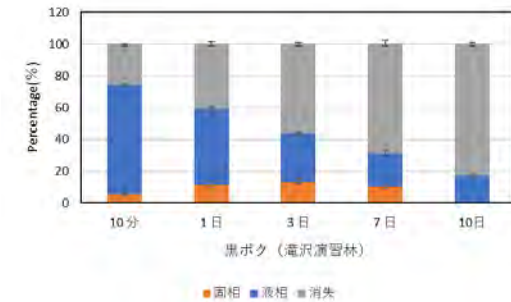
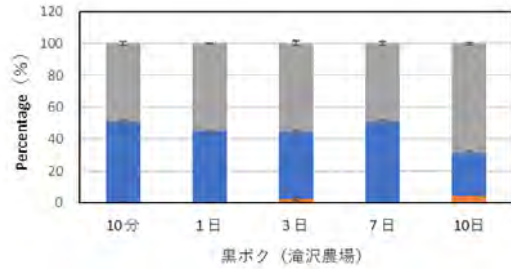


図 5 動態把握試験結果 (エラーバーは標準偏差)

ろ過した場合の結果を図 4 に示す。EDTA 溶液では McIlvaine 緩衝液よりも回収率が大幅に低く、EDTA を添加しても回収率が改善されないことが示された。

#### 3.2 動態把握試験の結果

図 5 に試験結果を示す。黒ボク土 (滝沢農場) は振とう 10 分後から大きな変化はなく、液相へ 27~50% 残留し、消失率は 49~69% であり、ほとんど土壌には吸着しなかった。一方、黒ボク土 (滝沢演習林) でも土壌への収着率は低いが、時間とともに消失率が増加していた。土壌の理化学特性または土壌微生物相の違いによる可能性があり、今後検討が必要である。

#### 引用文献

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 2020、  
[https://www.maff.go.jp/nval/iyakutou/hanbaidaka/pdf/R2\\_hanbaikoukin\\_1.pdf](https://www.maff.go.jp/nval/iyakutou/hanbaidaka/pdf/R2_hanbaikoukin_1.pdf)