



畜産廃棄物に残留する動物用抗菌剤の排出削減に関する研究

北園, 弓佳

(Degree)

博士 (農学)

(Date of Degree)

2016-03-25

(Date of Publication)

2018-03-25

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲第6654号

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1006654>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



博 士 論 文

畜産廃棄物に残留する
動物用抗菌剤の排出削減に関する研究

平成 28 年 2 月

神戸大学大学院農学研究科

北 薊 弓 佳

Doctoral Dissertation

Studies on emission reduction of veterinary
antibiotic residues from animal waste

February, 2016

Graduate School of Agricultural Science

Kobe University, Japan

Yumika Kitazono

謝辞

本論文は、筆者が神戸大学大学院 農学研究科 食料共生システム学専攻博士後期過程在学中に生産環境工学講座農産食品プロセス工学研究室において行った研究の成果をまとめたものです。

本研究を進める上で、神戸大学大学院 農学研究科 食料共生システム学専攻の井原一高准教授には指導教官として、学士時代より 6 年間にわたって終始お世話になりました。博士後期課程に進学後もご指導いただき、温かく見守ってくださいました。心より感謝の意を表します。

同専攻豊田浄彦教授，川村恒夫教授，ツェンコバ・ルミアナ教授には副査としてご指導していただき，貴重なご助言をたまわりました。深く感謝いたします。また，帯広畜産大学畜産学研究科の梅津一孝教授には，研究の遂行にあたりご教示いただき，実験試料等も提供していただきました。ここに深謝の意を表明します。神戸大学大学院 農学研究科 食料共生システム学専攻の先生方には折々の場面でご助言をいただきました。厚くお礼申し上げます。

有限会社レチェール・ユゲの弓削忠生場長，弓削和子さん，弓削太郎さんには何度も実験試料を提供していただき，多大なご協力をいただきました。ここに深謝の意を表明します。

同専攻卒業生の吉田弦さんには，実験方法や分析装置の使用方法等について，北幹子さんには，分析方法について丁寧にご指導いただきました。同専攻博士課程前期過程の竹村俊希君には，メタン発酵試験に際して，実験試料の採取や準備，研究に関する相談等，荻野茜さんには，電解酸化処理試験について研究に関する相談等，ご協力をいただきました。

同じく高取恵里さん，徳田博紀君，神戸大学農学部食料環境システム学科4回生の瀬古真理さん，高藤穂里さん，松野李奈さんには様々な困難な場面で力を貸していただきました。ここに感謝の意を表します。

お名前を挙げさせていただいた方々以外にも，多くの方々にご助言，ご協力をいただきました。厚くお礼申し上げます。

目次

第1章 緒言	1
1.1 研究背景	1
1.2 本研究で取り組む課題	3
1.3 研究目的	5
1.4 論文の構成	7
第2章 既往の研究	8
2.1 畜産業における抗菌剤の使用と環境への排出	8
2.1.1 家畜への抗菌剤の使用	8
2.1.2 畜産業からの抗菌剤の排出	10
2.1.3 畜産廃棄物への抗菌剤の残留	11
2.1.4 薬剤耐性菌の選択と残留抗菌剤処理の必要性	15
2.2 既存の畜産廃棄物処理法	17
2.2.1 メタン発酵	17
2.2.2 堆肥化	18
2.2.3 活性汚泥法	18
2.2.4 畜産廃棄物中の残留抗菌剤処理に関する課題	19
2.3 電解酸化法	21
2.3.1 電解酸化法とは	21
2.3.2 直接酸化反応	23
2.3.2.1 電極材料と反応機構	24
2.3.3 間接酸化反応	26

第3章 電解酸化法による生乳に含有するテトラサイクリン系抗菌薬の分解試験

.....	28
3.1 はじめに.....	28
3.2 抗菌剤が残留した廃棄乳の特徴	29
3.3 実験材料.....	31
3.3.1 対象溶液	31
3.3.2 電極材料.....	32
3.4 実験装置.....	33
3.5 実験方法.....	34
3.6 分析方法.....	35
3.6.1 テトラサイクリン系抗菌薬の分析方法	36
3.6.1.1 固相抽出手順	36
3.6.1.2 HPLC を用いた定性定量分析	38
3.6.2 乳タンパク濃度分析方法	39
3.6.3 COD 測定方法.....	40
3.7 実験結果および考察.....	41
3.7.1 供試生乳の評価.....	41
3.7.2 生乳に含有するテトラサイクリン系抗菌薬の分解性.....	42
3.7.3 生乳に含有するオキシテトラサイクリンの分解における陽極材料およ び支持電解質の影響.....	43
3.7.4 生乳に含有するオキシテトラサイクリンと有機成分の分解性の比較 ..	44
3.7.5 生乳に含有するオキシテトラサイクリンの分解における生乳成分の影 響.....	48
3.7.6 生乳に含有するオキシテトラサイクリンの分解における初期濃度の影 響.....	51

3.8	まとめ.....	53
3.8.1	結論.....	53
3.8.2	今後の課題.....	54
第 4 章	電解酸化法による生乳に含有する抗菌剤の選択的な分解手法の確立	55
4.1	はじめに	55
4.2	実験材料	58
4.2.1	対象溶液	58
4.2.2	電極材料	59
4.3	実験装置	60
4.4	実験方法	60
4.5	分析方法	61
4.5.1	セフェム系抗菌薬の分析方法.....	61
4.5.1.1	固相抽出手順	61
4.5.1.2	HPLC を用いた定性定量分析	62
4.6	実験結果および考察	63
4.6.1.	水溶液に含有する抗菌剤の部分的な分解性.....	63
4.6.2.	水溶液に含有する抗菌剤の分解への電流と溶液攪拌速度の影響.....	66
4.6.3	生乳に含有する抗菌剤の分解特性.....	70
4.6.4	生乳に含有する抗菌剤の優先的な分解と処理プロセスの所要電気量と 関係	79
4.7	まとめ.....	83
4.7.1	結論.....	83
4.7.2	今後の課題.....	84

第5章 メタン発酵による乳牛糞尿に残留する抗菌剤の分解手法の検討.....	85
5.1 はじめに	85
5.2 実験材料および方法.....	87
5.2.1 供試試料.....	87
5.2.2 実験方法.....	87
5.2.2.1 メタン発酵試験.....	87
5.2.2.2 メタン発酵後消化液の電解酸化処理.....	89
5.3 分析方法.....	90
5.3.1 糞尿中の抗菌剤の分析方法.....	90
5.3.1.1 固相抽出手順.....	90
5.3.1.2 HPLC を用いた定性定量分析	92
5.3.2 ガス組成分析方法.....	93
5.3.3 有機酸分析方法.....	93
5.4 実験結果および考察	95
5.4.1 中温メタン発酵によるクロルテトラサイクリンの分解試験.....	95
5.4.2 中温メタン発酵によるタイロシンの分解試験.....	96
5.4.3 電解酸化処理によるメタン発酵後消化液に残存する抗菌剤の分解特性..	98
5.4.4 抗菌剤がメタン発酵プロセスに及ぼす影響.....	99
5.4.4.1 バイオガス生成への影響	99
5.4.4.2 有機酸の生成および消失への影響.....	102
5.5 まとめ	106
5.5.1 結論.....	106
5.5.2 今後の課題.....	107

第6章 結言.....	108
-------------	-----

引用文献.....	110
-----------	-----

表 一覧

2-1 乳牛への抗菌剤投与と廃棄乳への残留例

2-2 家畜糞尿からの抗菌剤検出例

2-3 酸化剤の標準酸化還元電位

3-1 実験条件

3-2 テトラサイクリン系抗菌薬の HPLC 分析条件

3-3 テトラサイクリン系抗菌薬の分析における移動相混合割合

3-4 テトラサイクリン系抗菌薬の分析における移動相流速

3-5 乳タンパク濃度分析条件

3-6 生乳に含有する OTC の電解酸化処理における OTC および COD の分解速度定数 (1/min)

4-1 実験条件

4-2 セフェム系抗菌薬の HPLC 分析条件

4-3 水溶液の電解酸化処理における抗菌剤分解性, 所要電気量および電流効率への操作条件の影響

4-4 生乳の電解酸化処理 における CTC 分解の優先性と所要電気量への陽極材料および支持電解質の影響 (1.5 A, 700 rpm)

4-5 生乳の電解酸化処理 における CTC 分解の優先性と所要電気量への操作条件の影響

- 5-1 糞尿に含有する抗菌剤の HPLC 分析条件
- 5-2 糞尿に含有する抗菌剤の HPLC 分析における移動相混合割合
- 5-3 有機酸分析条件
- 5-4 コントロールリアクタを基準とした各リアクタのガス生成量の比較

図 一覧

- 1-1 本論文における研究の概要
- 2-1 2003 年の対象別抗菌剤使用量
- 2-2 動物用抗菌剤の年間販売量
- 2-3 年度別乳房炎発生状況
- 2-4 メタン発酵における有機物分解の概要
- 2-5 直接酸化反応による有機物の分解プロセス
- 2-6 有機物の電気化学的分解における反応機構の模式図
- 2-7 間接酸化反応による有機物の分解プロセス
- 3-1 COD 濃度に換算した生乳成分内訳
- 3-2 抗菌剤が残留した廃棄乳の模式図
- 3-3 テトラサイクリン系抗菌薬の構造式および分子量
- 3-4 Ti/PbO₂ 電極 (上) および Ti/IrO₂ 電極 (下)
- 3-5 電解酸化処理実験装置
- 3-6 実験装置概要図
- 3-7 固相抽出装置

- 3-8 生乳に含有するテトラサイクリン系抗菌薬の固相抽出手順
- 3-9 分光光度計
- 3-10 生乳に含有する TCs の電解酸化処理
- 3-11 生乳に含有する OTC の電解酸化処理における陽極材料および支持電解質の影響
- 3-12 生乳に含有する OTC の電解酸化処理における OTC と COD 濃度変化への陽極材料および支持電解質の影響
- 3-13 生乳に含有する OTC の電解酸化処理における乳成分の影響
- 3-14 (a) 生乳および(b) 脱脂乳に含有する OTC の電解酸化処理における OTC と COD 濃度変化
- 3-15 生乳に含有する OTC の電解酸化処理における OTC 初期濃度の影響
- 4-1 セファゾリンの構造式
- 4-2 生乳に含有するセフェム系抗菌薬の固相抽出手順
- 4-3 Ti/PbO₂ を用いた CTC 水溶液の電解酸化処理における CTC, COD 濃度, 254 nm 吸光度の変化 (0.5 A, 700 rpm)
- 4-4 Ti/PbO₂ を用いた CTC 水溶液の電解酸化処理における CTC 濃度減少に対する COD 濃度減少(700 rpm)
- 4-5 Ti/PbO₂ を用いた CEZ 水溶液の電解酸化処理における CEZ 濃度減少に対する COD 濃度減少(700 rpm)
- 4-6 Ti/PbO₂ を用いた CTC 水溶液の電解酸化処理における対数抗菌剤濃度の変化 (700 rpm)
- 4-7 Ti/PbO₂ を用いた水溶液および生乳に含有する CTC の電解酸化処理 (a) CTC 濃度, (b) ICE_{CTC} (0.5 A, 700 rpm)
- 4-8 Ti/PbO₂ を用いた生乳に含有する CTC の電解酸化処理における電流の影響 (a) CTC 濃度, (b) ICE_{CTC} (700 rpm)
- 4-9 生乳に含有する CTC の電解酸化処理における陽極の影響
(a) CTC 濃度, (b) ICE_{CTC} (700 rpm)

- 4-10 Ti/PbO₂ を用いた生乳に含有する CTC の電解酸化処理における変曲点と臨界点の比較 (a) ICE_{CTC}, (b) CTC 濃度 (1.5 A, 700 rpm)
- 5-1 メタン発酵実験装置概要図
- 5-2 メタン発酵後消化液の電解酸化処理実験装置
- 5-3 糞尿に含有する抗菌剤の固相抽出手順
- 5-4 嫌気性条件における CTC の分解特性
- 5-5 嫌気性条件における TYL の分解特性
- 5-6 メタン発酵プロセスにおける乳牛糞尿に含有する抗菌剤の分解特性
- 5-7 メタン発酵後消化液に含有する CTC の電解酸化処理による分解特性
- 5-8 乳牛糞尿のメタン発酵プロセスにおける累積バイオガス生成量
- 5-9 乳牛糞尿のメタン発酵におけるリアクタ内の有機酸濃度の経時変化 (a) 酪酸, (b) プロピオン酸, (c) 酢酸

本研究を構成している論文

Y. Kitazono, I. Ihara, G. Yoshida, K. Toyoda, K. Umetsu (2011) : Electrochemical oxidation of oxytetracycline contained in waste milk, Proceedings of the CIGR International Symposium on “Sustainable Bioproduction – Water, Energy, and Food” (6 pages), Tokyo, JAPAN, 19-23 September 2011. 第3章の一部に相当。

Y. Kitazono, I. Ihara, G. Yoshida, K. Toyoda, K. Umetsu (2012) : Selective degradation of tetracycline antibiotics present in raw milk by electrochemical method, Journal of Hazardous Materials, 243, 112-116. 第3章に相当。

Y. Kitazono, I. Ihara, K. Toyoda, K. Umetsu (2013) : Electrochemical oxidation of veterinary antibiotics in concentrated wastewater, Proceedings of the 5th IWA-ASPIRE Conference & Exhibition (7 pages), Daejeon, Korea, 8-12 September 2013. 第4章の一部に相当。

Y. Kitazono, I. Ihara, K. Toyoda, K. Umetsu (2016) : Antibiotic removal from waste milk by electrochemical process: degradation characteristics in concentrated organic solution, 投稿中. 第4章に相当。

Y. Kitazono, I. Ihara, K. Toyoda, K. Umetsu (2014) : Degradation of veterinary antibiotics during anaerobic digestion of dairy manure, Proceedings of AGRO'2014-9th IWA International Symposium On Waste Management Problems in Agro-Industries, 6pages. 第5章の一部に相当。

Y. Kitazono, I. Ihara, K. Toyoda, K. Umetsu (2015) : Degradation of veterinary antibiotics during anaerobic digestion of dairy manure, Water Practice & Technology, 10 (3), 532-537. 第5章に相当。

本研究に関連した発表

北藺弓佳, 井原一高, 豊田淨彦, 梅津一孝 (口頭)

電気化学反応による生乳に残留するセフェム系抗生物質の分解処理

2013 年度農業施設学会大会, 岐阜 (2013.8)

Y. Kitazono, I. Ihara, K. Toyoda, K. Umetsu (Poster)

Electrochemical oxidation of veterinary antibiotics in concentrated wastewater

The 5th IWA-ASPIRE Conference & Exhibition, Daejeon (2013.9)

北藺弓佳, 井原一高, 豊田淨彦, 梅津一孝 (口頭)

電気化学反応による有機性濃厚廃液に含有する抗生物質分解の効率化

第 48 回日本水環境学会年会, 宮城 (2014.3)

北藺弓佳, 井原一高, 豊田淨彦, 梅津一孝 (口頭)

電気化学反応による有機性濃厚廃液中の医薬品の分解特性

第 17 回日本水環境学会シンポジウム, 滋賀 (2014.9)

Y. Kitazono, I. Ihara, K. Toyoda, K. Umetsu (Poster)

Degradation of veterinary antibiotics during anaerobic digestion of dairy manure

AGRO'2014-9th IWA International Symposium On Waste Management Problems in Agro-Industries, Kochi (2014.11)

北藺弓佳, 井原一高, 豊田淨彦, 梅津一孝 (ポスター)

メタン発酵による乳牛糞尿に残留する動物用抗菌剤の分解に関する基礎的検討

第 49 回日本水環境学会年会, 石川 (2015.3)

北藺弓佳, 井原一高, 豊田淨彦, 梅津一孝 (口頭)

メタン発酵による乳牛糞尿に残留した動物用抗菌剤の分解に関する検討

農業環境工学関連学会 2015 年合同大会, 岩手 (2015.9)

第 1 章 緒言

1.1 研究背景

畜産物は動物性タンパク質や脂質，ビタミン，ミネラル等を含む栄養に富んだ食品であり，ヒトにとって非常に重要なものである。

畜産環境では，抗菌剤が使用されている。抗菌剤は，近年環境汚染物質として認識され始めている。家畜へと投与された抗菌剤は体内で十分に代謝されず，薬理活性を保持した状態で畜産廃棄物や排水等を介して環境へと排出される場合が多い。抗菌剤の存在は環境中の細菌に影響を及ぼし，新たな耐性遺伝子の出現を誘発する。動物用抗菌剤の多くはヒト用抗菌剤と共通であることから，薬剤耐性菌が環境や食品を介してヒトに伝播し，細菌感染症の治療を困難にするおそれがある。薬剤耐性菌は世界的な課題となっており，世界保健機関 (WHO) は 2014 年に地域別薬剤耐性菌発生状況を公表した。また，米国疾病対策・予防センター (CDC) が 2013 年に発表した薬剤耐性感染症の実情と対策に関する報告書では，食料供給を介した家畜からヒトへの耐性菌の伝播や環境中のヒト以外のものからヒトへの耐性菌の伝播が指摘された。動物用抗菌剤は家畜衛生上重要な医薬品である。このように畜産物の安全や安定供給に貢献してきた抗菌剤の使用が，環境問題や食の安全，ヒトの健康に関連する新たな問題を生み出している。今日では食の安全・安心への関心がますます高まっており，抗菌剤による環境汚染への対策が急がれる。

動物用抗菌剤による環境汚染を防止するためには，抗菌剤の適正使用

に加えて環境への抗菌剤放出の防止が必要である。抗菌剤の適正使用への理解が進んでいる一方、環境への抗菌剤の放出については対策が遅れているのが現状である。わが国でも水環境中からの抗菌剤の検出が相次いで報告されている。抗菌剤による環境汚染を防止するにあたっては、水環境中に拡散した抗菌剤を処理するのではなく、動物用抗菌剤の主たる使用場所であり排出源のひとつである畜産施設そのものからの排出を防止することが望ましい。確実に効率的な対策のためには、畜産施設において発生する畜産廃棄物に残留した抗菌剤の処理技術の開発が必要であると考えられる。

1.2 本研究で取り組む課題

本研究では、畜産施設から環境への動物用抗菌剤排出量を削減し、抗菌剤による環境汚染を防止することを目標とした。畜産施設で飼養される乳牛では、主に疾病治療のために抗菌剤が使用される。薬物動態から、乳牛由来の廃棄物であれば、抗菌剤が残留した生乳（廃棄乳）と糞尿が主たる抗菌剤排出源であり、抗菌剤の処理が求められる。いずれも現状では残留抗菌剤の処理は不十分である。家畜の中でも乳牛は一日あたりの糞尿の排泄量が特に多い。そこで本研究では、廃棄乳と乳牛糞尿の両方についてそれぞれ処理技術を確立することによって、畜産施設からの抗菌剤の排出量を削減することを目指した。

廃棄乳は残留する抗菌剤の濃度が高く、処理法の確立が特に求められる。しかし乳脂肪等生物難分解性物質を含有するため、一般的な生物学的処理法の適用が困難である。そこで、物理化学的手法で生物難分解性有機物の分解が可能である電解酸化法の適用を試みた。電解酸化法は電気化学的手法の1つであり、電気化学的に生成した酸化剤によって、有機物を酸化分解する手法である。

廃棄乳に含有する抗菌剤の処理法として電解酸化法を適用する際、廃棄乳が有機性濃厚溶液であることが課題となる。電解酸化法はエネルギー消費の制約から、一般的に有機物濃度が低い希薄溶液の処理に適するとされ、濃厚溶液への適用例はほとんどない。有機性濃厚溶液である廃棄乳に残留した抗菌剤の処理へ電解酸化法を適用するには、含有する抗菌剤の処理特性の解明とエネルギー消費を抑制した処理プロセスの確立が求められる。

家畜糞尿に関しては、平成16年に「家畜排せつ物の管理の適正化及び

利用の促進に関する法律」(家畜排せつ物法)が施行され、家畜排せつ物の素掘りと野積みが禁止されたことから、堆肥化やメタン発酵処理による資源化と利活用が進んでいる。本研究では家畜糞尿処理法として用いられるメタン発酵処理過程における乳牛糞尿に残留した抗菌剤の分解特性を調べた。メタン発酵では、有機物の分解に伴って、エネルギー利用が可能なバイオガスが生成される。さらに発酵残渣は消化液となり一部を液肥として利用できる。乳牛糞尿は、他の家畜に比べて窒素・リン含有量が多い。しかし、消化液に抗菌剤が残留していると、抗菌剤が液肥から直接土壌や水環境中へ拡散することが懸念されるため、抗菌剤濃度の十分な低減が求められる。そこで、メタン発酵プロセスのみでは抗菌剤濃度の低減が不十分な場合を想定し、メタン発酵後消化液に残存する抗菌剤に対して電解酸化法による後処理を検討した。

1.3 研究目的

本研究では，現状では未処理の畜産廃棄物に残留した抗菌剤について，処理技術の確立を目指した。前節で述べた課題を踏まえ，以下の項目を明らかにすることを目的とした。

- ①電解酸化法による有機性濃厚溶液である生乳に含有する抗菌剤の処理特性
- ②生乳に含有する抗菌剤の電解酸化処理プロセスにおけるエネルギー低減
- ③メタン発酵による乳牛糞尿に含有する抗菌剤の分解特性と抗菌剤が発酵プロセスに及ぼす影響およびメタン発酵後消化液に残存する抗菌剤の電解酸化処理特性

①では，まず抗菌剤水溶液の電解酸化処理を行い，電流値および溶液の攪拌速度が抗菌剤の分解特性に及ぼす影響を調べた。その後生乳に微量に含有する抗菌剤に対して電解酸化処理を行い，水溶液における結果と比較することによって，有機性濃厚溶液中の微量物質の処理特性を明らかにした。

②では，消費エネルギーの低減を目的として，①で明らかにした処理特性を基に，生乳に含有する抗菌剤を標的物質とした選択的な酸化について検討し，処理プロセスの所要電気量の低減を試みた。

③では，抗菌剤を添加した乳牛糞尿のメタン発酵を行い，発酵中の抗菌剤の分解特性および抗菌剤の存在がバイオガス生成等の発酵プロセスに与える影響を調べた。さらに乳牛糞尿のメタン発酵後消化液に抗菌

剤を添加し，電解酸化処理による抗菌剤の分解特性を調べた。

これらの項目について検討することによって，廃棄乳と糞尿の両方に対する処理プロセスの構築を目指した。図 1-1 に本論文における研究の概要を示す。畜産廃棄物に残留した抗菌剤の処理技術を確立することによって，畜産施設からの抗菌剤の排出量削減を実現することを目的とした。抗菌剤が残留した廃棄乳と糞尿の処理法確立は，抗菌剤の環境への拡散の抑止により抗菌剤関連リスクを低減するとともに畜産バイオマスの循環利用にも貢献するものであると考えられる。

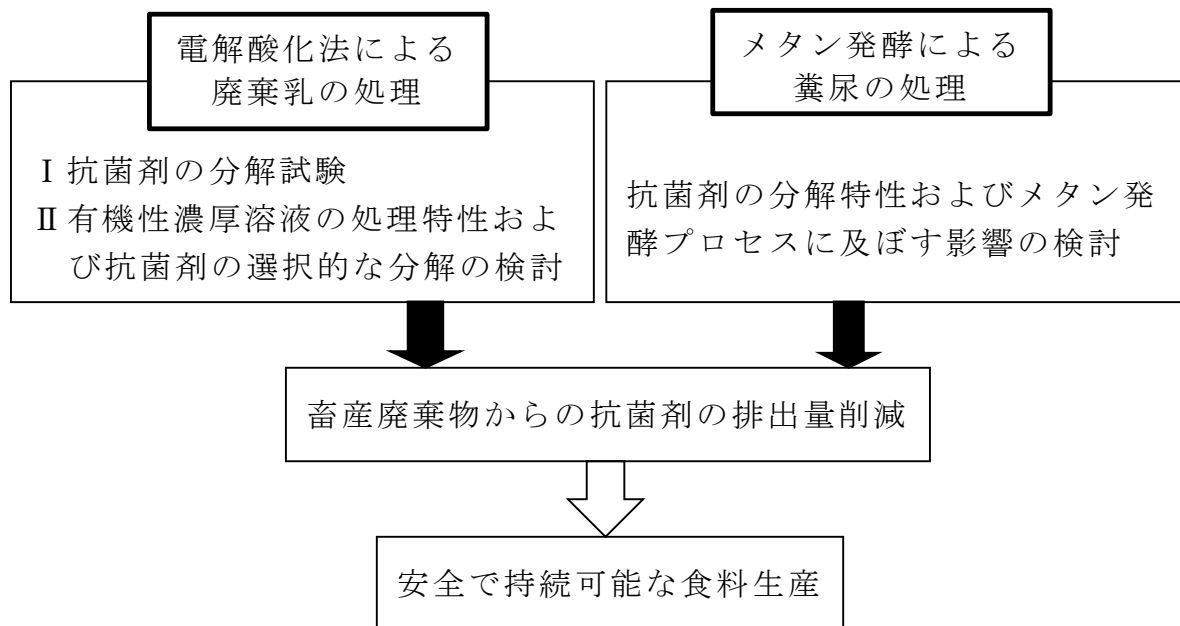


図 1-1 本論文における研究の概要

1.4 論文の構成

本論文は全 6 章から構成されており、各章の概要は以下の通りである。

第 1 章では、緒言として畜産業で使用する抗菌剤の環境拡散に関する課題を示し、本論文での対象と研究目的について述べた。

第 2 章では、畜産業における動物用抗菌剤の使用と環境への排出の現状について概説した後、既存の畜産廃棄物処理法、電解酸化法の原理および畜産廃棄物に残留した抗菌剤の処理への適用における課題について述べた。

第 3 章では、生乳に含有するテトラサイクリン系抗菌薬の分解手法として、電解酸化法の適用を試み、生乳成分や実験条件が抗菌剤の分解に与える影響について検討を行った。

第 4 章では、生乳に含有する抗菌剤の電解酸化処理プロセスにおける消費エネルギーを抑制することを目的として、有機性濃厚溶液である生乳に含有する抗菌剤の処理特性を明らかにするとともに、抗菌剤の選択的な分解について検討した。

第 5 章では、乳牛糞尿に含有する抗菌剤の分解手法として、メタン発酵の適用を試みた。抗菌剤の存在がメタン発酵プロセスに及ぼす影響についても考察を行った。

第 6 章では、前章までの結果をとりまとめ、結言として得られた知見について総括した。

第 2 章 既往の研究

2.1 畜産業における抗菌剤の使用と環境への排出

2.1.1 家畜への抗菌剤の使用

2003 年の統計によると,日本の抗菌剤使用量は年間 2210 t であった。そのうち,約 48%が家畜に,約 24%がヒトに使用されており,家畜に対してヒトよりも多くの抗菌剤が使用されている(農林水産省 消費・安全局資料,2003)(図 2-1)。近年,抗菌剤に依存しない減投薬飼養管理システムが推進されているが,販売量はほぼ横ばいである(図 2-2)。抗菌剤は肺炎をはじめとする細菌性感染症の治療の他,疾病の予防,発育促進,飼料効率の改善を目的として飼料添加物としても投与される。抗菌剤には,家畜体内における有害な細菌の発育抑制,細菌による栄養成分利用の抑制,有害な発酵物産生の抑制作用があり,それらが家畜の成長促進につながると考えられている。現在,飼料が含有する栄養成分の有効利用の促進を用途として,23 種の抗菌剤が飼料添加物に指定されており,その使用量は全抗菌剤使用量の数十%を占める(農林水産消費安全技術センター,2014)。

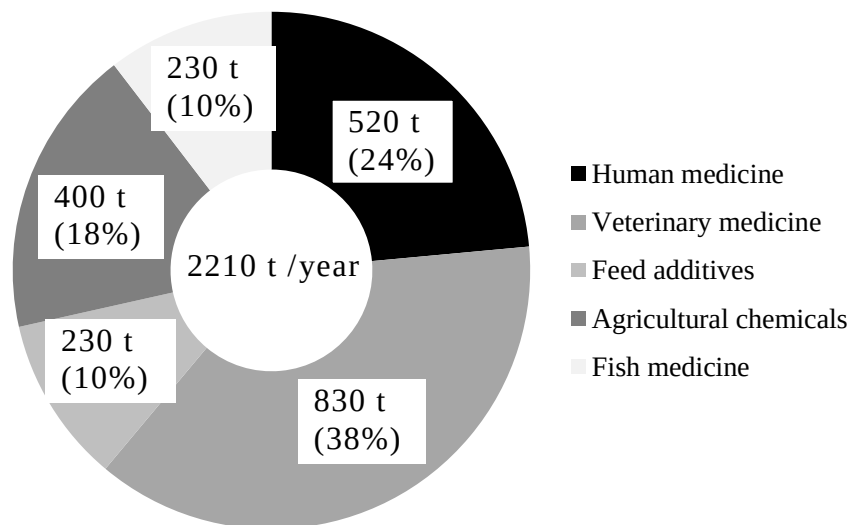


図 2-1 2003 年の対象別抗菌剤使用量
(農林水産省 消費・安全局資料, 2003)

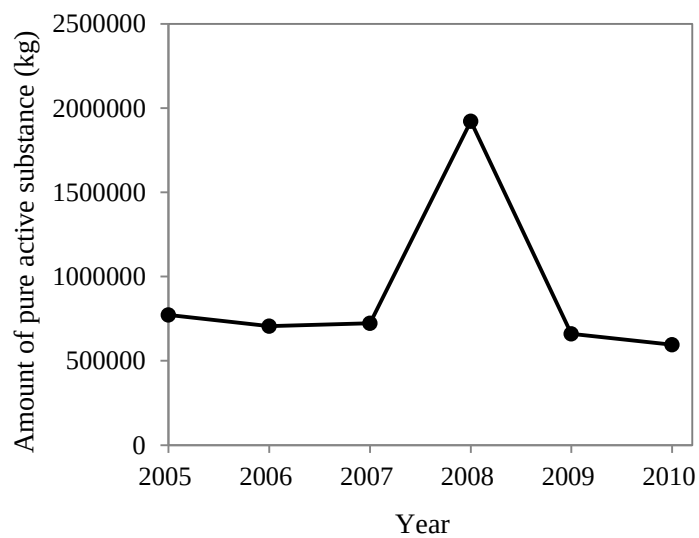


図 2-2 動物用抗菌剤の年間販売量 (日本動物医薬品協会資料, 2012)

2.1.2 畜産業からの抗菌剤の排出

2003 年の動物用医薬品としての抗菌剤使用量は 830 t、飼料添加物としては 230 t であった (農林水産省 消費・安全局資料, 2003)。抗菌剤は、体内で十分に代謝されず、約 75% が親化合物のままもしくは代謝物として体外へと排泄される (Qiang et al., 2006; Matsui et al., 2008)。抗菌剤の使用量が多い畜産施設から排出される廃棄物や排水中には、抗菌剤が残留している可能性が高い。世界的に使用量の多い抗菌剤であるオキシテトラサイクリンとクロルテトラサイクリンの糞尿中の濃度がそれぞれ 0.006-136 mg/L, 0.003-46 mg/L であったという報告がある (Álvarez et al., 2010)。水環境中においても近年抗菌剤の検出が多数報告されている。日本の畜産地帯付近の河川からは、高濃度 (2 ng/L-68 µg/L) のオキシテトラサイクリンの他、複数の抗菌剤が検出された (井原ら, 2012)。国外においても、養豚場や養鶏場付近のラグーン中からリンコマイシン (2.5-240 µg/L) やペニシリン (2.1-3.5 µg/L), エリスロマイシン (2.5 µg/L) 等が検出された例がある (Chee-Sanford et al., 2009)。

抗菌剤は、飼料添加剤・飼料添加物のような経口からの摂取および注射による摂取の場合は、主として糞尿や胆汁中に排出される。一方、牛乳房炎治療における乳房局所治療による摂取の場合は、主に生乳中に排出される。

2.1.3 畜産廃棄物への抗菌剤の残留

乳牛に抗菌剤を投与すると、抗菌剤が残留した畜産廃棄物として糞尿と生乳（廃棄乳）が発生する。表 2-1 に乳牛への治療と廃棄乳中残留濃度の例を示す。

乳牛に頻発する疾病に牛乳房炎がある。牛乳房炎は、乳房内に侵入した微生物の定着および増殖によっておこる炎症であり、発生件数が多いことから酪農経営における影響が大きい疾病である。泌乳期の牛の 2-55%が乳房炎に感染している可能性がある (Langford et al., 2003)。乳房炎の中でも、伝染性乳房炎は防除が可能であるが、大腸菌由来のような環境性感染は常に生じる上、乳腺組織は外界と接しているため、病原菌の暴露を受けやすく、乳房炎の撲滅は困難である。複合的な感染のすべてに有効な単一のワクチンの開発は難しく、乳牛に代表的な疾病となっている (Blowey and Edmondson, 2003)。農林水産省の家畜共済統計によると、乳房炎の発生件数は増加傾向にあり (図 2-3), 加入件数の約 3 割, 病傷事故件数の約 4 割を占める。

乳房炎は細菌感染が原因であり、治療には抗菌剤が有効とされ、一般的に使用される。投与方法としては、乳腺組織に抗菌剤を高濃度で分布させることを目的として、乳房に直接抗菌剤を注入・注射することが多い。2010 年における乳牛への投与を対象とした抗菌剤の販売量のうち、約 17%が注入・挿入薬であった (日本動物用医薬品協会資料, 2012)。投与された抗菌剤は主に生乳中に排出される。Stockler et al. (2009) は、200 mg の抗菌剤を乳房内投与した場合に、生乳中の残留濃度が 44.2 mg/L であったと報告した。また、乳房から吸収された抗菌剤の一部は、糞尿中にも排泄される。乳房内に抗菌剤を一分房あたり 50 mg 注入した場合、

乳汁中から 50.7%，尿中から 12.7%，糞中から 27.6%が回収された（大野，2008）。抗菌剤が乳脂肪やカゼイン，カルシウム等の生乳成分と結合すると，乳汁中への排泄割合は増加する。各抗菌剤に定められた生乳出荷停止期間（休薬期間）中の生乳は出荷することができず廃棄されるため，廃棄乳と呼ばれる。かつては抗菌剤が残留した廃棄乳を子牛へ供給していたが，飲用の拒絶，発育不全，病気や腸内での薬剤耐性菌の発生といった問題が報告された（Wray et al., 1990; Langford et al., 2003）。そこで現在では，子牛に給餌されることはほとんど無く，廃棄されている。笹野（1998）によれば，北海道では平成 3-7 年度の 5 ヶ年間で約 1300 t の抗菌性物質残留乳が廃棄された。廃棄乳は，COD 濃度が高く有機物負荷を上昇させるため，通常活性汚泥法による処理が行われる酪農廃水とは分離される（猫本，2010）。現状では圃場還元が推奨され，主な処理方法となっている（Payer and Holmes, 1994）。しかし，抗菌剤が残留した廃棄乳の場合，圃場還元により抗菌剤が環境中へそのまま導入されるおそれがある。抗菌剤の残留した廃棄乳が適切に処理されないことによって，抗菌剤が環境中へ拡散している可能性がある。

上述のように，乳房炎治療のために乳房内に抗菌剤を投与した場合，抗菌剤は生乳中だけでなく糞尿中にも排出される（大野，2008）。乳牛では，慢性・潜在性乳房炎の治療を目的として，乾乳期にも高濃度の抗菌剤を乳房内に投与することが一般的である。あわせて経口や注射等による投与では，抗菌剤は大部分が糞尿中に排出される。表 2-2 に糞尿中の抗菌剤検出濃度を示す。Zhao et al. (2010) は牛糞中の 19 の抗菌剤について残留濃度を測定し，数十 mg/kg の抗菌剤が検出された牛糞が多く存在したことを報告した。糞尿は廃棄乳に比べ，排出量が多く，抗菌剤の環境への主要な排出源である。平成 16 年 11 月に施行された法律「家畜排

せつ物の管理の適正化及び利用の促進に関する法律」のため、家畜糞尿は利活用が進んでいる。平成 19 年の基本方針の新たな改定では、家畜排泄物のエネルギーとしての利用の推進にもポイントが置かれた。近年では糞尿は高いエネルギー価値 (4,000 kcal/kg 乾物重量) を持つ資源 (羽賀, 2008) であるという認識が普及してきた。しかし、抗菌剤が残留したまま利用すると、抗菌剤の土壌や水環境中への拡散を導くことが懸念される。畜産バイオマスの利用が進んでいる一方で、糞尿資源の安全性への対策は、食の安全に係る問題であるにも関わらず遅れているのが現状である。

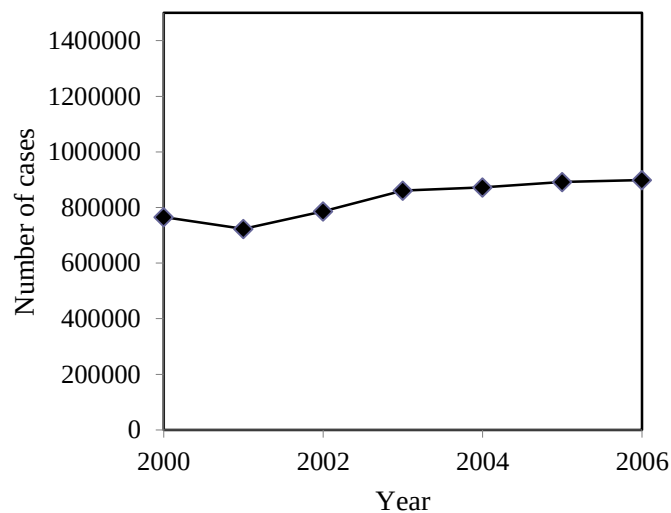


図 2-3 年度別乳房炎発生状況 (家畜共済統計, 2007)

表 2-1 乳牛への抗菌剤投与と廃棄乳への残留例

抗菌剤	投与経路	投与濃度	残留濃度	文献
ペニシリン G	経口	6.25-50 (μ L/kg)	1.8-50.4 (μ L/kg)	Langford et al., 2003
テトラサイクリン	子宮内	3 (g)	159-720 (μ g/L)	Hajurka et al., 2003
ピルリマイシン	乳房内	50 (mg/分房)	13.6 $\pm$ 7.18 (mg/L)	大野, 2008
テトラサイクリン	静脈	10 (mg/kg)	6.18 $\pm$ 0.73 8 (mg/L)	Rodrigues et al., 2009
セファゾリン	乳房内	450 (mg)	2.16-25.1 (mg/kg)	梶田ら, 2012
セファゾリン	乳房内	3 日間 600 (mg/分房/日) 250 (mg/分房)	10->100 (mg/L) 68 (mg/L)	食品安全委員会肥 料・飼料等専門調 査会, 2012

表 2-2 家畜糞尿からの抗菌剤検出例

家畜	抗菌剤	検出濃度	文献
牛	セフトオフル	8.09-111(mg/L)	Gilbertson et al., 1990
牛	オキシテトラサイクリン	872 (mg/kg)	De Liguoro et al., 2003
	タイロシン	116 (mg/kg)	
豚	クロルテトラサイクリン	46 (mg/kg)	Martínez-Carballo et al., 2007
豚	オキシテトラサイクリン	354 (mg/kg)	Chen et al., 2012

2.1.4 薬剤耐性菌の選択と残留抗菌剤処理の必要性

近年、環境中に存在している抗菌剤の残渣に関する問題が取りざたされている。これは家畜やヒトにおける抗菌剤に対する耐性菌の出現のためである (Tao et al., 2010)。抗菌薬耐性菌とは、通常で有効とされている抗菌剤を適正な投与経路で投与しても効果が認められない細菌をいう (山口, 1998)。オキシテトラサイクリンでは、耐性率はサルモネラ属菌で 76%, カンピロバクター属菌で 50.6%, 大腸菌で 51.3%にのぼる (動物用抗菌剤研究会, 2004)。抗菌剤への耐性菌が発生すると、感染症治療に対する抗菌剤の使用が困難になるため、耐性菌の問題は世界的に議論されている。

抗菌剤耐性遺伝子は、微生物の生存競争の中から編み出された防衛手段の一つであり、自然界には本来あらゆる耐性遺伝子がプールされている。抗菌剤が使用されると、その抗菌剤に対する耐性遺伝子を乗せたプラスミド、トランスポゾンを保有する菌株がピックアップされ、他の菌株に伝達される。抗菌剤を広範囲に大量使用するにつれ、抗菌剤耐性遺伝子を獲得した耐性株が蔓延する (山口, 1998)。

抗菌剤耐性遺伝子はヒトや動物のみならず環境、食品を含めた生態系で循環している。田村 (2007) は、ヒトにいたる耐性菌の伝播経路として畜産分野・ヒト医療という使用場所に加えて、環境も考慮に入れる必要性を示した。抗菌剤の残留する畜産廃棄物が適切に処理されないと、抗菌剤が環境中へ放出され、抗菌剤耐性遺伝子の選択および拡散を加速する。実際に日本国内において、畜産排水が流入する河川から家畜由来と推定される薬剤耐性大腸菌が検出された (清野ら, 2004)。鶏糞から作

成された堆肥の使用により、堆肥中に残留していたアンピシリンが河川に流出した結果、河川中でアンピシリンの耐性菌が優先化したという報告もある (中尾ら, 2008)。低濃度であっても抗菌剤の長期暴露は抗菌剤耐性をもたらす (Dirany, 2010)。新たな耐性遺伝子の出現および薬剤耐性菌の環境を経由した伝播を防ぐためには、動物用抗菌剤が残留した糞尿や廃棄乳といった畜産廃棄物を適切に処理し、畜産施設から環境への抗菌剤排出量を削減する必要がある。抗菌剤は太陽光によって分解される場合があるが、その分解性は光強度と抗菌剤の性質に依存する。表層水に対しては効果的であっても、糞尿のように褐色な媒体に対しては光分解が十分に起こらない可能性がある (Kümmerer, 2009)。生乳は、有機物濃度が高くコロイド溶液であることから、光分解の有効性が低いことが推測される。また、紫外線による分解生成物が保護フィルムのように働き、親化合物のさらなる分解を妨害するという報告もある (Gilbertson et al., 1990)。畜産廃棄物に残留する抗菌剤の確実な分解手法が求められる。

本研究では、動物用抗菌剤の主たる使用場所であり排出源である畜産施設からの排出防止技術の開発を試みた。乳牛からの抗菌剤排出量と排出先を考慮し、畜産廃棄物の中でも乳房局所治療のため抗菌剤の残留濃度が高い廃棄乳、そして抗菌剤の残留頻度が高い糞尿に残留する抗菌剤に対して処理方法の確立を試みた。

2.2 既存の畜産廃棄物処理法

2.2.1 メタン発酵

メタン発酵とは、酸素のない嫌気性環境下で生育する嫌気性菌の代謝作用により、有機物をメタンガスや炭酸ガスに分解する生物学的処理方法である (片岡, 2010)。発酵中にウイルスや病原微生物, 寄生虫卵を死滅させることが可能である。メタンガス (バイオガス) と液肥 (消化液) が得られることから, 主に家畜糞尿の処理法としての研究や実用例が多く, 排水処理に適用される場合もある (Speece, 1999)。バイオガスはメタンを約 60% 含み, エネルギー利用することができる。メタン発酵はカーボンニュートラルな処理法であるため, 地球温暖化防止に貢献する。近年では 2002 年より始まったバイオマス・ニッポン総合戦略や循環型社会形成への意識の高まりにより, 注目されている。

メタン発酵における有機物の生物分解反応は, 5 種類の素プロセスから成り立つ。1 つ目は微細化反応で, 固形物の微細化反応による溶解性の生物分解性高分子成分 (炭水化物, タンパク質, 脂質) と非生物分解性成分 (不活性物質) の生成である。さらに, 有機物の加水分解によるモノマー (単糖, アミノ酸, 脂肪酸) の生成がある。2 つ目は加水分解反応で, 溶解性の生物分解性高分子有機物の加水分解によるモノマー (単糖, アミノ酸, 脂肪酸) の生成である。3 つ目は酸生成反応で, 加水分解産物であるモノマーから揮発性脂肪酸 (酪酸, プロピオン酸等の有機酸) や水素ガスの生成, ならびにそれに伴う細菌群の増殖である。4 つ目は酢酸生成反応で, 単糖類や揮発性脂肪酸からの酢酸や水素ガスの生成, ならびにそれに伴う細菌群の増殖である。5 つ目はメタン生成反応で,

酢酸や水素ガスからのメタンの生成，ならびにそれに伴う細菌群の増殖である。1 から 3 までの段階をあわせて酸生成相，4 と 5 の段階をあわせてメタン生成相と呼ぶことが多い (安井, 2009)。図 2-4 にメタン発酵における有機物の嫌気分解経路を示す。

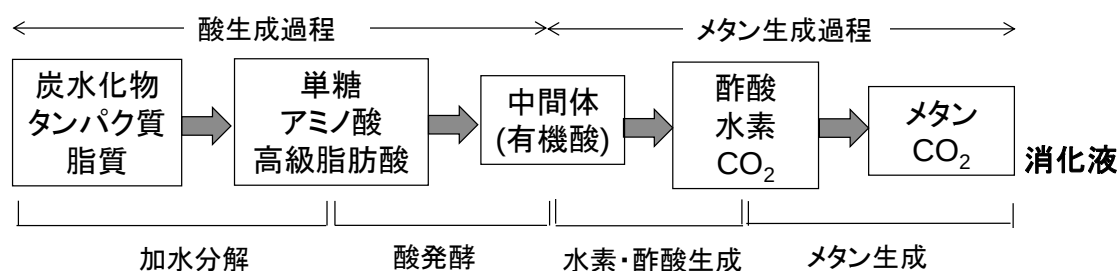


図 2-4 メタン発酵における有機物分解の概要

2.2.2 堆肥化

堆肥化处理は好気性プロセスでコンポストとも呼ばれる。ある適性に制御された条件下で，好気性微生物が家畜糞中の易分解性有機物を好氣的に分解・変化させて悪臭の少ない良質な有機質肥料を生産することである (羽賀, 2012)。多様な微生物が有機物を分解して，安定した有機，無機副産物を生産する。処理中に高温になることにより，病原菌，寄生虫，雑草の種子等を分解・死滅させることができる。

2.2.3 活性汚泥法

好気性微生物の作用によって汚濁有機物を酸化する手法で (押田,

2012), 汚水の処理に使用されることが多い。活性汚泥は細菌や真菌が粘性物質を産生しあって、30-300 μm の塊を形成し、その周囲に原生動物と微小後生動物が生息している。曝気による酸素の供給を必要とする(柿市, 2001)

2.2.4 畜産廃棄物中の残留抗菌剤処理に関する課題

本研究では、廃棄乳と乳牛糞尿に残留した抗菌剤の処理プロセスの構築を目指した。

廃棄乳においては、微量に残留する抗菌剤の分解は、生乳成分による妨害を受けることが予想される。また、含有する乳脂肪が微生物反応を阻害すること、および生乳の高い有機物濃度から、生乳中の抗菌剤の処理には生物学的処理の適用は困難であると考えられる。一方、物理的分離プロセスでは抗菌剤が他の場所へ移動するにすぎず、さらなる後処理を必要とする。抗菌剤が残留した廃棄乳の新たな処理法が求められている。そこで物理化学的手法で難分解性有機物の分解が可能である電解酸化法の適用を試みた。

家畜糞尿は、発生量が多いことから活性汚泥法で処理することは困難であり、安定化や臭気対策として堆肥化処理やメタン発酵処理が用いられることが多い。家畜糞尿を堆肥化する際には、水分調整と曝気による酸素の供給が必要である(柿市, 2001)。一方、嫌気性処理であるメタン発酵では、曝気の必要が無く、糞尿からのエネルギー回収が見込まれ、発酵過程で窒素成分の無機化や悪臭の低減が可能である(亀岡, 2006)。そ

ここで本研究では、抗菌剤が残留した糞尿の処理法としてメタン発酵の適用を試み、発酵プロセスにおける抗菌剤の分解特性を調べた。

2.3 電解酸化法

2.3.1 電解酸化法とは

電解酸化法は，促進酸化法の一つである。促進酸化法とは，オゾンや過酸化水素，紫外線，光触媒やそれらの組み合わせによって，強力な酸化剤であるヒドロキシラジカル (OH ラジカル) を生成し，その強い酸化力で溶液中の対象物質を分解する手法である。OH ラジカルは，酸素原子の 2 つの不対電子の 1 つが水素原子と共有結合したものであり，不対電子を 1 つ持つ。促進酸化法は従来の生物学的手法では困難とされている難分解性有機物の酸化分解が可能であるため，新たな廃水処理法として注目を集め，近年盛んに研究されている。表 2-3 に OH ラジカル，オゾン，過酸化水素および次亜塩素酸の標準酸化還元電位を示す。

表 2-3 酸化剤の標準酸化還元電位 (中山, 2008)

	ヒドロキシラジカル	オゾン	次亜塩素酸
酸化還元電位 (V)	2.85	2.07	1.47

オゾンは強い酸化力を持つものの，オゾンによる酸化反応はすべての有機物を分解可能ではないとされる。また，有機物を完全に無機化するのではなく，部分的に酸化する。飲料水の消毒や廃水の生物学的処理の前後処理として使用されることが多い (Maldonado et al., 2006)。

OH ラジカルは他の酸化剤よりも酸化還元電位が高く，その非常に強い酸化力と高い反応性からほとんどすべての有機物と反応し，CO₂ まで完全酸化することが理論的に可能である (Lee and von Gunten, 2010;

Comninellis, 1994)。

促進酸化法には種々の手法があるが，その中でも近年注目されているのが電解酸化法である。電解酸化法とは，電気化学的に生成した酸化剤によって溶液中の有機物を酸化分解する方法である。物理化学的な手法であり，化学物質の添加の必要がなく，環境適合性が高い，反応制御が容易という利点を持つ (Jara et al., 2007)。さらに，有機汚染物質の処理に利用されることの多いオゾンや過酸化水素を使用する方法と比べて効率的で，費用対効果が高い (Dirany et al., 2010)。電解酸化法の長所として以下が挙げられる。

- ・ 反応が高速である。
- ・ 電源の操作により，反応の制御が容易にできる。
- ・ 汚泥生成が極めて少ない。
- ・ 外気温に左右されにくい。
- ・ 処理操作が極めて簡単である。

これまでに電気化学的手法は，飲料水の消毒等への適用が検討されてきた (Siddique et al., 2011)。有機系廃水では，Aquino et al. (2011) が合成染料を含む織物工場廃水に対して，Miyata et al. (2011) が水溶液中のテトラサイクリン系抗菌薬に対して電解酸化法を適用し，それぞれ効率的な除去を達成する等，様々な廃水の処理について報告がある (Rao et al., 2009)。これらのほとんどは有機物濃度が低い希薄廃水である。一方，本研究で対象とする生乳は，COD 濃度が 150,000 mg/L 以上と高い。有機物濃度の高い溶液に対して電解酸化法を適用した例としては，吉田ら (2010) が 100 倍希釈生乳に対して，Israilides et al. (1997) がオリーブオ

イル工場廃水に対して電解酸化処理を適用した例等がある。

本研究では，廃棄乳に残留した抗菌剤の処理法および糞尿に残留した抗菌剤のメタン発酵後消化液に残存する抗菌剤の分解手法として電解酸化法を適用した。電解酸化処理法は上述のように薬剤の添加の必要が無く，操作が容易でありながら処理速度が大きいいため，畜産施設での利用に適すると考えられる。電解酸化法は，電極近傍で起こる直接酸化反応と電極間バルクで起こる間接酸化反応の 2 種類に分類される (Chiang et al, 1995)。

2.3.2 直接酸化反応

直接酸化反応は電極表面近傍で起こる反応で，陽極付近で生成された酸化剤が有機物を酸化する反応である (図 2-5)。陽極に吸着した水分子が電子を失って生成した OH ラジカルが酸化剤として働き，有機物を分解する。OH ラジカルは不安定で他の物質から電子を奪う傾向が強く，酸化剤として作用する。その強い酸化力から，汚染物質を分解できる一方，寿命が 100 万分の 1 秒と非常に短いため，分解対象物質濃度が低い溶液では高い効率を得ることが難しい。

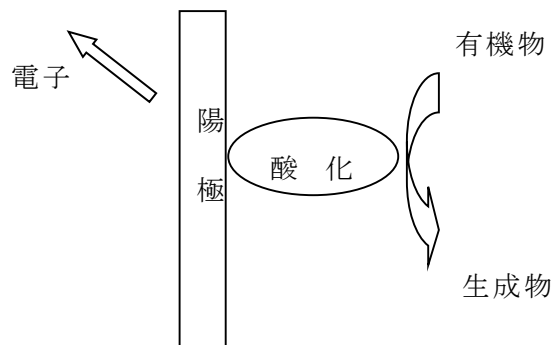


図 2-5 直接酸化反応による有機物の分解プロセス (Chaing et al., 1995)

2.3.2.1 電極材料と反応機構

直接酸化反応は陽極材料の種類により，酸素同時放出を伴う 2 つの反応機構に分けられる (Comninellis, 1994)。図 2-6 は有機物の分解に関する電気化学反応機構である。

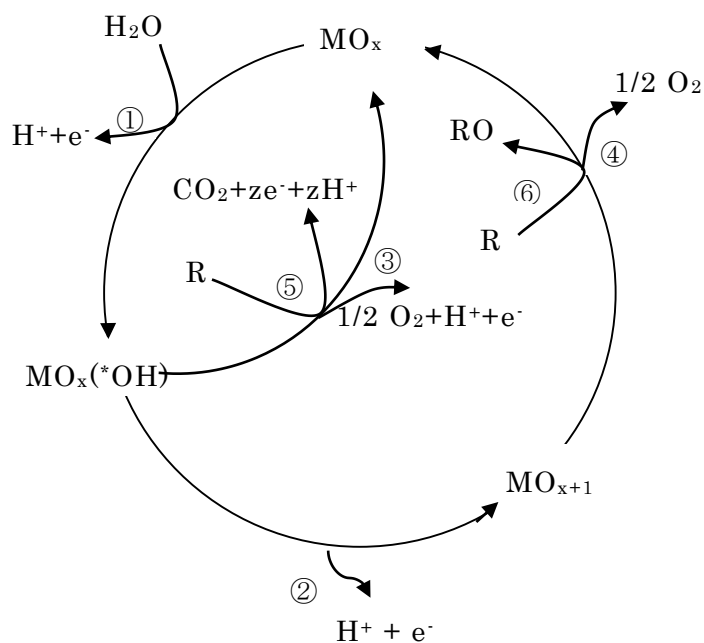
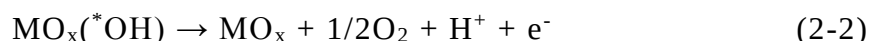


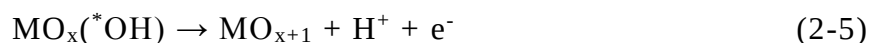
図 2-6 有機物の電気化学的分解における反応機構の模式図
 MO_x : 電極表面, R: 有機物 (Comninellis, 1994)

Ti/TiO₂ や Ti/SnO₂, Ti/PbO₂ 電極を陽極として用いた場合、電極表面上に物理吸着した OH ラジカルが図 2-6 の⑤のように、有機物を完全酸化する。これらの電極は不活性電極と呼ばれる。この時、不活性電極表面上では以下の式に従い有機物の分解反応が進行する (杉本ら, 2001)。



式(2-1)のように、陽極に吸着した水分子が電子を 1 つ失うことにより、OH ラジカルが生成される。電極表面において、陽極に物理吸着した OH ラジカル (MO_x(^{*}OH)) は強力な酸化剤であるため、式(2-3)に示したように、有機物を CO₂ まで完全酸化する。酸化しうる有機物が存在しない時は、式(2-2)のように酸素分子を生成する。

Ti/RuO₂ や Ti/IrO₂ 電極を陽極として用いた場合は、電極上での OH ラジカルの蓄積が抑制され、図 2-6 の⑥のように、有機物の完全酸化が抑えられる。これらの電極は活性電極と呼ばれる。この時、活性電極表面上では以下の式に従い有機物の分解反応が進行する (杉本ら, 2001)。



式(2-5)のように活性電極上では、吸着した OH ラジカルはさらに電子

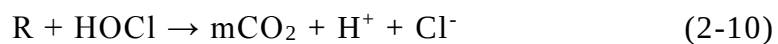
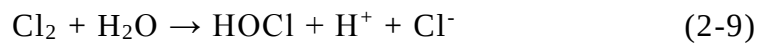
を1つ失い、より酸化状態の高い酸化物陽極 MO_{x+1} となる。化学吸着した MO_{x+1} は部分的酸化産物の形成に関与し、式(2-7)のように酸化反応が起こる。酸化しうる有機物が存在しない時は、式(2-6)のように酸素分子を生成する。

酸素生成に要する標準電極電位は、OH ラジカル生成反応の電位よりも小さい (岸本, 2008)。よって、OH ラジカルの生成反応よりも酸素生成反応の方が進みやすいため、電極表面に生成した OH ラジカルはすぐに酸素に変化すると考えられる。一般に OH ラジカルによる有機物分解の電流効率は低い場合が多いが、これは電極表面に吸着した OH ラジカルの寿命が短いため、有機物と反応する前に酸素を生成することが原因である。Ti/PbO₂ 電極のような不活性電極は酸素生成過電圧が大きいため、OH ラジカルが酸素になる反応が進行しにくく、OH ラジカルと有機物の反応性が Ti/IrO₂ 電極のような活性電極よりも向上すると考えられる (Kapalca et al., 2008)。

2.3.3 間接酸化反応

間接酸化反応は、電極間のバルク中で主に起こる反応である。そのメカニズムは、溶液中にメディエーターが存在する場合、メディエーターが陽極との間で電子の授受を行い酸化され酸化剤となり、この酸化剤によって有機物が酸化される (図 2-7)。

溶液中にメディエーターとなる塩化物イオンが存在する場合には、電気化学的に生成された次亜塩素酸 (HOCl) が酸化剤として働く。反応のプロセスは以下のとおりである (Chaing et al., 1995)。



塩化物イオンを含んだ溶液を電解酸化処理すると，式(2-8)のように陽極に塩素ガスが発生する。この塩素ガスは，還元物質から電子を奪い，陽極に電子を受け渡す役割をしており，水に溶解すると 式(2-9)のように加水分解が起こる。ここで生成した次亜塩素酸は，式(2-10)で示したように，有機物を酸化分解する。次亜塩素酸は，OH ラジカルに比べ酸化力は劣るが，寿命が長い。

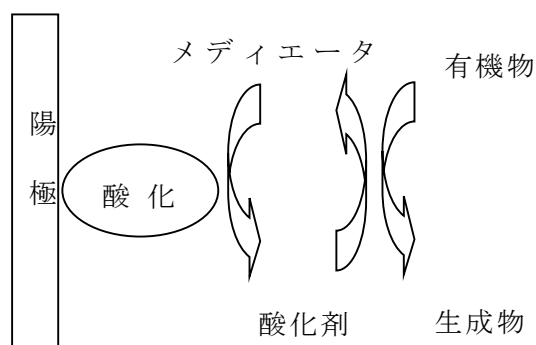


図 2-7 間接酸化反応による有機物の分解プロセス (Chaing et al., 1995)

第 3 章 電解酸化法による生乳に含有するテトラサイクリン系抗菌薬の分解試験

3.1 はじめに

本章では、廃棄乳に残留する抗菌剤の分解処理法として電解酸化法の適用を検討した。電解酸化法は一般的に COD 濃度が 5 g/L 以下の希薄廃水の処理に適するとされる (Kapalca et al., 2008)。一方、生乳は COD 濃度が 150-200 g/L と高い有機性濃厚溶液である。本研究での処理対象物質は、有機性濃厚溶液である生乳に微量に含有する抗菌剤である。電解酸化処理の主要課題として高いエネルギー消費量が挙げられる。そこで、陽極材料の種類や支持電解質といった実験条件が抗菌剤や生乳の分解に及ぼす影響について調べ、生乳に含有する抗菌剤の効率的な分解を目指した。電解酸化法による廃棄乳に残留する抗菌剤の処理法確立の基礎とするために、以下の項目を明らかにすることを本章の目的とした。

- 1) 電解酸化法による生乳に含有するテトラサイクリン系抗菌薬の分解特性
- 2) 陽極材料や支持電解質が電解酸化法による生乳に含有するオキシテトラサイクリンの分解に及ぼす影響
- 3) 生乳成分が電解酸化法による生乳に含有するオキシテトラサイクリンの分解に及ぼす影響

3.2 抗菌剤が残留した廃棄乳の特徴

生乳は，乳脂肪やラクトース，タンパク質等の有機物が溶存した多成分溶液であり，有機物を高濃度に含有する有機性濃厚溶液である。生乳中のタンパク質はカゼインが主であり，カゼインミセルの状態，乳脂肪は1分子のグリセリンに3分子の脂肪酸がエステル結合したトリグリセリドの状態が存在する。有機物濃度の指標であるCOD濃度は，150,000-200,000 mg/L にのぼる。図 3-1 は，生乳の成分を COD 濃度による割合で示したものである。本研究で対象とする動物用抗菌剤が残留した廃棄乳では，このような特徴を持つ生乳中に抗菌剤がわずかに溶解している。100 mg/L の抗菌剤の理論 COD 濃度は，約 200 mg/L であり，生乳の約 800 分の 1 と小さく，廃棄乳において抗菌剤は生乳成分と比べて微量である。図 3-2 に抗菌剤が残留した廃棄乳の模式図を示す。

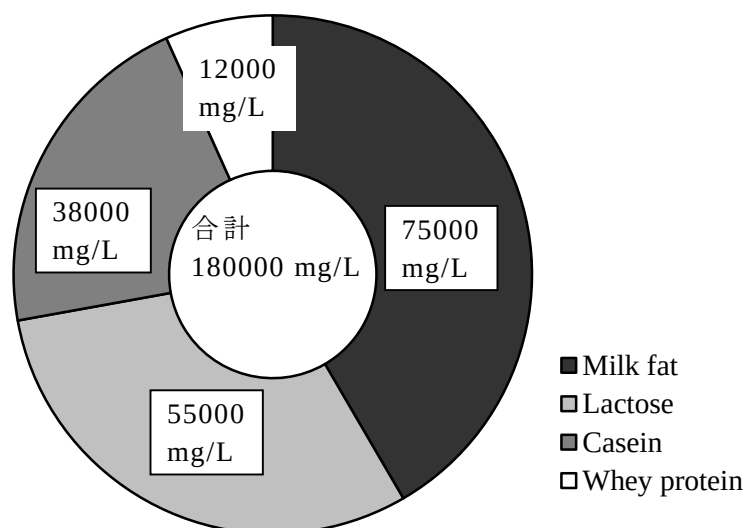


図 3-1 COD 濃度に換算した生乳成分内訳

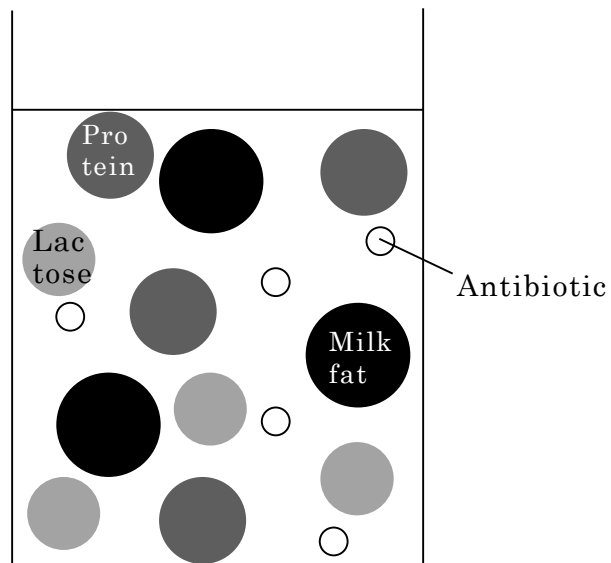
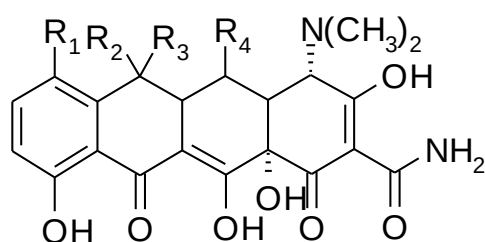


図 3-2 抗菌剤が残留した廃棄乳の模式図

3.3 実験材料

3.3.1 対象溶液

実際に畜産施設において発生する廃棄乳を想定して、抗菌剤 0.03 g を生乳または市販牛乳 300 ml に添加し、抗菌剤濃度を 100 mg/L に調整した。そして電流を流すため、支持電解質として Na_2SO_4 または NaCl を 1.0 g 添加し、対象溶液とした。水溶液についても同様に抗菌剤濃度が 100 mg/L、支持電解質を 1.0 g 含有する溶液を作成し、対象溶液とした。生乳は、兵庫県内の牧場から採取したものを使用した。実験に供試するまではポリエチレン密閉容器に入れて冷凍保存し、実験の前日から解凍した。市販牛乳（明治おいしい牛乳，明治製）は近所のスーパーで購入し、実験に供試した。抗菌剤は、テトラサイクリン系抗菌薬を対象とした。テトラサイクリン系抗菌薬は細胞のタンパク質生合成を阻止することで静菌効果をもたらし、抗菌スペクトラムが広く、安価で一般的な抗菌剤である。疾病治療の他、成長促進や病気予防のため家畜に投与されており、わが国において動物用抗菌剤の中で最も使用量が多い。2010 年のテトラサイクリン系抗菌薬の販売量は 331,490 kg であった（日本動物用医薬品協会資料, 2012）。テトラサイクリン系抗菌薬はカルシウムイオンと強い親和性を示し、骨のアパタイトのカルシウム原子と結合する (Brion et al., 1981)。そのため、一度骨に蓄積した後、二段階で緩やかに排出される (吉田, 1985)。乳房内投与剤の休薬期間は 96 時間である。本研究で使用した 3 種類のテトラサイクリン系抗菌薬の構造式および分子量を図 3-3 に示す。



Name	Symbol	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	MW
tetracycline	TC	H	CH ₃	OH	H	444.44
oxytetracycline	OTC	H	OH	H	OH	460.43
chlortetracycline	CTC	Cl	OH	H	H	478.88

図 3-3 テトラサイクリン系抗菌薬の構造式および分子量

3.3.2 電極材料

電解酸化法では、金属が溶出しない不溶性電極を用いることが望ましい。本研究では、チタンに二酸化鉛をコーティングした Ti/PbO₂ (メッシュ) およびチタンに二酸化イリジウムをコーティングした Ti/IrO₂ (メッシュ) を陽極とし、陰極には Ti プレートを用いた。開口電極面積は、50 mm × 100 mm である。使用した陽極の写真を図 3-4 に示す。

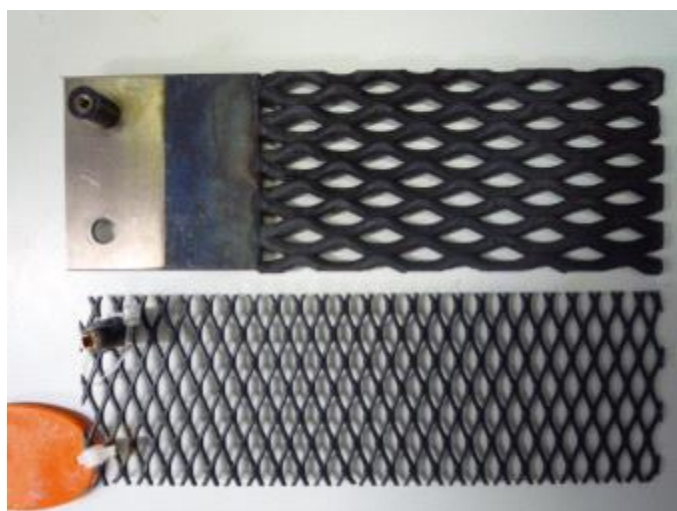


図 3-4 Ti/PbO₂ 電極 (上) および Ti/IrO₂ 電極 (下)

3.4 実験装置

電解酸化実験は，マグネティックスターラー (ADVANTEC, SRS316AA) の上に置いた，攪拌子の入った 500 mL トールビーカー内で行った。実験装置の写真を図 3-5 に，概要を図 3-6 に示す。電極間距離は，5 mm とした。電源には，直流安定化電源 (高砂製作所, KX-210L) を用いた。



図 3-5 電解酸化処理実験装置

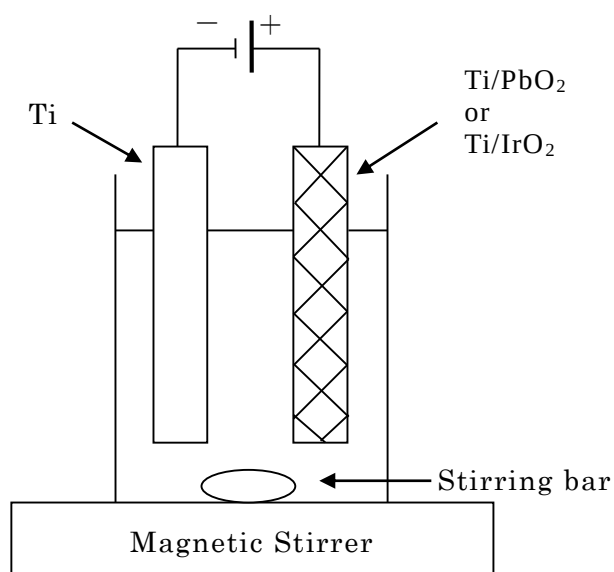


図 3-6 実験装置概要図

3.5 実験方法

表 3-1 に実験条件を示す。分解試験はマグネティックスターラーにより攪拌をしながら行い，30 分ごとにサンプリングした。サンプリングの際には，電源の電圧値を記録し，pH メーター (HORIBA) を用いて pH を測定した。COD 濃度は 1 時間ごとに測定した。

表 3-1 実験条件

電極材料 (陽極)	Ti/IrO ₂ または Ti/PbO ₂
電極材料 (陰極)	Ti
電流値	1.5 A
処理時間	6 時間
抗菌剤	0.03 g
生乳,市販牛乳, 脱イオン水	300 mL
支持電解質	Na ₂ SO ₄ または NaCl 1.0 g

3.6 分析方法

抗菌剤は高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を用いて濃度を測定した。生乳には、乳脂肪やタンパク質が高濃度に含まれており、そのままでは微量抗菌剤の検出が困難である。そこで電解酸化処理試験後のサンプルに対して、HPLC による分析を行う前に固相抽出による前処理を行った。

固相抽出とは、1970 年代後半に米国で開発された分析前処理手法の 1 つである。測定対象成分と固相抽出剤の相互作用を利用して、妨害成分の選択的除去、目的成分の濃縮・精製等を行う。基本操作は、(a) コンデショニング、(b) 試料のロード、(c) 洗浄、(d) 溶出、の 4 工程から成る。(a) のコンデショニングには、固相抽出剤の洗浄と活性化の 2 つの目的がある。洗浄は、固相抽出剤由来の夾雑成分を洗い流すために行う。また活性化することで、固相抽出剤に存在する細孔の表面積を有効活用し、作用官能基が最大限活用できるようになる。生乳に含有するテトラサイクリン系抗菌薬の分析では、メタノールと脱イオン水によりコンデショニングを行った。(b) の試料のロードでは、通液した試料のうち、固相抽出剤に対する親和性の高い成分が保持され、親和性の低い成分は素通りする。(c) の洗浄では、(b) で保持した成分のうち、目的成分のみを保持し、不要な成分をカートリッジから洗い流すことで、夾雑成分を取り除く。(d) の溶出では、より親和性の高い溶媒を流すことにより、目的成分を固相抽出剤から分離する (中村, 2006)。

3.6.1 テトラサイクリン系抗菌薬の分析方法

3.6.1.1 固相抽出手順

生乳に含有するテトラサイクリン系抗菌薬の固相抽出では，シリンジバレル型の HLB Oasis カートリッジ (Waters) を用いた。装置の写真を図 3-7 に示す。



図 3-7 固相抽出装置

図 3-8 に固相抽出による前処理の手順を示す。McIlvain バッファの組成は、蒸留水 100 mL に対し、クエン酸一水和物 1.18 g, リン酸水素二ナトリウム 1.372 g, エチレンジアミン四酢酸二ナトリウム 3.362 g である。

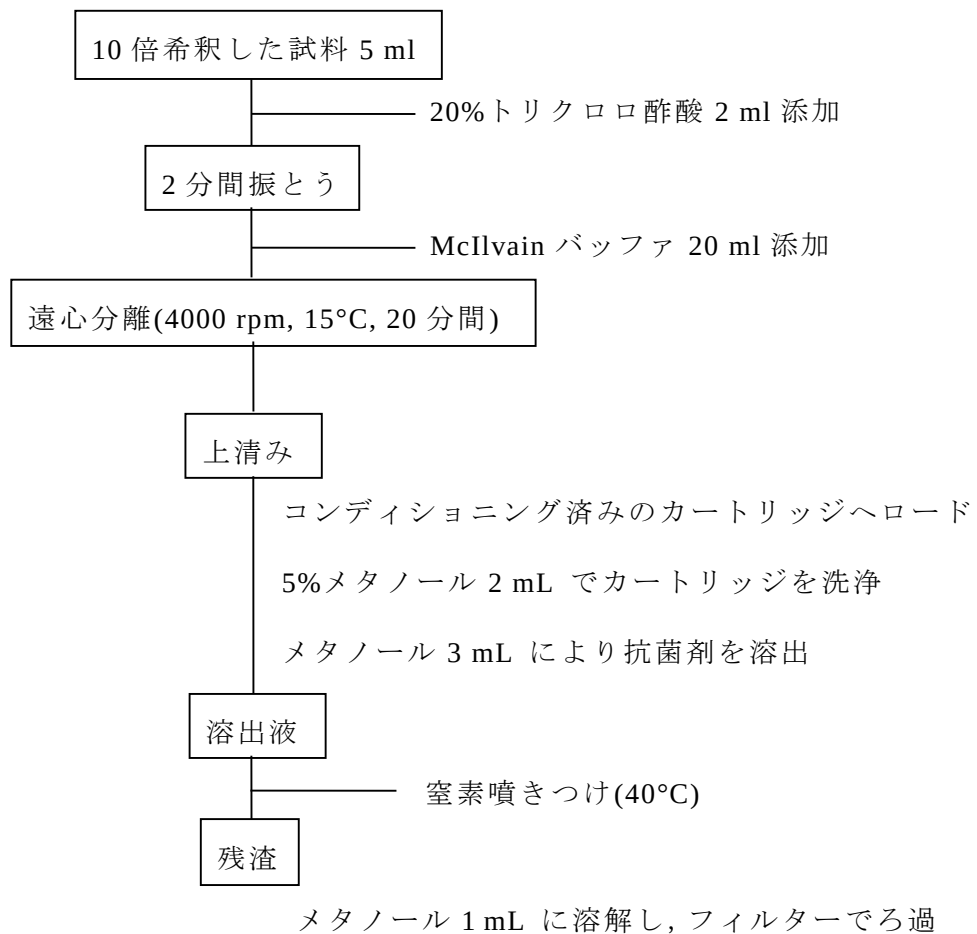


図 3-8 生乳に含有するテトラサイクリン系抗菌薬の固相抽出手順 (Cinquina et al., 2003)

3.6.1.2 HPLC を用いた定性定量分析

HPLC (島津製作所) を用いて、固相抽出による前処理を行ったサンプルの定性定量分析を行った。分析条件を表 3-2 に示す。分析にはグラジエント法を用いた。移動相の混合割合、流速をそれぞれ表 3-3、表 3-4 に示す。

表 3-2 テトラサイクリン系抗菌薬の HPLC 分析条件

カラム	L-Column2 C8 (250 mm ×4.6 mm)
移動相	0.01 M シュウ酸, アセトニトリル
検出器	UV (355 nm)
オーブン温度	40 °C
分析時間	14 min

表 3-3 テトラサイクリン系抗菌薬の分析における移動相混合割合 (Samanidou et al., 2007)

時間 (min)	0.01 M シュウ酸 (%)	アセトニトリル (%)
0	88	12
2	80	20
4	73	27
10	70	30
12	88	12

表 3-4 テトラサイクリン系抗菌薬の分析における移動相流速

時間 (min)	流速 (mL/min)
0	1.65
3	1.65
5	1.2

3.6.2 乳タンパク濃度分析方法

タンパク質濃度は、Tienstra et al. (1992) の手法を参考にし、キャピラリー電気泳動 (Agilent, G1600A) を用いて測定した。分析条件を以下の表 3-5 に示す。

表 3-5 乳タンパク濃度分析条件

Injection	50 mbar, 10 s
Capillary	fused silica capillary (Agilent Technology) total length 48.5 cm effective length 40 cm internal diameter 50 μ m
Buffer	0.05 M KH_2PO_4 (pH 2.5), 0.05% hydroxyethylcellulose, 6M urea
Diluted buffer	6M urea, 0.005M potassium phosphate (pH8), DTT (pH8)
Temperature	38 $^{\circ}\text{C}$
Detection	214 nm
Voltage	20 kV

3.6.3 COD 測定方法

溶液の COD は，分光光度計 (Hach, DR 4000)を用いて測定した。装置の写真を図 3-9 に示す。COD とは Chemical oxygen demand の略で，化学的酸素要求量のことである。酸化に消費した酸化剤の量を酸素の量に換算したものであり，水の汚濁指標である（日本分析化学会北海道支部，2005）。本研究では重クロム酸法を用いて COD 濃度を測定した。重クロム酸法とは，酸化剤として二クロム酸カリウムを用いて，強硫酸酸性下で有機物を酸化する手法である。過マンガン法に比べて酸化力が強く，より多くの有機物を酸化することができる。



図 3-9 分光光度計 (Hach DR 4000)

3.7 実験結果および考察

3.7.1 供試生乳の評価

生乳は毎回同じ牧場から採取した。生乳は生体試料であり、乳成分の変動の可能性があることから、各サンプルの COD とタンパク質濃度を測定し、ばらつきを評価した。COD 濃度はいずれも 150,000 mg/L 前後であり、生乳ごとに大きな差は観察されなかった。タンパク質濃度についても、複数の生乳についてピーク面積のばらつきは小さく、市販牛乳のピーク面積と同水準であった。

また、生乳の保存による影響を調べるため、生乳の冷凍前と冷凍保存後の COD 濃度を比較した。両者の差は約 3.9%であった。冷凍していない生乳と冷凍した生乳にそれぞれ抗菌剤を添加し電解酸化処理を行ったところ、6 時間の処理後の抗菌剤濃度は、冷凍しなかった場合の方が低くなった。生乳を冷凍後に解凍すると、より分離しやすくなった。このことから、生乳は一度冷凍すると、成分の均一性が悪くなるため、抗菌剤の分解速度に差が生じたと考えられる。生乳を凍結すると、氷の結晶ができ、機械的な破壊によって脂肪球被膜の構造が変化して脂肪が分離しやすくなる。さらに長期間冷凍すると、可溶性のカルシウムと無機リン酸が減少し、新たに生成したリン酸カルシウムがカゼインに結合しカゼインミセルを不安定化させ、沈殿が生じるため、冷凍期間はできるだけ短くする必要がある (上野川, 2010)。本研究では冷凍期間が短い生乳を使用した。さらに、電解酸化処理試験中はマグネティックスターラーを用いて攪拌を行ったため、冷凍による生乳の不均一性の影響は無視できると考えられる。

3.7.2 生乳に含有するテトラサイクリン系抗菌薬の分解性

テトラサイクリン系抗菌薬 (TCs) には複数の抗菌剤がある。ここではその中でも代表的な TCs であるテトラサイクリン (TC), クロルテトラサイクリン (CTC), オキシテトラサイクリン (OTC) を対象とした。それぞれの TCs を含有する生乳に対して、陽極を Ti/IrO_2 , 支持電解質を Na_2SO_4 として 1.5 A で電解酸化処理を行った。図 3-10 に結果を示す。投入電気量の増加に伴い、抗菌剤濃度はいずれも減少した。6 時間の処理後、TC, CTC, OTC 濃度は初期濃度 100 mg/L からそれぞれ 5.2, 4.7, 4.2 mg/L に低減した。3 種類の TCs の分解特性は類似の傾向を示した。有機性濃厚溶液である生乳に含有する TCs に対して、活性電極である Ti/IrO_2 による分解特性は良好であることが明らかになった。

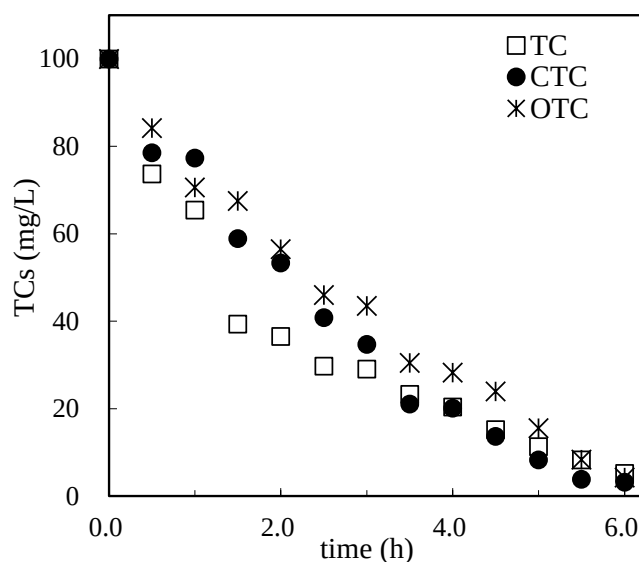


図 3-10 生乳に含有する TCs の電解酸化処理

3.7.3 生乳に含有するオキシテトラサイクリンの分解における陽極材料および支持電解質の影響

生乳に添加した OTC の電解酸化処理における陽極および支持電解質の影響を調べることを目的として、陽極を Ti/IrO₂ または Ti/PbO₂ に、支持電解質を Na₂SO₄ または NaCl とし、OTC 濃度の減少速度を比較した。異なる電極材料と支持電解質を用いた電解酸化処理における OTC の濃度変化を図 3-11 に示す。なお、電流値は 1.5 A で一定とした。

支持電解質として Na₂SO₄ を添加した場合、Ti/IrO₂ を陽極に用いると、6 時間の処理によって、OTC 濃度は初期濃度 100 mg/L から 16.9 mg/L に減少した。Ti/PbO₂ を陽極に用いた場合は、0.71 mg/L まで減少し、Ti/IrO₂ を用いたときよりも OTC の分解速度が増大した。活性電極である Ti/IrO₂ では、陽極上で酸化剤の蓄積が抑制されるが、不活性電極である Ti/PbO₂ では、電極表面上に物理吸着した OH ラジカルが OTC を効率的に分解したと考えられる。Ti/IrO₂ を陽極に用いた場合に、支持電解質として NaCl を添加すると、OTC 濃度は 5 時間の電解酸化処理によって、初期濃度 100 mg/L から 0.84 mg/L に減少し、6 時間後には検出限界以下となった。支持電解質が Na₂SO₄ の場合は、電極表面近傍で直接酸化反応が起こると考えられる。NaCl を使用した場合は、溶液中に塩化物イオンが存在するため、直接酸化反応に加えて、電解生成された次亜塩素酸が酸化剤として働く間接酸化反応が起こる。NaCl を添加した場合、Na₂SO₄ の場合よりも OTC 濃度の減少速度が増大したことから、次亜塩素酸が OTC の分解を促進したことが示唆された。

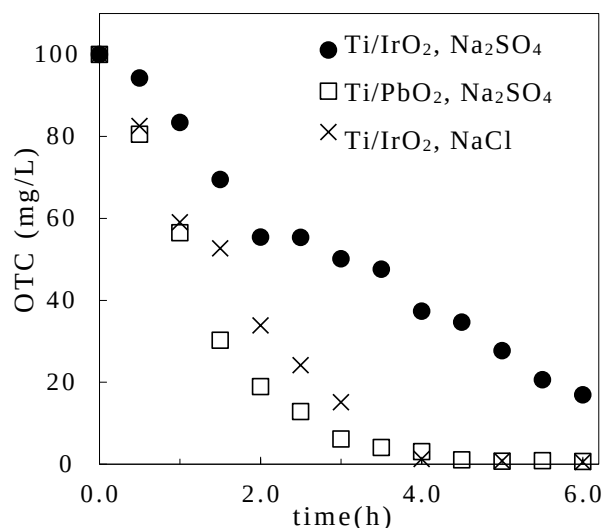


図 3-11 生乳に含有する OTC の電解酸化処理における陽極材料および支持電解質の影響

3.7.4 生乳に含有するオキシテトラサイクリンと有機成分の分解性の比較

生乳は乳脂肪やラクトース、タンパク質等の有機物が高濃度に溶存した有機性濃厚溶液であり、COD 濃度で比較すると残留抗菌剤は微量である (図 3-2)。このような溶液に対して電解酸化法を適用する場合、分解対象物質である抗菌剤だけでなく、生乳成分も分解される可能性がある。

抗菌剤だけでなく生乳成分に対しても酸化剤が使用されると、処理プロセスの消費エネルギーが増加することが予想される。電解酸化処理の主要コストは電気エネルギーであり、生乳中の抗菌剤の処理コストを抑えるためには、有機物濃度の高い生乳成分による酸化剤消費量を抑制し、OTC が効率的に酸化されることが望ましい。そこで、生乳が有機性濃厚

溶液であることから、生乳の有機物濃度の指標として COD 濃度を測定し、その変化を OTC 濃度と比較した。COD と OTC 濃度の減少速度への陽極と支持電解質の影響を調べることによって、OTC がより効率的に分解される実験条件を検討した。

図 3-12 に前節で行った 3 つの実験条件における、COD 濃度変化を OTC 濃度の変化と合わせて、分解開始時の濃度を 1.0 とした相対濃度で示す。6 時間の電解酸化処理によって、COD 濃度は 19.8–62.3%減少した。すなわち、OTC だけでなく生乳成分も一部が分解されたと考えられる。陽極を Ti/PbO₂、支持電解質を Na₂SO₄ とした場合は、COD 濃度の減少割合が大きく、不活性電極に物理吸着した OH ラジカルが生乳成分を分解しやすいことが示された。3 条件いずれの場合も、OTC 濃度と比較すると COD 濃度の減少速度は小さく、生乳成分の方が OTC よりも分解速度が小さい傾向にあった。生乳には難分解性物質が含まれることから、COD 濃度の減少が抑えられたと考えられる。生乳成分のカゼインは電気化学的手法によって分解されにくいこと (吉田ら, 2010) やホエーは抗酸化剤であることが知られている (Chen et al., 2002)。

電解酸化法による有機化合物の分解は、一般的に擬一次反応に従うとされている (Zhang et al., 2009)。本研究で対象とする廃棄乳では、生乳に抗菌剤が含有しており、生乳の有機物濃度は抗菌剤の有機物濃度の約 800 倍と十分に高い。よって生乳に含有する抗菌剤の分解は、擬一次反応に従うと考えられる。そこで、OTC と有機成分の分解速度の差をより明瞭にするため、OTC と COD の分解速度定数を算出した。擬一次速度定数は式(3-1)を使用して求めた。得られた分解速度定数の値を表 3-6 に示す。

$$\frac{dC_t}{dt} = -k C_t \quad (3-1)$$

ここで、 C_t は時間 t (min) における抗菌剤または COD の濃度 (mg/L), k はその擬一次速度定数 (1/min) である。OTC の速度定数 k_{OTC} と COD の速度定数 k_{COD} を比較すると、3 条件いずれの場合も k_{OTC} の方が k_{COD} よりも大きい結果となった。 k_{OTC} と k_{COD} の比を求めると、 k_{OTC} の値は k_{COD} の値の約 2.82–5.64 倍であった。 $k_{\text{OTC}} / k_{\text{COD}}$ の値は陽極に Ti/IrO₂ を使用し、支持電解質を NaCl とした条件で最も大きく、約 5.64 であった。NaCl から電気化学的に生成した次亜塩素酸は、生乳に含有する OTC をより効率的に分解したことが示された。次亜塩素酸はカゼインミセルやトリグリセリドの分解よりも、抗菌剤の官能基の切断を容易に行うことが示唆された。

生乳のような有機性濃厚溶液における微量物質の効率的な分解は、電気化学反応プロセスの利用の主要課題である消費エネルギー量の増大の抑制に寄与すると考えられる。OTC の分解における効率の向上は、電解酸化法の実用化に貢献することが期待される。

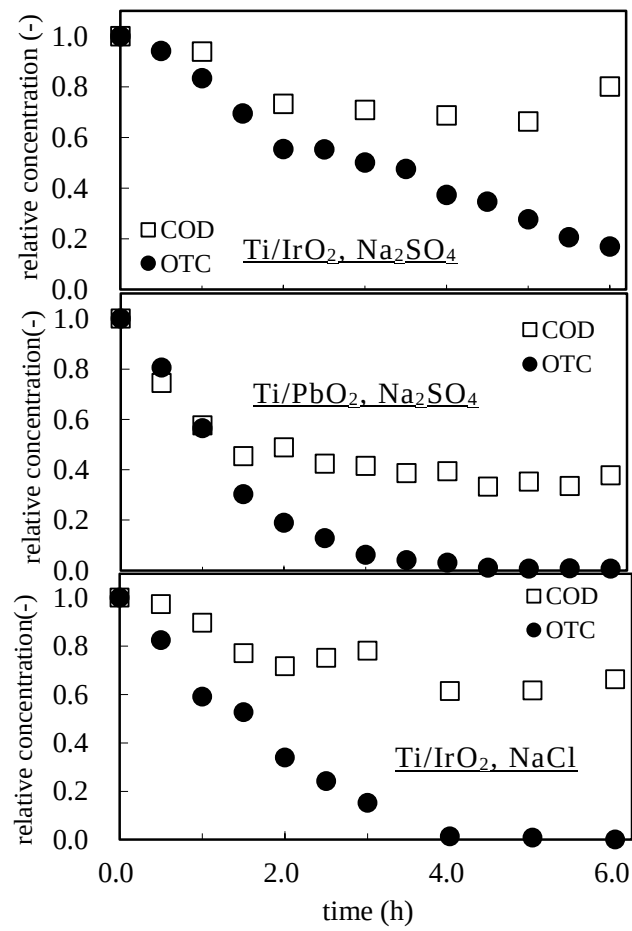


図 3-12 生乳に含有する OTC の電解酸化処理における OTC と COD 濃度変化への陽極材料および支持電解質の影響

表 3-6 生乳に含有する OTC の電解酸化処理における OTC および COD の分解速度定数 (1/min)

陽極 支持電解質	Ti/IrO ₂ , Na ₂ SO ₄	Ti/PbO ₂ , Na ₂ SO ₄	Ti/IrO ₂ , NaCl
k_{OTC}	0.244	0.754	0.564
k_{COD}	0.083	0.268	0.100
k_{OTC} / k_{COD}	2.94	2.82	5.64

3.7.5 生乳に含有するオキシテトラサイクリンの分解における生乳成分の影響

OTC を添加した水溶液，市販牛乳，脱脂乳それぞれに対して電解酸化処理を行い，乳成分の影響を調べた。脱脂乳は，生乳を 6000 rpm で 30 分間遠心分離したものをを用いた。いずれの溶液の場合も，陽極を Ti/IrO₂，支持電解質を Na₂SO₄ とし，OTC の初期濃度は 100 mg/L とした。蒸留水と市販牛乳の結果を生乳と合わせて図 3-13 に示す。6 時間の処理により OTC 濃度は水溶液中では 0.40 mg/L に，市販牛乳中では 4.5 mg/L へと減少し，OTC の分解速度は水溶液中で最も大きかった。市販牛乳では，水溶液と比べて乳成分由来の有機物量が増え，OTC への酸化剤供給が妨害されたと考えられる。市販牛乳における結果を生乳の場合と比較すると，生乳の方が OTC の分解速度が小さい。市販牛乳はホモジナイズド処理がなされており，脂肪球の大きさが生乳よりも小さく，均一であることが関係したと推測される。この結果より，生乳成分の中でも特に脂肪球が生乳中の OTC の電解酸化処理に影響を及ぼす可能性が示唆された。そこで，脱脂乳に OTC を添加し，電解酸化処理を行い乳脂肪の OTC 分

解への影響を調べた。図 3-14 に脱脂乳と生乳中における OTC と COD の濃度変化を相対濃度で示す。脂肪分が取り除かれ 0.5%以下となっているため、脱脂乳の初期 COD 濃度は生乳の約 58%であった。脱脂乳中では 6 時間の電解酸化処理によって OTC 濃度は 0.38 mg/L まで減少し、COD は約 17%減少した。OTC の分解速度は、電解酸化処理開始の 2 時間後までは、脱脂乳の方が生乳中よりも遅くなった。COD 濃度が低い脱脂乳の方が OTC の分解速度が小さかった原因として、脂肪が除去されている脱脂乳では生乳の成分がより均一であり、生乳成分が分解されやすくなったことが考えられる。一方、生乳中においては、処理時間が 2 時間までは、分解がより困難である生乳成分よりも OTC が先に分解されたと推測される。2 時間以降の分解速度は、生乳中よりも脱脂乳中のほうが高くなった。脱脂乳について、OTC と COD の分解速度定数を算出すると、それぞれ 0.65, 0.04 1/min であった。脱脂乳では k_{COD} の値が小さく、乳脂肪以外の生乳成分が電解酸化法によって難分解性であることが示唆された。 k_{OTC} は k_{COD} の約 16.3 倍であり、脱脂乳中では OTC がより効率的に分解された。以上の結果より、生乳の電解酸化処理において、乳脂肪は OTC の分解を妨害することが示された。これらの結果から、生乳の電解酸化処理前に生乳を静置して上面に分離した脂肪分（クリームライン）を除去することによって、OTC 分解の効率を向上することができると考えられる。

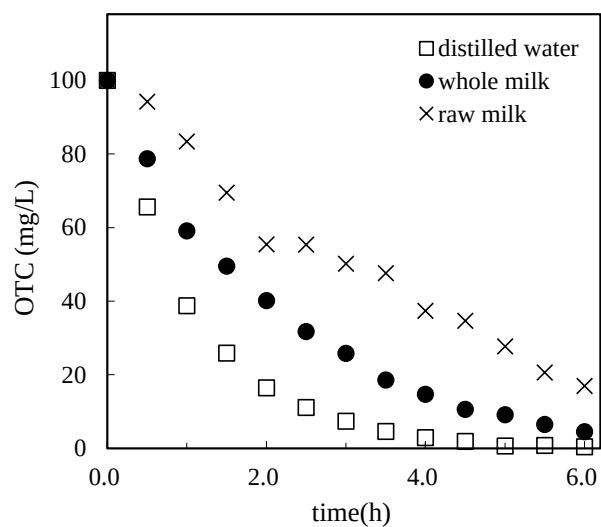


図 3-13 生乳に含有する OTC の電解酸化処理における乳成分の影響

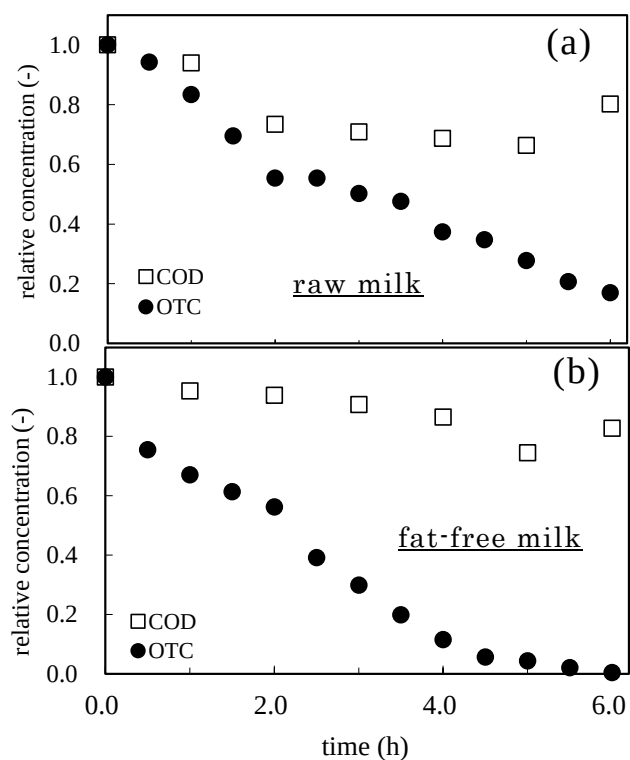


図 3-14 (a) 生乳および(b) 脱脂乳に含有する OTC の電解酸化処理における OTC と COD 濃度変化

3.7.6 生乳に含有するオキシテトラサイクリンの分解における初期濃度の影響

抗菌剤による乳房炎治療を行った際に生乳中に排出される抗菌剤の濃度については、いくつかの報告がある。ピルリマイシン 50 mg/分房を 4 分房に乳房内投与した場合 (休薬期間: 60 時間), 12 時間後に 13.6 mg/L のピルリマイシンが生乳中から検出された (大野, 2008)。Stockler et al. (2009) は 200 mg のセファピリンを乳房内に注入した場合, 生乳中の濃度は 44.2 mg/L であったと報告した。生乳に残留している OTC の濃度は 100 mg/L よりも低い場合が予想される。そこで, 抗菌剤の初期濃度が低い場合にも本手法が有効であるかを調べるために, 生乳に添加する OTC の濃度を 100 mg/L の他に, 20 mg/L, 10mg/L として電解酸化処理を試みた。陽極は Ti/IrO₂, 支持電解質は Na₂SO₄ とした。図 3-15 に各初期濃度における OTC 濃度変化を示す。OTC の初期濃度が 10, 20 mg/L である場合は, OTC 濃度の増減が繰り返されており, OTC が均一に分散しなかった可能性がある。

初期濃度が 10, 20, 100 mg/L であるとき, 6 時間の電解酸化処理によって OTC 濃度はそれぞれ 70, 81, 83%減少した。OTC について分解速度定数を算出すると, それぞれ 0.254, 0.251, 0.24 1/min であり, 初期濃度による差は小さかった。このことから, 生乳中の OTC の初期濃度は, OTC の分解速度にほとんど影響を及ぼさないことが示された。しかし, 図 3-15 から明らかであるように, OTC の初期濃度が小さいほど, 単位時間当たりの OTC 分解量は小さくなった。酸化剤である OH ラジカルは寿命が短いため, 分解対象物質である抗菌剤の濃度が低い条件では高い効率を得ることが困難であったと推測される。初期濃度が低い場合に

は、OTC と OH ラジカルの接触頻度を上昇させるため、攪拌速度等の溶液の混合条件を検討する必要があると考えられる。

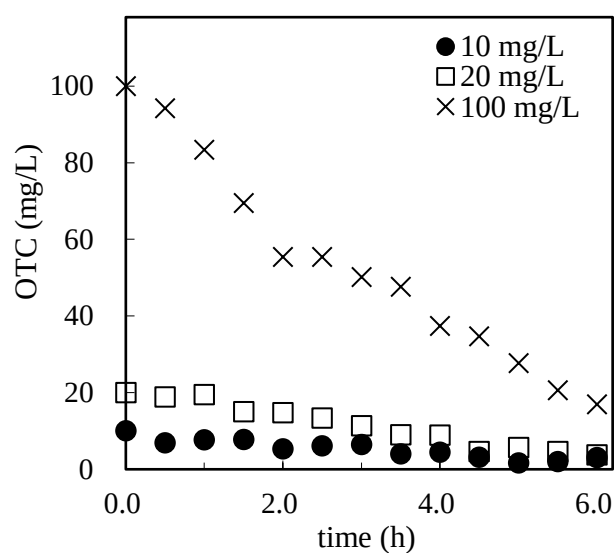


図 3-15 生乳に含有する OTC の電解酸化処理における OTC 初期濃度の影響

3.8 まとめ

3.8.1 結論

本章では廃棄乳に残留した抗菌剤の分解処理法として電解酸化法の適用を試みた。生乳に添加したテトラサイクリン系抗菌薬に対して試験を行い、実験条件の影響や生乳成分との関係等を調べ、以下の知見を得た。

- 1) 有機物を高濃度に含有する生乳中のテトラサイクリン系抗菌薬は、電解酸化法によって分解された。
- 2) 乳脂肪をはじめとする生乳成分が、生乳中のオキシテトラサイクリンの分解に影響を及ぼすことが明らかになった。
- 3) 不活性電極を使用した場合、または塩化ナトリウムを添加した場合、生乳中のオキシテトラサイクリンの分解速度は増加した。不活性電極表面上に物理吸着したヒドロキシラジカル、塩化ナトリウムから電解生成された次亜塩素酸がオキシテトラサイクリンの分解を促進したと考えられる。
- 4) 算出した擬一次速度定数の値から、生乳中のオキシテトラサイクリンの分解速度は生乳成分よりも大きいことが明らかになった。特に塩化ナトリウムを添加した場合、オキシテトラサイクリンはより効率的に分解された。

3.8.2 今後の課題

本章の結果から，電解酸化法による有機性濃厚溶液である生乳中の微量抗菌剤の分解特性が良好であることが明らかになった。しかし，水溶液と比べると生乳中では抗菌剤の分解速度は低下したことから，抗菌剤のより効率的な分解が求められる。電解酸化法の主要課題であるエネルギー消費量の低減について取り組む必要があると考えられる。

第 4 章 電解酸化法による生乳に含有する抗菌剤の選択的な分解手法の確立

4.1 はじめに

第 3 章では、生乳に添加した OTC に対して電解酸化処理を試みた。そして、有機性濃厚溶液である生乳に微量に含有する抗菌剤は、乳脂肪等生乳成分の干渉を受けるが、電解酸化法による分解特性は良好であることが明らかになった。しかし、電解酸化法の実用化のためには、電解酸化処理の主要課題であるエネルギー消費量の問題を解決する必要がある。

COD 濃度が高い廃水への電解酸化法の適用に関する先行研究は少なく、有機性濃厚溶液の処理例はあるものの、それらの処理溶液の COD 濃度は一般に数千 mg/L 程度と低い (Körbahti and Artut, 2010; Dominguez-Ramos et al., 2008)。この理由として、高濃度の有機物を分解する際に、エネルギー消費量が増加することが挙げられる。生乳は COD 濃度が 150,000 mg/L 以上と高い有機性濃厚溶液であり、廃棄乳に残留した抗菌剤の処理に電解酸化法を適用する場合、COD 濃度の高い生乳成分に由来した消費エネルギー増大の問題に直面する。消費エネルギーを削減するためには、酸化剤の有効活用が不可欠である。

そこで本章では、廃棄乳に残留する抗菌剤濃度が微量であることから、生乳全体ではなく、含有する抗菌剤を標的物質として選択的に分解することを目標とした。廃棄乳に残留した抗菌剤の分解処理法として消費エ

エネルギーを抑えた電解酸化処理プロセスの構築を目指すにあたり、生乳に含有する微量物質である抗菌剤の処理特性を調べた。これまで希薄廃水についての動力学は明らかにされてきたが、濃厚溶液や多成分溶液中については知見が乏しい (Morão et al., 2004)。濃厚溶液や多成分溶液に含有する特定の微量物質の分解特性を明らかにすることは、抗菌剤が残留した廃棄乳の処理の装置化に関連し、実用化を進めるものであると考えられる。また、他の COD/BOD 比の高い廃水の処理法開発に貢献する可能性がある。

電気化学的手法による排水処理の先行研究は、抗菌剤や難分解性物質が溶解した水溶液や廃水といった有機物濃度が低い希薄溶液を対象とした場合が多い。多くの場合溶液中に含有するすべての有機物の分解を試みており、高濃度有機物を含有する溶液中に溶解した特定の物質のみを標的、すなわち選択的な分解を目的とした文献はほとんど見られない (Aquino et al., 2011; Dirany et al., 2010)。

選択的な分解には二つの定義が存在する。一つは部分的な分解 (Comninellis et al., 1994; Maldonado et al., 2006)、もう一つは優先的な分解 (Polcaro et al., 2008) である。部分的な分解、すなわち”部分的な酸化”は、有機物の CO_2 への酸化である”完全酸化”に対するもので、一部の官能基等を部分的に酸化することを指す。優先的な分解とは、溶液中に二種類以上の有機物が存在する際に特定の物質を優先的に酸化することを指す。本研究で対象とする生乳は乳脂肪、ラクトース、タンパク質を含む様々な成分を含有する多成分溶液であり (Bansal and Chen, 2006)、抗菌剤が共に溶解している。Polcaro et al. (2008) は、グルコースとフェノールを含有する希薄溶液の電解酸化処理において、フェノール化合物の優先的な酸化を達成した。このように部分的な分解と優先的な分解は

別の意味を持つが，これまではどちらも選択的分解という表現が使用されることが多く，著者によって概念が異なっていた。本研究では，部分的な分解と優先的な分解を分けて捉え，両方の観点から，処理プロセスの消費エネルギーを低減することを目指した。

本章では，消費エネルギーを抑えた電解酸化法による廃棄乳に残留した抗菌剤の処理プロセスを実現するため，濃厚溶液である生乳に含有する抗菌剤の処理特性を明らかにした後，抗菌剤の選択的な分解による処理プロセスの省エネルギー化の可能性について検討した。以下の項目を明らかにすることを目的とした。

- 1) 実験条件が電解酸化法による水溶液中の抗菌剤の分解特性に及ぼす影響
- 2) 電解酸化法による生乳に含有する抗菌剤の処理特性
- 3) 電解酸化法による生乳中の抗菌剤の選択的な分解および処理プロセスの省エネルギー化の可能性

4.2 実験材料

4.2.1 対象溶液

抗菌剤 0.03 g を脱イオン水または生乳 300 mL に添加し，抗菌剤濃度を 100 mg/L とした。支持電解質は Na_2SO_4 または NaCl を 1.0 g 添加した。生乳は，兵庫県内の牧場から採取したものを使用した。実験に供試するまではポリエチレン密閉容器に入れて冷凍保存し，実験の前日から解凍した。抗菌剤はテトラサイクリン系抗菌薬であるクロルテトラサイクリン(CTC)に加えて，セフェム系抗菌薬であるセファゾリン (CEZ) を対象とした。いずれも酪農業で一般的に使用される動物用抗菌剤である。セフェム系抗菌薬は，細菌細胞の形態と硬さを保つ細胞壁の主成分の合成を阻害することによって殺菌効果を及ぼす。さらに，安全性が高いという特徴を持ち，畜産分野では主に牛の感染症に使用され，世界的に消費量の多い抗菌剤の 1 つである。また，牛乳房炎治療に使用される動物用抗菌剤の第一選択薬であり，代表的な乳房炎である黄色ブドウ球菌性乳房炎治療の際の全身投与や乳房局所治療において最も選択される抗菌剤である (日本家畜臨床感染症研究会事務局，2010)。2010 年には 2,400 kg のセフェム系抗菌薬が乳房炎治療のために使用されたと推測される (日本動物用医薬品協会資料，2012)。排出傾向は一般的な抗菌剤と同様であり，投与されたセフェム系抗菌薬の体内濃度は指数曲線的に減少する (吉田，1985)。CEZ の構造式を図 4-1 に示す。

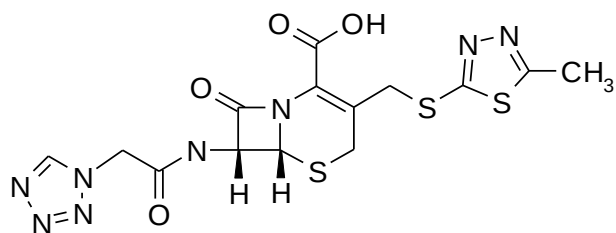


図 4-1 セファゾリンの構造式

4.2.2 電極材料

金属が溶出しない不溶性電極を用いた。陽極には図 3-4 に示した Ti/PbO₂ (メッシュ)および Ti/IrO₂ (メッシュ), 陰極には Ti プレートを使用した。開口電極面積は, 50 mm ×100 mm である。

4.3 実験装置

電解酸化実験は，デジタルマグネティックスターラー（アズワン，RS-1DN）の上に置いた攪拌子の入った 500 mL トールビーカー内で行った。電極間距離は，5 mm とした。電源は，直流安定化電源（高砂製作所，KX-210L）を用いた。

4.4 実験方法

表 4-1 に実験条件を示す。分解試験はデジタルマグネティックスターラーにより攪拌をしながら行い，30 分ごとにサンプリングを行った。サンプリングの際には，電源の電圧値を記録し，pH メーター（HORIBA）を用いて pH を測定した。COD は 1 時間ごとに測定した。

表 4-1 実験条件

電極材料（陽極）	Ti/PbO ₂ または Ti/IrO ₂
電極材料（陰極）	Ti
電流値	0.25-1.5 A
処理時間	6 時間
抗菌剤	0.03 g
脱イオン水，生乳	300 mL
支持電解質	Na ₂ SO ₄ または NaCl 1.0 g
溶液攪拌速度	700-1500 rpm

4.5 分析方法

4.5.1 セフェム系抗菌薬の分析方法

4.5.1.1 固相抽出手順

セフェム系抗菌薬の固相抽出では、シリンジバレル型の tC18 500 mg (Waters) を用いた。図 4-2 に固相抽出による前処理の手順を示す。

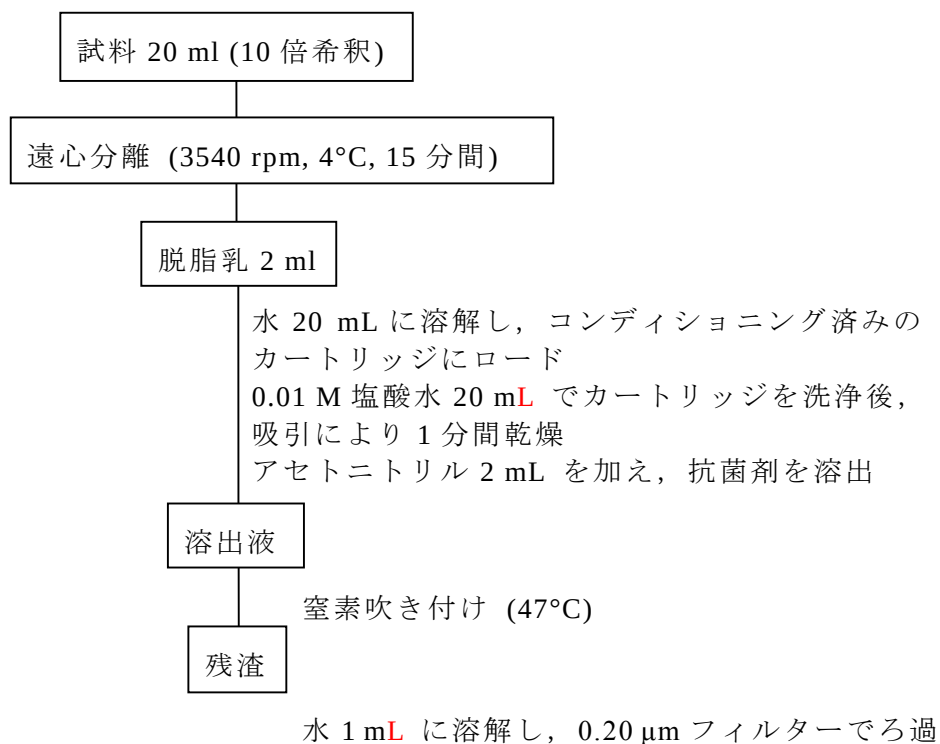


図 4-2 生乳に含有するセフェム系抗菌薬の固相抽出手順 (Sørensen et al., 2000)

4.5.1.2 HPLC を用いた定性定量分析

固相抽出による前処理で得られた水溶液を，HPLC (島津製作所) によって定性定量分析した。分析条件を表 4-2 に示す。移動相は 0.05 M オクタンスルホン酸溶液を 77.75%，アセトニトリルを 15%，メタノールを 5.25%の割合で混合し，調整した (Cagnardi et al., 2010)。なお，0.05 M オクタンスルホン酸溶液は，1-オクタンスルホン酸 1.08 g を水 1 L に溶解し，リン酸を添加して pH を 2.52 に調整した溶液である。流速は 1.0 mL/min で一定とした。

表 4-2 セフェム系抗菌薬の HPLC 分析条件

カラム	Waters Phenyl-Column (150 mm ×3.9 mm, 4 μm)
移動相	オクタンスルホン酸，アセトニトリル，メタノール
検出器	UV (270 nm)
オーブン温度	20°C
分析時間	14 min

4.6 実験結果および考察

4.6.1 水溶液に含有する抗菌剤の部分的な分解性

水溶液中のクロルテトラサイクリン(CTC)およびセファゾリン (CEZ) の電解酸化処理を Ti/PbO₂ 陽極を用いて行った。攪拌速度はすべて 700 rpm で一定とした。抗菌剤濃度に加えて溶液の COD 濃度と 254 nm の吸光度を測定した。化合物中の芳香族分子の量は 254nm の吸光度に反映される (Lu et al., 2014)。図 4-3 に CTC の分解試験の結果を示す。0.5 A では CTC 濃度は 3 時間後には検出限界以下であった。一方、COD の低減速度は小さく、6 時間の処理後も 60%程度の減少にとどまった。CTC 濃度の低減速度が COD よりも大きいという結果は、CTC が部分的に分解されたことを示唆する。

Comninellis (1994)は、部分的な酸化を電気化学的変換“electrochemical conversion”あるいは選択的な酸化”selective oxidation”と呼び、完全酸化を電気化学的燃焼” electrochemical combustion”と呼んだ。本研究における廃棄乳に残留した抗菌剤の処理目的は、抗菌活性の抑制である。多くの抗菌剤は、一部の官能基が酸化あるいは置換されると、活性を失うことが知られている (Kümmerer, 2009)。したがって抗菌剤が CO₂ まで完全酸化される前に処理を止め、一部の官能基を部分的に酸化することによってエネルギー消費を低減できる可能性がある。

図 4-4 および図 4-5 は 0.25-1.5 A の電流値において、CTC 濃度または CEZ 濃度の減少割合 (横軸) に対する溶液 COD の減少割合 (縦軸) の関係を示したものである。点線は、抗菌剤濃度と COD の減少割合が等し

い場合を示す (Polcaro et al., 2008)。プロットが全て点線よりも下にあることから、CTC 濃度の減少割合はいずれの電流値においても COD よりも大きく、CTC が部分的に分解されたことが示された。また、CTC 濃度が約 98%減少した点 ($1 - \text{CTC}_t / \text{CTC}_0 \approx 0.98$) において、0.25, 0.50, 1.0 A の 3 点のプロットが互いに近接していた。これらの結果から、3 つの電流条件において、CTC 除去率と COD 除去率の比が同水準である点が存在した。CTC の部分的な分解はこの適用電流値の範囲において電流値に依存しないことが示された。図 4-5 からわかるように同様の結果が CEZ についても得られ、図 3-3, 図 4-1 に示したように化学構造の大きく異なる CTC と CEZ の両方の抗菌剤に対して電解酸化法は有効であり、抗菌剤は部分的に分解された。電流値が高い場合でも、水溶液中の抗菌剤を部分的に分解することが可能であることが明らかになった。

電解酸化処理過程に生成された副生成物は、抗菌剤の官能基が変化した物質であると推測される。図 4-3 より、0.5 A での電解酸化処理において、CTC 水溶液の 254 nm の吸光度は時間と共に低下した。6 時間後には検出限界以下となったことから、毒性を示す芳香環が消失したことが示唆された。芳香族の開環は電解酸化処理の開始初期から始まることが知られている (Ambuludi et al., 2013)。環を含まない分解生成物は抗菌活性が低い (Li et al., 2011)。よって、Ti/PbO₂ 陽極での CTC の部分的な分解の過程で、抗菌活性も低下した可能性がある。また、CEZ が高い抗菌活性を維持するには、 β ラムタム環の存在が必須である (Gurkan et al., 2012)

生乳に含有する抗菌剤の部分的な分解は、余分な電気量の投入を避けることができると考えられる。Ti/PbO₂ による電解酸化処理によって、CTC および CEZ の部分的な酸化分解が進行した。

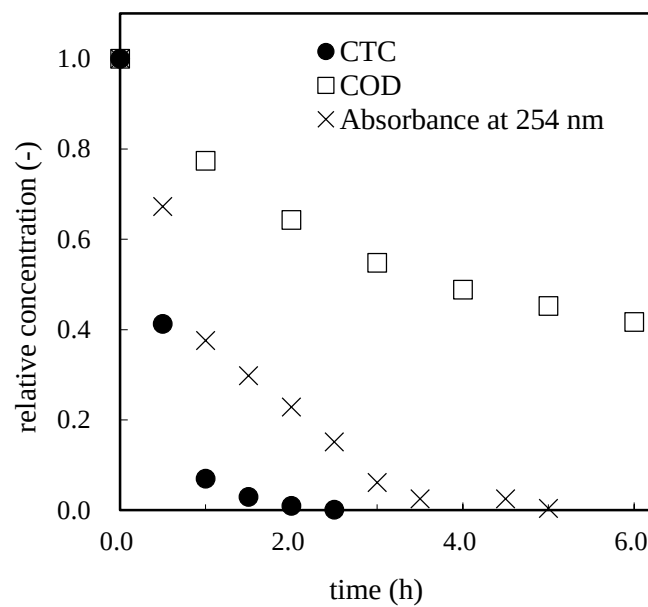


図 4-3 Ti/PbO₂を用いた CTC 水溶液の電解酸化処理における CTC, COD 濃度, 254 nm 吸光度の変化 (0.5 A, 700 rpm)

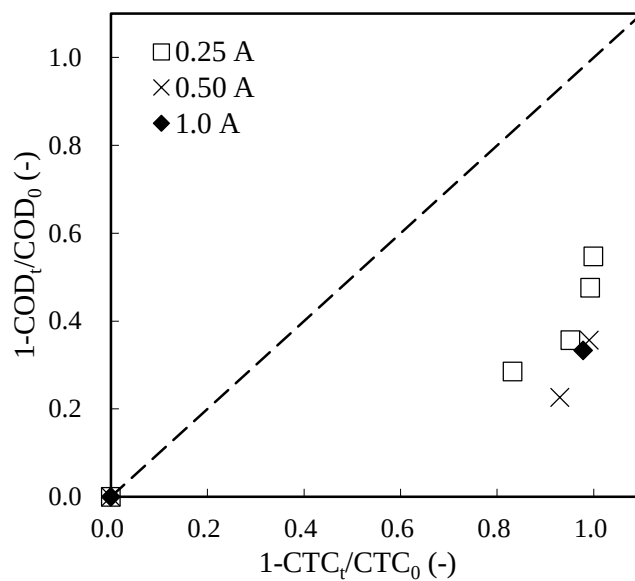


図 4-4 Ti/PbO₂を用いた CTC 水溶液の電解酸化処理における CTC 濃度減少に対する COD 濃度減少 (700 rpm)

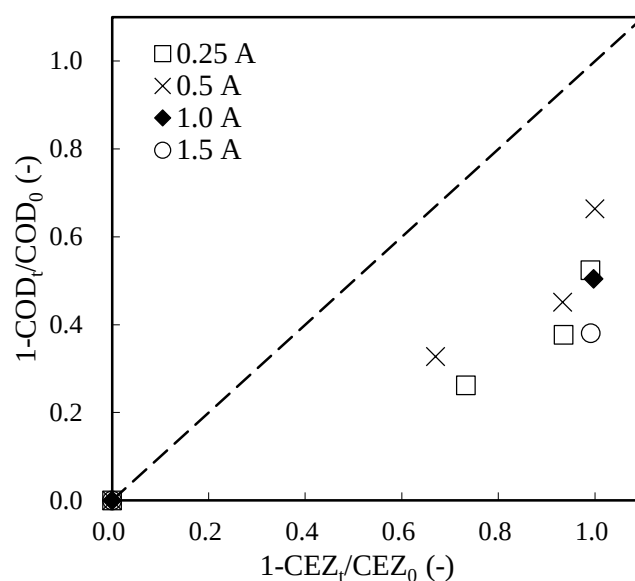


図 4-5 Ti/PbO₂を用いた CEZ 水溶液の電解酸化処理における CEZ 濃度減少に対する COD 濃度減少(700 rpm)

4.6.2 水溶液に含有する抗菌剤の分解への電流と溶液攪拌速度の影響

CTC および CEZ の単一成分水溶液の電解酸化処理における操作条件，適用電流値と溶液攪拌速度の影響を，陽極として Ti/PbO₂ を使用して調べた。適用した条件下で，CTC および CEZ，両方の抗菌剤について，抗菌剤濃度を縦軸（対数軸），経過時間を横軸とした場合，プロットを直線で近似可能であることから（図 4-6），これらの抗菌剤の分解反応は擬一次動力学に従うとみなすことができる（平田ら，1999）。

表 4-3 は式(3-1)より算出した抗菌剤の分解速度定数 $k_{\text{antibiotic}}$ と所要電気量 Q_{70} ，電解酸化処理の初期電流効率を示す。 Q_{70} (kC/L) は電解酸化処理によって抗菌剤濃度が 70%低下するまでに要した電気量と定義し（Sirés et al., 2008），式(4-1)より求めた。

$$Q_{70} = \frac{I \times t \times 3600}{V \times 1000} \quad (4-1)$$

ここで、 I は電流値 (A), V は溶液量 (L), t は処理時間 (h) である。
単位時間当たりの瞬間電流効率 (ICE) は HPLC によって測定した抗菌剤濃度を使用して、式(4-2)より算出した (Fierro et al., 2013; Polcaro et al., 2005)。電流効率とは、投入した電気量のうち、目的とする反応に利用された電気量の割合を表したものである。

$$ICE_{\text{antibiotic}} = \frac{n \times F \times V \times \Delta c}{I \times \Delta t} \quad (4-2)$$

Δc は時間 Δt 間の抗菌剤の濃度変化 (mol/m^3), n は物質の酸化に関与する電子数, I は電流 (A), V は溶液量 (m^3), F はファラデー定数 (C/mol) である。 n の値は CTC では 95, CEZ は 61 である。表 4-3 に示した電流効率は、 Δt を 0.5 時間とし、処理開始から 30 分後までについて算出した値である。

表 4-3 より、 $k_{\text{antibiotic}}$ は適用電流値の増大とともに増加した。これは OH ラジカルの生成速度が増加したためであると考えられる。同時に、 Q_{70} の値も増加した。これは、OH ラジカルの有機物 (抗菌剤) との反応と競合する、式(2-2)によって表される OH ラジカルから酸素放出のような副反応が増強され、酸化剤が浪費された結果であると推測される。電流効率の値は、電流値が 0.25 A から 0.50 A に上昇すると半減し、電気量の過剰投入が示唆された。より大きな電流値では Q_{70} が増加したことから、投入電気量を低減するためには、小電流で抗菌剤を徐々に分解することが

適すると考えられる。適用電流が 0.25 A の場合でも、Ti/PbO₂ 陽極による電気化学的処理は 0.5 時間で CTC を 70%以上分解した。溶液の攪拌速度については、より高い攪拌速度が $k_{\text{antibiotic}}$ と電流効率の上昇をもたらした。攪拌速度の向上は、抗菌剤の分解に要する電気量の低減に寄与することが示唆された。攪拌速度の増加は溶液中の物質輸送を強化し、抗菌剤と電気化学的に生成した OH ラジカルとの接触頻度が増加したためであると考えられる。電流効率の向上から予測されたように、Q₇₀ は高い攪拌速度では減少する傾向にあった。Sirés ら (2008) は Ti/PbO₂ 陽極を使用したメコプロップ水溶液の電解酸化処理において、流速の増加がより小さな所要電気量をもたらしたという同様の結果を報告した。溶液の混合条件の向上によるより高い処理効率は、他の単一成分水溶液についても得られた (Bensalah et al., 2009; de Amorim et al., 2013)。攪拌速度は CTC と CEZ の両方の除去に影響を及ぼした。結果を比較すると、CEZ の $k_{\text{antibiotic}}$ は CTC よりも小さく、CEZ が CTC よりも電気化学的手法によってより難分解性であることが明らかになった。同じ実験条件において、CTC と CEZ の間で分解性に差異が生じたのは、OH ラジカルに対する異なる反応性のためであると考えられる (Polcaro et al., 2008; Lee and Gunten, 2010)。攪拌速度の増加に伴う電流効率の上昇は、CEZ でより顕著であった。CEZ の分解にはより多くの OH ラジカルとの接触が必要であったため、CEZ は攪拌速度の影響を受けやすい傾向にあると考えられる。

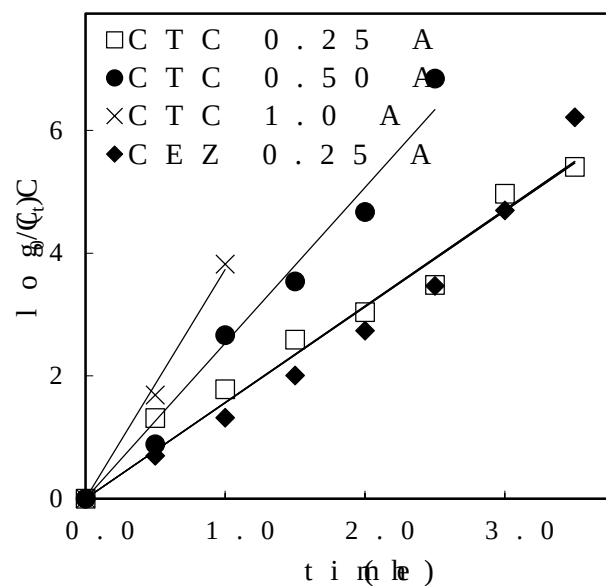


図 4-6 Ti/PbO₂ を用いた CTC 水溶液の電解酸化処理における対数抗菌剤濃度の変化 (700 rpm)

表 4-3 水溶液の電解酸化処理における抗菌剤分解性，所要電気量および電流効率への操作条件の影響

抗菌剤	電流(A)	撈拌速度(rpm)	$k_{\text{antibiotic}}$ (min ⁻¹)	Q_{70} (kC/L)	電流効率
CTC	0.25	700	1.99	1.85	86.7 (%)
		1500	2.80	1.29	90.5 (%)
	0.50	700	2.07	3.38	34.8 (%)
		1500	3.00	2.39	50.1 (%)
	1.0	700	3.48	4.15	24.2 (%)
		1500	4.38	3.30	26.1 (%)
CEZ	0.25	700	1.43	2.63	41.5 (%)
		1500	2.47	1.43	57.9 (%)
	0.50	700	1.20	5.88	19.7 (%)
		1500	2.62	2.75	30.2 (%)

4.6.3 生乳に含有する抗菌剤の分解特性

本章ではこれまで水溶液中における抗菌剤の分解特性について検討してきた。ここでは生乳に含有する抗菌剤に対して電解酸化処理を行った。水溶液は抗菌剤のみを含有する単一成分水溶液であるのに対し、生乳は有機性濃厚溶液であり、多成分溶液でもある。そのような特徴を持つ生乳に含有する抗菌剤の分解特性を調べ、抗菌剤の選択的な分解処理プロセスの確立に活かすことを目指した。生乳について得られた結果を水溶液での結果と比較することによって、有機性濃厚溶液かつ多成分溶液としての生乳に含有する抗菌剤の処理特性を明らかにすることを試みた。

陽極に Ti/PbO_2 を用いて、生乳に含有する CTC または CEZ に対して電流値 0.5 A、溶液攪拌速度 700 rpm で電解酸化処理を行った。すべての実験において支持電解質は Na_2SO_4 とした。投入電気量の増加に伴い、抗菌剤濃度はどちらも減少した。6 時間の処理により、CTC および CEZ の濃度は初期濃度 100 mg/L からそれぞれ 12.0, 23.0 mg/L まで減少した。

水溶液と生乳両方について、 Ti/PbO_2 を用いた電流値 0.5 A、攪拌速度 700 rpm での電解酸化処理における CTC の濃度変化を図 4-7 (a)に、CTC 濃度について算出した瞬間電流効率、 ICE_{CTC} を図 4-7(b)に示す。図 4-7(a)に示すように、水溶液中の CTC 濃度は、処理開始 3 時間後に検出限界以下になった。生乳では水溶液と比べると CTC 濃度の減少速度は小さく、グラフの形状が異なった。溶存する生乳成分の存在が CTC の分解に影響を及ぼし、結果として CTC の分解速度の低下をもたらしたと考えられる。3.7.5 節で示したように、生乳成分は抗菌剤の分解を妨害する。特に脱脂乳での結果より、乳脂肪の影響が大きいことが明らかとなった。

CTC についても脱脂乳中で Ti/PbO_2 を陽極に用いた電解酸化処理を電流値 1.5 A, 攪拌速度 700 rpm で行った結果, 1 時間の処理後, CTC 濃度は生乳では約 37.9%減少したのに対し, 脱脂乳では約 66.7%の低減が観察され, CTC 濃度の減少速度は生乳中よりも脱脂乳中で向上した。生乳に含有する CTC の電解酸化処理における結果からも, 乳脂肪が抗菌剤の分解を妨害することが示唆された。

図 4-7 (b)に示すように ICE_{CTC} は, 水溶液中では指数関数的に減少した。定電流条件下における電気化学反応による有機物の酸化反応の律速条件は, 適用電流値によって電荷移動律速と物質輸送律速の 2 つの異なる条件にわけられる。律速条件が遷移する点の電流値は限界電流 i_{lim} と呼ばれ, 式(4-3)のように表される (Kapalca et al., 2008)。

$$i_{\text{lim}}(t)=4Fk_m\text{COD}(t) \quad (4-3)$$

ここで, $i_{\text{lim}}(t)$ は時間 t (s)での限界電流密度 (A/m^2), F はファラデー定数 (C/mol), k_m は物質輸送係数 (m/s)である。

適用電流値が限界電流より小さい場合, 処理プロセスは電荷移動律速である。一方, 適用電流値が限界電流よりも大きい場合は物質輸送律速であり, 陽極近傍よりもバルクにおける有機物濃度の方が高く, 酸化の対象となる有機物の物質移動速度が処理プロセスの律速段階となる (Kapalca et al., 2008; Fierro et al., 2013)。

一般に, 物質輸送律速条件下での有機物の電気化学的無機化では, 有機物濃度および ICE の経時変化は指数関数的な減少であることが知られている (Kapalca et al., 2008; Fierro et al., 2013)。図 4-7 (b)の ICE_{CTC} の挙動から考えると, 0.5 A では水溶液中の CTC の電解酸化処理プロセスは,

物質輸送律速であると考えられる。すなわち、陽極に Ti/PbO_2 を使用し、攪拌速度が 700 rpm の条件では、0.5 A は限界電流よりも大きいことが推測される。しかし、生乳に含有する CTC の濃度減少は指数関数的減少ではなかった。この水溶液と生乳との差異は、有機性濃厚溶液である生乳中の CTC の濃度変化に起因すると考えられる。 i_{lim} は COD の値と関連するため、水溶液と生乳に含有する CTC では i_{lim} は異なり、COD 濃度の高い生乳中の方が CTC の i_{lim} が大きく、結果として生乳中における CTC の濃度変化は水溶液とは異なる挙動を示したと推測される。

CTC 濃度に加えて ICE についても水溶液と生乳では異なる傾向が観察され (図 4-7 b), 有機性濃厚溶液の特徴が明らかになった。生乳では含有 CTC 濃度について算出した ICE, すなわち ICE_{CTC} の値が水溶液に比べて小さかった。これは濃厚溶液である生乳に含有する CTC について ICE を算出しているためと考えられる。 ICE_{CTC} の挙動は、水溶液と生乳の間に大きく異なった。生乳では処理開始 3 時間後に、 ICE_{CTC} にピークが存在した。一方、水溶液では ICE_{CTC} は処理プロセスを通して指数関数的に減少した。図 4-8 は生乳に含有する CTC の電解酸化処理において、 Ti/PbO_2 陽極を使用し、電流値を 0.5-1.5 A とした場合の CTC 濃度 (a) と ICE_{CTC} (b) を示す。図 4-9 は電流値を 1.5 A とし、 Ti/IrO_2 陽極を使用した場合の CTC 濃度 (a) と ICE_{CTC} (b) を Ti/PbO_2 のデータと合わせて示す。図 4-8 および図 4-9 より、いずれの電流、陽極でも ICE_{CTC} にピークが存在した。このピークは式(4-2)の時間間隔 Δt を 15 分, 30 分, 60 分と変化させても観察されたため、 Δt は 60 分に設定した。水溶液ではいずれの実験条件でも ICE_{CTC} にピークは観察されなかった。よってこのピークは、有機性濃厚溶液である生乳に含有する抗菌剤の処理に特有であると考えられる。生乳 (図 4-8) では水溶液 (表 4-3) に比べて ICE_{CTC}

への電流値の影響が小さかった。生乳に含有する抗菌剤の処理では、小電流においても生成した酸化剤は一定の割合が生乳成分の分解に使用されることが示唆された。生乳中においてのみ ICE_{CTC} にピークが出現した理由は、処理プロセスの初期段階において、生乳成分が抗菌剤の分解に強く干渉したためであると考えられる。初めは生乳成分の干渉が強く、 ICE_{CTC} は 4%未満であった。その後生乳成分の分解の進行に伴い濃度分布に変化が生じ、CTC と OH ラジカルとの接触頻度が増加したことによって、 ICE_{CTC} の増加が引き起こされたと考えられる。それらの結果として ICE_{CTC} にピークが出現した、すなわち ICE_{CTC} の指数関数的減少の始まりが遅れ、処理の途中となったと推測される。一方、水溶液では指数関数的減少の始まりは、電解酸化処理の開始点であった。生乳に含有する CTC の電解酸化処理における ICE_{CTC} の指数関数的減少の開始点を臨界点と呼ぶこととする。図 4-9 からわかるように、Ti/IrO₂ では Ti/PbO₂ よりも臨界点は遅い反応時間で生じた。不活性電極である Ti/PbO₂ は、活性電極である Ti/IrO₂ よりも酸化力が高い (Panizza and Cerisola, 2009)。Ti/IrO₂ では生乳成分の分解、すなわち生乳成分による CTC 分解の干渉を軽減するためにより多くの時間を要したため、臨界点に達するまでの時間が長くなったことが推測される。

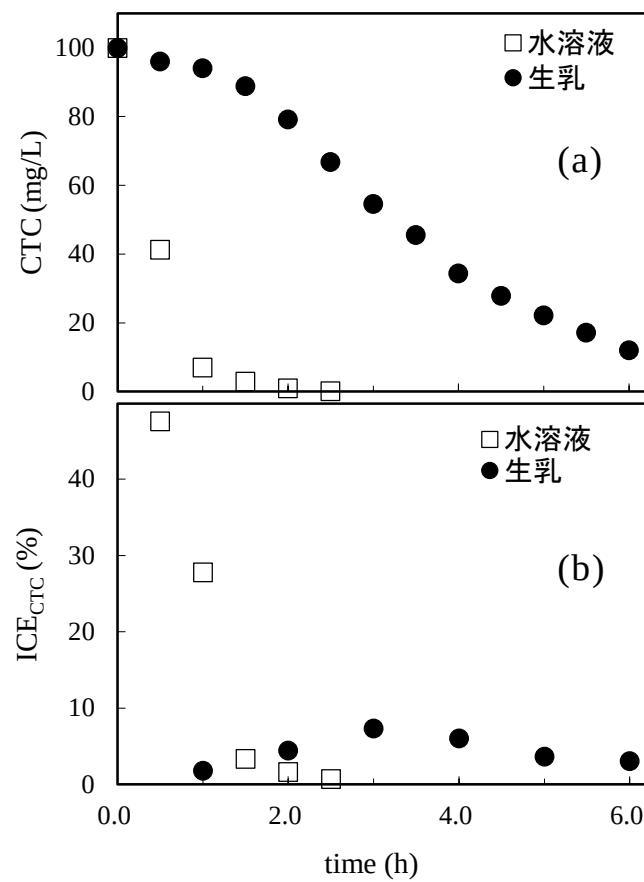


図 4-7 Ti/PbO₂を用いた水溶液および生乳に含有する CTC の電解酸化処理 (a) CTC 濃度, (b) ICE_{CTC} (0.5 A, 700 rpm)

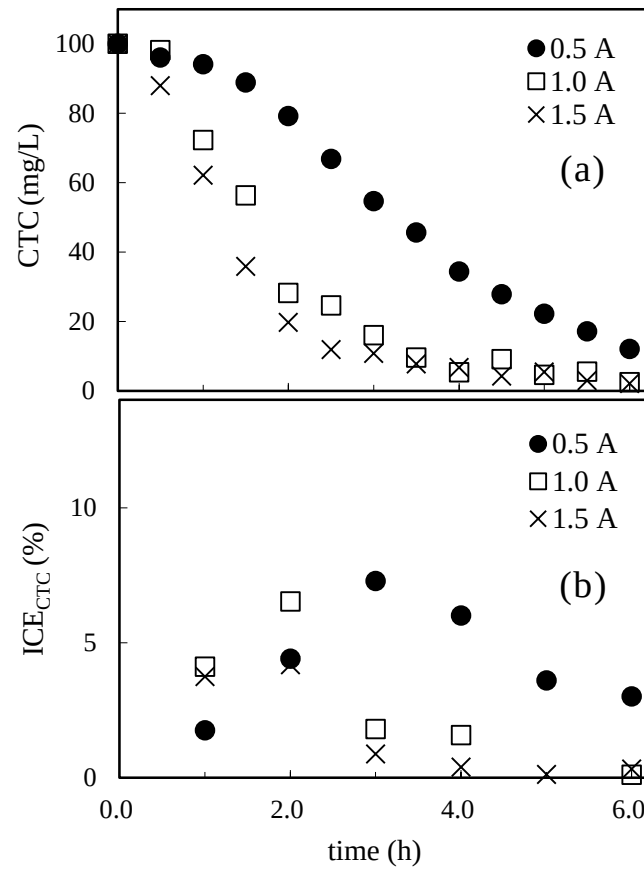


図 4-8 Ti/PbO₂を用いた生乳に含有する CTC の電解酸化処理における電流の影響 (a) CTC 濃度, (b) ICE_{CTC} (700 rpm)

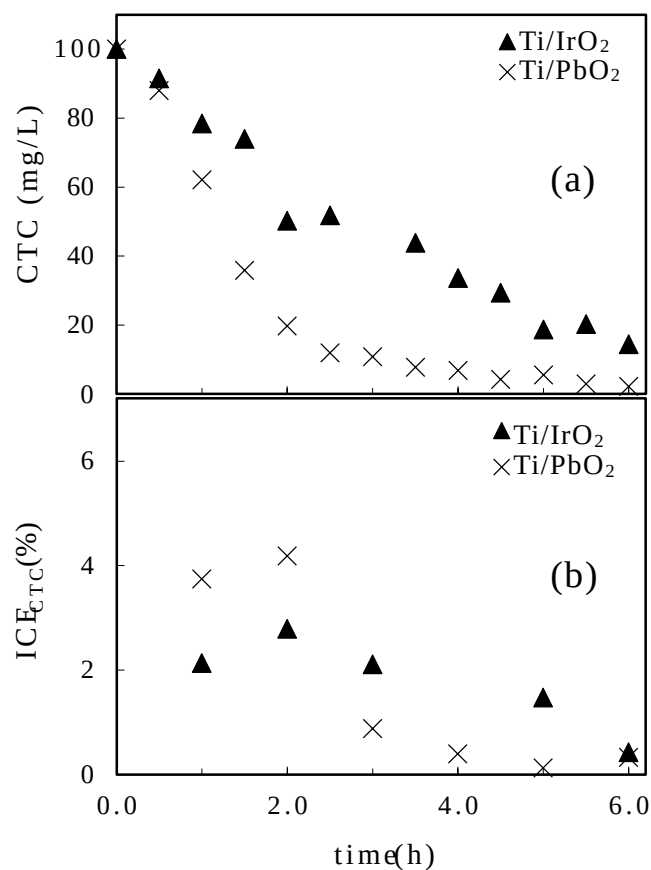


図 4-9 生乳に含有する CTC の電解酸化処理における陽極の影響
(a) CTC 濃度, (b) ICE_{CTC} (700 rpm)

図 4-10 は Ti/PbO₂ を陽極として使用した同一実験条件 (1.5 A, 700 rpm) での ICE_{CTC} と CTC 濃度を示す。上述のように、生乳に含有する CTC の濃度減少のグラフ形状は水溶液 (図 4-7) とは異なっていた。CTC 濃度のグラフ形状は ICE_{CTC} の臨界点において変化した。すなわち ICE_{CTC} の臨界点は CTC 濃度のグラフの変曲点と一致した。変曲点が存在することから、生乳中の CTC の分解プロセスが多段階であることが示唆された。臨界点は適用電流が 1.5 A の場合は 1.5 時間で生じた。ICE_{CTC} の臨界点と CTC 濃度のグラフの変曲点の一致は、0.5 A と 1.0 A でも見られ

た (図 4-8)。同様の挙動は CEZ でも観察された。陽極として Ti/PbO₂ を用いて生乳に含有する CEZ に対して電解酸化処理を行ったところ、電流値が 1.5 A の場合、ICE_{CEZ} の臨界点は 0.5 時間で生じた。

これまでに多成分溶液の電気化学的手法による処理例がいくつか報告されてきたが (Maldonado et al., 2006; Sirés et al., 2010; Salazar et al., 2013), いずれも処理溶液は希薄溶液であった。また特定の物質のみを標的にしているのではなく、溶液に含有する有機物全体の分解に焦点を当てていた (Morão et al., 2004)。Rao et al. (2009) は埋立地浸出水中の汚染物質の電解酸化処理を行ったところ、COD 除去が二段階の擬一次反応動力学モデルに従ったと報告した。これは、処理溶液が実廃水で多成分溶液であったためと考えられる。de Vidales et al. (2012) は、メタノール/水溶液中のトリクロサンの電解酸化処理において、メタノールとトリクロサンの酸化が競合し、トリクロサンの除去が二段階になったことを報告した。

水溶液と生乳に含有する CTC の電解酸化処理結果を比較したところ、CTC 濃度や ICE_{CTC} の挙動が異なっていた。水溶液では、電流や陽極のような実験条件によって CTC 濃度のグラフ形状が変化することはなかった。これに対して、生乳では実験条件とともにグラフの形状が変化した (図 4-8 a, 図 4-9 a)。これらの結果は、COD 濃度が高い生乳成分の存在が関係したと考えられる。生乳中では生乳成分によって酸化剤が消費されるため、抗菌剤に供給される酸化剤の量が水溶液中よりも少ないことが推測される。よって、生乳中の CTC を効率よく分解するためには、臨界点に達するまでのフェーズの処理効率を改善することによって、このフェーズをより短く、フェーズにおける CTC 濃度の減少の傾きをより大きくすることが必要である。これらを実現するためには、電流値の増加

や陽極材料の選択，物質輸送条件の改善等が有効であると考えられる。実際に，臨界点までのフェーズは，電流値が 0.5 A から 1.0 A に増加すると，3.0 時間から 2.0 時間へと短くなった (図 4-8)。この結果は，大きな電流値では酸化力が増加し，CTC 濃度の減少の傾きがより大きくなるため，臨界点に達するまでの時間が短縮されるという予測と一致した。

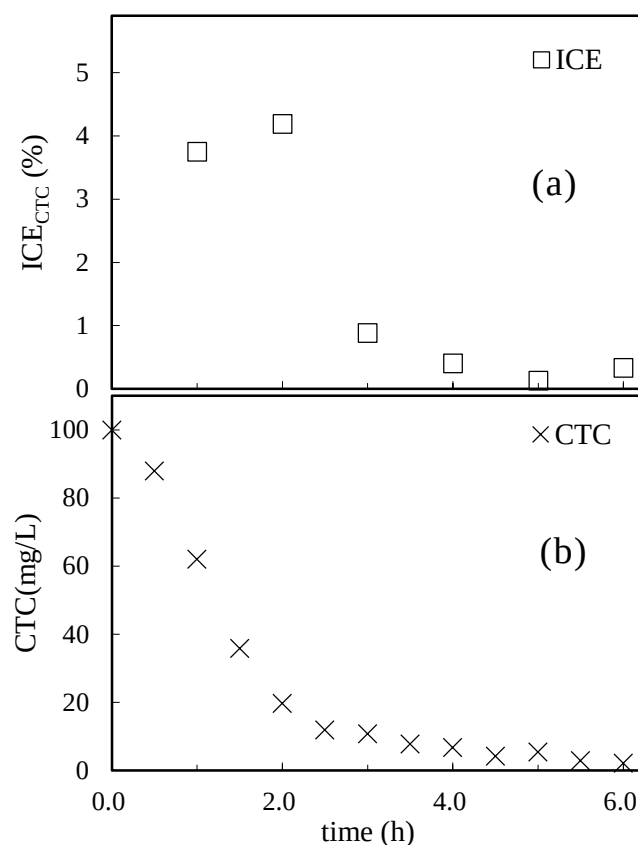


図 4-10 Ti/PbO₂ を用いた生乳に含有する CTC の電解酸化処理 における変曲点と臨界点の比較 (a) ICE_{CTC} , (b) CTC 濃度 (1.5 A, 700 rpm)

4.6.4 生乳に含有する抗菌剤の優先的な分解と処理プロセスの所要電 気量との関係

電解酸化プロセスの主なコストは電気エネルギーであり，省エネルギー化は実用化への最も大きな課題である。処理プロセスの省エネルギー化のためには，酸化剤の標的物質以外への消費を抑えることが求められる。電解酸化処理プロセスで生成する OH ラジカルは，強力な活性種で反応性が高いが反応の選択性が乏しく，実質的に溶液中のすべての化合物と反応する (Polcaro et al, 2008; Lee and Gunten, 2010)。そのため，対象溶液が単一成分溶液でなく，溶液中に標的物質以外の物質が存在する場合には，処理効率が低くなると考えられる。廃棄乳では，有機性濃厚溶液である生乳に標的物質である抗菌剤が微量に含有している。処理プロセスのエネルギー消費量を低減するためには，電気化学的に生成した酸化剤の生乳成分への消費を最小限にし，抗菌剤の分解へ効率的に使用されるようにする必要がある。多成分溶液でもある生乳中の抗菌剤が，生乳成分よりも優先的に分解されることが重要である。すなわち生乳成分の分解の抑制と抗菌剤の効率的な分解の両方が必要である。本章では抗菌剤のより優先的な分解を実現する実験条件を調べるとともに，所要電気量（抗菌剤濃度の 70% 低減に要した電気量 Q_{70} ）の値を算出し，両者の関係を検討した。抗菌剤の優先的な分解の評価は， $k_{\text{selectivity}}$ を指標として行った。 $k_{\text{selectivity}}$ は溶液全体の k_{COD} と $k_{\text{antibiotic}}$ の比と定義し，式(4-4)に従って算出した。

$$k_{\text{selectivity}} = \frac{k_{\text{antibiotic}}}{k_{\text{COD}}} \quad (4-4)$$

陽極材料と支持電解質の $k_{\text{selectivity}}$ への影響を表 4-4 に示す。6 時間の電解酸化処理により生乳に含有する CTC の濃度は 86.6-98.9%減少した。Ti/IrO₂ と Na₂SO₄ を用いた場合に比べて、Ti/PbO₂ を使用した場合および NaCl を添加した場合は臨界点に達するまでの時間が短く、このフェーズにおける CTC の濃度減少の傾きが大きくなった結果、より短時間で CTC 濃度を低減可能であった。NaCl が存在する場合に CTC の処理効率が向上したのは、生成した次亜塩素酸 (Chiang et al., 1995) によって抗菌剤がバルク溶液中で除去され、物質輸送律速が改善されたためであると考えられる。 $k_{\text{selectivity}}$ の値が 1 よりも大きいことから、生乳に含有する CTC が生乳成分と比べて優先的に分解されたことが示された。陽極として Ti/PbO₂ を使用あるいは NaCl を添加した場合には、CTC はより優先的に分解された。臨界点に達するまでのフェーズの効率が上昇したことにより、優先性が向上したと考えられる。優先性の向上に伴い、 Q_{70} の値は約半分に低減された。有機性濃厚溶液の電解酸化処理において、陽極や支持電解質といった実験条件が所要電気量の低減に貢献することが示された。ただし、塩化物イオンは有毒な中間生成物を発生させる可能性がある (Polcaro et al., 2008)。

そこで Ti/PbO₂ を陽極として使用し、CTC と CEZ の電解酸化処理における操作条件、適用電流値と溶液攪拌速度の $k_{\text{selectivity}}$ と Q_{70} への影響を調べた。結果を表 4-5 に示す。 $k_{\text{selectivity}}$ の値は 0.5-1.5 A の範囲では 1.5 A の場合に大きかった。また、攪拌速度が 700 rpm から 1500 rpm へと上昇すると、 $k_{\text{selectivity}}$ の値は増加した。攪拌速度の影響は主に臨界点に達するまでのフェーズで観察され、攪拌速度の向上がこのフェーズの効率改善に有効であることが明らかになった。生乳に含有する CTC についての結果から、電流値が大きい場合、優先性の向上には攪拌速度の選定が

より重要になることが示唆された。カゼインミセルや脂肪球といった個々の生乳成分と抗菌剤の拡散係数が異なることが優先的な分解の一因となった可能性がある。陽極と支持電解質の場合と同様に、 $k_{\text{selectivity}}$ の値が増加すると、 Q_{70} は減少した。攪拌速度を十分にすることによって、適用電流値が大きい場合でも、電解酸化処理プロセスの所要電気量が低減されることが示された。消費エネルギー量の抑制にも攪拌速度の向上が効果的である可能性があると考えられる。また、表 4-3 に示した水溶液の結果と比較すると、 Q_{70} は水溶液では小電流で低減されたが、生乳では電流値が小さい場合でも Q_{70} に大きな差は観察されず、水溶液に比べて Q_{70} への電流値の影響が小さかった。前述の優先性に加えて Q_{70} の結果からも、適用した電流値の範囲 (0.5-1.5 A)では、生乳に含有する抗菌剤の電解酸化処理において大きな電流値を設定することが望ましいと考えられる。ただし、さらなる電流値の増大は生乳成分の分解を助長する可能性がある。大電流ではジュール熱が多く発生し、溶液が熱くなることから、タンパク質の変性が進行することが予想される。

得られた結果から、濃厚溶液に含有する微量抗菌剤の優先的な分解のためには、Ti/PbO₂ 陽極を用いて十分な物質輸送条件と電流値で処理を行うことが重要であると考えられる。大きな電流値が適するという結果は、水溶液での結果 (表 4-3) や希薄廃水の処理では消費エネルギー低減のため小電流が望ましいという先行研究 (Fierro et al., 2009; Panizza and Cerisola, 2008) とは異なり、電解酸化処理による有機性濃厚溶液に含有する微量物質の分解特性は異なることが明らかになった。

表 4-4 生乳の電解酸化処理 における CTC 分解の優先性と所要電
量への陽極材料および支持電解質の影響 (1.5 A, 700 rpm)

陽極材料	支持電解質	$k_{\text{selectivity}}$ (-)	Q_{70} ($\times 10^4$ C/L)
Ti/IrO ₂	Na ₂ SO ₄	1.78	7.87
Ti/PbO ₂	Na ₂ SO ₄	3.37	3.35
Ti/IrO ₂	NaCl	3.72	3.94

表 4-5 生乳の電解酸化処理 における CTC 分解の優先性と所要電
気量への操作条件の影響

抗菌剤	電流値(A)	撈拌速度 (rpm)	$k_{\text{selectivity}}$ (-)	Q_{70} ($\times 10^4$ C/L)
CTC	0.5	700	2.27	2.64
		1500	5.33	2.50
	1.0	700	2.26	2.35
		1500	6.50	2.20
	1.5	700	3.37	3.35
		1500	8.26	2.65
CEZ	1.5	700	2.95	2.70
		1500	6.37	1.89

4.7 まとめ

4.7.1 結論

本章では廃棄乳に残留した抗菌剤の分解処理法として電解酸化法を適用し，消費エネルギーを抑えた処理プロセスの実現を目指した。有機性濃厚溶液である生乳に含有する微量抗菌剤の分解特性および抗菌剤の選択的な分解について検討し，以下の知見を得た。

- 1) 生乳に微量に含有するテトラサイクリン系抗菌薬およびセフェム系抗菌薬は，生乳成分の干渉を受けたものの，電解酸化法によって分解された。
- 2) 電解酸化法の課題である消費エネルギーの低減を目的として選択的な分解を検討したところ，抗菌剤の部分的そして優先的な分解の両方が確認された。
- 3) 生乳に含有する抗菌剤の分解特性を水溶液中と比較すると，生乳中では，抗菌剤濃度および瞬間電流効率の挙動が異なっていた。
- 4) 生乳に含有する抗菌剤の電解酸化処理では，抗菌剤濃度のグラフに変曲点が存在し，生乳中の抗菌剤の分解プロセスが多段階であることが示唆された。
- 5) 有機性濃厚溶液である生乳に含有する微量抗菌剤の処理における操

作条件の影響は、水溶液中とは異なることが明らかになった。生乳中では、大電流の場合に抗菌剤のより優先的な分解と処理プロセスの所要電気量の低減が可能であった。一方、水溶液では所要電気量は小電流の条件において小さくなった。

- 6) 得られた結果は、電解酸化法の有機性濃厚溶液に含有する微量物質への適用を可能にし、本手法の適用範囲を希薄溶液に限定された現状から広げることが示唆する。

4.7.2 今後の課題

本章での結果により、電解酸化処理による有機性濃厚溶液に含有する微量物質の分解特性が明らかになった。また、抗菌剤の優先的な分解は、処理プロセスの所要電気量の低減が可能であった。いずれの実験条件においても、抗菌剤の物質輸送速度の確保が重要であった。これらの知見は、電解酸化法による廃棄乳処理の実用化を促進すると考えられる。しかし、装置化を行う場合、溶液の攪拌手法が課題となる。また、電解酸化法による抗菌剤の分解において、芳香環が消失したことが明らかになり、抗菌活性が抑制されたことが推測された。今後は、電解酸化処理後の抗菌剤の細胞毒性についても評価する必要があると考えられる。

第 5 章 メタン発酵による乳牛糞尿に残留する抗菌剤の分解手法の検討

5.1 はじめに

メタン発酵は家畜糞尿処理法として広く利用されている。近年は生ごみ、活性汚泥等家畜糞尿以外のバイオマス、産業廃水処理への適用も進んでいる。

抗菌剤を含有する家畜糞尿のメタン発酵に関する研究はいくつか報告されている (Arikan et al., 2006; Álvarez et al., 2010)。しかし、これらのほとんどは抗菌剤によるバイオガス生成の阻害に焦点を当てており、メタン発酵プロセス中の抗菌剤の分解性についてはほとんど検討されていない。加えて、研究例は豚糞尿に関するものが中心である。乳牛は乳房炎治療で高濃度の抗菌剤を投与される機会が多く、乳牛糞尿のメタン発酵プロセスにおける抗菌剤の分解性に関する知見は重要であると考えられる。

メタン発酵は微生物の代謝作用による生物化学的プロセスである。よって糞尿中の抗菌剤の存在はメタン発酵プロセスの微生物に影響を及ぼす可能性がある。また、芳香族化合物はメタン生成菌を阻害することが知られているが (張ら, 1994; Mohring et al., 2009), 抗菌剤は芳香族化合物に属するものが多い。本研究で対象とした抗菌剤はいずれも芳香環を持つ。

乳牛糞尿に残留した抗菌剤の処理法としてメタン発酵を適用するにあたり、基礎的な知見を得るために以下の項目を明らかにすることを本章の目的とした。

- 1) 乳牛糞尿のメタン発酵プロセスにおける含有抗菌剤の分解特性
- 2) 乳牛糞尿に含有する抗菌剤がメタン発酵プロセスに与える影響
- 3) 乳牛糞尿のメタン発酵後消化液に残存する抗菌剤の電解酸化処理による分解特性

5.2 実験材料および方法

5.2.1 供試試料

家畜糞尿試料には、兵庫県の A 牧場から 2014 年 9 月および 12 月，2015 年 1 月および 9 月に採取した乳牛糞尿を用いた。種汚泥として、乳牛糞尿を嫌気性発酵させた残渣である消化液を使用した。この消化液は、北海道の B 牧場から 2014 年 6 月および 2015 年 5 月に採取した。これらの試料は、実験に供試するまでポリエチレン密閉容器に入れ、糞尿は 4°C で、消化液は 37°C で保存した。

5.2.2 実験方法

5.2.2.1 メタン発酵試験

メタン発酵試験は、抗菌剤の分解への光による影響を避けるため容積 500 mL の褐色ガラス瓶をリアクタとして使用した。リアクタに、脱イオン水 1 mL に溶解した抗菌剤を入れ、消化液を 180 mL，乳牛糞尿を 120 mL 加え混合し、抗菌剤濃度が目的とする初期値となるように調整した。窒素ガスで置換することにより、嫌気性条件を確保した。ねじ口瓶にはゴム栓をつけ、シーリング材で密閉した。ゴム栓にはバイオガスの捕集および発酵消化液のサンプリング用のアクリルパイプをそれぞれとりつけた。発酵は 37°C に設定したウォーターバス内に設置したリアクタ内で実施し、中温メタン発酵とした。消化液は、サンプリングの妨げと

なる固形物を除去するために実験開始一週間までにろ過し，あらかじめ 37°C の嫌気性条件で馴養した。乳牛糞尿は実験開始当日に夾雑物を取り除いた。生成したバイオガスは，水上置換法によりガスホルダとして使用したポリシリンダーに捕集した。バイオガス生成量は，ポリシリンダーの目盛より計測した。図 5-1 に実験の概要図を示す。コントロールリアクタには，乳牛糞尿と消化液のみを投入し，抗菌剤は添加しなかった。微生物の存在の影響を観察するため，抗菌剤のみを含有する水溶液のリアクタを嫌気性条件で準備した。サンプリングは 2-3 日ごとに行い，分析まで冷凍庫で保存した。また，サンプリング時にはリアクタを撹拌した。抗菌剤はクロルテトラサイクリン，セファゾリンに加え，マクロライド系抗菌薬の一つであるタイロシンを対象とした。

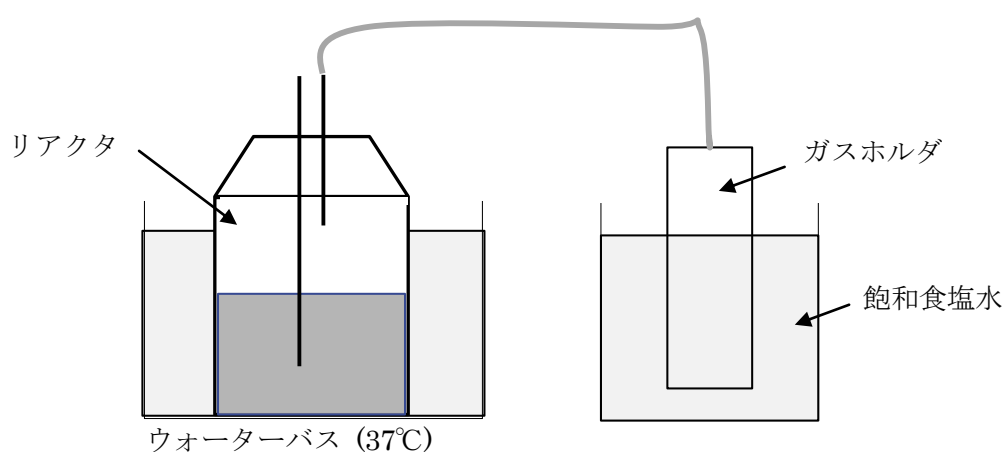


図 5-1 メタン発酵実験装置概要図

5.2.2.2 メタン発酵後消化液の電解酸化処理

メタン発酵後の残渣である消化液 75 mL を脱イオン水 150 mL で希釈し、支持電解質として Na_2SO_4 を 1.0 g 添加した。これに抗菌剤を 10 mg/L となるよう添加したものを対象溶液とした。電極は陽極として Ti/IrO_2 を、陰極には Ti プレートを使用し、電流は 1.5 A の低電流とした。実験は 500 mL トールビーカー内でデジタルマグネティックスターラーを用いて攪拌しながら行った。同時に電解酸化処理の進行に伴い生じる泡の生成量を抑えるために、チュービングポンプ (MasterFlex, L/S standard drive) を用いて、溶液を循環させた (図 5-2)。

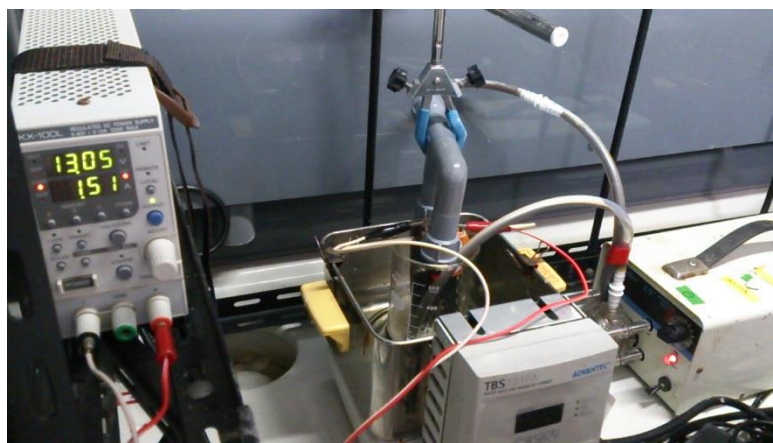


図 5-2 メタン発酵後消化液の電解酸化処理実験装置

5.3 分析方法

5.3.1 糞尿中の抗菌剤の分析方法

5.3.1.1 固相抽出手順

糞尿中の抗菌剤は、HPLC を用いて定性定量分析を行った。夾雑物除去と抗菌剤の精製のため、超音波処理および遠心分離による抗菌剤の抽出後、固相抽出により精製した。固相抽出カートリッジは、シリンジバレル型の HLB Oasis カートリッジ (Waters) と Bond Elute SAX カートリッジ (Bond Elut) を直列につないで使用した。図 5-3 に前処理の手順を示す。McIlvain バッファは 0.1 M クエン酸と 0.2 M リン酸水素二ナトリウムを pH7 となるように混合し、調整した。SPE バッファは、100 mL 中にメタノール 1.875 mL, 0.1 M EDTA 0.9375 mL, MacIlvain バッファ 0.9375 mL とし、リン酸を添加して pH を 2.9 に調整した。

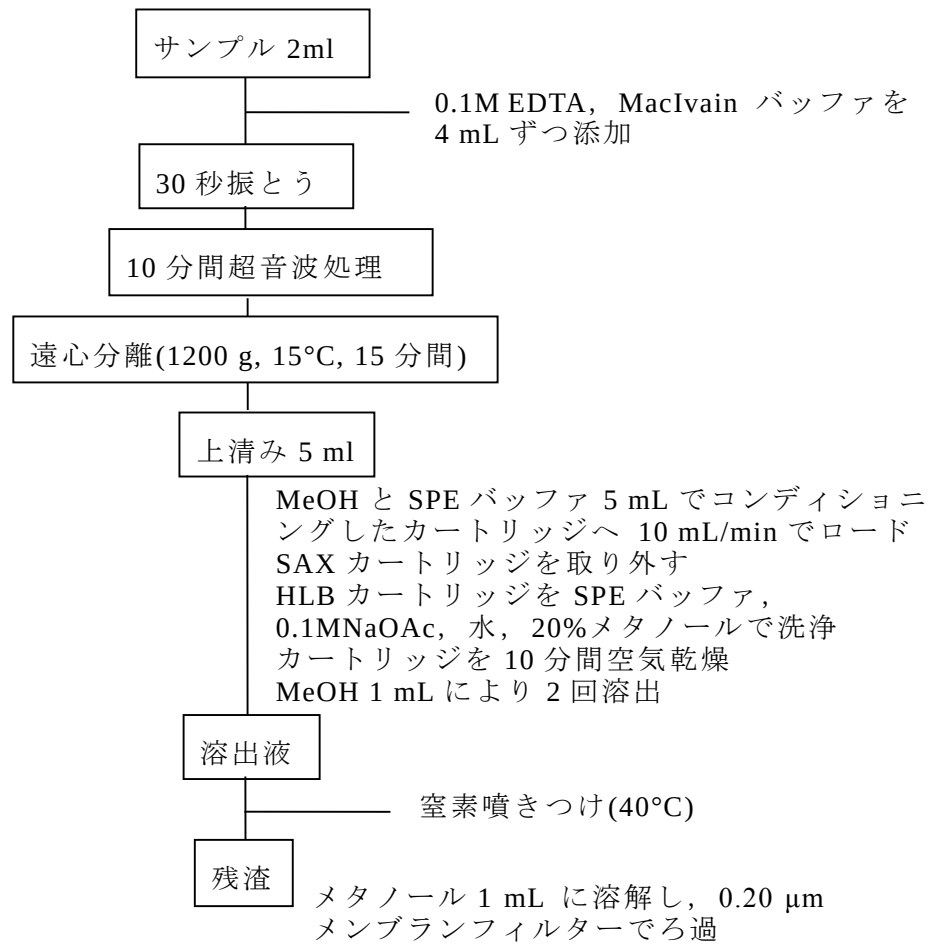


図 5-3 糞尿に含有する抗菌剤の固相抽出手順 (Blackwell et al., 2004)

5.3.1.2 HPLC を用いた定性定量分析

固相抽出による前処理で得られたメタノール溶液を，HPLC によってグラジエント法を用いて定性定量分析した。分析条件を表 5-1 に示す。移動相は組成の異なる 2 つの移動相 A および移動相 B を混合して流した。移動相 A の組成は，テトラヒドロフラン 5%，アセトニトリル 2.5%，0.05%トリフルオロ酢酸水 92.5%とし，移動相 B の組成は，テトラヒドロフラン 5%，アセトニトリル 75%，0.05%トリフルオロ酢酸水 20%とした。移動相の混合割合を表 5-2 に示す (Blackwell et al., 2004)。

表 5-1 糞尿に含有する抗菌剤の HPLC 分析条件

カラム	L-Column ODS (150 mm ×4.6 mm, 5 μm)
移動相	テトラヒドロフラン，アセトニトリル，0.05%トリフルオロ酢酸水
流速	1.0 mL/min
検出器	UV (CTC: 355 nm, TYL: 290 nm)
オーブン温度	40 °C
分析時間	25 min

表 5-2 糞尿に含有する抗菌剤の HPLC 分析における移動相混合割合

時間 (min)	移動相 A (%)	移動相 B (%)
0	100	0
4	100	0
18	0	100
20	100	0

5.3.2 ガス組成分析方法

乳牛糞尿のメタン発酵プロセスで生成したバイオガスの組成は，ガスクロマトクロマトグラフィ（島津製作所，GC-2014）を用いて分析した。カラムは Shimalite Q（信和化工），検出器は熱伝導度型検出器，キャリアガスとしてアルゴンを用いた。

5.3.3 有機酸分析方法

有機酸濃度を測定するにあたり，サンプルを 6000 rpm, 30 分間の条件で遠心分離した後，孔径 0.20 μm のメンブランフィルターでろ過し，夾雑物を除去した。有機酸濃度は HPLC 有機酸分析システム（島津製作所，Prominence）の pH 緩衝化ポストカラム法により定性定量分析した。検出器は電気伝導度検出器（島津製作所，CDD-10AVP）を使用した。分析条件の詳細を表 5-3 に示す。

表 5-3 有機酸分析条件

カラム	Shim-pack SPR-H (250mm×7.8mm, 8 μm)
移動相 (分離用)	4 mM p-トルエンスルホン酸水溶液
移動相 (検出用)	4 mM p-トルエンスルホン酸水溶液, 20 mM Bis-tris, 100 μM EDTA
流速	0.8 mL/min
検出器	電気伝導度検出器 (CDD-10AVP)
オーブン温度	40 °C
分析時間	20 min

5.4 実験結果および考察

5.4.1 中温メタン発酵によるクロルテトラサイクリンの分解試験

クロルテトラサイクリン (CTC) を 10 mg/L または 50 mg/L 添加した乳牛糞尿の中温メタン発酵試験を行った。嫌気性水溶液の場合を含め結果を図 5-4 に示す。糞尿中の CTC 濃度は、20 日間の発酵により初期濃度が 10 mg/L の場合 86.3%, 50 mg/L の場合 82.8%減少した。メタン発酵によって、乳牛糞尿に含有する CTC は分解された。嫌気性水溶液と比較すると、メタン発酵では発酵初期の CTC の分解速度が大きい結果となった。メタン発酵による CTC の除去速度は水溶液中よりも大きく、実験開始 8 日間の発酵で糞尿中の CTC 濃度は、10 から 2.28 mg/L まで減少した (77.2%低減)。また、10.0 mg/L と 50.0 mg/L の CTC の分解特性に大きな差異はなかったことから、50 mg/L 以下の CTC はメタン発酵によって容易に分解されることが示唆された。CTC の初期濃度が 10 mg/L のリアクタについて、発酵開始 6 日目までの CTC 濃度の減少に関する分解速度定数 (Álvarez et al., 2010) を算出したところ、水溶液では 0.069 1/day, メタン発酵では 0.241 1/day であった。速度定数の値からもメタン発酵では発酵初期において抗菌剤が急速に分解されたことが示された。

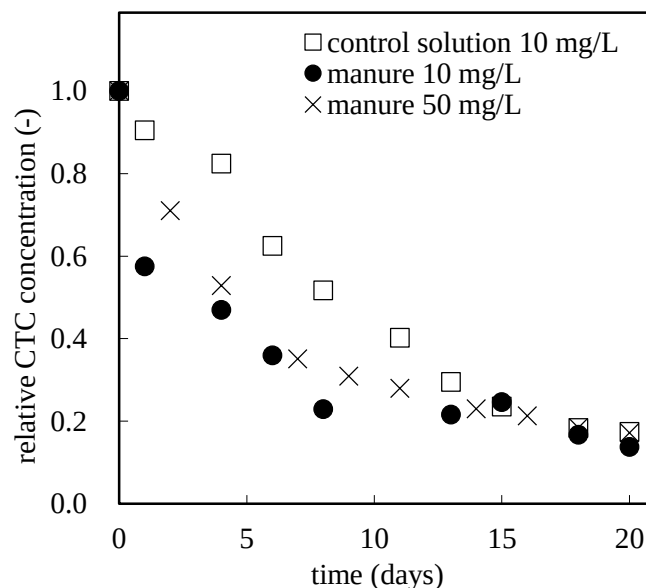


図 5-4 嫌気性条件における CTC の分解特性

5.4.2 中温メタン発酵によるタイロシンの分解試験

タイロシン (TYL) を 10 mg/L 添加した乳牛糞尿の中温メタン発酵試験を行った。結果を嫌気性水溶液の場合とあわせて図 5-5 に示す。嫌気性水溶液では TYL 濃度は 20 日の間ほとんど減少しなかった。一方メタン発酵を行った場合、糞尿中の TYL 濃度は、20 日間の発酵により初期濃度 10 mg/L から 3.70 mg/L まで減少した (63.0%低減)。メタン発酵が乳牛糞尿に含有する TYL の分解に有効であることが明らかになった。メタン発酵開始 6 日目までの TYL 濃度減少の分解速度定数は 0.311 1/day であった。

乳牛糞尿のメタン発酵プロセスにおける含有 TYL の分解特性を CTC と比較すると、両者は類似の傾向を示した (図 5-6)。メタン発酵によって、化学的かつ生物学的に抗菌剤が分解されたと考えられる (Mitchell et al., 2005; Gilbertson et al., 1990)。Zhu et al. (2014) は、5 つのマクロライ

ド系抗菌薬のメタン発酵における代謝物の構造を核磁気共鳴 (NMR) と LC-MS 分析により決定した結果, 抗菌剤の主な分解メカニズムが水酸化と加水分解であることを明らかにした。メタン発酵では, いずれの抗菌剤も発酵開始後 1 日目で濃度が大きく低下した。

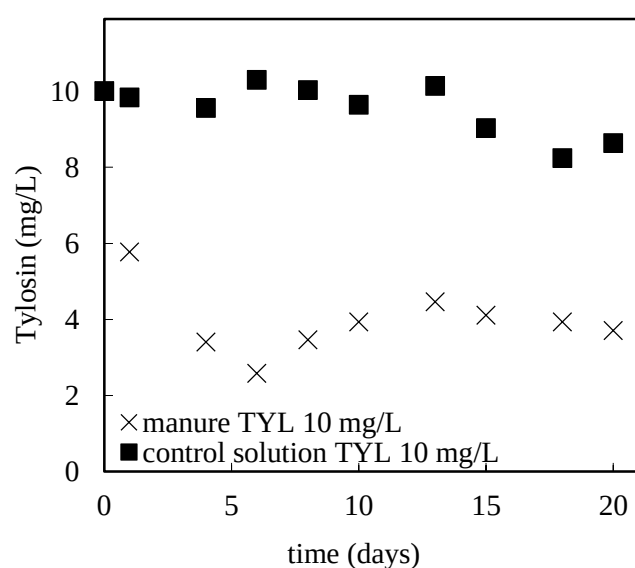


図 5-5 嫌気性条件における TYL の分解特性

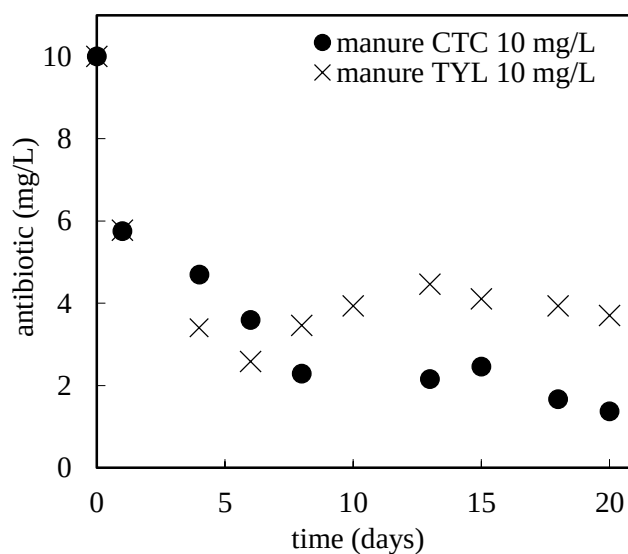


図 5-6 メタン発酵プロセスにおける乳牛糞尿に含有する抗菌剤の分解特性

5.4.3 電解酸化処理によるメタン発酵後消化液に残存する抗菌剤の分解特性

メタン発酵後消化液に CTC を 10 mg/L 添加し，電解酸化処理を行った。陽極は Ti/IrO₂ 電極を，支持電解質は Na₂SO₄ を用いた。図 5-7 に結果を示す。投入電気量の増加に伴い，CTC 濃度は減少し，4 時間の電解酸化処理後には，初期濃度 10 mg/L から 2.38 mg/L まで低減された。活性電極である Ti/IrO₂ によって，メタン発酵後消化液中の CTC の分解特性は良好であった。処理時間を延長することにより，さらに濃度が低減されると推測される。

化学的な手法による糞尿等に含有する抗菌剤の分解処理としては，Sara et al. (2013) がメタン発酵前の豚スラリーに含有する抗菌剤に対して熱分解を試みた例がある。彼らは，セフェム系抗菌薬であるセフトオフルを含有する豚糞尿スラリーを 70°C で 1 時間加熱したところ，初期濃度が 13.8 mg/L の場合，5.97% (0.824 mg/L) の濃度減少が観察されたと報告した。本研究におけるメタン発酵後消化液に含有する CTC の電解酸化処理では，抗菌剤の種類は異なるものの，1 時間の処理で 30%以上の CTC が分解された。電解酸化法は，メタン発酵後消化液に残存する抗菌剤の効率的な分解を実現する手法であると考えられる。

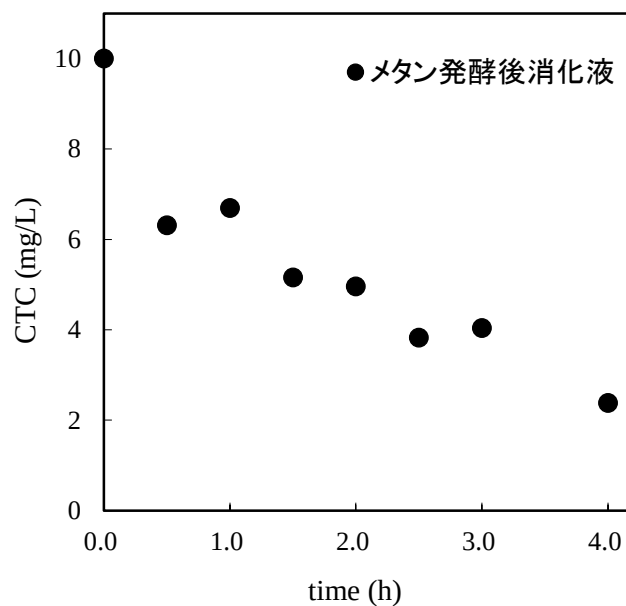


図 5-7 メタン発酵後消化液に含有する CTC の電解酸化処理による分解特性

5.4.4 抗菌剤がメタン発酵プロセスに及ぼす影響

5.4.4.1 バイオガス生成への影響

メタン発酵への影響の指標として、発酵プロセスで生成したバイオガスの量および組成を調べた。一般に乳牛ふん尿をメタン発酵した場合の分解反応は式(5-1)で表され、生成するバイオガスのメタン濃度は 56%とされている (李, 2005)。



乳牛糞尿のメタン発酵過程の進行に伴い生成したバイオガスの蓄積量を図 5-8 に示す。表 5-4 はガス生成量について各リアクタの結果を比較したものである。抗菌剤を含有しないコントロールリアクタでのガス生成量を 1.0 として相対値で表示した。バイオガス生成量はコントロールリアクタで最も多く、抗菌剤がバイオガス生成に影響を与えたことが明らかになった。生成したバイオガスのメタンガス濃度は、コントロールでは 56.0-56.3%であった。乳牛糞尿の発酵が順調に進行したことが示唆された。一方、抗菌剤を 10 mg/L 添加したリアクタにおけるメタンガス濃度は CTC の場合 39.8%, TYL の場合 42.1%, CEZ の場合は 50.1%であった。抗菌剤によってバイオガス生成量およびバイオガス中のメタン濃度に差が生じた。CTC と TYL と比べて、CEZ を含有するリアクタではバイオガス生成に対する抗菌剤の影響が小さかった。CEZ は抗菌剤濃度を 50 mg/L とした場合も、CEZ 濃度の増加によるバイオガスの生成量の低下やメタンガス割合の低下といった影響は観察されなかった。Beneragama et al. (2013) は乳牛糞尿の高温嫌気性消化 (55°C) において、含有する CEZ 濃度が 30-90 mg/L の範囲ではメタンガス生成を有意に抑制しなかったことを報告した。本研究とは発酵温度や CEZ 濃度が異なるが、CEZ 濃度の上昇がメタン発酵プロセスに影響を及ぼさなかったという結果は一致した。

抗菌剤間での差は、抗菌剤の化学構造や作用機序の違いが原因である可能性がある。抗菌剤には原核生物に対するいくつかの作用機序がある。テトラサイクリン系抗菌薬である CTC およびマクロライド系抗菌薬である TYL は、細菌のリボソームに作用して、タンパク質の生合成を阻害する静菌性抗菌剤である (Chee-Sanford et al., 2009)。ただし、TYL は 100 mg/L 以上の高濃度では殺菌作用も示すことが知られている

(Mitchell et al., 2013)。本研究で添加した濃度範囲では、静菌作用のみを示したと考えられる。一方、セフェム系抗菌薬である CEZ は、細菌の細胞壁合成を阻害することによって殺菌作用を示す (Chee-Sanford et al., 2009)。しかし、メタン生成菌は古細菌の一種であり、ムレイン (ペプチドグリカン) を欠くため、セフェム系抗菌薬のようなムレインの生合成を標的とする抗菌剤は古細菌に対する成長阻害影響を持たない (Kandler and König, 1998; 西原・古賀, 1998)。したがって、CEZ を含有するリアクタでは CTC や TYL を含有するリアクタと比較すると、リアクタ内の微生物叢に及ぼす影響が小さく、結果としてバイオガス生成量の減少量が抑えられたことが推測される。

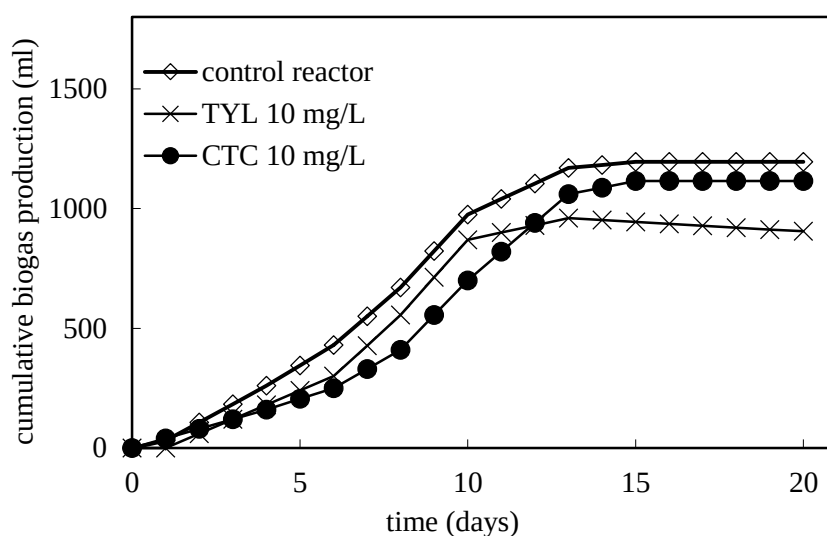


図 5-8 乳牛糞尿のメタン発酵プロセスにおける
累積バイオガス生成量

表 5-4 コントロールリアクタを基準とした各リアクタの
ガス生成量の比較 (20 日目)

リアクタ	バイオガス	メタンガス
コントロール	1.00	1.00
TYL 10 mg/L	0.803	0.610
CTC 10 mg/L	0.933	0.687
CEZ 10 mg/L	0.962	0.866
CEZ 50 mg/L	0.991	1.18

5.4.4.2 有機酸の生成および消失への影響

有機酸は、プロピオン酸，n-酪酸，酢酸の 3 つが観察された。これらはメタン発酵過程で一般的に観察される有機酸である (李, 2005)。メタン発酵の進行に伴うリアクタ内の 3 つの有機酸濃度の経時変化を図 5-9 に示す。いずれのリアクタでも有機酸の蓄積は観察されず，酸生成菌とメタン生成菌の基質消費のバランスは保たれていたと考えられる。しかし，有機酸の生成量を比較するとコントロールリアクタに比べて，抗菌剤を添加したリアクタでは，12 日目までの有機酸の濃度が低かった。一方で有機酸の消失速度は，リアクタ間で大きな差は観察されず，生成した有機酸はメタン生成菌に利用されたことが推測された。抗菌剤含有リアクタでは，メタン生成過程だけでなく酸生成過程も影響を受けた結果，バイオガス生成量が低下したと考えられる。抗菌剤は，酸生成過程における酸生成菌と酢酸生成菌の活性を低下させたと推測される。有機酸の蓄積が観察されず，生成した有機酸の消失，すなわちメタン生成菌等による有機酸の速やかな分解が行われたことから，メタン生成過程よりも

酸生成過程の方が抗菌剤の影響をより大きく受けた可能性がある。ガス生成量をコントロールリアクタと抗菌剤含有リアクタで比較すると、抗菌剤含有リアクタにおけるガスの減少割合は、バイオガスよりもメタンガス濃度の方が大きかった (表 5-4)。この結果からも、抗菌剤は酸生成過程だけでなくメタン生成過程にも影響を及ぼしたと考えられる。メタン生成菌の中には活性を保持した菌も存在し、全体として有機酸の分解速度が維持されたと考えられる。メタンガスの生成を行うメタン生成古細菌としては、酢酸資化性や水素資化性メタン生成菌が存在し、それぞれ分解できる物質が限定されている。抗菌剤への感受性は、古細菌の中でも一定ではない (伊藤, 1998)。

一般にメタン発酵プロセスでは酸生成過程よりもメタン生成過程の方が不安定である。しかし、抗菌剤を含有する家畜糞尿のメタン発酵過程では、メタン生成過程だけでなく、酸生成過程も影響を受けた結果、バイオガス生成量が低下したという報告がある (Sara et al., 2013; Sanz et al., 1996; Ince et al., 2013)。毒性物質によっては、メタン生成古細菌よりも酸生成細菌に対する阻害効果が強いものも存在する。有機酸の濃度およびメタンガス生成量の両方が減少した場合では、メタン生成古細菌と酸生成細菌の両者が同程度あるいは酸生成細菌がメタン生成細菌よりも大きな阻害影響を受けていることを意味する (Speece, 1999)。張ら (1994) は、酢酸資化性メタン生成古細菌に対する芳香族化合物の阻害影響が、ベンゼン環に置換された置換基の種類、数および位置によって異なることを報告した。Sanz et al. (1996) は、嫌気性消化プロセスにおける 15 の抗菌剤の阻害特性を毒性試験により調べ、CTC は酢酸資化性メタン生成古細菌を強く阻害し、CEZ のような細胞壁阻害薬は酢酸生成細菌に影響を及ぼしたと結論づけた。抗菌剤の化学構造や作用機序の違い

が，乳牛糞尿に含有する抗菌剤によるメタン発酵プロセスへの阻害に影響を及ぼす可能性があると考えられる。

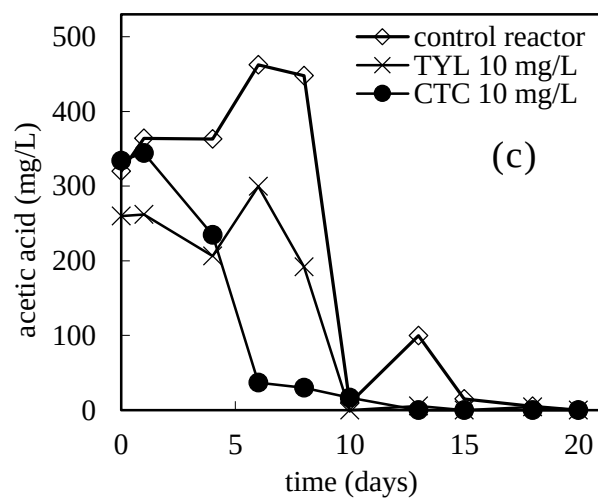
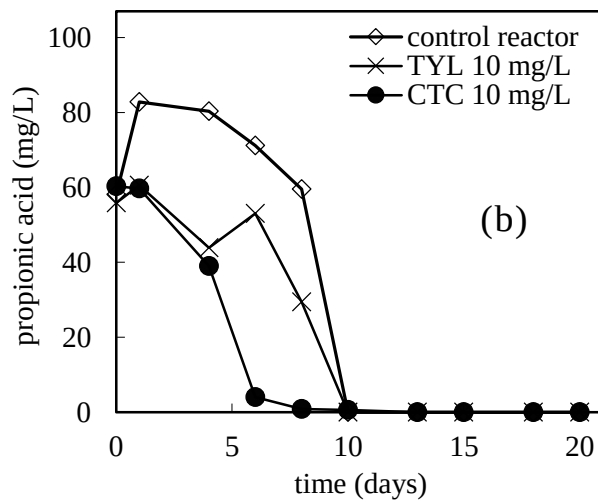
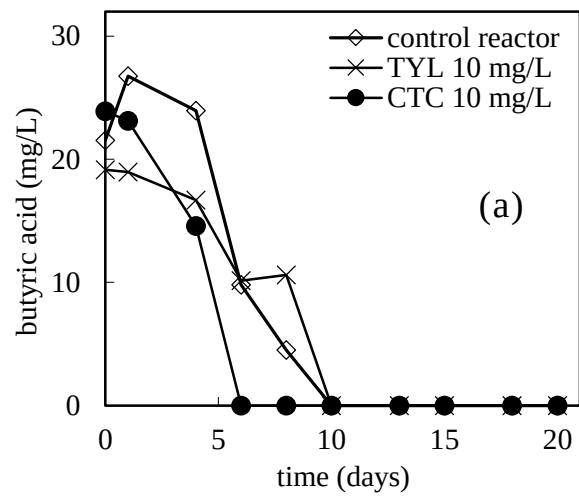


図 5-9 乳牛糞尿のメタン発酵におけるリアクタ内の有機酸濃度の経時変化 (a) 酪酸, (b) プロピオン酸, (c) 酢酸

5.5 まとめ

5.5.1 結論

本章では乳牛糞尿に残留した抗菌剤の処理法としてメタン発酵の適用を試みた。発酵プロセスにおける抗菌剤の分解特性と抗菌剤が発酵プロセスに与える影響について検討し、以下の知見を得た。

- 1) 乳牛糞尿の中温メタン発酵において、含有するクロルテトラサイクリンおよびタイロシンの濃度は低減された。
- 2) 嫌気性水溶液と比較すると、乳牛糞尿のメタン発酵では発酵初期における抗菌剤の分解速度が大きく、含有する抗菌剤の分解に対するメタン発酵の有効性が示された。
- 3) 抗菌剤が乳牛糞尿のメタン発酵プロセスに及ぼす影響について検討したところ、抗菌剤が含有するリアクタでは発酵過程で生成したバイオガスの量が減少した。有機酸濃度の挙動から、メタン生成過程と酸生成過程の両方が抗菌剤の影響を受けたことが示唆された。また、抗菌剤の作用機序がメタン発酵プロセスへの阻害に影響を及ぼすことが明らかになった。
- 4) メタン発酵後消化液に含有するクロルテトラサイクリンに対して電解酸化処理を行ったところ、クロルテトラサイクリンは効率的に分解された。

5.5.2 今後の課題

乳牛糞尿に含有したクロルテトラサイクリンおよびタイロシンの濃度は、メタン発酵プロセスにおいて、急速に減少した。しかし、20 日間のメタン発酵後も抗菌剤が残留したことから、さらなる抗菌剤濃度の低減のためには、本研究で有効性が示された電解酸化法等を後処理としてメタン発酵処理に組み合わせることが選択肢の一つとして挙げられる。電解酸化処理における分解条件の検討は、処理効率をさらに向上させることが期待できると考えられる。

また、上記の抗菌剤は乳牛糞尿のメタン発酵プロセスにおいて、酸生成過程とメタン生成過程の両方に影響を及ぼし、バイオガス生成量は減少した。これらの影響を軽減するには、抗菌剤が残留していない糞尿と混合すること等によって、メタン発酵プロセスの初期段階である有機物の加水分解の進行を促進させる、またはメタン発酵開始前の抗菌剤濃度を低減させることが有効であると考えられる。本研究では発酵温度を 37°C とした中温メタン発酵を実施したが、発酵温度を 55°C 付近に上昇させた高温メタン発酵では、加水分解率が高いことが知られている。また、温度が異なるとリアクタ内の菌叢が異なるため、阻害が改善される可能性もある。

第 6 章 結言

畜産廃棄物からの動物用抗菌剤の環境への排出量を削減するプロセスを構築するために、廃棄乳および乳牛糞尿に残留した抗菌剤の分解手法の開発を試みた。手法として電解酸化法およびメタン発酵を適用し、以下の知見を得た。

- 1) 生乳に含有するテトラサイクリン系抗菌薬およびセフェム系抗菌薬に対して電解酸化処理を行った。両方の抗菌剤の分解特性は良好であり、電解酸化法が構造の異なる抗菌剤に対して広範に有効であることが明らかになった。
- 2) 生乳が有機物を高濃度に含有する溶液であることから、水溶液と結果を比較することにより、有機性濃厚溶液中の微量抗菌剤の分解特性を調べた。生乳に含有する抗菌剤の電解酸化処理では、抗菌剤濃度および瞬間電流効率の挙動が大きく異なっていた。
- 3) 電解酸化法の課題である消費エネルギー低減を目的として生乳に含有する抗菌剤の選択的な分解を試みた。抗菌剤の分解の優先性が向上すると、処理プロセスの所要電気量が減少し、消費エネルギーの抑制に貢献することが推察された。従来電解酸化法は希薄廃水に適用が限定されているが、本論文で検討した優先的な分解は、有機性濃厚廃水中の微量物質に対しても本手法の適用を拡大可能にすることが示唆された。

- 4) 乳牛糞尿の中温メタン発酵において、含有するクロルテトラサイクリンおよびタイロシンは分解された。メタン発酵においては、発酵初期の抗菌剤の分解速度が大きく、抗菌剤の迅速なリスク低減に寄与すると考えられる。
- 5) メタン発酵後消化液に残存するクロルテトラサイクリンに電解酸化処理を行ったところ、クロルテトラサイクリンは効率的に分解された。乳牛糞尿に含有する抗菌剤の処理法の一つとして可能性が示された。

以上の知見は、廃棄乳および糞尿の両方に対して、残留する動物用抗菌剤の分解処理技術開発に寄与するものである。処理プロセスの構築は、畜産廃棄物から環境への動物用抗菌剤の排出量の削減に貢献すると考えられる。これらの技術の確立は、抗菌剤による環境汚染の防止や畜産廃棄物の資源循環にも貢献すると考えられる。

引用文献

Álvarez J.A., Otero L., Lema J.M., Omil F. (2010): The effect and fate of antibiotics during the anaerobic digestion of pig manure, *Bioresource Technology*, 101 (22), 8581-8586.

Ambuludi S.L., Panizza M., Oturan N., Özcan A., Oturan M.A. (2013): Kinetic behavior of anti-inflammatory drug ibuprofen in aqueous medium during its degradation by electrochemical advanced oxidation, *Environmental Science and Pollution Research*, 20 (4), 2381-2389.

de Amorim K.P., Romualdo L.L., Andrade L.S. (2013): Electrochemical degradation of sulfamethoxazole and trimethoprim at boron-doped diamond electrode: Performance, kinetics and reaction pathway, *Separation and Purification Technology*, 120 (13), 319-327.

Aquino J.M, Pereira G.F., Rocha-Filho R.C., Bocchi N., Biaggio S.R. (2011): Electrochemical degradation of a real textile effluent using boron-doped diamond or β -PbO₂ as anode, *Journal of Hazardous Materials*, 192 (3), 1275-1282.

Arikan O.A., Sikora L.J., Mulbry W., Khan S.U., Rice C., Foster G.D (2006): The fate and effect of oxytetracycline during the anaerobic digestion of manure from therapeutically treated calves, *Process Biochemistry*, 41 (7), 1637-1643.

Bansal B. and Chen X.D. (2006): A critical review of milk fouling in heat exchangers, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 5 (2), 27-33.

Beneragama N., Lateef S.A., Iwasaki M., Ymashiro T., Umetsu K. (2013): The combined effect of cefazolin and oxytertracycline on biogas production from thermophilic anaerobic digestion of dairy manure, *Bioresource Technology*, 133, 23-30.

Bensalah N., Alfaro M.A.Q., Martinez-Huitle C.A. (2009): Electrochemical treatment of synthetic wastewaters containing Alphazurine A dye, *Chemical Engineering Journal*, 149 (1-3), 348-352.

Blackwell P.A., Lützhøft H.C.H., Ma H.P., Halling-Sørensen B., Boxall A.B.A., Kay P. (2004): Ultrasonic extraction of veterinary antibiotics from soils and pig slurry with SPE clean-up and LC-UV and fluorescence detection, *Talanta*, 64 (4), 1058-1064.

Blowey R. and Edmondson P. 原著, 浜名克己 翻訳 (2003): 酪農家と獣医師による牛の乳房炎コントロール, チクサン出版社, 144-159.

Brion M., Berthon G., Fourtillan J.B. (1981): Metal ion – tetracyclines interaction in biological fluids. Potentiometric study of calcium complexes with tetracycline, oxytetracycline, doxycycline and minocycline and simulation of their distributions under physiological conditions, *Inorganica Chimica Acta*, 55 (2), 47-56.

Cagnardi P., Villa R., Gallo M., Locatelli C., Carli S., Moroni P., Zonca A., (2010): Cefoperazone sodium preparation behavior after intramammary administration in healthy and infected cows, *Journal of Dairy Science*, 93 (9), 4105-4110.

Centers for Disease Control and Prevention (2013): Antibiotic Resistance Threats in the United States, 2013, <http://www.cdc.gov/drugresistance/pdf/ar-threats-2013-508.pdf>.

Chee-Sanford J.C., Mackie R.I., Koike S., Krapac I.G., Lin Y.F., Yannarell A.C., Maxwell S., Aminov R.I. (2009): Fate and transport of antibiotic residues and antibiotic resistance genes following land application of manure waste, *Journal of environmental quality*, 38 (3), 1086-1108.

Chen J., Gorton L., Åkesson B. (2002): Electrochemical studies on antioxidants in bovine milk, *Analytica Chimica Acta*, 474 (1-2), 137-146.

Chen Y.S., Zhang H.B., Luo Y.M., Song J. (2012): Occurrence and assessment of veterinary antibiotics in swine manures: A case study in East China, *Chinese Science Bulletin*, 57 (6), 606-614.

Chiang L.C., Chang J.E., Wen T.C. (1995): Indirect oxidation effect in electrochemical oxidation treatment of landfill leachate, *Water Research*, 29 (2), 671-678.

張岩, 李玉友, 野池達也 (1994): 酢酸資化性メタン生成に対する芳香族化合物の阻害影響, *水環境学会誌*, 17 (12), 815-819.

Cinquina A.L., Longo F., Anastasi G., Giannetti L., Cozzani R. (2003): Validation of a high-performance liquid chromatography method for the determination of oxytetracycline, tetracycline, chlortetracycline and doxycycline in bovine milk and muscle, *Journal of Chromatography A*, 987 (1-2), 227-233.

Comninellis C. (1994): Electrocatalysis in the electrochemical conversion/combustion of organic pollutants for waste water treatment, *Electrochimica Acta*, 39 (11-12), 1857-1862.

Dirany A., Síres I., Oturan N., Oturan M.A. (2010): Electrochemical abatement of the antibiotic sulfamethoxazole from water, *Chemosphere*, 81 (5), 594-602.

動物用抗菌剤研究会 (2004): 最新データ動物用抗菌剤マニュアル, Inter Zoo, 45-47.

Dominguez-Ramos A., Aldaco R., Irabien A. (2008): Electrochemical oxidation of lignosulfonate: total organic carbon oxidation kinetics, *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 47 (24), 9848-9853.

Fierro S., Passas-Lagos E., Chatzisyneon E., Mantzavinos D., Comninellis C. (2009): Pseudo-potentiostatic electrolysis by potential buffering induced by the oxygen evolution reaction, *Electrochemistry Communications*, 11 (7), 1358-1361.

Fierro S., Honda Y., Einaga Y. (2013): Influence of supporting electrolyte on the electrochemical oxidation of formic acid on Boron-Doped Diamond electrodes, *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, 86 (6), 749-754.

Gilbertson T.J., Hornish R.E., Jaglan P.S., Koshy K.T., Nappier J.L., Stahl G.L., Cazars A.R., Nappier J.M., Kubicek M.F., Hoffman G.A. (1990): Environmental fate of ceftiofur sodium, a cephalosporin antibiotic-Role of animal excreta in its decomposition, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38 (3), 890-894.

Gurkan Y.Y., Turkten N., Hatipoglu A., Cinar Z. (2012): Photocatalytic degradation of cefazolin over N-doped TiO₂ under UV and sunlight irradiation: Prediction of the reaction paths via conceptual DFT, *Chemical Engineering Journal*, 184, 113-124.

羽賀清典 (2008): 畜産廃棄物バイオマスとしての家畜ふん尿のメタン発酵, *廃棄物学会誌*, 19 (6), 257-263.

羽賀清典 (2012): 新編 畜産環境保全論, 押田敏雄・柿市徳英・羽賀清典 共編, 養賢堂, 71-76.

Hajurka J., Nagy J., Popelka P., Rózanska H., Sokol J., Cabadaj R., Hura V. (2003) : Tetracycline concentrations in blood and milk of cows following intrauterine treatment of acute or subacute/chronic endometritis, *Bulletin of Veterinary Institute in Pulawy*, 47 (2), 435-447.

平田彰, 石井純, 常田聡 (1999): 紫外線照射と過酸化水素逐次添加を併用したジクロロメタンの高速分解処理, *水環境学会誌*, 22 (5), 396-402.

井原一高, 吉田弦, 豊田浄彦, 岩崎匡洋, 梅津一孝 (2012): 動物用抗菌剤の環境影響と嫌気性消化によるリスク低減, *土と微生物*, 66 (2), 47-50.

Ince B., Coban H., Turker G., Ertekin E., Ince O. (2013): Effect of oxytetracycline on biogas production and active microbial populations during

batch anaerobic digestion of cow manure, *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 36 (5), 541-546.

Israilides C.J., Vlyssides A.G., Mourafeti V.N., Karvouni G. (1997): Olive oil wastewater treatment with the use of an electrolysis system, *Bioresource Technology*, 61(2), 163-170.

伊藤卓爾 (1998): 古細菌の生物学, 古賀洋介・亀倉正博, 東京大学出版会, 150-154.

Jara C.C., Fino D., Specchia V., Saracco G., Spinelli P. (2007): Electrochemical removal of antibiotics from wastewaters, *Applied Catalysis B: Environmental*, 70 (1-4), 479-487.

Kandler O. and König H. (1998): Cell wall polymers in Archaea (Archaeobacteria), *Cellular and Molecular Life Science*, 54 (4), 305-308.

Kapalca A., Fóti G., Comninellis C. (2008): Kinetic modelling of the electrochemical mineralization of organic pollutants for wastewater treatment, *Journal of Applied Electrochemistry*, 38 (1), 7-16.

亀岡俊則 (2006): メタン発酵処理技術の現状と課題, 畜産環境情報, 35, 3-9.

片岡直明 (2010): 嫌気性生物処理技術の特徴と発展の流れ, エバラ時報, 229, 27-38.

岸本直之 (2008): OH ラジカル類の生成と応用技術, NTS, 94-102, 280-291.

Körbahti B.K. and Artut K. (2010): Electrochemical oil/water demulsification and purification of bilge water using Pt/Ir electrodes, *Desalination*, 258 (1-3), 219-228.

Kümmerer K. (2009): Antibiotics in the aquatic environment – A review – Part I, *Chemosphere*, 75 (4), 417-434.

Langford F.M., Weary D.M., Fisher L. (2003): Antibiotic Resistance in Gut Bacteria from Dairy Calves: A Dose Response to the Level of Antibiotics Fed in Milk, *Journal of Dairy Science*, 86 (12), 3963-3966.

Lee Y. and von Gunten U. (2010): Oxidative transformation of micropollutants during municipal wastewater treatment: Comparison of kinetic aspects of selective (chlorine, chlorine dioxide, ferrate^{VI}, and ozone) and non-selective oxidants (hydroxyl radical), *Water Research*, 44 (2), 555-566.

Li X.L., Zheng W., Machesky M.L., Yates S.R., Katterhenry M. (2011):

Degradation kinetics and mechanism of antibiotic ceftiofur in recycled water derived from a beef farm, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59 (18), 10176-10181.

梶田弘子, 青木晴美, 葉澤やよい, 畠山えり子, 溝本朋子, 天谷祐次, 小堤大介, 若林健司, 神橋美保 (2012): セファゾリン軟膏を投与した泌乳期乳房炎罹患牛における乳中の薬剤残留と生体由来抗菌因子, *岩獣会報*, 38 (2), 58-63.

柿市徳英 (2001): 解説 家畜ふん尿の処理と悪臭対策, *動物の衛生*, 鎌田信一, 清水晃, 永幡肇編, 文永堂出版, 236-240.

De Liguoro M., Cibin V., Capolongo F., Halling-Sørensen B., Montesissa C. (2003): Use of oxytetracycline and tylosin in intensive calf farming: evaluation of transfer to manure and soil, *Chemosphere*, 52 (1), 203-212.

Lu X.Q., Zhen G.Y., Liu Y., Hojo T., Estrada A.L., Li Y.Y. (2014): Long-term effect of the antibiotic cefalexin on methane production during waste activated sludge anaerobic digestion, *Bioresource Technology*, 169, 644-651.

Maldonado M.I., Malato S., Pérez-Estrada L.A., Gernjak W., Oller I., Doménech X., Peral J. (2006): Partial degradation of five pesticides and an industrial pollutant by ozonation in a pilot-plant scale reactor, *Journal of Hazardous Materials*, 138 (2), 363-369.

Martínez-Carballo E., González-Barreiro C., Scharf S., Gans O. (2007): Environmental monitoring study of selected veterinary antibiotics in animal manure and soils in Austria, *Environmental Pollution*, 148, 570-579.

Matsui Y., Ozu T., Inoue T., Matsushita T. (2008): Occurrence of a veterinary antibiotic in streams in a small catchment area with livestock farms, *Desalination*, 226 (1-3), 215-221.

Mitchell S.M., Ullman J.L., Teel A.L., Watts R.J., Frear C. (2013): The effects of the antibiotics ampicillin, florfenicol, sulfamethazine, and tylosin on biogas production and their degradation efficiency during anaerobic digestion, *Bioresource Technology*, 149, 244-252.

Miyata M., Ihara I., Yoshida G., Toyoda K., Umetsu K. (2011): Electrochemical oxidation of tetracycline antibiotics using a Ti/IrO₂ anode for wastewater treatment of animal husbandry, *Water Science Technology*, 63 (3), 456-461.

Mohring S.A.I., Strzysch I., Fernandes M.R., Kiffmeyer T.K., Tuerk J., Hamscher G. (2009): Degradation and elimination of various sulfonamides during anaerobic fermentation: A promising step on the way to sustainable pharmacy?, *Environmental Science & Technology*, 43 (7), 2569-2574.

Morão A., Lopes A., de Amorim M.T.P., Gonçalves I.C. (2004): Degradation of mixtures of phenols using boron doped diamond electrodes for wastewater treatment, *Electrochimica Acta*, 49 (9-10), 1587-1595.

中村洋 (2006): ちょっと詳しい液クロのコツ 前処理編, 丸善出版, 11-18, 77-92.

中尾江里, 中野和典, 野村宗弘, 千葉信男, 西村修, 渡邊節, 中村朋之, 畠山敬 (2008): 宮城県内の畜産地帯を流域とする河川における薬剤耐性菌分布の実態, *環境工学研究論文集*, 45, 187-194.

中山繁樹 (2008): 物理および化学的性質, オゾンおよび OH ラジカル類の特性と生成法, OH ラジカル類の生成と応用技術, *NTS*, 45-56.

猫本健司 (2010): もっと知りたい環境対策, 株式会社デーリィ・ジャパン社, 56-59.

日本分析化学会北海道支部編 (2005): 水の分析, 第 5 版, 化学同人, 290-296.

日本動物用医薬品協会 (2012): 動物用医薬品、医薬部外品及び医療機器製造販売高年報 (別冊) 各種抗生物質・合成抗菌剤・駆虫剤・抗原虫剤の販売高と販売量.

日本家畜臨床感染症研究会事務局 (2010): 乳牛における乳房炎の診断, 治療, 予防に関する全国アンケート, *日本家畜臨床感染症研会誌*, 5 (2), 63-74.

西原正照, 古賀洋介 (1998): 古細菌の生物学, 古賀洋介・亀倉正博編, 東京大学出版会, 258-265.

農林水産消費安全技術センター (2014): 飼料添加物一覧, http://www.famic.go.jp/ffis/feed/sub3_feedadditives.html.

農林水産省 消費・安全局 (2003): 抗生物質の使用と薬剤耐性菌の発生について -家畜用の抗生物質の見直し-, http://www.maff.go.jp/j/syouan/johokan/risk_comm/r_kekka_iyaku/h151110/pdf/031110_giji.pdf.

大野泰雄 (2008): 薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会 農薬・動物用医薬品部会報告について, <http://www.mhlw.go.jp/shingi/2004/04/dl/s0420-4-109.pdf>.

押田敏雄 (2012): 第 3 章 家畜ふん尿の処理, 新編 畜産環境保全論, 押

田敏雄・柿市徳英・羽賀清典 共編, 養賢堂, 58-60.

Panizza M. and Cerisola G. (2008): Electrochemical degradation of Methyl Red using BDD and PbO₂ anodes, *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 47 (18), 6816-6820.

Panizza M. and Cerisola G. (2009): Direct and mediated anodic oxidation of organic pollutants, *Chemical Reviews*, 109 (12), 6541-6569.

Payer D.C. and Holmes B.J. (1994): Managing waste milk, *Milking center wastewater management*, A3610.

Polcaro A.M., Vacca A., Mascia M., Palmas S. (2005): Oxidation at boron doped diamond electrodes: an effective method to mineralise triazines, *Electrichimica Acta*, 50 (9), 1841-1847.

Polcaro A.M., Vacca A., Mascia M., Palmas S., Ferrara F., Ruiz J.R. (2008): Selective oxidation of phenolic compounds at BDD and DSA anode, *Environmental Engineering and Management Journal*, 18 (3), 213-220.

Qiang Z.M., Macauley J.J., Mormile M.R., Surampalli R., Adams C.D. (2006): Treatment of antibiotics and antibiotic resistant bacteria in swine wastewater with free chlorine, *Journal of agricultural and food chemistry*, 54 (21), 8144-8154.

Rao N.N., Rohit M., Nitin G., Parameswaran P.N., Astik J.K. (2009): Kinetics of electrooxidation of landfill leachate in a three-dimensional carbon bed electrochemical reactor, *Chemosphere*, 76 (9), 1206-1212.

李玉友 (2005): バイオマス利活用 (その 3)-メタン発酵技術-, *農業土木学会誌*, 73 (8), 739-744.

Rodrigues C.A., Hussni C.A., Nascimento E.S., Esteban C., Perri S.H.V. (2009): Pharmacokinetics of tetracycline in plasma, synovial fluid and milk using single intravenous and single intravenous regional doses in dairy cattle with papillomatous digital dermatitis, *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 33 (4), 363-370.

Salazar C., Sirés I., Zaror C.A., Brillas E. (2013): Treatment of a mixture of chloromethoxyphenols in hypochlorite medium by electrochemical AOPs as an alternative for the remediation of pulp and paper mill process waters, *Electrocatalysis*, 4 (4), 212-223.

Samanidou V.F., Nikolaidou K.I., Papadoyannis L.N. (2007): Development and validation of an HPLC confirmatory method for the determination of seven tetracycline antibiotics residues in milk according to the European Union Decision 2002/657/EC, *Journal of Separation Science*, 30 (15), 2430-2439.

Sanz J.L., Rodríguez N., Amils R. (1996): The action of antibiotics on the anaerobic digestion process, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 46 (5-6), 587-592.

Sara P., Giuliana D., Michele P., Maurizio C., Luca C., Fabrizio A. (2013): Effect of veterinary antibiotics on biogas and bio-methane production, *International Biodeterioration & Biodegradation*, 85, 205-209.

笹野貢編 (1998): 生乳の品質管理 : 消費者に安全・安心を約束する, 酪農総合研究所, 124-125.

清野敦子, 長谷川泰子, 益永茂樹 (2004): 金目川, 鶴見川, 多摩川における薬剤耐性大腸菌の分布, *水環境学会誌*, 27 (11), 693-698.

食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会 (2012): 動物用医薬品評価書 セファゾリン, http://www.fsc.go.jp/iken-bosyu/pc4_hishiryo_cefazolin_241218.pdf.

Siddique M., Farooq R., Khan Z.M., Khan Z., Shaukat S.F. (2011): Enhanced decomposition of reactive blue 19 dye in ultrasound assisted electrochemical reactor, *Ultrasonics Sonochemistry*, 18 (1), 190-196.

Sirés I., Brillas E., Cerisola G., Panizza M. (2008): Comparative depollution of mecoprop aqueous solutions by electrochemical incineration using BDD and PbO₂ as high oxidation power anodes, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 613 (2), 151-159.

Sirés I., Oturan N., Oturan M.A. (2010): Electrochemical degradation of β -blockers. Studies on single and multicomponent synthetic aqueous solutions, *Water Research*, 44 (10), 3109-3120.

Sørensen L.K., Snor L.K. (2000): Determination of cephalosporins in raw bovine milk by high-performance liquid chromatography, *Journal of Chromatography A*, 882 (1-2), 145-151.

Speece R.E. 原著, 松井三郎, 高島正信 監訳 (1999): 産業廃水処理のための嫌気性バイオテクノロジー, 第1版, 技報堂出版, 298-303.

Stockler R.M., Morin D.E., Lantz R.K., Hurley W.L., Constable P.D. (2009): Effect of milk fraction on concentrations of cephalixin and desacetylcephalexin in bovine milk after intramammary infusion of cephalixin sodium, *Journal of Veterinary Pharmacology Therapeutics*, 32 (4), 345-352.

杉本渉, 村上泰, 高須芳雄 (2001): 電極触媒科学の新展開, 第1版, 高須芳雄・荒又明子・堀善夫編著, 北海道大学図書刊行会, 143-159.

田村豊 (2007): 動物用抗菌剤の使用状況と耐性菌の現状-ヒトにいたる耐性菌の伝播経路-, 動薬研究, 64 (3), 12-17.

Tao R., Ying G.G., Su H.C., Zhou H.W., Sidhu J.P.S. (2010): Detection of antibiotic resistance and tetracycline resistance genes in Enterobacteriaceae isolated from the Pearl rivers in South China, Environmental Pollution, 158 (6), 2101-2109.

Tienstra P., van Riel J.A.M., Olieman C. (1992): Determination of goat milk in cow milk with P/ACETM capillary electrophoresis, DS-832, Beckman Technical Information.

上野川修一 (2010): 牛乳の成分, 乳の科学, 朝倉書店, 10-55.

de Vidales M.J.M., Sáez C., Cañizares P., Rodrigo M.A. (2012): Removal of triclosan by conductive-diamond electrolysis and sonoelectrolysis, Journal of Chemical Technology and Biotechnology, 88 (5), 823-828.

Wray C., Furniss S., Benham C.L. (1990): Feeding antibiotic-contaminated waste milk to calves-effects on physical performance and antibiotic sensitivity of gut flora, British Veterinary Journal, 146 (1), 80-87.

山口恵三 (1998): 抗微生物薬の基礎知識, 桑原章吾 監修, 山口恵三 編集, 南山堂, 198-227.

安井英斉 (2009): メタン発酵プロセスの科学, メタン発酵, 野池達也編著, 初版, 技報堂出版株式会社, 19-84.

吉田弦, 井原一高, 豊田浄彦, 梅津一孝 (2010): 金属酸化物電極を用いた電解酸化法による廃棄乳の分解, 農業施設, 41 (1), 22-28.

吉田実 (1985): 第4章 飼料の安全性, 飼料学, 養賢堂, 森本宏編, 510-519.

World Health Organization (2014): Antimicrobial resistance: global report on surveillance 2014, http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/112642/1/9789241564748_eng.pdf.

Zhang H., Liu F., Wu X.G., Zhang J.H., Zhang D.B. (2009): Degradation of tetracycline in aqueous medium by electrochemical method, Asia-Pacific Journal of Chemical Engineering, 4 (5), 568-573.

Zhao L., Dong Y.H., Wang H. (2010): Residues of veterinary antibiotics in manures from feedlot livestock in eight provinces of China, Science of the Total Environment, 408 (5), 1069-1075.

Zhu P., Chen D.J., Liu W.B., Zhang J.B., Shao L., Li J.A., Chu J. (2014): Hydroxylation and hydrolysis: Two main metabolic ways of spiramycin I in anaerobic digestion, *Bioresource Technology*, 153, 95-100.

畜産廃棄物に残留する動物用抗菌剤の排出削減に関する研究

117A006A 北 蘭 弓佳

1. 緒論

動物用抗菌剤は、家畜の疾病治療や予防を目的として使用され、畜産物の生産において必要不可欠な医薬品となっている。しかし、家畜へ投与された抗菌剤は体内で十分に代謝されず、薬理活性を保持した状態で畜産廃棄物等を介して環境へ排出される場合が多い。環境中の抗菌剤の存在は、薬剤耐性菌の出現の原因となる。近年、畜産施設周辺の河川水から抗菌剤が検出されており、抗菌剤への耐性は世界的な課題となっている。畜産物の安全・安定供給、疾病による経済的損失防止に貢献してきた抗菌剤の使用が、環境問題やヒトの健康に関わる新たな問題を生み出している。動物用抗菌剤による環境汚染の対策としては、主たる使用場所である畜産施設において発生する畜産廃棄物から環境への抗菌剤排出を防止することが効果的であると考えられる。薬物動態から、乳牛由来の廃棄物であれば、抗菌剤が残留した生乳（廃棄乳）と糞尿が主たる排出源であり、抗菌剤の処理が求められる。そこで本研究では、廃棄乳と糞尿両方の処理技術を確立することによって、畜産施設からの抗菌剤排出量の削減を試みた。処理法として、廃棄乳に対しては、生乳が生物難分解性物質を含有し、生物学的処理が困難であることから物理化学的な手法である電解酸化法を、糞尿に対しては家畜糞尿処理法として用いられるメタン発酵を適用した。廃棄乳については、電解酸化法の実用化において高いエネルギー消費が課題となることから、廃棄乳に含有する抗菌剤の効率的な分解プロセスの確立を目指した。糞尿については、

メタン発酵処理プロセスにおける抗菌剤の分解特性とメタン発酵に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。

2. 電解酸化法による生乳に含有するテトラサイクリン系抗菌薬の分解試験

生乳は、乳脂肪やラクトース、タンパク質等の有機物が高濃度に溶存した多成分溶液であり、有機性濃厚溶液である。電解酸化法はエネルギー消費の制約から、希薄廃水への適用が一般的である。本研究では、廃棄乳に微量に含有する抗菌剤のみを分解対象物質と捉え、実験条件が抗菌剤や生乳の分解に及ぼす影響について調べ、抗菌剤の効率的な分解手法について検討した。

生乳に含有するオキシテトラサイクリンは、乳脂肪を初めとする生乳成分の影響を受けたが、分解特性は良好であった。不活性電極 Ti/PbO_2 や NaCl の使用は、抗菌剤の分解速度を増大させた。算出した擬一次速度定数の値から、抗菌剤の分解速度が生乳成分よりも大きいことが明らかになった。特に電解質として NaCl を添加した場合には、抗菌剤はより効率的に分解され、電気化学的に生成した次亜塩素酸が抗菌剤の分解を促進したと考えられる。

3. 電解酸化法による生乳に含有する抗菌剤の選択的な分解手法の確立

電解酸化法の実用化のためには、主要課題である消費エネルギーの問題を解決する必要がある。そこで廃棄乳に残留する抗菌剤濃度が微量であることから、生乳全体ではなく、含有する抗菌剤を標的物質として選択的に分解することを目標とした。エネルギー消費を抑制する処理プロセスを確立するために、有機性濃厚溶液である生乳に含有する抗菌剤の

電解酸化処理特性を調べ、選択的な分解と所要電気量の関係について検討した。

電解酸化処理によって、生乳に含有するテトラサイクリン系抗菌薬およびセフェム系抗菌薬は部分的かつ優先的に分解された。生乳中の抗菌剤の分解特性を水溶液と比較すると、生乳中では抗菌剤濃度および瞬間電流効率の挙動が異なり、有機性濃厚溶液としての特徴が明らかになった。抗菌剤の優先的な分解には、電解条件の影響が大きく、優先性が向上すると抗菌剤の分解に要する電気量は減少した。優先的な分解はエネルギー消費量抑制に資すると考えられる。溶液に含有する標的物質の優先的な分解は、電解酸化法の有機性濃厚溶液に含有する微量物質への適用を可能にし、本手法の適用範囲を希薄溶液に限定された現状から広げることが示唆する。

4. メタン発酵による乳牛糞尿に残留する抗菌剤の分解手法の検討

メタン発酵は微生物の代謝作用による生物化学的プロセスであるため、糞尿中の抗菌剤の存在は発酵に関与する微生物に影響を及ぼす可能性がある。そこで、乳牛糞尿の中温メタン発酵プロセスにおける含有抗菌剤の分解特性と発酵に及ぼす影響を調べた。また、生物学的処理であるメタン発酵のみでは抗菌剤濃度の低減が不十分である場合を想定し、メタン発酵後消化液に添加した抗菌剤に対して電解酸化処理を試みた。

乳牛糞尿のメタン発酵において、含有するクロルテトラサイクリンおよびタイロシンは分解された。嫌気性水溶液と比較すると、メタン発酵では抗菌剤の分解速度が大きく、メタン発酵の有効性が明らかになった。抗菌剤を含有するリアクタではメタン発酵プロセスで生成したバイオガスの量が減少した。バイオガスの組成および有機酸の生成量から、抗

菌剤の存在が酸生成過程とメタン生成過程の両方に影響を及ぼしたことが示唆された。また、電解酸化処理によって、メタン発酵後消化液に含有する抗菌剤は効率的に分解された。電解酸化法は、乳牛糞尿に残留する抗菌剤の確実な分解を実現する手法であると考えられる。

5. 結論

畜産廃棄物からの動物用抗菌剤の環境への排出量を削減するプロセスを構築するために、廃棄乳および乳牛糞尿に残留した抗菌剤の分解技術の確立を試みた。生乳に含有する微量抗菌剤は、生乳成分の干渉を受けたが、電解酸化法によって選択的に分解された。また結果を水溶液と比較したところ、生乳の有機性濃厚溶液としての処理特性が明らかになった。優先的な分解に伴う所要電気量の減少は、消費エネルギーが課題である電解酸化法の実用化に貢献すると考えられる。乳牛糞尿の中温メタン発酵において、含有する抗菌剤は分解された。特に発酵初期の抗菌剤の分解速度が大きく、メタン発酵は家畜糞尿に残留する抗菌剤の迅速なリスク低減に寄与すると考えられる。得られた知見は、廃棄乳および糞尿の両方に対して、残留する動物用抗菌剤の分解処理技術の開発に貢献するものである。畜産廃棄物から環境への動物用抗菌剤の排出削減は、環境拡散の抑制に寄与すると考えられる。