

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 28 日現在

機関番号：14501

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2011

課題番号：22780230

研究課題名（和文） 畜産環境保全のための動物用抗菌剤の磁気分離

研究課題名（英文） Magnetic separation of veterinary antibiotics for livestock environmental management

研究代表者

井原 一高（Ihara Ikko）

神戸大学・農学研究科・助教

研究者番号：50396256

研究成果の概要（和文）：畜産業において、動物用抗菌剤は家畜の疾病・治療や成長促進を目的として使用されている。河川等の水環境において、畜産廃棄物由来と想定される動物用抗菌剤が検出されている。本研究では、畜産廃水処理のために磁気力による動物用抗菌剤の選択的な分離について検討を行った。分散媒である水と抗生物質との磁化率の差を拡大させるために、鉄電極を用いた電気化学反応を磁気シーディング法（磁性付与）として検討した。電気化学磁気シーディングは、畜産廃水からの動物用抗菌剤の選択的な分離に有効であることを明らかにした。

研究成果の概要（英文）：Veterinary antibiotics are used in livestock industries for animal health. Because of dispersion of livestock wastes, the releases of antibiotics into aquatic environment have become increasing. In this study, selective separation of veterinary antibiotics for dairy wastewater treatment by magnetic force was investigated. Electrochemical magnetic seeding using an iron anode was applied to enhance differences of magnetic susceptibility between antibiotics and water for selective separation. The result shows that the magnetic separation with electrochemical magnetic seeding is promising method for selective removal of the veterinary antibiotics from dairy wastewater.

交付決定額

（金額単位：円）

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|--------|-----------|---------|-----------|
| 2010年度 | 1,900,000 | 570,000 | 2,470,000 |
| 2011年度 | 1,000,000 | 300,000 | 1,300,000 |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 総計 | 2,900,000 | 870,000 | 3,770,000 |

研究分野：水環境工学，磁気科学

科研費の分科・細目：（分科）農業工学，（細目）農業環境工学

キーワード：抗生物質，磁気シーディング，磁気分離，畜産廃水，動物用抗菌剤

1. 研究開始当初の背景

畜産業において動物用抗菌剤（抗生物質および合成抗菌薬）は、家畜の疾病治療だけでなく成長促進を目的として使用されてい

る。日本における動物用抗菌剤の使用量は、家畜および養殖魚用として年間約 1,000 t と推定され、ヒトに投与される量より多い。動物用抗菌剤の使用は、畜産物の安全や安定的

な供給に貢献していると考えられるが、一方で薬剤耐性菌の発生と人体への影響が懸念されている。近年、我が国において家畜に使用されたと考えられる動物用抗菌剤が糞尿等を通じて排出され、河川等から検出された例が報告されている。畜産施設廃水に残留する動物用抗菌剤の濃度については報告が少ない。畜産廃水が流入する河川において数中 $\mu\text{g/L}$ の抗生物質が報告された例もあり、畜産施設からの排出量を考慮すると、畜産施設廃水には mg/L のオーダーで動物用抗菌剤が残留している可能性がある。病院や一般家庭とは異なり、牛舎や豚舎といった畜産施設に下水道もしくは合併浄化槽等の社会基盤が整備されている例は少なく、畜産廃棄物を通じて動物用抗菌剤が環境へ放出されやすい状況である。畜産業において糞尿処理は大きな課題である。糞尿を資源としての利活用するためにも、動物用医薬品の関連リスクを低減すること望まれる。とりわけ、家畜糞尿に残留する動物用抗菌剤を分離除去することが必要である。

2. 研究の目的

動物用抗菌剤を生物学的手法で分解することは困難とされることから、何からの物理化学的手法が必要になる。磁気分離法は、磁気力によって対象物質を選択的に除去する方法である。磁気分離法の対象は、磁化率がある程度大きく磁気力で牽引可能な物質に限られるが、磁気シーディング（磁性付与）を前処理として実施することにより、分離対象を有機物等にも拡大できる。動物用抗菌剤に磁気分離法を適用する場合、その磁化率が小さいために何らかの磁性シーディング法が求められる。本研究では、電気化学反応を磁気シーディング法として検討し、畜産廃水からの動物用抗菌剤の磁気分離について検討を行った。

3. 研究の方法

実験対象の動物用抗菌剤には、国内使用量が多いテトラサイクリン(TC)系抗生物質としてオキシテトラサイクリン(OTC)、テトラサイクリン(TC)、ドキシサイクリン(DC)、クロルテトラサイクリン(CTC)を用いた。比較のためにセファロsporin系抗生物質（セファゾリン、セフジニル）、フルオロキノロン系抗生物質（ノルフロキサシン、シプロフロキサシン）も対象とした。抗菌性物質 10 mg と支持電解質として 1.0 g の NaCl を 100 ml の蒸留水に溶かし、合成廃水とした。畜産廃水として、北海道十勝地方の酪農場から採取した搾乳施設廃水を用いた。陽極および陰極材料は鉄とし、電解凝集を定電流で実施した。サンプルを攪拌した後、強磁性粉であるマグネタイト（四酸化三鉄）を加え、攪拌した。サンプルの入ったガラスビーカーの下に、表面磁

束密度 $4,400 \text{ gauss}$ のネオジム磁石をセットし、静置した。一定時間後、上澄みを磁気分離サンプルとして採取した。抗生物質はキャピラリー電気泳動システムもしくはUV検出器を備えたHPLCを用いて分析した。

4. 研究成果

表1にテトラサイクリン系およびセファロsporin系抗生物質の磁気分離の結果を示す。4種類のテトラサイクリン系抗生物質およびセフジニルの除去率は78%以上を示した。テトラサイクリン系抗生物質は、金属キレートを生じやすい性質を持つことが知られている。また、セフジニルも同様の性質を持つ。電気化学反応によって溶出された鉄イオンは抗菌性物質と選択的に結合し、上述の抗生物質との錯化合物が生成されたと推定できる。鉄電極を陽極に用いた電気化学反応は、鉄イオンと水酸化物イオンを溶出させ、両者の化合物が生成する。この化合物は吸着性を有することから、抗生物質-鉄錯体そして添加された強磁性物質と一体となって磁気力で分離されたと推察される。これらの高い除去率は、上述の抗生物質が鉄イオンと選択的に結合するという性質の寄与が大きいと考えられる。一般に、医薬品は薬物相互作用について情報が開示されている。特に鉄系物質は貧血治療薬の成分であることから、その相互作用に関する情報は医薬品添付文書から入手可能である。例えば上述のテトラサイクリン系抗生物質と鉄系物質との作用機序として、高分子鉄キレートを形成することが明記されており、提案する電気化学磁気シーディングの適用が可能であると判断できる。対象的に、牛乳房炎治療に広く使用されているセフェム系抗生物質のセファゾリンは、鉄イオンとのキレート生成能は報告されておらず、18.7%と低い除去率であった。すなわち、鉄イオンとの錯化合物の生成によるものではなく、電気化学反応によって生成された鉄の水酸化物にセファゾリンの一部が吸着したためであると考えられる。鉄錯化合物および水酸化鉄の殆どは常磁性であると考えられるため、永久磁石による磁気分離を実現するには磁化率が小さい。強磁性である

表1 電気化学磁気シーディングによる抗生物質の磁気分離

| Class | Substance | Removal (%) | pH (-) | Iron -chelating |
|---------------|-------------------|-------------|--------|-----------------|
| Tetracycline | Oxytetracycline | 89.3 | 3.9 | + |
| | Doxycycline | 80.3 | 3.9 | + |
| | Chlortetracycline | 78.1 | 3.9 | + |
| | Tetracycline | 93.2 | 3.9 | + |
| Cephalosporin | Cefdinir | 88.0 | 6.4 | + |
| | Cefazolin | 18.7 | 7.8 | |

マグネタイトの添加は、分離に必要な磁気力の向上に効果的であった。

抗生物質と鉄イオンとの結合性を評価するために、電気化学反応によって生成された懸濁物質を一定時間静置させ、重力による分離試験を行った。電気化学反応によって溶液中に金属イオンを溶出させる方法は、投入電気量によって溶出量を制御できる。OTCの重力分離における投入電気量の影響について図1に示す。電気化学反応によって供給された鉄イオンの析出量を算出すると、OTCの場合では約90%の除去率を得るために必要な鉄イオンと吸着されたOTCとのモル濃度比はおよそ1.5:1であった。一方、FQ系合成抗菌薬の場合は、最も高い約70%の除去に必要な鉄イオン量は、モル濃度換算で合成抗菌薬の50倍以上を要した(図2)。鉄イオン量が大きく異なった理由として、鉄イオンと結合する官能基が異なることが挙げられる。

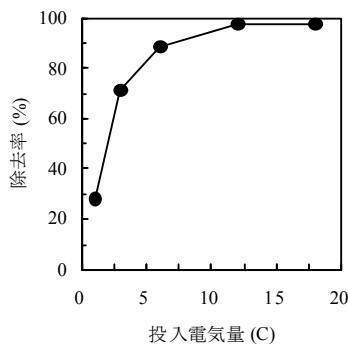


図1. オキシテトラサイクリンの重力分離における投入電気量の影響

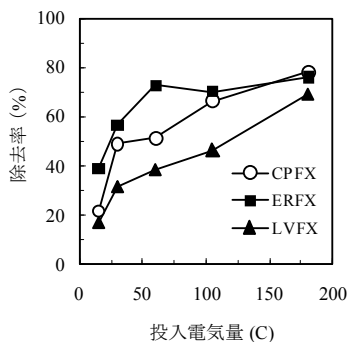


図2. フルオロキノロン系の重力分離における投入電気量の影響

鉄イオンと抗菌剤との結合について、Langmuirの等温吸着式の適用を検討した。

$$C_S = \frac{C_{max} \cdot K_L \cdot C_W}{1 + K_L \cdot C_W} \quad (1)$$

ここで、 C_S は電気化学反応によって溶出させた鉄イオンに対する薬剤の吸着量 (mol/mol Fe)、 C_{max} は鉄イオンの抗菌剤の最大吸着量 (mol/mol Fe)、 C_W は薬剤の残存濃度 (mol/L)、 K_L はLangmuir定数 (L/mol) である。OTCの

場合を計算すると、 C_{max} は1.37 mol/mol Fe、 K_L は40.4 L/molであった。 C_S は C_W の関数であるとみなした場合の決定係数 R^2 は0.98と高く、OTCと鉄イオンとの結合はLangmuir型であることが考えられた。この他に、フルオロキノロン系抗生物質についても同様の検討を行った。

畜産廃水への可能性を検討するため、OTCを搾乳施設廃水に添加し、磁気分離を試みた。重力分離試験においては3時間の静置を行ったが、磁気分離試験では、上記の電気化学反応後にマグネタイト (Fe_3O_4) を添加しネオジム磁石を用いて磁気力による分離を行った(図3)。溶液を観察すると、強磁性体であるマグネタイトの添加によって磁気力による迅速な分離が実現し、長時間の静置は不要となった。しかしながら、合成廃水と比較すると除去率が大幅に低下した。そこで投入電気量を12 C (電気化学反応時間120秒) から60 Cに増やし実験を行った。pH 5.5-6.5の範囲において85%以上の除去率が得られた。合成廃水試験と同条件の12 Cにおいて除去率が低下した理由として、本実験で用いた搾乳施設廃水には糞尿や酪農用洗剤が含有していることから、共存成分の影響を受けたことが考えられる。陽極からの金属イオンの溶出による水質浄化法は電解凝集法と呼ばれ、懸濁成分の凝集・分離にも効果が報告されている。搾乳施設廃水中の糞尿のような懸濁成分との凝集に金属イオンが消費されたことから、抗生物質の磁気シーディングのためにはより多い金属イオンの供給が効果的であったと考えられる。本手法による抗菌性物質の磁気分離において、金属イオンとの錯化合物形成が除去率を大きく左右すると考えられるが、搾乳施設廃水に含有していると推定される酪農用洗剤には、今回対象とした抗菌性物質と同様に配位子の働きをするキレート剤が使用されていることが多く、錯化合物生成に影響を及ぼした可能性がある。

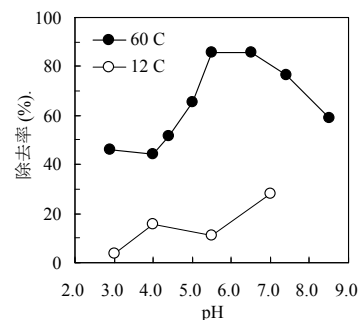


図3. 搾乳施設廃水に添加したオキシテトラサイクリンの磁気分離

さらに、実際の畜産施設に設置可能な小型装置を想定し、永久磁石による動物用抗菌剤

の連続磁気分離について検討した。永久磁石の限られた磁場空間を生かすためには、磁場勾配を拡大する磁気フィルタの選択が不可欠であり、洗浄性も考慮すると小型ステンレス球が有力な材料であることを明らかにした。また、電気化学磁気シーディングにおいて、添加する強磁性粒子の性質が除去率に影響することが判明し、特に粒子の分散性が重要であることが判明した。

電気化学反応を磁気シーディング法として活用し、動物用抗菌剤の磁気分離を試みた。鉄電極による電解凝集とマグネタイト添加による磁気シーディングは、テトラサイクリン系抗生物質およびセフジニルの磁気分離に有効であった。金属錯体を生成する抗菌性物質に対しては、良好な分離特性を得られた。本手法を他の医薬品に適用するには、金属イオン等と錯化合物を生成するか否かが判断の基準となる。磁気分離は、磁気シーディングにおける選択性が重要である。従来の抗原抗体反応を利用する方法に加えて、本手法のようなキレート結合を利用する方法も高い選択性を得られる点で、磁気分離と親和性の高い方法であると考えられる。畜産廃水からの除去率はまだ改善の余地があるものの、排出源からの環境拡散防止技術としては、有効であると判断できる。今後は、実際の畜産施設に設置できる連続処理型の磁気分離装置の開発が求められる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計1件)

- ① 井原一高、北 幹子、青柳圭祐、豊田浄彦、梅津一孝 (2011): 畜産廃水処理のための電気化学磁気シーディングによる動物用抗菌剤の磁気分離、用水と廃水、53(12), pp. 56-62 (査読有)

[学会発表] (計9件)

- ① 北幹子、井原一高、豊田浄彦、梅津一孝 (2010): 畜産廃棄物に含有するテトラサイクリン系抗生物質の磁気分離、農業施設学会大会講演要旨、p. 67-68.
- ② 井原一高、豊田浄彦、北 幹子、工藤幸会、梅津一孝 (2010): 畜産環境衛生のための動物用抗菌剤の磁気分離、第 69 回農業機械学会年次大会講演要旨、p. 568-569.
- ③ 工藤幸会、井原一高、豊田浄彦、池田健一、井上加奈子、梅津一孝、(2010): 磁性ナノビーズを用いた電気化学磁気シーディングによる動物用抗菌剤テトラサイクリンの選択分離、第 5 回日本磁気

科学会年会講演要旨集、pp.102-103.

- ④ 青柳圭祐、井原一高、豊田浄彦、梅津一孝 (2010): 電気化学磁気シーディング法によるフルオロキノロン系合成抗菌薬の分離除去、第 6 回日本水環境学会関西支部研究発表会講演予稿集、pp. 41-42.
- ⑤ Ikko Ihara, Mikiko Kita, Sachie Kudo, Kiyohiko Toyoda, Yasuzo Sakai, Kazutaka Umetsu (2010): Selective separation of tetracycline antibiotics for reclamation of dairy wastewater with permanent magnets, The 4th International Workshop on Materials Analysis and Processing in Magnetic Fields.
- ⑥ 井原一高、北 幹子、青柳圭祐、豊田浄彦、梅津一孝 (2011): 畜産廃棄物を対象とした電気化学磁気シーディングによる動物用抗菌剤の分離除去、第 45 回日本水環境学会年会講演集、p. 70.
- ⑦ 井原一高、豊田浄彦、白江達也、工藤幸会、酒井保蔵、梅津一孝 (2011): 動物用抗菌剤の除去を目的とした永久磁石による高勾配磁気分離、農業機械学会関西支部報、110, p. 71.
- ⑧ 白江達也、井原一高、豊田浄彦、酒井保蔵、梅津一孝 (2011): 排水に含有する抗生物質除去のための永久磁石を用いた高勾配磁気分離装置の検討、第 6 回日本磁気科学会年会 プログラム・要旨集、pp. 86-87.
- ⑨ 井原一高、青柳圭祐、豊田浄彦、梅津一孝 (2012): 畜産廃水処理のためのフルオロキノロン系合成抗菌薬の磁気分離、第 46 回日本水環境学会年会、p. 53.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

井原一高 (Ihara Ikko)
神戸大学・農学研究科・助教
研究者番号: 50396256