

# オゾンカソード微生物燃料電池(O-MFC)による 二次処理水中の抗生物質、抗生物質耐性菌、および 抗生物質耐性遺伝子の除去過程におけるオゾンの効果

Effects of ozone in the removal of antibiotics, antibiotic resistant bacteria (ARB) and antibiotic resistance genes (ARGs) in secondary effluent by Ozone Cathode Microbial Fuel Cell (O-MFC)

○範 鳳龍\*、林 東範\*、朴 耿洙\*、竹内 悠\*、西村 修\*\*、西村 文武\*

\* : 京都大学大学院工学研究科、\*\* : 東北大学大学院工学研究科

## 論文要旨

本論文は、オゾンカソード微生物燃料電池(O-MFC)を活用した処理方法に着目した。既存研究では微生物燃料電池(MFC)による細胞内および細胞外薬剤耐性遺伝子の除去率は薬剤耐性遺伝子より大きくなる傾向が見られた。オゾン処理では細胞内遺伝子は薬剤耐性菌より除去速度が小さいことが知られている。そこで本研究では、無膜単室オゾンカソード微生物燃料電池(O-MFC)を構築し、抗生物質、ARB および ARGs の除去過程におけるオゾンの効果についても明らかにすることを目的とする。

In this study, we focus on the ozone cathode microbial fuel cell (O-MFC). Previous research showed that the removal performance of intracellular and extracellular antibiotics resistance genes (ARGs) better than antibiotics resistance bacteria (ARB) in microbial fuel cell (MFC). On the other side, the removal rate of ARB is higher than intracellular ARGs in ozone treatment. Therefore, the purpose of this study is to clarify the effect of ozone on the removal of antibiotics, ARB, and ARGs in O-MFC.

キーワード : 下水処理、抗生物質、オゾンカソード微生物燃料電池(O-MFC)

## 1. 研究背景および目的

細菌感染症の治療薬として抗生物質が用いられるようになってから 70 年以上が経過し、人用医薬品としてのみならず、動物用医薬品、家畜の発育促進剤や疫病予防薬、他にも水産、農業の分野など、使用範囲は大幅に拡大している[1]。Fig. 1 に抗生物質の動態の概念を示す。水環境への抗生物質の放出は、薬剤耐性菌(antibiotic resistant bacteria: ARB)の増殖を促進し、薬剤耐性遺伝子(antibiotic resistance genes: ARGs)の拡散を助長する。この抗生物質耐性を獲得した薬剤耐性微生物に対する懸念が年々高まっている。現在多くの下水処理場で消毒として塩素処理が行われているが、通常の消毒レベルでは ARB や ARGs の除去には限界があると報告されており、塩素処理に代わる消毒方法が希求されている[2] [3]。

本研究は、微生物燃料電池(MFC)、オゾン処理、オゾンカソード微生物燃料電池(O-MFC)に着目し、それらによる対象抗生物質、ARB および ARGs の除去特性、発電性能および TOC 除去効率を評価することを先ず試みる。そして、抗生物質、ARB および ARGs の除去過程におけるオゾンの効果についても明らかにすることを目的とする[4] [5]。

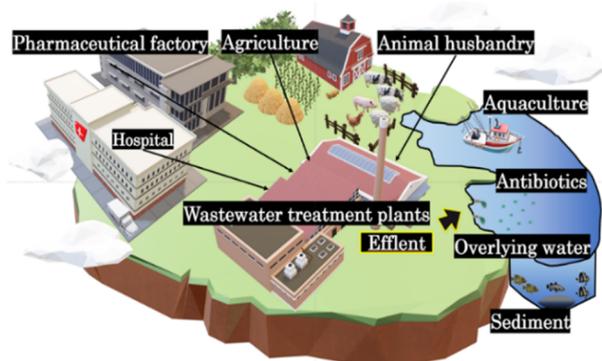


Fig.1 Schematic diagram of the antibiotic delivery chain.

## 2. 研究内容

### 2.1 実験装置

本研究は Fig. 2 に示す無膜単室オゾンカソード微生物燃料電池リアクター(O-MFC)を用いて下水二次処理水中の抗生物質、抗生物質耐性菌、および抗生物質耐性遺伝子の除去実験を行った。リアクターの上部はオゾンカソード、中部の内径 25cm、高さ 40 cm の円筒形と底部の高さ 5cm の円錐形ウォーター ディスペンサーを接続し、内部構造は、下から砂利層、アノード層、砂利層、カソード層で構成されている。砂利の粒径は 20~30 mm で、陽極層と陰極層は、活性炭粒子を充填させた活性炭層(直径 3~5cm、比表面積 500~900 m<sup>2</sup>/g、充填密度 0.45~0.55 g/cm<sup>3</sup>)とし、電子移動を促進するために、ステンレススチールワイヤメッシュの集電体を活性炭層の中央に埋設した[6]。

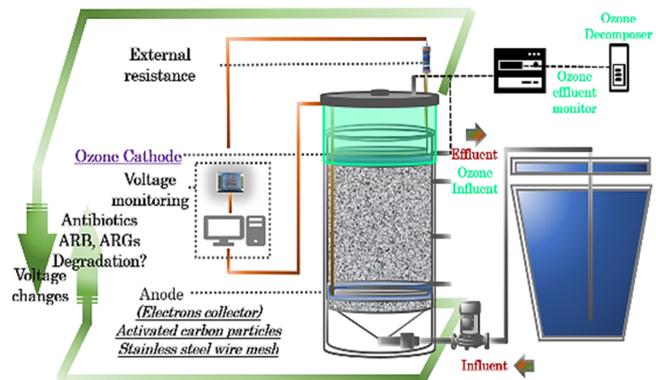


Fig. 2 Structure of single chamber Ozone-cathode microbial fuel cell (O-MFC).

### 2.2 抗生物質 & ARGs

実都市下水処理場の二次処理水を用いて、対象とした抗生物質、薬剤耐性菌、細胞内薬剤耐性遺伝子、細胞外薬剤耐性遺伝子の処理実験を行った[2] [7]。Table 1 に詳細を示す。

Table 1 Target antibiotics in an actual WWTP effluent (Miao et al., 2021).

Target antibiotics	Concentration (ng/L)	Target ARGs	Reference
Sulfamethoxazole	209±179	sulI, sulII	(Oberoi et al.,2019)
Tetracycline	359±38	tetA	(Ng, L.K et al.,2001)
Aminopenicillin	191±99	ampC	(Noor.AJ et al.,2014)

### 2.3 実験方法

本研究では、同じ構造の MFC と O-MFC リアクター(Fig. 2)を準備し、O-MFC のオゾンカソードを 1 週間連続でオゾン処理した。水学的滞留時間(HRT)は 2d、水温が 25°C の条件、流入 O<sub>3</sub> 濃度範囲は 0.5~1g/m<sup>3</sup>、ガス流量は 1.0L/min とした。すべてのサンプルは、カソードをオゾン処理後、電気生産が安定したことを確認した後に採取した[8]。

## 3 結果および考察

### 3.1 MFC & O-MFC の発電性能

Fig. 3 に O-MFC システムと MFC システムの発電状況(経時変化)を示す。両者ともに高電圧出力が維持されていることが示されている。この中で、O-MFC システムは MFC システムより電圧出力が平均 1.5 倍以上に高め、最高 626 mV に達成したことが示された。

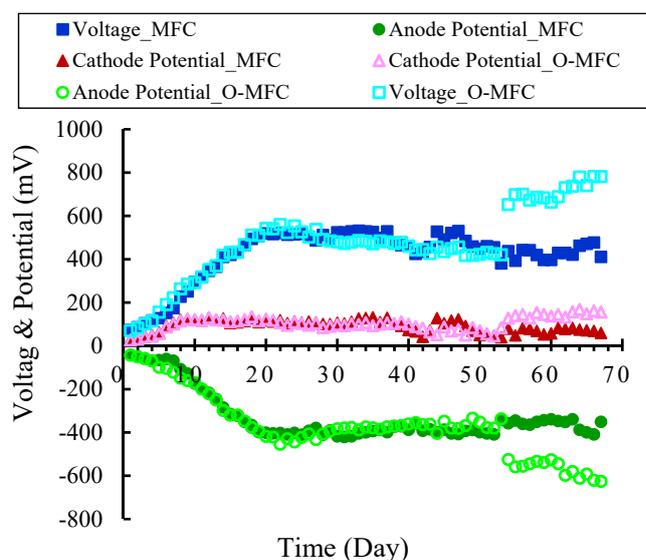


Fig. 3 Voltage Output performance of MFC & O-MFC.

### 3.2 MFCによる抗生物質と ARB および ARGs の除去特性

これまでに無膜単室微生物燃料電池システム(MFC)を構築し、対象とした抗生物質(Sulfamethoxazole, Aminopenicillin, Tetracycline)、ARB および ARGs の除去特性、ならびに発電性能、TOC 除去効率を評価した。発電は比較的安定した状態を維持できた。TOC 除去効率が高く、抗生物質と TOC の分解に関連する微生物活性が高かった。int11、sull および tetA 遺伝子は、MFC システムによる処理後に相対存在量が低減し対数除去率が高くなることが示された。

既存研究においても MFC による ARB の除去特性を比較すると、無膜単室微生物燃料電池による細胞内薬剤耐性遺伝子および細胞外薬剤耐性遺伝子の除去率は、薬剤耐性菌より大きくなる傾向があると報告されている[1]。今回の結果は、その知見に沿ったものであった。

### 3.3 オゾン処理による抗生物質と ARB および ARGs の除去特性

オゾンには強い酸化作用がある。また、オゾンは自分分解の過程や有機物と反応する際に OH ラジカル( $\cdot\text{OH}$ )を生成する場合がある。 $\cdot\text{OH}$  はオゾンより酸化作用が大きいいため、オゾン処理では、オゾンに加えて、特に pH が高い場合には $\cdot\text{OH}$ により微生物の細胞壁、細胞膜および核酸に関する炭素・窒素結合を破壊、変性させて、微生物を不活化する。濃度を  $25\mu\text{g}/\text{mL}$  に調整した抗生物質(Sulfamethoxazole, Aminopenicillin, Tetracycline)、ARB および ARGs を二次処理水に添加した。そして、オゾン処理へ供した。結果として、オゾン処理では、細胞内遺伝子は薬剤耐性菌より除去速度が小さかった。

### 3.4 O-MFC による抗生物質、ARB および ARGs の除去特性

無膜単室微生物燃料電池システムの運転安定性、ARGs の除去の有効性およびオゾン処理による薬剤耐性菌除去の特性を考慮して、オゾン処理と微生物燃料電池システムを組み合わせ、無膜単室オゾンカソード微生物燃料電池(O-MFC)を構築した。Fig. 4、Fig. 5 および Fig. 6 に各々微生物、抗生物質、ARB の除去特性を示す。O-MFC は MFC より TOC、対象とした抗生物質、16SrRNA 遺伝子と AMP-resistant *E. coli* の除去性能が更に向上させることを示す。

ここでは、オゾンは微生物燃料電池のカソード反応において電子受容体となる。 $4e^-$ 移動経路(式(1))と酸素電子受容体の  $2e^-$ 移動経路(式(2))を比較し、 $\text{H}_2\text{O}_2$  を効率的に利用することを目指し、 $\text{H}_2\text{O}_2$  とオゾンによる $\cdot\text{OH}$ の生成に着目した[5][9]。この $\text{H}_2\text{O}_2$ 生成・利用が効果的になるほど、カソードにおけるオゾン利用の効果が期待される[10][11][12]。

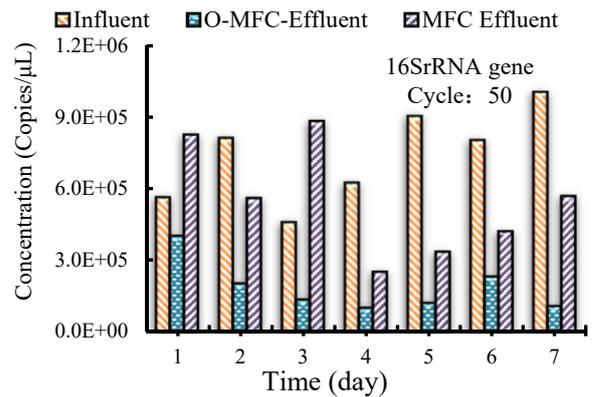
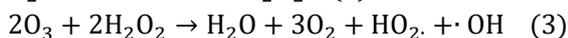
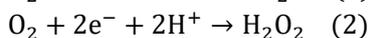
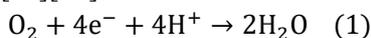


Fig. 4 The concentration of 16SrRNA gene in influent and effluent of MFC & O-MFC.

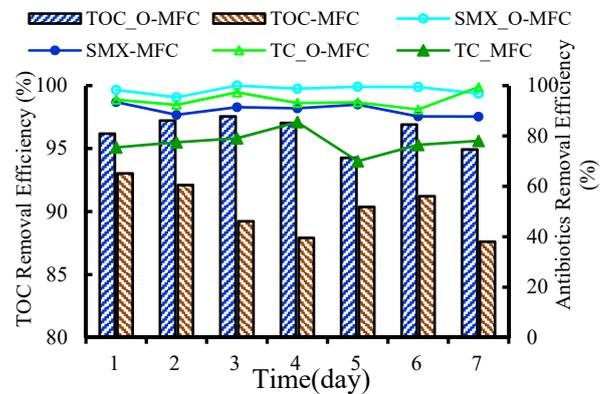


Fig. 5 TOC, target antibiotics removal performance of MFC & O-MFC.

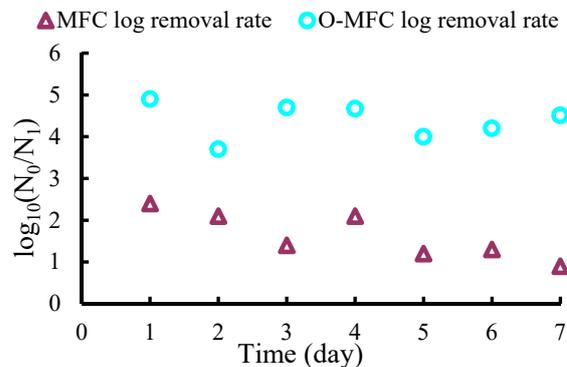


Fig. 6 The log removal rate of AMP-resistant *E. coli*.

オゾンによる ARB および ARGs の直接酸化による除去と併せて、O-MFC のカソード近傍の・OH の効果もあり、結果として、本実験においては、O-MFC による ARB および ARGs の除去効率は高いものとなり、オゾン利用の効果が観察された。

#### 4. おわりに

無膜単室オゾンカソード微生物燃料電池(O-MFC)により抗生物質、ARB および ARGs の同時除去と発電を達成することができた。システムの効率評価や MFC としての微生物構成を明らかにして、反応機序とエンジニアリングの観点からの動力的知見の収集・拡充が今後の課題と考えている。

#### 謝辞

本研究の一部は、JST 未来社会創造事業(JPMJMI22D1)、科研費基盤 B(21H01464)により実施された。ここに記して謝意を表します。

#### 参考文献

- [1] Shuai Zhang, Rajendra Prasad Singh et al.: Inhibition of methanogens decreased sulfadiazine removal and increased antibiotic resistance gene development in microbial fuel cells, *J. Bioresource Technology* 281 188-194 Contents, 2019.
- [2] Oberoi, A.S., Jia, Y., Zhang, H., Khanal, S.K., Lu, H.: Insights into the fate and removal of antibiotics in engineered biological treatment systems: a critical review, *J. Environ. Sci. Technol.* 53 (13), 7234-7264, 2019.
- [3] Wang Y, Liu X, Wang M, et al.: Single-Chamber Microbial Fuel Cell for Rapid Determination of Biochemical Oxygen Demand using Low-cost Activated Carbon as Cathode Catalyst, *J. Environmental Technology*, 1-39, 2017.
- [4] Lu J, Yu Z H, Zhang H X.: Research progress on microbial degradation of azo dyes, *J. Industrial Water Treatment*, 33 (1): 15-19, 2013.
- [5] Shuning Chen et al.,: Enhanced Recalcitrant Pollutant Degradation Using Hydroxyl Radicals Generated Using Ozone and Bioelectricity-Driven Cathodic Hydrogen Peroxide Production: Bio-E-Peroxone Process, *J. Science of the Total Environment* 776, 144819, 2021.
- [6] Long X, Pan Q, Wang C, et al.: Microbial fuel cell-photoelectrocatalytic cell combined system for the removal of azo dye wastewater, *J. Bioresource Technology*, 244(Pt 1): 182-191, 2017.
- [7] Occurrence of water shortage and wastewater pollution situation by water resources in Japan, 1987-2006. *Water Resources in JAPAN*, 2008.  
([https://www.mlit.go.jp/tochimizushigen/mizsei/water\\_resources/contents/issues.html](https://www.mlit.go.jp/tochimizushigen/mizsei/water_resources/contents/issues.html)).
- [8] Booki M, Logan B E.: Continuous electricity generation from domestic wastewater and organic substrates in a flat plate microbial fuel cell, *J. Environmental Science & Technology*, 38 (21): 5809-5814, 2004.
- [9] Yan S, Geng J, Guo R, et al.: Hydronium Jarosite Activation of Peroxymonosulfate for the Oxidation of Organic Contaminant in an Electrochemical Reactor Driven by Microbial Fuel Cell, *J. Hazard. Mater.*, 333: 358- 368, 2017.
- [10] Guo, Z., Xie, Y., Wang, Y., Cao, et al.: Towards a better understanding of the synergistic effect in the electro-peroxone process using a three-electrode system, *J. Chem. Eng. J.* 337, 733-740, 2018.
- [11] Hong, L., Logan, B.E.: Electricity generation using an air-cathode single chamber microbial fuel cell in the presence and absence of a proton exchange membrane, *J. Environ. Sci. Technol.* 38, 4040-4046, 2004.
- [12] Zhang, X., Shi, J., Peng, L., Wei, J., Xia, H., Zhang, C., et al.: Power generation by packed-bed air-cathode microbial fuel cells, *J. Bioresour. Technol.* 142, 109-114, 2013.