水環境学会誌　Journal of Japan Society on Water Environment　Vol.40, No.3, pp.107-114（2017）
〈研究論文 ― Research Paper〉

抗菌医薬品の流入が二段式膜分離活性汚泥法における処理機能へ与える影響

浦瀬太郎[1),¶]　筒井裕文[1)]
稲生武士[1)]　陳浩楊[1)]

Effect of Antimicrobials in Feed Wastewater on the Performance of Two-stage Membrane Bioreactor

Taro URASE[1),¶], Hirofumi TSUTSUI[1)], Takeshi INOU[1)] and Hao Yang CHEN[1)]

[1)] School of Bioscience and Biotechnology, Tokyo University of Technology, Katakura 1404-1, Hachioji, Tokyo 192-0982, Japan

Abstract

The effect of antimicrobials in wastewater on the effectiveness of small-scale wastewater treatment is of concern, although the usual concentrations of pharmaceuticals and personal care products（PPCPs）are lower than those that might induce inhibitory effects in large-scale wastewater treatment. The effect of antimicrobials on the operation of a newly designed two-stage membrane bioreactor, which is advantageous for the removal of micropollutants, was investigated. Levofloxacin（5 mg L^{-1}）and/or clarithromycin（2 mg L^{-1}）in the feed wastewater decreased the nitrification rate by at least 40% and promoted membrane fouling. The accumulation of antimicrobials in the sludge phase in the reactors would be the reason for the retardant adverse effects even after stopping the addition of the antimicrobials.

Keywords: Antimicrobials; Membrane bioreactor; Levofloxacin; Inhibitory effects on nitrification; Membrane fouling

1. はじめに

水環境中の医薬品成分に関心が高まっている。廃水中の医薬品濃度は，通常，廃水の生物処理機能に影響を与えるほど高いものではないが，抗生物質や合成抗菌薬（以後，双方を合わせて抗菌薬という）の濃度が高い病院廃水の生物処理では，硝化反応が阻害されることが懸念されている[1)]。また，未服用者の排水による希釈効果の望めない小規模浄化槽では，抗菌薬服用者のし尿が硝化反応を阻害する可能性がある。

これまで抗菌薬の硝化活性への影響を調べた研究は多くない。マクロライド系抗生物質であるエリスロマイシン[2, 3)]，畜産用途の使用が多いテトラサイクリン類[4, 5)]，スルフォンアミド類[6)] など，いくつかの抗菌薬の硝化阻害が調べられてきており，いずれの報告でも数 mg L^{-1} ～数十 mg L^{-1} の濃度で硝化阻害を生じるとされている。しかし，影響を生じる濃度が汚泥の種類に依存することや[2)]，硝化微生物が抗菌薬へ馴養できるともされ[3)]，一貫性のある結果が得られていない[1)]。さらに，レボフロキサシンなどのわが国で処方量の多い人用抗菌薬の硝化阻害についての研究はほとんどない。

医薬品の混入する廃水の処理を考える場合，廃水に含まれる医薬品自体の分解も重要になる。活性汚泥法での医薬品成分の分解は十分ではないが[7)]，汚泥滞留時間（SRT）を 10 日～ 15 日へと延長する栄養塩除去型の活性汚泥法において，医薬品の除去率が標準法に比較して高い傾向が報告されている[8, 9)]。膜分離活性汚泥法（MBR）も重力沈降で汚泥と処理水とを分離する通常の活性汚泥法より微量物質の除去性能がやや高く[10)]，また，MBR 法では，沈でん池での汚泥の沈降性に関係なく SRT を設定できるために，長い SRT で MBR を運転した場合に医薬品除去率を向上できたとの報告もある[11)]。SRT を長く運転することは，汚泥量あたりの基質投入量を小さく運転すること，つまり，低 F/M 運転につながる。本研究では極端な低 F/M 運転を実験室で実現する方法として二段式 MBR を提案し，その低分子医薬品に対する除去性能を調べた。

また，MBR 法では，汚泥のろ過性を良好に保つことが必要である。医薬品の混入の恐れのある廃水を処理する場合に，医薬品が汚泥のろ過性にどのような影響を与えるかは明らかではない。カルバマゼピンを 90 μg L^{-1} で添加した場合に，膜差圧の上昇がみられたとの報告もあるが[12)]，そのメカニズムは明らかではない。抗菌薬はカルバマゼピンよりも処理微生物に影響が大きいことが考えられるが，抗菌薬が断続的に原水として流入する場合の MBR 運転への影響は知られていない。

1）東京工科大学大学院バイオ情報メディア研究科　〒192-0982　八王子市片倉町 1404-1
¶　連絡先：urase@stf.teu.ac.jp

本研究では，抗菌薬服用者のみが利用する小規模浄化槽を想定し，前述の二段式 MBR を用いて，廃水中の抗菌薬の断続的な流入が低分子量医薬品の除去性，硝化活性，MBR 運転性に対して与える影響を調べた。この研究では，硝化阻害についての情報が乏しく，かつ，わが国で外来患者に処方される抗菌薬として最も一般的なクラリスロマイシン，および，レボフロキサシンを小規模廃水処理で問題を生じやすい抗菌薬の例として，その MBR 処理への影響を調べた。

2. 実験材料と方法

(1) 人工廃水の組成

Table 1 に今回の実験で用いた人工廃水の組成を示す。有機炭素源として，生物難分解性の高分子有機物を含有した糖蜜（日の出蜜，大日本明治製糖製）と易分解物質としてグルコースとを混合して用いた。さらに，鎮痛剤などの用途の低分子量医薬品 7 種（クロフィブリン酸（CA），イブプロフェン（IBP），フェノプロフェン（FEP），ケトプロフェン（KEP），ナプロキセン（NPX），ジクロフェナク（DCF），インドメタシン（IDM））を各 2.5 μg L^{-1} 加えた。また，窒素，リン，マンガン，鉄の無機塩類を加えた。さらにリアクターの微生物群集を撹乱するために，実験期間の一部で，わが国で外来患者への使用が多い代表的抗菌薬をリアクターへ加えた。添加期間は，**Fig. 1** に示すようにレボフロキサシン（LVFX）が 134 日目～ 136 日目，および，191 日目～ 199 日目，および 267 日目～ 272 日目で，添加濃度は 5 mg L^{-1} とした。また，クラリスロマイシン（CAM）の添加期間は，155 日目～ 157 日目および 199 日目，232 日目～ 241 日目であり，添加濃度は，1 mg L^{-1}（ただし，235 日目から 241 日目までは 2 mg L^{-1} の濃度）とした。

Table 1 The composition of the feed solution.

Name of Chemicals	Concentration
Glucose	200 mg L^{-1}
Molasses	200 mg L^{-1}
$(NH_4)_2SO_4$	250 mg L^{-1}（Approx. 50 mgN L^{-1}）
K_2HPO_4	60 mg L^{-1}（Approx. 10 mgP L^{-1}）
Na_2CO_3	350 mg L^{-1}
$MnSO_4 \cdot 5H_2O$	1 mg L^{-1}
$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	1 mg L^{-1}
Seven pharmaceuticals*	2.5 μg L^{-1} each
Levofloxacin（LVFX）	See **Fig. 1**.
Clarithromycin（CAM）	See **Fig. 1**.

*: Clofibric acid, diclofenac, fenoprofen, ibuprofen, indomethacin, ketoprofen, naproxen.

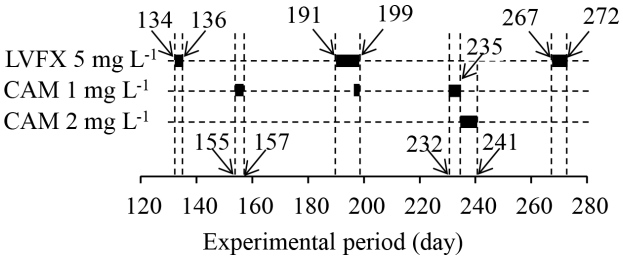

Fig. 1. Concentration and periods of the addition of antimicrobials to the reactors.

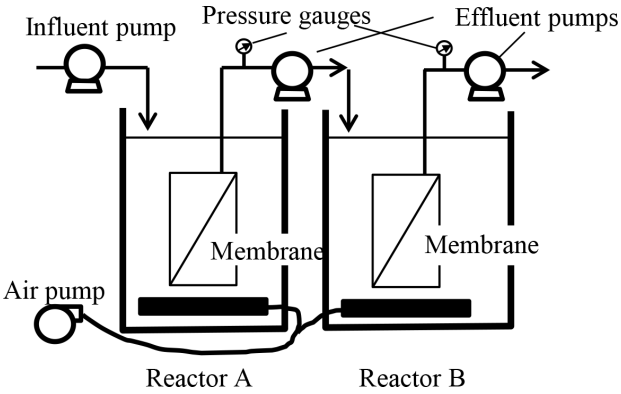

Fig. 2. Concentration and periods of the addition of antimicrobials to the reactors.

(2) 実験装置

Fig. 2 に実験装置の概要を示す。流入水が 1 段目の MBR リアクター A に供給され，ここで生物分解性の有機物が除去されたあと，その膜処理水を 2 段目（リアクター B）に供給した。リアクター A の有効容積は，運転開始から 199 日目までは 5.5 L であったが，より容積負荷を大きくするため，休止期間をはさんだ 209 日目以降，3.5 L とした。一方，リアクター B は汚泥をゆっくりと自己消化させるため，実験期間を通じて有効容積を 8.0 L と大きく取った。リアクターへは 750 mL hr^{-1} で人工廃水を与え，同量の処理水を膜を介して引き抜いたため，ポンプ稼働時の水理滞留時間はリアクター A で 7.3 時間（199 日目以前），および，4.7 時間（209 日目以降），リアクター B で 10.7 時間であった。リアクターへ浸漬した膜は，クボタ社製の 200 mm × 300 mm サイズの液中膜カートリッジ（両面平膜）を半分にカットし底部を液漏れのないよう接着剤で固めたもの（有効膜面積 0.06 m^2）をリアクター A, B それぞれ 1 枚ずつ用いた。本研究でのリアクターへの通水量 750 mL hr^{-1} に，平日の稼働時間である 1 日 18 時間を乗じ，分離膜の有効面積で割ると，膜面容積フラックスとして，0.23 m day^{-1} となる。これは，活性汚泥の分離膜として平膜を用い定フラックス運転する場合に十分に余裕のある設定値である。膜両面への曝気をおこなうことによって，膜の目詰まりを抑制した。この曝気によりリアクター A, B ともに，溶存酸素濃度（DO）を 3.6～8.9 mg L^{-1} と好気的な環境に維持した。

(3) 測定方法

流量，膜差圧，水温，pH，水質（COD（Mn），アンモニア性窒素，亜硝酸性窒素，硝酸性窒素，吸光度［475 nm］，鎮痛剤系医薬品類）の測定を行った。COD（Mn）および無機態各窒素濃度の測定では，正確に 2 mL の試料を共立理化学研究所のパックテストに添加し発色させ，COD（Mn）では比色，窒素各態では分光光度計（島津製作所，UVmini1240）で測定し，別に標準溶液で作成した検量線にて定量した。ただし，硝酸測定の際に，亜硝酸が共存した場合に無視できない正の妨害があり，今回の実験条件でも相当の誤差が出ることが確認できていたため，塩酸酸性条件で，試料にスルファニル酸を 0.3 %添加し，密栓容器中で 110 ℃のオーブン中で 30 分間加熱することで，亜硝酸の影響を取り除く前処理をおこなった。鎮痛剤など低分子量医薬品の定量には，固相抽

出－誘導体化－GC/MS 法[13] を用いた。すなわち，塩酸を加え pH を 2 とした試料水 80 mL をエムポアディスク（C18, GL サイエンス）によって固相抽出し，2,3,4,5,6-ペンタフルオロベンジルブロミド（PFBBr）による誘導体化処理の後，GC/MS（島津製作所，GC-2010/PARVUM 2）にて測定した。

(4) リアクターの運転

原水を 5:00～23:00 の 18 時間，750 mL hr^{-1} の流量で供給したため，1 日の処理水量は，13.5 L であった。23:00～5:00 の深夜時間帯は，原水の供給と処理水の引抜を停止した。原則として月曜日から金曜日の運転とし，金曜日には膜を取り外し，0.05％次亜塩素酸ナトリウムに浸漬し膜を洗浄し，月曜日に膜を再設置して運転を再開した。ただし，週末にも運転を継続した場合や，極度の膜の目詰まりによって，差圧が 0.04 MPa に達した場合には，短時間の膜洗浄の後，すぐに運転を継続した。

実験期間のうち，120 日目までは，汚泥の馴致の期間であり，同じ人工廃水，同じ運転方法によって運転した。抗菌薬を添加すると処理性能が悪化したため，リアクター内の汚泥を 158 日目～166 日，200 日～208 日，242 日～250 日の運転休止前に廃棄し，166 日目，205 日目，247 日目のリアクター再スタート前に，リアクター A, B の両方に新たに調達した種汚泥を入れた。また，143 日目にはリアクター A のみ汚泥を入れ替えた。リアクターに投入した種汚泥は，東京工科大学の生活系排水処理施設から採取したものを用いたが，247 日目のみ，東京都八王子市の公共下水道の終末処理場である北野下水処理場から採取した活性汚泥を用いた。MLSS の制御のため，178 日目にリアクター A から混合液 1 L を引抜いた。このほかに，週 1 回の MLSS 測定での 30 mL のサンプリングを除いて，汚泥の引抜は行わなかった。

3. 結果

(1) リアクターの運転状況

Fig. 3（a）に運転時間と流量とから計算した 1 日あたりのリアクターの処理水量を示す。火曜から木曜にかけては，5:00～23:00 の 18 時間運転し，計画通り 1 日あたり 13.5 L の水量での処理を行い，月曜日および金曜日には，運転開始操作や停止操作を行う時間が必要であったため，やや他の日よりも処理量が少なくなり，10 L 程度の人工廃水を処理した。ほとんどの土曜日，日曜日には給水や処理水の引き抜を停止したため処理水量はゼロであった。

Fig. 3（b）に pH の変化を示す。あとの硝化への抗菌薬の影響についての結果で述べるように，140 日目付近，235 日目付近，および 270 日目付近は，抗菌薬の影響で硝化が抑制されたため，pH が 8 付近まで上昇したが，それ以外の期間では，pH7.0～7.5 で運転が継続できた。リアクター内の水温は，**Fig. 3**（c）に示すように，特段の制御をしていないが，空調された室内にリアクターを設置していたため，実験のほとんどの期間で 25 ℃程度であったが，260 日目以降やや低下し 20 ℃程度となった。

COD（Mn）の平均測定値は，流入水の 334 mg L^{-1}（n=41）に対して，リアクター A 処理水が 21.6 mg L^{-1}（n=41），リアクター B 処理水が 20. 0 mg L^{-1}（n=41）であった。したがって，リアクター A では，有機物の分解

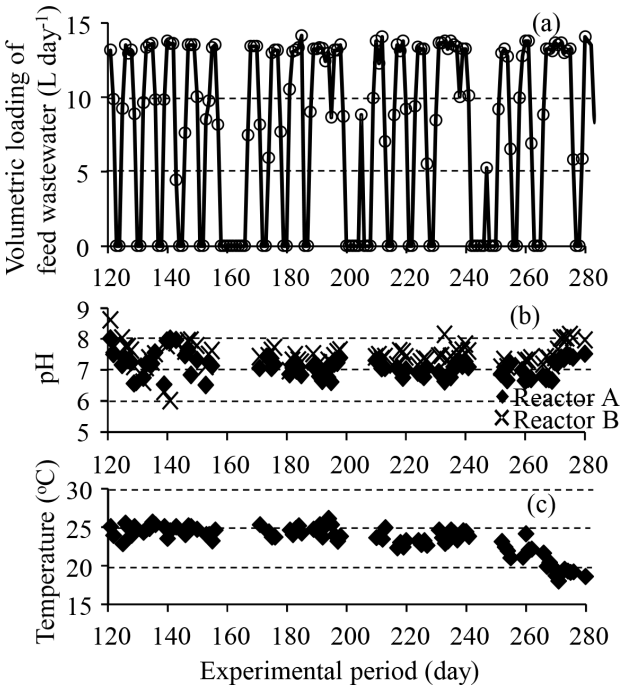

Fig. 3. Operational conditions of the reactors. Volumetric loading of feed wastewater (a), pH (b) and temperature (c).

が生じ微生物の増殖が盛んである一方，リアクター B では生物分解可能な有機物の供給がなく微生物の菌体量を維持することが難しく，実際，**Fig. 4**（a）に各リアクターの汚泥濃度を示すように，運転継続に伴い前段のリタクター A では汚泥濃度が増加し，後段の B では汚泥濃度が減少した。とくに，209 日目以降，リアクター A の容積を 3.5 L に縮小したため，リアクター A での濃度の増加が顕著となった。

(2) 膜差圧への抗菌薬の影響

Fig. 4（b）に膜差圧の変化を示す。全体には，膜差圧は 0.01 MPa 以下で推移し，週一度の膜洗浄によって安定した運転が維持された。しかし，抗菌薬を添加すると，膜差圧の上昇がはやく，図の矢印に示すように頻繁に膜を洗浄しても，1 日のろ過によって差圧が膜洗浄を行う目安である 0.04 MPa まで上昇した。このうち，134 日目～136 日目に LVFX を添加したケースでは，この時期にリアクター A の膜差圧が上昇し，LVFX 添加を中止した翌週も膜差圧の上昇が続いた。しかし，143 日目に汚泥を入替えた以降は，膜差圧の上昇は抑えられた。このことから，いったん混合液中に目詰まり成分が吐き出されると，その分解消失は遅く，混合液中に目詰まり成分が 1 週間以上残留することが示唆された。

一方，155 日目～157 日目の CAM を添加した期間では，CAM 添加濃度が 1 mg L^{-1} と低く，3 日間と短期間の添加であったため，膜差圧の上昇は見られなかった。191 日目～199 日目の LVX 添加期間では，0.02 MPa 程度までの差圧上昇がリアクター A, B ともに見られた。232 日目～241 日目に CAM を添加した場合には，やはり頻繁な膜洗浄にもかかわらず，特にリアクター A で差圧上昇がみられた。また，LVFX を添加した 267 日目から 272 日目にかけては，リアクター A よりもその処理水を流入水とするリアクター B の方で激しい目詰まりが生じた。

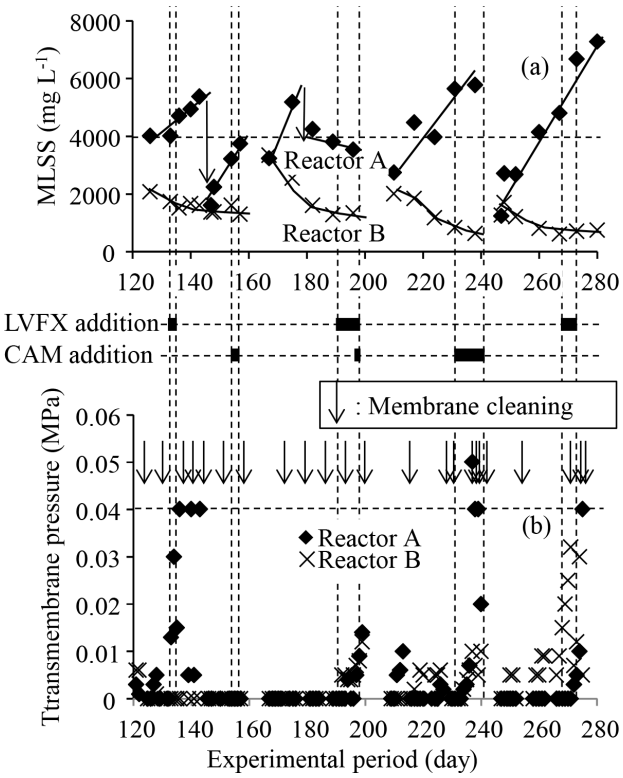

Fig. 4. Operational results of the reactors. MLSS concentration (a) and transmembrane pressure (b).

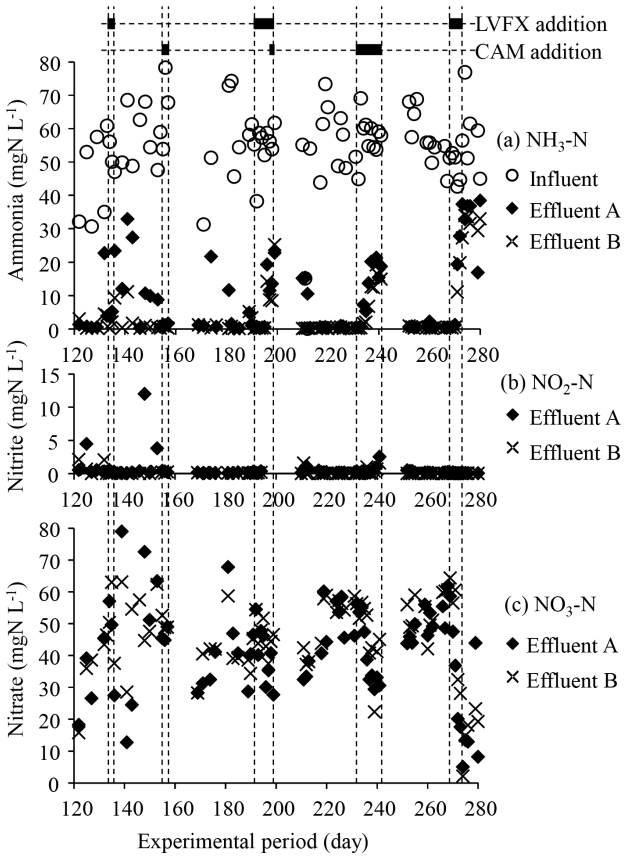

Fig. 5. The changes in concentrations of ammonia (a) nitrite (b) and nitrate (c).

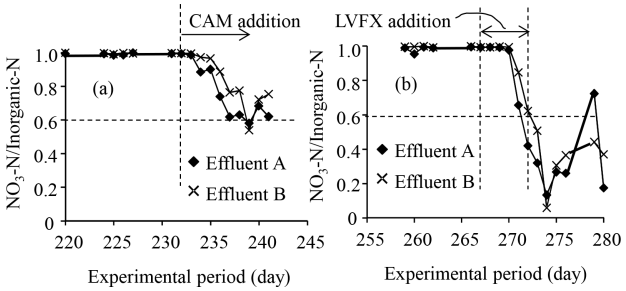

Fig. 6. Nitrification ratios in effluents from MBRs. (a) Effect of CAM addition. (b) Effect of LVFX addition.

この時期には，リアクターＢの微生物濃度が1000 mg L^{-1}を下回っており，低い MLSS で運転中に LVFX による撹乱があったことがリアクターＢの膜差圧の上昇につながったものと考えられる。また，273 日目以降，LVFX の添加を中止しても膜差圧の上昇は抑えられず，二度の膜洗浄のあとも，膜差圧の高い状態が続いた。抗菌薬の添加をおこなったいずれの実験期間においても，汚泥から混合液中への目詰まり成分の吐き出しが生じていたことが実験結果から示唆された。

(3)　硝化への抗菌薬の影響

抗菌薬の流入が硝化反応に与える影響を調べるために，アンモニア性窒素，亜硝酸性窒素，硝酸性窒素を継続的に測定した結果を **Fig. 5** に示す。実験のほとんどの期間で，硝化反応は良好に進行し，亜硝酸の蓄積はほとんど見られず，アンモニア減少分がそのまま硝酸増加分となった。また，リアクターＡで硝化はほぼ完了していたが，本研究では，週末に流入水が供給されないことから，急激に負荷を与える月曜日にリアクターＡでややアンモニアが残ることがあり，174 日目，181 日目のリアクターＡ処理水のアンモニア濃度上昇は，この月曜日の基質添加再開に伴うものであると考えられる。しかし，こうした負荷上昇の際にも，リアクターＢの処理水には，アンモニアはほとんど残留しておらず，リアクターＢでも硝化が生じた。

硝化活性への CAM 添加の影響を観察した期間のうち，155 日目から 157 日目の添加期間では，顕著な硝化阻害は見られなかったが，232 日目から 241 日目では，添加期間を長くしたことや添加濃度を 235 日目に 1 mg L^{-1}から 2 mg L^{-1}へと増加させたこともあり，**Fig. 6**（a）に詳しく示すように，添加開始から 3 日経過した頃から硝化率（処理水中の硝酸性窒素の全無機態窒素に対する割合）が低下し，6 日目以降，60％程度の硝化率で推移した。

一方，LVFX 添加の影響を観察した期間は 3 回あり，134 日目，191 日目，267 日目から添加開始したいずれの期間においても，添加しはじめて 2 日～ 4 日が経過すると硝化が阻害され，アンモニアがリアクター流出水に残存するようになった。このうち，260 日目から 280 日目の硝化率の推移を **Fig. 6**（b）に詳しく示す。272 日目に LVFX の添加を中止したが，硝化反応は回復することがなく，いったん崩れた硝化反応を立て直すことは難しいと考えられた。また，硝化が阻害されている期間であっても，リアクターＢの流出水の方が硝化率が高く，リアクターＢで多少の硝化が生じた。279 日目に硝化がいったん回復したように見えるのは，週末の流入停止期間にゆっくり硝化反応が生じ，生成した硝酸が月曜日に測定されたためで，翌日には硝化率は再び低下した。

(4) 難分解性着色成分および低分子医薬品の除去

本研究のリアクターBは極端な低負荷運転のモデルであり，微生物がこのような条件で難分解性の着色成分，あるいは，遅分解性の低分子医薬品を分解する能力を発揮できるのかどうかを検討した。**Fig. 7** に糖蜜由来のメラノイジン（着色成分）の指標として 475 nm の吸光度の測定結果を示す。原水には吸光度として 0.022 程度の糖蜜由来着色成分が含まれており，その約半分がリアクターAの流出水に残った。また，**Fig. 7** に示すようにリアクターAの流出水の 475 nm の吸光度とリアクターBの流出水の 475 nm の吸光度とはほとんど差がなく，リアクターAで除去できない着色成分が低負荷運転のリアクターB処理水にそのまま残った。

一方，水溶性の遅分解性物質の例として，低分子量医薬品のリアクター流入濃度に対する残存率を医薬品ごとに **Fig. 8** に示す。128 日目の結果（**Fig. 8**（a））は，抗菌薬を添加していない時点の結果である。リアクターAの流出水に，CA が流入水とほぼ同じ濃度で残留しており，KEP, DCF などの濃度も高かった。これまでの知見でも，CA, DCF は生物学的水処理プロセスでの分解が難しく，一方で，IBP や FEP の分解は速く，NPX, KEP がそれらの中間となることがよく知られており[7]，本研究での結果は既往の医薬品の分解に関する知見と整合していた。このリアクターAの流出水がリアクターBの流入水となり，リアクターBでは生物分解可能な有機物がほとんど残されていない条件であるにもかかわらず，リアクターAの流出水に残留していた低分子量医薬品のうち，IBP, FEP, KEP などの比較的，これまでも分解されやすいという報告のある医薬品の除去が見られた。MBR における鎮痛剤系医薬品の除去においては，微生物分解の寄与が大きく汚泥への吸着による除去の寄与は小さいことが示されている[7, 14]。ただし，DCF について，128 日目に見られたリアクターBでの除去については，分解ではなく，DCF 特有の吸着[11] によって生じた可能性がある。135 日目は，リアクターに LVFX の添加がおこなわれている期間であり，128 日目に比べて，全体に医薬品分解活性が低くなった（**Fig. 8**（b））。この時期でも，IBP, FEP の分解に対して，リアクターBは依然として機能しており，極端な低濃度条件で自己消化を強いられる活性汚泥が医薬品の分解に一定程度の役割を果たし得ることが示された。なお，この測定で見られた DCF の低除去率の原因は不明であり，分析上の問題である可能性がある。さらに，**Fig. 8**（c）に示した 157 日目は CAM を添加している期間であるにもかかわらず，むしろ，低分子医薬品の除去率は向上し，特にリアクターBが医薬品の除去へ顕著に寄与していた。この 155 日目から 157 日目の期間は，すでに述べたように，CAM の添加によっても硝化や膜差圧の上昇にも影響を与えなかった時期であり，1 mg L^{-1} の濃度で 3 日間という短期間の CAM の添加であれば，MBR 処理に深刻な影響がないことが示された。

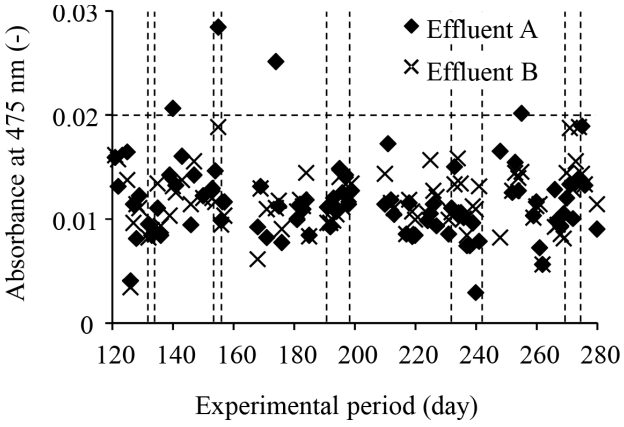

Fig. 7. The changes in color intensity of the effluents.

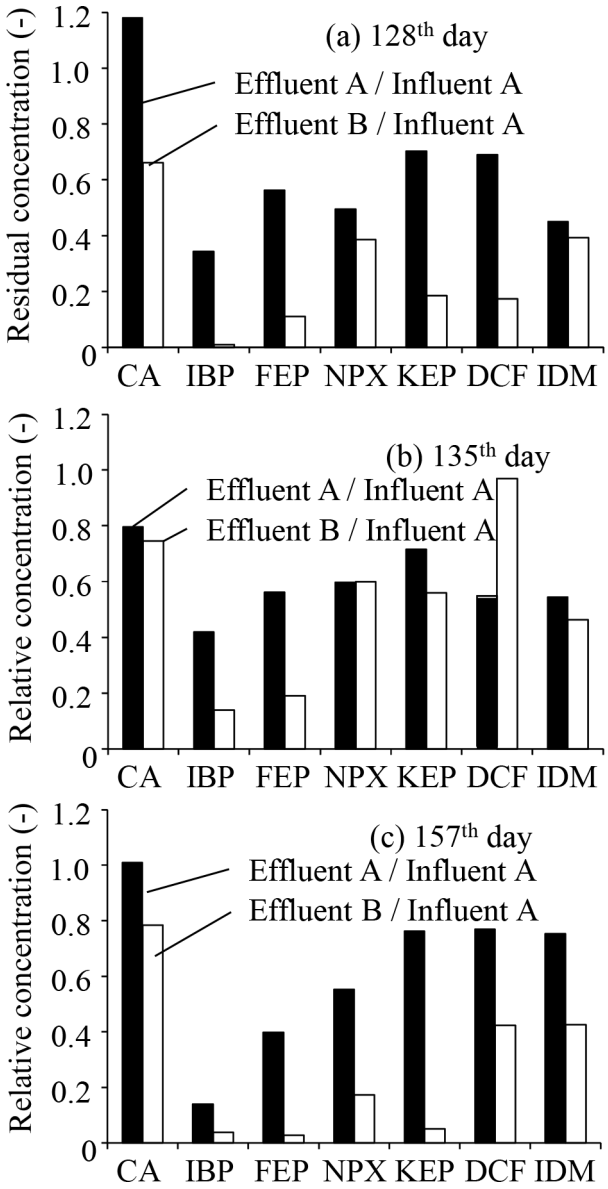

Fig. 8. Residual ratios of concentrations in the reactor effluents. 128th day (a), 135th day (b) and 157th day (c).

MBR におけるカルボキシ基を有する医薬品の処理ではリアクター pH が 5 以下になると，カルボキシル基の電離が抑制され，微生物への医薬品の取り込みが促進され，除去率が上昇することが知られているが[14]，本実験での pH は 7.0，あるいは，それ以上であったため，低 pH による除去率向上の影響のない実験条件であったと考えられる。

以上より，極端な低負荷での微生物処理において，メラノイジンなどの比較的高分子の着色性難分解物質を処理することは難しいが，IBP, FEP, NPX, KEP などある

程度の生分解性を有する低分子医薬品をより低濃度まで処理できる可能性があることが示された。

4. 考察

(1) 添加した抗菌薬の硝化阻害が顕在化するのに要する時間

本研究では，抗菌薬を添加してから，硝化阻害や膜差圧上昇がみられるまでに一定の時間が必要であることが認められた。LVFXを191日目から添加したケースでは，顕著な硝化阻害が認められるのは196日目からであり，同様に267日目からLVFXを添加したケースでは，硝化阻害が見られるのは271日目からである。CAMを232日目から添加したケースでも硝化阻害が見られるのは，234日目からである。こうした遅延影響がみられる原因として，毒性があらわれるまでに生物学的に時間を要することが考えられるが，より物理的な理由，すなわち，活性汚泥による抗菌薬の吸着による抗菌薬濃度の緩衝効果も考えられ，これについて以下に考察する。

LVFXは，生物分解性が低く[15]，エアレーション内で8割以上汚泥に吸着して存在しているとされる[16]。この吸着現象を汚泥と水との間の分配と考えて，水相抗菌薬濃度 C_w に対する汚泥重量あたりの抗菌薬濃度 C_s の比である収着係数 K_d を導入することができる。ここで K_d は次式で定義される。

$$K_d = \frac{C_s}{C_w} \tag{1}$$

この式では，水相濃度と汚泥相濃度との比例関係を仮定しており，この仮定は低濃度の医薬品などの活性汚泥での挙動の推定にしばしば用いられる[7, 16]。一方，本研究のリアクターAについて，完全混合槽としてマスバランスをとると，以下の式が得られる。

$$V\frac{d}{dt}(C_w + C_s X) = Q(C_{in} - C_w) \tag{2}$$

ただし，リアクター流入抗菌薬濃度を C_{in}，汚泥濃度を X，リアクター容積を V，リアクターへの流入水量を Q とする。この式で，LVFXやCAMは活性汚泥微生物により分解しにくいと考えられることから[7, 15]，微生物分解項を（2）式では省略した。（1）のもとで（2）の微分方程式を変形，整理すると次式が得られる。

$$\frac{d}{dt}C_w = \frac{Q}{V(1+K_d X)}(C_{in} - C_w) \tag{3}$$

この（3）式は，抗菌薬のリアクター内での滞留時間は，水理的滞留時間の $1+K_d X$ 倍になることを示している。収着係数 K_d として，レボフロキサシンに対して4 L g^{-1}，クラリスロマイシンに対して0.5 L g^{-1} を仮定し[16]，さらに，本研究での処理流量13.5 L day^{-1}，リアクターAの有効容積を3.5 L, MLSSを5 g L^{-1}，リアクターBの有効容積を8 L, MLSSを2 g L^{-1} を（3）式に代入し，抗菌薬が流入してからのリアクター流出抗菌薬濃度の変化を計算した結果を**Fig. 9**に示す。抗菌薬を吸着できるものが混合液中に存在しない状態で本研究のリアクターを1日運転すると，リアクターA，リアクターBの流出濃度は，流入濃度のそれぞれ98%，74%となり，**Fig. 9**の汚泥無しの曲線で示されるように，リアクター内濃度は早期に立ち上がることが計算される。しかし，LVFXのように汚泥に吸着しやすい抗菌薬では，今回の運転条件で3日間抗菌薬の流入を継続しても，リアクターA，リアクターBの流出濃度は，流入濃度のそれぞれ42%，11%でしかなく，抗菌薬の濃度が十分に抗菌活性を発揮する濃度に達していなかった可能性をこの**Fig. 9**（a）は示している。CAMはLVFXよりも水溶性が高く，LVFXほど槽内の水相濃度が上昇するのに時間を要しないが，それでも，**Fig. 9**（b）に示すように，リアクターAの抗菌薬の滞留時間は水の滞留時間の3.5倍と計算される。このことから，汚泥への抗菌薬の吸着による濃度緩衝効果が原因となって，本研究において，抗菌薬を流入させはじめてから硝化阻害が生じるまでに時間を要した可能性がある。本研究では，汚泥混合液中のCAM濃度やLVFX濃度を測定していないため，この緩衝作用の実証は今後の課題としたい。

さらに，この考察から，下水処理の実務への示唆が得られる。つまり，抗菌薬が大量に下水処理場に流入する事故があったとしても，硝化が阻害されるまでには，一定の時間猶予があることが考えられる。一方で，汚泥相から水相への脱着が（1）式に応じて即時に生じるとしても，いったん抗菌薬を吸着した汚泥から抗菌薬が抜けるまでにはかなりの時間を要することが同様の計算によって示される。実際，本研究でもLVFXのリアクターへの添加を中止しても硝化が回復しなかった。これは，硝化菌が死滅してしまった可能性もあるが，汚泥による抗菌薬の緩衝効果により，水理的な滞留時間よりも抗菌薬のリアクター内滞留時間が大幅に長いことが関係していることが考えられる。

(2) 硝化菌群集の抗菌薬への感受性

世界的に耐性菌，感受性菌の判断に用いられる米国臨

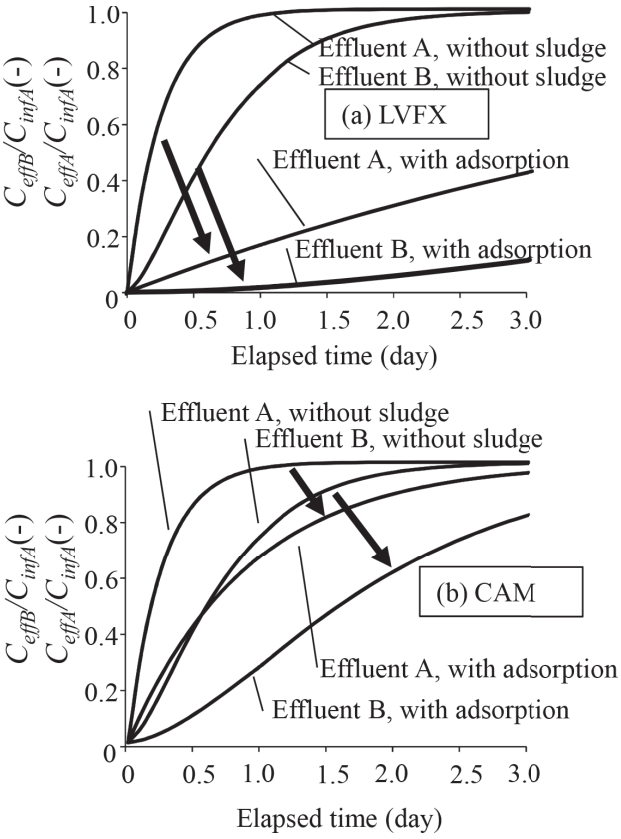

Fig. 9. Response curves of concentrations of LVFX (a) and CAM (b).

床・検査標準協会（CLSI）の基準によれば，耐性菌，感受性菌の区別のクライテリアとして，最小発育阻止濃度（MIC）がLVFXで8 mg L^{-1}以上を腸内細菌に対しての耐性菌基準としている[17]。この基準での多摩川中流域で釣菌された大腸菌の耐性菌比率は，約2%である[18]。CAMは，大腸菌に対しての基準はなく，他の菌種については，菌種によって判定基準が大きく異なり，たとえば，*Streptococcus*属では，1 mg L^{-1}以上のMICをCAM耐性としている[17]。また，製品評価技術基盤機構からNRBC株として入手可能なアンモニア酸化細菌*Nitrosomonas europaea*（NBRC 14298）および亜硝酸酸化細菌*Nitrobactor winogradkyi*（NBRC 14297）に対するLVFXの影響を調べたところ，いずれに対しても50%硝化阻害濃度は1 mg L^{-1}～2 mg L^{-1}であった[19]。

LVFXやCAMの1日あたりの投与量は患者一人あたり300 mg～800 mgであり，このうち，50%以上は代謝されずそのまま排泄されると考えられることから[16]，仮に，1日あたり300 mgが排泄され，それが，1日150 L程度の使用水量で希釈されるとすれば，処理施設流入濃度は2 mg L^{-1}となる。しかし，大規模な下水処理場では，大量の非服用者の排水で服用者の排水が希釈されるため，下水処理施設流入水に含まれるLVX, CAM濃度は，数百ng L^{-1}～数μg L^{-1}と報告されている[1, 20]。しかし，小規模浄化槽では，家族全員が同じ感染症に罹患し，同じ抗菌薬を処方される場合を想定できる。この場合，し尿が雑排水で希釈されても，数mg L^{-1}の濃度で抗菌薬が処理施設に数週間にわたって流入することを想定できる。

こうした考察から，小規模施設で断続的に流入する可能性のある抗菌薬濃度としてLVFX 5 mg L^{-1}，CAM 1 mg L^{-1}（のちに2 mg L^{-1}へ増量）と本研究で定めたことは必ずしも極端な想定とは言い難い。これらの濃度は，すでに述べたように，CLSIの耐性菌の判断基準や*Nitrosomonas*などの既知の種に対する硝化阻害濃度とほぼ同等であることから，本研究において，この濃度で硝化阻害を生じたことは妥当な結果であると考えられる。

活性汚泥を構成する硝化菌は，有機物を分解する従属栄養菌に比較して，群集の多様性が小さいことが，硝化反応が毒物の流入などに敏感で処理の安定を損なう原因としてあげられる[1]。しかし，抗菌薬による混合微生物群集での硝化阻害は，*Nitrosomonas*に対する硝化阻害より軽減されることが示されている[19, 21]。また，CAMと同じマクロライド系のエリスロマイシンでは，汚泥の採取源によって硝化阻害が異なることや[2]，硝化菌をエリスロマイシンに馴養すれば50 mg L^{-1}程度までは影響を軽減できるとの報告[3]もある。また，テトラサイクリンを250 mg L^{-1}と高濃度で添加した場合にも，無添加時の50%の硝化能は維持されており[5]，抗菌薬に強い硝化菌の存在が考えられる。

本研究においても，抗菌薬を添加した場合に，処理水中にアンモニアの残留が見られたものの，270日目以降を除いて硝化率は50%以上を維持しており，完全に硝化が抑制されたのではなかった。硝化が部分的に継続した原因として，前項で考察した汚泥による緩衝効果が考えられるが，抗菌薬に強い硝化菌が活性汚泥群集に含まれていた可能性もある。また，多様な抗菌薬感受性を持つ硝化菌が存在すると仮定すれば，汚泥の採取源によって抗菌薬の硝化抑制への効きが異なること[2]や馴養効果[3]も説明できる。

硝化菌の増殖の場は好気性の環境であり，強く抗菌薬による選択圧がはたらく人の体内で硝化菌が増殖することは考えにくい。そのため，大腸菌などの腸内細菌に比較すると，薬剤耐性の性質を持った硝化菌が自然選択されるチャンスは小さいと予想されるが，プロテオバクテリア共通の耐性遺伝子を何らかのメカニズムで硝化菌が保有している可能性もある。臨床治療に用いる抗菌薬に対して耐性を有する硝化菌が下水処理微生物群集のなかに存在するのか，興味がもたれる。

(3) 二段式膜分離活性汚泥法の有効性

すでに述べたように，極めて低いF/M比運転のリアクターBを付加することにより，生物処理で分解が遅いIBP, FEP, KEP, NPXなど一部の低分子量医薬品については，より完全な処理が期待できる。しかしながら，糖蜜に含まれる着色成分メラノイジンやもともと生物分解性が著しく小さい物質に対する分解性を向上することはできなかった。したがって，一段のままSRTを長くしても同等の効果が得られた可能性もある。一方，抗菌薬による硝化阻害や膜ろ過性低下などの悪影響を二段式MBRによって緩和することも難しいことが本研究では明らかになったが，活性汚泥による抗菌薬の吸着効果を有効に利用することにより，悪影響を二段のうちの前段だけにとどめておき，本実験での143日目のように，抗菌薬の流入が終了した後に，前段の汚泥を廃棄することができれば，処理を維持できる可能性が示された。

二段式MBRをより実用に近い形とするためには，一段目をMBRではなく通常の活性汚泥処理とすることが考えられる。この方法では，一段目を通常の活性汚泥法とし，この部分で硝化阻害や膜ろ過阻害の原因となる抗菌薬濃度の平準化をおこない，その処理水をMBRに導くことで，低分子量医薬品などのゆっくりとしか分解しない成分をMBR部分で高度に除去し，十分な硝化と安定した膜ろ過運転を行うことができる可能性がある。

5. まとめ

膜分離活性汚泥法の反応器を2つ直列に接続し，後段のリアクターを有機物負荷の極めて低い状態で運転することにより，遅分解性の物質をより高度に除去することをねらった二段式膜分離活性汚泥法を開発した。抗菌薬服用者のみの廃水が流入する小規模浄化槽を想定して，MBRリアクターに抗菌薬を流入させた場合の硝化阻害や膜の目詰まりへの影響を調べた。得られた結論は以下のとおりである。

1）糖蜜に由来する難分解性の着色成分は，後段の低負荷リアクターの設置によりさらに除去されることはなかった。一方，一部の低分子量医薬品類は，後段のリアクターによる除去が認められ，2段目の低負荷運転がある程度有効であった。

2）抗菌薬の流入による処理微生物の撹乱の影響を調べたところ，レボフロキサシン5 mg L^{-1}，あるいは，クラリスロマイシン2 mg L^{-1}の添加で40%以上の硝化阻害や毎日の膜面化学洗浄が必要となるほどの膜の目詰まりが見られた。これらの悪影響は，添加開始から数日たって生じ，添加を中止しても悪影響は軽減されなかった。こ

の影響の遅延や継続の原因として，活性汚泥が抗菌薬を吸着することによる緩衝作用が考えられた。

謝　辞

本研究の一部は，浦瀬太郎（代表），基盤研究（C），平成 26 年（2014）～ 28 年（2016），課題番号 26420536 の援助によって行われたことを記して謝意を表する。また，実験には，宮田詩帆，森嶋恵介（いずれも，東京工科大学・応用生物学部）の協力を得た。

（原稿受付　2016 年 8 月 26 日）
（原稿受理　2017 年 1 月 6 日）

参　考　文　献

1）Kümmerer, K., 2009. Antibiotics in the aquatic environment – A review – Part I. Chemosphere 75, 417–434.
2）Louvet, J.N., Giammarino, C., Potier, O., Pons, M.N., 2010. Adverse effects of erythromycin on the structure and chemistry of activated sludge. Environmental Pollution 158, 688–693.
3）Du, J., Qi, W., Niu, Q., Hu, Y., Zhang, Y., Yang, M., Li, Y., 2016. Inhibition and acclimation of nitrifiers exposed to erythromycin. Ecological Engineering 94, 337–343.
4）Katipoglu-Yazan, T., Merlin, C., Pons, M.N., Ubay-Cokgor, E., Orhon, D., 2015. Chronic impact of tetracycline on nitrification kinetics and the activity of enriched nitrifying microbial culture. Water Research 72, 227–238.
5）Campos, J.L., Garrido, J.M., Éndes, R.M., Lema, J.M., 2001. Effect of two broad-spectrum antibiotics on activity and stability of continuous nitrifying system. Applied Biochemistry and Biotechnology 95, 1–10.
6）Huang, X., Feng, Y., Hu, C., Xiao, X., Yu, D., Zou, X., 2016. Mechanistic model for interpreting the toxic effects of sulfonamides on nitrification. Journal of Hazardous Materials 305, 123–129.
7）Joss, A., Zabczynski, S., Alder, A.C., Clara, M., Gobel, A., Hoffmann, B., Kreuzinger, N., Loffler, D., McArdell, C.S., Ternes, T.A., Siegrist, H., 2006. Biological degradation of pharmaceuticals in municipal wastewater treatment: Proposing a classification scheme. Water Research 40, 1686–1696.
8）Okuda, T., Kobayashi, Y., Nagao, R., Yamashita, N., Tanaka, H., Tanaka, S., Fujii, S., Konishi, C., Houwa, I., 2008. Removal efficiency of 66 pharmaceuticals during wastewater treatment process in Japan. Water Science & Technology 57(1), 65–71.
9）Clara, M., Kreuzinger, N., Strenn, B., Gans, O., Kroiss, H., 2005. The solids retention time – A suitable design parameter to evaluate the capacity of wastewater treatment plants to remove micropollutants. Water Research 39, 97–106.
10）Taheran, M., Brar, S.K., Verma, M., Surampalli, R.Y., Zhang, T.C., Valero, J.R., 2016. Membrane processes for removal of pharmaceutically active compounds (PhACs) from water and wastewaters. Science of the Total Environment 547, 60–77.
11）Kimura, K., Hara, H., Watanabe, Y., 2007. Elimination of selected acidic pharmaceuticals from municipal wastewater by an activated sludge system and membrane bioreactors. Environmental Science and Technology 41, 3708–3714.
12）Li, C., Cabassud, C., Reboul, B., Guigui, C., 2015. Effects of pharmaceutical micropollutants on the membrane fouling of a submerged MBR treating municipal wastewater: Case of continuous pollution by carbamazepine. Water Research 69, 183–194.
13）Koutsouba, V., Heberer, Th., Fuhrmann, B., Schmidt-Baumler, K., Tsipi, D., Hiskia, A., 2003. Determination of polar pharmaceuticals in sewage water of Greece by gas chromatography-mass spectrometry. Chemosphere 51, 69–75.
14）Urase, T., Kagawa, C., Kikuta, T., 2005. Factors affecting removal of pharmaceutical substances and estrogens in membrane separation bioreactors. Desalination 178, 107–113.
15）Doorslaer, X., Dewulf, J., Langenhove, H., Demeestere, K., 2014. Fluoroquinolone antibiotics: An emerging class of environmental micropollutants. Science of the Total Environment 500–501, 250–269.
16）八十島誠，小林義和，中田典秀，小森行也，鈴木穣，田中宏明，2005．下水処理場における人用抗生物質の挙動．環境工学研究論文集 42，357–368.
17）CLSI, 2014. Performance standards for antimicrobial disk diffusion susceptibility testing; 24th informational supplement, M100–S24. URL. http://www.clsi.org/（2016 年 8 月時点）.
18）Urase, T., Sato, T., 2016. Quantitative monitoring of resistance in *Escherichia coli* to clinically important antimicrobials in an urban watershed. Journal of Water Environment and Technology 14(5)，341–349.
19）山本崇奈生，太田昇吾，浦瀬太郎，2015．単離硝化細菌および活性汚泥群集の硝化活性に対する抗生物質の影響，第 49 回日本水環境学会年会講演集，p. 63.
20）Yasojima, M., Nakada, N., Komori, K., Suzuki, Y., Tanaka, H., 2006. Occurrence of levofloxacin, clarithromycin and azithromycin in wastewater treatment plant in Japan. Water Science & Technology 53(11)，227–233.
21）Halling-Sùrensen, B., 2001. Inhibition of aerobic growth and nitrification of bacteria in sewage sludge by antibacterial agents. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 40, 451–460.

［論　文　要　旨］

生物処理機能に悪影響を与えるほど高濃度で廃水中に医薬品が含まれることは稀であるが，抗菌薬服用者のし尿のみを処理する小規模浄化槽では生物処理機能への影響が生じる可能性がある。本研究では，分解の遅い医薬品成分までをゆっくりと分解することを目指した二段式膜分離活性汚泥法において，わが国でも使用量の多い抗菌医薬品であるレボフロキサシン（LVFX）およびクラリスロマイシン（CAM）が流入した場合の生物処理機能への影響を調べた。LVFX 5 mg L^{-1} の添加，あるいは，CAM 2 mg L^{-1} の添加により，40 %以上硝化が抑制され，また，毎日の膜洗浄が必要なほどの膜目詰まりが生じた。また，こうした悪影響は，抗菌薬の添加開始より遅延して生じ，添加を中止しても回復しなかった。この原因として，活性汚泥による抗菌薬の吸着緩衝作用が重要であることが示唆された。

キーワード：抗菌薬；膜分離活性汚泥法；硝化阻害；レボフロキサシン；目詰まり