

知識物件上傳表

計畫名稱：新及再生能源前瞻技術掃描評估及研發推動計畫-複合微生物基質預處理

技術提升沼氣生產效率創新前瞻計畫

上傳主題：簡介禽畜糞便中抗生素對沼氣發酵之影響

提報機構：財團法人食品工業發展研究所

提報時間：108年6月12日

與計畫相關	<input checked="" type="checkbox"/> 1. 是 <input type="checkbox"/> 2. 否
國別	<input type="checkbox"/> 1. 國內 <input checked="" type="checkbox"/> 2. 國外
能源業務	<input type="checkbox"/> 1. 能源政策(包含政策工具及碳交易、碳稅等) <input type="checkbox"/> 2. 石油及瓦斯 <input type="checkbox"/> 3. 電力及煤碳(包含電力供應、輸配、煤炭、核能等) <input checked="" type="checkbox"/> 4. 新及再生能源 <input type="checkbox"/> 5. 節約能源(包含工業、住商、運輸等部門) <input type="checkbox"/> 6. 其他
能源領域	<input type="checkbox"/> 1. 能源總體政策與法規 <input type="checkbox"/> 2. 能源安全 <input type="checkbox"/> 3. 能源供需 <input type="checkbox"/> 4. 能源環境 <input type="checkbox"/> 5. 能源價格 <input type="checkbox"/> 6. 能源經濟 <input type="checkbox"/> 7. 能源科技 <input checked="" type="checkbox"/> 8. 能源產業 <input type="checkbox"/> 9. 能源措施 <input type="checkbox"/> 10. 能源推廣 <input type="checkbox"/> 11. 能源統計 <input type="checkbox"/> 12. 國際合作
決策知識類別	<input type="checkbox"/> 1. 建言(策略、政策、措施、法規) <input type="checkbox"/> 2. 評析(先進技術或方法、策略、政策、措施、法規) <input checked="" type="checkbox"/> 3. 標竿及統計數據：技術或方法、產業、市場等趨勢分析 <input type="checkbox"/> 4. 其他：
重點摘述	<p>據估計全球動物糞便每年釋放至大氣中約有3億噸二氧化碳，800萬噸甲烷和200萬噸氮氣，若將禽畜產業所產生的禽畜糞便進行厭氧發酵，以生產的潔淨沼氣能源是一種可再生以替代傳統能源的方法。畜禽糞便經由微生物在缺氧的狀態下分解形成沼氣，主要成分由甲烷(CH₄)和二氧化碳(CO₂)組成。畜禽糞便在厭氧發酵過程中，會影響沼氣產氣效率的因素如原料比例、溫度、pH等已被眾多學者關注與研究。近期畜禽糞便中所含的「抗生素」在產沼氣的發酵過程會抑制微生物，導致甲烷產量減少，成為降低沼氣厭氧發酵效率的重要因素。</p>
詳細說明	<p>簡介禽畜糞便中抗生素對沼氣發酵之影響</p> <p>前言</p> <p>據估計全球動物糞便每年釋放至大氣中約有3億噸二氧化碳，800萬噸甲烷和200萬噸氮氣，若將禽畜產業所產生的禽畜糞便進行厭氧發酵，以生產的潔淨沼氣能源是一種可再生以替代傳統能源的方法。畜禽糞便經由微生物在缺氧的狀態下分解形成沼氣，主要成分由甲烷(CH₄)和二氧化碳(CO₂)組成。畜禽糞便在厭氧發酵過程中，會影響沼氣產氣效率的因素如原料比例、溫度、pH等已被眾多學者關注與研究。近期畜禽糞便中所含的「抗生素」在產沼氣的發酵過程會抑制微生物，導致甲烷產量減少，成為降低沼氣厭氧發酵效率的重要因素。</p> <p>禽畜產業用常用抗生素</p> <p>抗生素在禽畜產業中廣泛的使用，主要功能為治療疾病和預防動物感染，於禽畜飼養上另外還可當成生長促進劑，添加到健康動物的飼料中餵食，雖經由消化代謝卻仍大量存在於糞便中。常用於禽畜飼養的各類抗生素包含阿莫西林、青黴素、磺胺嘧啶、磺胺二甲嘧啶、泰樂菌素、紅黴素、林可黴素、氟哌酸、</p>

環丙沙星和喹啉四環素等，其中氟喹諾酮類(fluoroquinolones)與磺胺類(sulfonamides)藥物僅用於動物疾病的治療，其他抗生素則廣泛應用於促進食物的利用與吸收被當作是生長促進劑，抗生素在畜禽腸道中吸收效率很低僅有極少部分經過代謝途徑變成無活性產物，其中大約50%-80%的抗生素以原型或代謝形式隨著動物的尿液和糞便排出體外。另外用於動物的某些類別抗生素也屬於人體治療用抗生素（例如四環素、青黴素、磺胺嘧啶、諾氟沙星及環丙沙星）為人與禽畜通用藥物，因此延伸出抗藥性也是另一潛在問題。從不同禽畜糞便樣品中可檢測到的各種抗生素的濃度(表一)，從中可知在糞便樣品中經常檢測到的抗生素種類為金黴素、土黴素、磺胺二甲嘧啶、磺胺嘧啶和泰樂菌素。而 β -內醯胺類(β -Lactams)的阿莫西林和青黴素在環境中通常不會發現，原因是 β -內醯胺類的分子結構中因含有 β -內醯胺環，此結構在環境中是不穩定的，可經由化學水解或由存在細菌中的 β -內醯胺酶(β -lactamase)來破壞(Yang *et al.*,2018)。

抗生素會抑制沼氣厭氧發酵

不同的發酵階段主要作用的微生物也有所不同。在沼氣厭氧發酵過程其系統穩定性取決於各種微生物群之間相互的協同作用，與微生物群之間的微妙平衡，主要參與菌群為產乙酸菌和產甲烷菌。發酵過程先由細菌發酵產生酸性物質，再經由甲烷菌作用產生甲烷，其中若有抑制物質可能造成厭氧發酵過程失敗，導致甲烷生產量下降。Mustapha 等學者(2016)研究氯黴素對厭氧發酵過程中不同階段微生物群和功能變化的影響，確認氯黴素對水解產酸和產乙酸作用階段幾乎沒有影響，但在氯黴素存在下測得生產甲烷的活性較低。抗生素抑制厭氧發酵過程的效應，通常會造成甲烷生產效率的降低與揮發性脂肪酸含量升高。Beneragama 等人(2013)研究結果以土黴素30-90 mg/ L 存在下進行厭氧發酵反應，最後甲烷產量下降20.9% -31.4%，而揮發性脂肪酸總量增加。另外不同抗生素藥物具有潛在的協同作用，若在厭氧發酵系統中存在一種以上抗生素，可能造成甲烷生產的嚴重抑制。Álvarez 等人(2010)研究了土黴素和金黴素在豬糞厭氧發酵中的共同作用，得知在20 mg/ L 混合土黴素和金黴素抗生素存下，甲烷產量顯著下降了56%。另外莫能菌素(monensin)是美國牛使用最廣泛球蟲抑制劑，使用1 mg / L 與 10 mg / L 莫能菌素的牛糞便經厭氧發酵後，含1 mg / L 濃度的莫能菌素不影響甲烷的生產量，而以10 mg / L 濃度的莫能菌素進行厭氧發酵，甲烷的生產量比不添加莫能菌素的甲烷沼氣少75% (Arikan O.A. *et al.*,2018)。另外學者將金黴素以不同的添加方式進行測試，包括:(1)經體內代謝法（厭氧發酵系統中加入經飼料餵食金黴素後所獲得含金黴素的豬糞）和(2)直接添加法（厭氧

發酵系統中加入空白豬糞加金黴素)。兩種金黴素加入濃度為310.54 mg/kg 乾豬糞 (高濃度) 和160.05 mg/kg 乾豬糞 (低濃度), 厭氧發酵後產甲烷量分別降低了5.22%、4.40%。加入310.54 mg/kg 的金黴素會導致厭氧消化系統中金黴素大量累積, 抑制系統中古細菌和嗜乙酸甲烷菌等的活性, 使系統中揮發性脂肪酸累積導致 pH 下降。而直接添加組中沼液 pH 顯著低於經體內代謝組, pH 下降抑制加藥期內厭氧消化系統的產甲烷量 (曹俊超等, 2019)。Bauer 等人(2014)在連續發酵試驗中加入高達200mg /kg 乾豬糞的抗生素濃度, 結果顯示恩諾沙星對沼氣生產產生抑制影響, 導致甲烷產量降低44%。由以上得知抗生素在厭氧發酵系統的反應複雜度高, 即使是同一種抗生素在不同的系統中所呈現的結果不同。另外對於厭氧發酵過程的複雜, 尚須考慮到微生物密度、物質濃度、基質的特異性與微生物的馴化等因素和操作條件 (pH、固體含量、溫度及反應器類型等), 因此抗生素抑制沼氣生產的強度將因個案而異。

厭氧發酵過程抗生素對微生物群落的影響

厭氧發酵的反應過程先由細菌進行水解、產酸和產乙酸, 再由甲烷菌以揮發性脂肪酸, 二氧化碳與氫為基質進行最後階段轉化產生甲烷等三個階段。其中研究得知細菌和甲烷菌群落都會受到抗生素的抑制影響; 另外產甲烷菌 (Methanogen)、產乙酸菌 (Authentic Acetogens)、產甲烷古生菌 (Methanogenic Archae) 及乙酸營養型產甲烷菌 (Acetoclastic Methanogen) 等四種類型的厭氧微生物中以產甲烷菌對環境毒物的耐受性最低, 因為此類微生物生長速度慢, 最有可能被抗生素抑制 (Sevcan *et al.*, 2015)。Turker 等 (2016) 學者的研究, 牛隻以土黴素用藥後的牛糞, 在厭氧發酵過程中出現了細菌群多樣性減少的暫時變化, 某些細菌群經短期適應後即恢復菌群量, 可知某些細菌群對土黴素和代謝物具有耐受性。相關研究指出抗生素對產甲烷菌的抑制影響比對細菌群落的抑制影響更為明顯。根據 Bauer 等人 (2014) 的研究, 金黴素 (8000 mg/ kg 乾豬糞便) 的存在並未顯著影響發酵細菌的 16S rRNA 基因拷貝數, 但顯著降低了產甲烷菌 16S rRNA 基因的拷貝數 50% 以上。另外乙酸是沼氣厭氧發酵過程中重要的中間代謝產物, 可經由 2 種主要途徑作用進一步轉化成甲烷, 第一個途徑是利用乙酸的乙酸營養型產甲烷菌例如: 甲烷鬃毛菌屬 (*Methanosaeta*) 和甲烷八迭球菌屬 (*Methanosarcina*) 可直接作用, 將乙酸轉化成甲烷。第二個途徑由氫營養型產甲烷菌 (hydrogenotrophic methanogens) 與互營醋酸氧化 (syntrophic acetate-oxidizing, SAO) 細菌 (例如: *Clostridium ultunense*、*Syntrophaceticus schinkii*、*Tepidanaerobacter acetatoxydans*、*Thermacetogenium phaeum* 及 *Thermotoga lettingae* 等) 的協同作用, 將 H₂ 和 CO₂ 轉化為甲烷 (麻婷婷等, 2015)。Aydin 等

(2015)以定量 PCR 測試紅黴素、四環素和磺胺甲惡唑對產甲烷菌的影響，將氫營養型產甲烷菌與乙酸營養型產甲烷菌相比，氫營養型產甲烷菌在高濃度抗生素壓力下，比其他菌群具有更高的基質利用效率、生長速率和細胞產量，確定氫營養型產甲烷菌是高濃度抗生素壓力下產生甲烷的關鍵微生物。由以上研究得知，在厭氧發酵生產甲烷過程應強化氫營養型產甲烷菌與互營醋酸氧化細菌的作用途徑，以對應抗生素的抑制作用。另外，高濃度的抗生素也可能導致氫營養型甲醇桿菌(*Hydrogenotrophic methanobacteriales*)的減少，可能是由於與產甲烷菌協同作用的一些細菌物種（例如互營醋酸氧化細菌）的被抑制，而不是對氫營養型產甲烷菌的直接影響(Yang *et al.*,2018)。

抗生素厭氧發酵過程的降解

評估動物糞便厭氧發酵期間抗生素的生物降解的效果，對於禽畜糞便的沼氣技術開發中，用來控制抗生素造成抗性基因擴散的現象，是不可少的實驗數據。禽畜糞便中的抗生素經由厭氧發酵反應可顯著降低其含量，其降解效率與抗生素的理化性質（如疏水性、溶解性、分子結構大小、形狀和形態），及糞肥類型有密切相關，不同類型的糞肥介質對抗生素的不同吸附能力，也可能影響抗生素在厭氧發酵期間的降解。王霜等人(2016)研究得知不同抗生素在豬糞的厭氧發酵過程中的去除程度差異大，其中四環素類較好去除，磺胺類次之，喹諾酮類和大環內酯(macrolides)較難去除。其中研究發現四環素在豬糞厭氧發酵中的半衰期為9天。測試用於治療豬隻呼吸疾病的抗生素頭孢噻呋(ceftiofur)、達氟沙星(danofloxain)、奇黴素(spectinomycin)和潔黴素(lincomycinum)等，在豬糞厭氧發酵過程中的去除率效率以頭孢噻呋最好，去除率在70%左右，而剩下的抗生素基本較難去除，去除率在30%左右。另外以金黴素與土黴素相比，金黴素在厭氧發酵反應21天後其含量較低具有較高的降解效率。兩者差異原因是土黴素吸附在有機顆粒上的能力更強，並且與動物糞便中豐富的二價陽離子形成複合物造成降解效率較低(Yang *et al.*,2018)。針對厭氧發酵中磺胺類抗生素的降解，以磺胺嘧啶、磺胺二甲嘧啶和磺胺氣噻嗪進行測試，於37°C 中溫厭氧發酵可大幅降低豬糞中的含量，去除率為 72.8%-98.6%，其中處理系統和反應條件是影響磺胺類抗生素厭氧發酵降解的關鍵因素（靳紅梅等，2017）。

降低抗生素抑制作用的策略

討論禽畜糞便厭氧發酵期間，如何降低抗生素的抑制影響進行調控，以促進沼氣生產量。

1. 增強微生物活性

當抗生素對厭氧微生物具有不同程度的抑制性時，進行微生物馴化是一個重要

的操作策略。參與系統反應的微生物群落可利用逐步適應與長時間的狀態停留以提高對抗生素的適應性。進行優化操作概括為(1)以基因突變方法增進對抗生素的耐受性，(2)增加可代謝抗生素不受藥理作用影響的菌種，(3)生產可降解抗生素的酵素。Massé 等人(2000)觀察到一個緩慢的恢復過程，在含有四環素的豬糞厭氧發酵反應過程，被抑制的微生物菌相經過28天後又回到初始微生物菌相狀態，表示微生物群落已可耐受此反應系統。Loftin 等人(2010)從長期含有抗生素的糞池中所採集微生物進行厭氧發酵發現，具有較低的甲烷抑制現象，得知長期存在含有抗生素糞池的微生物對抗生素的適應性較高(Yuan *et al.*,2018)

2. 強化操作條件有利於降低抗生素對甲烷生成的抑制

例如提高厭氧發酵的溫度而加速生化反應，因此提高抗生素的降解率；另外適當的混合速率可以促進氫營養型產甲烷的代謝途徑，從而改善抗生素的降解。Carballa 等研(2007)究了溫度對含有羅紅黴素(roxithromycin)和磺胺甲惡唑(sulfamethoxazole)的污泥與其他藥物的厭氧發酵的影響，他們觀察到在55°C 反應器的沼氣產量高於37°C 反應器的沼氣產量。另外以兩階段厭氧發酵反應，進行含有抗生素的動物糞便處理，將產酸階段和產甲烷階段獨立分開發現可增加抗生素的去除率，並減輕抗生素對甲烷產生的抑制。Akyol 等(2016)分析兩階段厭氧發酵反應的產酸反應器中的細菌多樣性，與產甲烷反應器中的甲烷菌多樣性，發現比單一厭氧發酵反應器中的菌相還高。另外添加木質纖維素材料來平衡碳氮比也提供了抵消抗生素抑制的方法之一，Song 等(2017)將豬糞與小麥秸稈比例調為為7：3進行沼氣生產有效抵消抗生素抑制(Yuan *et al.*,2018)。

3. 物理化學預處理方法

利用水解、生物降解、加熱和氧化反應等機制等，可從濃縮溶液中去除抗生素。Yi 等人(2016)開發了增強水解方法，預處理含有四環素的廢水，在85°C 和 pH 9條件下水解6小時後，超過80.3%的四環素失活，並且在隨後的厭氧發酵過程中未觀察到反應過程受抑制。Wallace 等(2018)人採用巴氏滅菌技術(pasteurization technologies)來加速有機肥的水解和抗生素的降解，還可同時保護產甲烷菌。Qiang 等人(2006)研究了氯化物處理豬廢水中抗生素，成功提高抗生素的去除效率。然而應進一步評估氯化物殘留對產甲烷作用的不利影響。另外臭氧化(Ozonation)和芬頓反應(Fenton oxidation)都是降解抗生素的簡單而有效的技術。這些氧化方法的主要缺點是高化學消耗，以及產生消毒副產物帶來的潛在的危險(Yuan *et al.*,2018)。

結論

抗生素大量用於獸醫用途已是近代畜養工業重要的一環，因此抗生素也影響禽

畜糞便的沼氣生產程式，目前對於抗生素影響甲烷菌的生物化學、形態學、多樣性和生理學的相關研究多數是屬於描述性的，以及針對少數模型物種所進行的研究。未來需要在分子層次上進一步探討研究，以瞭解禽畜糞便厭氧發酵時抗生素與厭氧發酵微生物以及其他共存抑制劑或中間體如氨、硫化物、重金屬和揮發性脂肪酸的微生物群體和代謝途徑的動態變化。以利進一步努力開發厭氧發酵過程的監測和控制的新技術，減少當這些糞便作為有機肥施用到土壤中後抗生素也進入土壤環境中，加重土壤環境的污染負荷，進而危害人類健康。

參考文獻

- 麻婷婷、承磊、劉來雁、代莉蓉、周正、張輝。2015。不同抑制劑對乙酸降解產甲烷及產甲烷菌群結構的影響。微生物學報 55(5): 587-597。
- 靳紅梅、許彩雲、黃紅英。2017。豬糞中溫厭氧消化中磺胺類抗生素的降解和吸附特徵。農業環境科學學報 36(9): 1884-1892。
- 曹俊超、王小慶、馬保華。2019。不同加入方式下金黴素對豬場污水厭氧消化系統的影響。農業環境科學學報 38(3): 680-687。
- 王霜、鄧良偉、王蘭、楊紅男、王伸、徐則。2016。豬場糞汙中重金屬和抗生素的研究現狀。中國沼氣4:25-33。
- Aydin, S., Ince, B. and Ince O. 2015. Application of real-time PCR to determination of combined effect of antibiotics on bacteria, methanogenic archaea, archaea in anaerobic sequencing batch reactors. *Water Res.* 76:88-98.
- Arikan, O.A., Mulbry, W., Rice, C. and Lansing, S. 2018. The fate and effect of monensin during anaerobic digestion of dairy manure under mesophilic conditions. *PLoS One.* 13(2):PMC5805258.
- Alvarez, J.A., Otero, L., Lema, J.M. and Omil, F. 2010. The effect and fate of antibiotics during the anaerobic digestion of pig manure. *Bioresour Technol.* 101(22):8581-6.
- Akyol, Ç., Aydin, S., Ince, O., Ince, B. 2016. A comprehensive microbial insight into single-stage and two-stage anaerobic digestion of oxytetracycline-medicated cattle manure. *Chemical Engineering Journal*, 303, 675-684
- Beneragama, N., Lateef, S.A., Iwasaki, M., Yamashiro, T. and Umetsu, K. 2013. The combined effect of cefazolin and oxytetracycline on biogas production from thermophilic anaerobic digestion of dairy manure. *Bioresour Technol.* 133:23-30.
- Bauer, A., Lizasoain, J., Nettmann, E., Bergmann, I. and Mundt, K. 2014. Effects of the antibiotics chlortetracycline and enrofloxacin on the anaerobic digestion in continuous experiments. *Bioenergy Research.* 7:1244-1252.
- Carballa, M., Omil, F., Ternes, T., Lema, J. M. 2007. Fate of pharmaceutical and personal care products (PPCPs) during anaerobic digestion of sewage sludge. *Water Research* 41, 2139-2150
- Loftin, K. A., Henny, C., Adams, C. D., Rao, S., Mormile, M. R. 2010. Inhibition of microbial metabolism in anaerobic lagoons by selected sulfonamides, tetracyclines, lincomycin, and tylosin tartrate toxicol. *Environmental Toxicology and Chemistry.* 38, 782-788
- Mustapha, N.A., Sakai, K., Shirai, Y. and Maeda. 2016. Impact of different antibiotics on methane production using waste-activated sludge: mechanisms and microbial community dynamics. *Appl Microbiol Biotechnol.* 100(21):9355-9364.
- Massé, D. I., Masse, D., Lu, L., Droste, R. L. 2000. Effect of antibiotics on

psychrophilic anaerobic digestion of swine manure slurry in sequencing batch reactors. *Bioresource Technology*, 75, 205-211.

Sevcan, A. Bahar, I. and Orhan, I. 2015. Application of real-time PCR to determination of combined effect of antibiotics on bacteria, methanogenic archaea, archaea in anaerobic sequencing batch reactors. *Water Research* 76: 88-98.

Song, W., Wang, X., Gu, J., Zhang, S., Yin, Y., Li, Y., Qian, X., Sun, W. 2017 Effects of different swine manure to wheat straw ratios on antibiotic resistance genes and the microbial community structure during anaerobic digestion *Bioresource Technology*, 231, 1-8

Turker, G., Aydin, S., Akyol, Ç., Yenigun, O., Ince, O. and Ince, B. 2016. Changes in microbial community structures due to varying operational conditions in the anaerobic digestion of oxytetracycline-medicated cow manure. *Appl Microbiol Biotechnol.* 100(14):6469-79.

Qiang, Z., Macauley, J. J., Mormile, M. R., Surampalli, R. C., Adams, D. 2006, Treatment of antibiotics and antibiotic resistant bacteria in swine wastewater with free chlorine. *J. Agric. Food Chem.* 54, 8144.

Wallace JS, Garner E, Pruden A, Aga DS. 2018. Occurrence and transformation of veterinary antibiotics and antibiotic resistance genes in dairy manure treated by advanced anaerobic digestion and conventional treatment methods. *Environmental Pollution* 236, 764-772

Yang, Y., Huang, W. and Huang, W. 2018. Antibiotic Inhibition on anaerobic digestion of animal manure and controlling strategies: A Short Review. *Clean – Soil, Air, Water.* 47, 1700653.

Yin F, Dong H, Ji C, Tao X, Chen Y. 2016. Effects of anaerobic digestion on chlortetracycline and oxytetracycline degradation efficiency for swine manure. *Waste Management* 56, 540-546

表一、不同禽畜糞便樣品中的抗生素濃度

抗生素	來源	國家	濃度 mg /kg
金黴素(chlortetracycline)	豬糞	中國	764
土黴素(oxytetracycline)			193
磺胺二甲嘧啶(sulfamethazine)			29
強力黴素(doxycycline)	豬/牛/雞糞	中國	73
環丙沙星(ciprofloxacin)			1
氧氟沙星(ofloxacin)			2
恩諾沙星(enrofloxacin)			4
金黴素(chlortetracycline)	豬糞	奧地利	46
土黴素(oxytetracycline)			29
四環素(tetracycline)			23
磺胺嘧啶(sulfadiazine)	家禽糞便		51-91
甲氧苄啶(trimethoprim)			17
金黴素(chlortetracycline)	豬糞	丹麥	1-16
磺胺嘧啶(sulfadiazine)			1-2
泰樂菌素(tylosin)	牛糞	義大利	116
土黴素(oxytetracycline)			872
磺胺嘧啶(sulfadiazine)	豬糞	德國	235
磺胺二甲嘧啶(sulfamethazine)			167

Yang et al.,2018

- 註：1. 請計畫執行單位上傳提供較具策略性的知識物件，不限計畫執行有關內容。
 2. 請計畫執行單位每季更新與上傳一次，另有新增政策建議可隨時上傳。
 3. 文字精要具體 文字精要具體 文字精要具體 文字精要具體，量化數據盡量輔以圖表說明