

Ni, Co の添加停止による高温無加水メタン発酵槽内の細菌群集への影響

長岡技術科学大学大学院 (学) ○上村 基成 賀澤 拓也 (正) 川上 周司
(正) 高橋 優信 (正) 山口 隆司
大成建設 (正) 帆秋 利洋

1. はじめに

資源としての食品廃棄物の有効利用法は飼料化や肥料化が主要であるが、近年ではエネルギー回収の観点からメタン化が注目を浴びている。一般的なメタン発酵は希釈水を用いて行われるが、その一方で大量の発酵済残渣が発生する。対して、希釈水を用いない無加水式メタン発酵では大幅な発酵済残渣の低減が可能である。しかし、無加水式はアンモニアの高濃度蓄積をはじめとしたメタン発酵への阻害により、処理性能が不安定になりやすい。そこで、我々はアンモニア除去塔を設置して、バイオガス内のアンモニア除去を可能にした高温無加水メタン発酵槽を用いて、生ゴミの高速メタン発酵処理技術の開発を進めている¹⁾。安定したメタン発酵を維持するために微量金属として Ni, Co 成分を槽内に添加していたが、添加の停止を行ったところ VFA の蓄積など処理性能の悪化が確認された。これは槽内で優占的に処理を担う細菌群の生育に Ni, Co が大きく関与しているためと考えられる。本研究は、16S rRNA 遺伝子に基づいた細菌群集の解析を行い、Ni, Co の添加停止による高温無加水メタン発酵槽内で生ゴミの分解を担う細菌群への影響を調査した。

2. 実験方法

本研究で対象とした高温無加水メタン発酵槽¹⁾はバイオガス攪拌による完全混合型のメタン発酵槽を用い、有効容量を 7.5L とした(図 1)。基質として本学食堂から排出された食品廃棄物をミキサーでペースト状にしたものを一日一回の頻度で投入し、槽内温度を 55℃に設定して運転を行った。微量金属として、槽内濃度で FeCl₂ を 1,000 mg/L, NiCl₂ と CoCl₂ をそれぞれ 100 mg/L になるように基質と一緒に添加した。NiCl₂ と CoCl₂ の添加については、運転開始から 171 日目から 195 日目の期間と 200 日目から 248 日目の期間で中止した。運転条件は SRT を 75 日に設定して実験を開始し、50 日目から 37.5 日、126 日目から 30 日、291 日目から 25 日と段階的に短縮した。細菌群集の解析は 125 日目と 248 日目の汚泥について行った。採取した汚泥からの DNA 抽出および精製には ISOIL Beads Beating (NIPPON GENE)と GENE CLEAN kit Turbo (Q・BIO)を用いた。PCR 増幅には Bacteria の 16S rRNA 遺伝子を標的としたプライマーペア (8F-UNIV1500rm) と Archaea の 16S rRNA 遺伝子を標的としたプライマーペア (Arc109F-UNIV1500rm) を用いた。PCR 産物からのクローンライブラリーの作製には TOPO TA Cloning kit (Invitrogen) を用い、UNIV907R プライマーにより無作為選択したクローンの塩基配列の一部を決定した。得られたクローンの塩基配列は Ribosomal Database Project の Classifier を用いて近縁種の特定制および分類を行った。

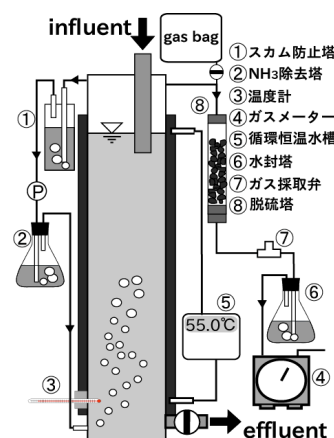


図 1 メタン発酵槽の概略図

表 1 に運転開始 125 日目と 248 日目の高温無加水メタン発酵槽の諸性能を示した。125 日目では VFA の蓄積が見られず (167 mg/L), 高いバイオガス生成量を達成した (150 Nm³/t-sub.)。しかし、NiCl₂ と CoCl₂ の添

3. 実験結果および考察

キーワード 高温メタン発酵, 無加水法, 固形廃棄物, 細菌群集解析

連絡先 〒940-2188 新潟県長岡市上富岡町 1603-1 長岡技術科学大学 環境建設系 水圏土壌環境制御工学研究室
E-mail : kamimura@stn.nagaokaut.ac.jp

加を約 50 日間停止した 248 日目では 125 日目に比べて VFA 濃度が著しく上昇し (10,133 mg/L), その中でも特にプロピオン酸が蓄積した (図 2). それに伴い, COD 除去率 (58.1%) やバイオガス生成量が低下し (126 Nm³/t-sub.) 処理性能が悪化した.

表 2 に, 運転開始 125 日目と 248 日目における出現クローン数の増減が大きい細菌種を示した. *Bacteria* では *Coprothermobacter* 属に近縁なクローンが 125 日目では全 96 クローン中 24 クローンであったのに対し, 248 日目では 2 クローンまで減少した. *Coprothermobacter* 属はタンパク質や糖をアンモニアや酢酸, 水素などに分解する好熱性の酸生成細菌である. 同様に, 高級脂肪酸を分解する *Syntrophomonadaceae* 科に近縁なクローン数も 7 クローンから 0 クローンに減少した. その一方で, 酢酸生成水素生成細菌の *Acetivibrio* 属やプロピオン酸生成酢酸生成細菌の *Porphyromonadaceae* 科に近縁なクローンはそれぞれ 2 クローンから 10 クローン, 1 クローンから 14 クローンに増加した. これらのことから, 125 日目では *Coprothermobacter* 属や *Syntrophomonadaceae* 科に近縁な細菌が槽内でタンパク質分解や糖分解, 高級脂肪酸分解を優占的に担っていたが, NiCl₂ と CoCl₂ の添加停止の影響を受けて, 分解を担う細菌群が *Acetivibrio* 属や *Porphyromonadaceae* 科に近縁な細菌へと遷移したと考えられる. つまり, Ni, Co の有無はプロピオン酸生成細菌に大きな影響を与えており, その結果, プロピオン酸の蓄積が生じたと示唆される.

Archaea では, 125 日目において水素資化性メタン生成古細菌である *Methanoculleus* 属に近縁なクローンが全 27 クローン中の全てを占めていた. しかし, 248 日目では *Methanoculleus* 属に近縁なクローンが 11 クローンに減少し, 水素資化性メタン生成古細菌の *Methanobacteriaceae* 科に近縁なクローンが 4 クローンと酢酸資化性メタン生成古細菌の *Methanosarcina* 属に近縁なクローンが 3 クローン出現した. これらのことから, NiCl₂ と CoCl₂ の添加停止はメタン生成古細菌の中でも特に *Methanoculleus* 属に近縁な古細菌に影響を与えたことが示唆され, 古細菌の群集構造に変化を生じさせたと考えられる.

4. まとめ

食品廃棄物を処理する高温無加水メタン発酵槽内では, NiCl₂ と CoCl₂ の添加停止による影響を受け, *Bacteria* と *Archaea* とともに優占種の変遷が生じた. 本槽内の安定したメタン発酵は主に *Coprothermobacter* 属や *Syntrophomonadaceae* 科の細菌, *Methanoculleus* 属の古細菌の存在が鍵となっておりと示唆された.

参考文献

- 1) 賀澤拓也ら(2009), 無加水高温メタン発酵による生ごみ処理の安定化, 第 64 回全国土木学会学術講演会講演集, CD-R(VII-035)

表 1 運転開始 125 日目と 248 日目の諸性能

	125日目	248日目
OLR (kgCOD/m ³ /day)	7.63	9.57
pH	7.69	7.59
COD除去率 (%)	66.5	58.1
TS分解率 (%)	74.4	65.0
VS分解率 (%)	76.3	69.1
全VFA濃度 (mgCOD/kg-w.w.)	167	10,133
NH ₄ ⁺ -N濃度 (mg/L)	1,937	2,771
バイオガス生成量 (Nm ³ /t-sub.)	150	126

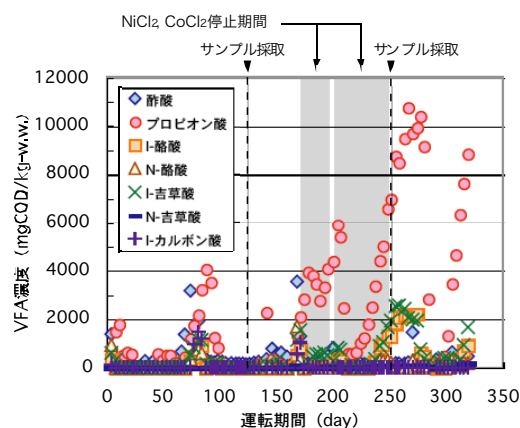


図 2 VFA 濃度の変化

表 2 クローニングによる細菌群集解析の結果

分類	125日目	248日目
<i>Bacteria</i>		
<i>Firmicutes</i>		
<i>Coprothermobacter</i> sp.	24	2
<i>Acetivibrio</i> sp.	2	10
<i>Syntrophomonadaceae</i>	7	0
Other <i>Firmicutes</i>	30	50
<i>Bacteroidetes</i>		
<i>Porphyromonadaceae</i>	1	14
Other <i>Bacteria</i>	32	20
全クローン数	96	96
<i>Archaea</i>		
<i>Methanoculleus</i> sp.	27	11
<i>Methanosarcina</i> sp.	0	3
<i>Methanobacteriaceae</i>	0	4
Other <i>Archaea</i>	0	2
全クローン数	27	20