

種間電子伝達促進材料を含有した微生物保持担体の添加による メタン発酵の促進と微生物群集の解析

長岡技大・院 学生会員 ○根津 拓福
正会員 幡本 将史, 渡利 高大, 山口 隆司

1. はじめに

嫌気性処理では、有機物分解の中間代謝物として生成するプロピオン酸などの揮発性脂肪酸(VFA)の分解が安定した処理の要となる。また、このVFAの分解を担う微生物はメタン生成古細菌との共生関係が必要であり嫌気共生細菌と呼ばれている。よって、この脂肪酸分解嫌気共生細菌とメタン生成古細菌と一緒に効率的に処理槽内に保持する事が安定した処理に重要となる。近年、嫌気性処理では処理槽内に導電性微粒子を加えることで直接的種間電子伝達によりVFA分解を促進しメタン生成を高めることが出来ると報告されている^{1), 2), 3)}。

ポリビニルアルコール(PVA)ゲルビーズは、安価で微生物に対する毒性がないため、微生物固定化用材料として広く用いられている。我々の研究グループでは、このPVAゲルビーズと導電性材料を組み合わせた導電性材料含有PVAゲルビーズを使用することで脂肪酸分解嫌気共生細菌とメタン生成古細菌を処理層内に効率良く保持し、良好な嫌気処理が行えると考えた。

本研究では導電性材料を含有したPVAゲルビーズに含まれる導電性材料の種類と添加量の影響の調査を行った。

2. 実験方法

2.1 PVAゲルビーズの調整

アルギン酸ナトリウム(0.5%(w/v))とPVA(10%(w/v))を純水に添加し、85°Cに加熱して完全に溶解させた(溶液①)。次に0.5%(w/v)の塩化カルシウムを含む6%(w/v)ホウ酸水溶液に溶液①を滴下し一晩攪拌を行い、PVAゲルビーズを作製した。その後、PVAゲルビーズを14%(w/v)硫酸ナトリウム水溶液に投入し、一晩攪拌を行いビーズの強度を高めた。導電性材料含有PVAゲルビーズは導電性材料を溶液①に添加した。

2.2 メタン発酵バッチ実験

750 mLのバイアル瓶に2倍濃度のwiddel培地と長岡中央浄化センターから採取した中温消化汚泥をそれぞれ150 mLずつ加え、PVAゲルビーズを10 ml入れた。その後、プロピオン酸を終濃度353 mg-COD/vial(1086 mg-COD/L)で加え、36°C, 76 rpmで震盪を行なった。添加したプロピオン酸がほぼ消費された後、バイアル瓶の気相部を窒素ガスでパージし、上述と同量のプロピオン酸を加え培養を継続した。本実験ではPVAゲルビーズに含まれる導電性材料(CM)としてマグネタイト(MT)、活性炭(AC)、緑色凝灰岩(GT)の粉末を用いて、導電性材料の含有割合を0%(CM_0%)と5%と10%(MT_5%, MT_10%, AC_5%, AC_10%, GT_5%, GT_10%)で行った。

2.3 ガス分析

生成したバイオガスの分析には、TCD検出器を備えたガスクロマトグラフ(GC-8A, Shimadzu)を使用した。

2.4 遺伝子解析

汚泥とPVAゲルビーズに保持された汚泥の菌叢を16S rRNA遺伝子を対象としたプライマーセット515F/806Rを用いた遺伝子解析を行なった。シーケンスはiSeq 100(illumina)で実施し、得られた遺伝子配列はQiime2を用いて解析を行った。

3. 実験結果および考察

3.1 メタン発酵バッチ実験

表-1にメタン発酵バッチ実験のメタン生成が確認されるまでの時間(ラグタイム)と最大メタン生成速度を示す。1回目のプロピオン酸添加後、導電性材料が含有されていない実験系ではメタン生成が7日目から始まっているのに対し、導電性材料が含有されている実験系ではメタン生成が4日目から確認された。また、最大メタン生成速度は導

キーワード 直接種間電子伝達, PVAゲルビーズ, 嫌気消化, メタン生成

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 E-mail: s215033@stn.nagaokaut.ac.jp

電性材料含有 PVA ゲルビーズを用いることで 1.5-2.1 倍に高まった。また、プロピオン酸分解細菌やメタン生成古細菌が集積されたと考えられる 3 回目のプロピオン酸添加後の最大メタン生成速度は導電性材料含有 PVA ゲルビーズを用いることでメタン生成速度が 1.1-1.5 倍となった。この結果から、導電性材料含有 PVA ゲルビーズを用いることで初期のメタン生成が開始されるまでのラグタイムの短縮と、メタン生成速度の上昇が確認された。また、導電性材料の含有割合による最大メタン生成速度に大きな違いは見られなかった。

3.2 微生物群集解析

図-1 に PVA ゲルビーズを用いたメタン発酵バッチ実験後の汚泥と PVA ゲルビーズに保持された汚泥のプロピオン酸分解細菌とメタン生成古細菌の割合を示す。本実験では主要なプロピオン酸分解細菌として *Cloacamonas* 属細菌、メタン生成古細菌として *Methanolinea* 属古細菌が検出された。汚泥内では導電性材料の含有量や種類に関わらずプロピオン酸分解細菌やメタン生成古細菌の存在割合に大きな違いは見られなかった。一方、PVA ゲルビーズに付着した汚泥に注目すると、MT_10% では *Cloacamonas* 属細菌や *Methanolinea* 属古細菌の割合が他の PVA ゲルビーズに比べ高かった。また、プロピオン酸分解細菌である *Pelotomaculum* 属細菌やメタン生成古細菌である *Methanoculleus* 属古細菌の割合も高かった。この結果より、PVA ゲルビーズに含まれる導電性材料は MT で 含有割合は 10% が適していると示唆された。

4. まとめ・今後の予定

PVA ゲルビーズに導電性材料を加えることでメタン生成が開始されるまでのラグタイムの短縮と、最大メタン生成速度の上昇が確認された。また、遺伝子解析よりプロピオン酸分解細菌は *Cloacamonas* 属細菌、メタン生成古細菌は *Methanolinea* 属古細菌が多く存在し、MT の含有割合が 10% の PVA ゲルビーズではプロピオン酸分解細菌やメタン生成古細菌の保持割合が増えた。

今後は高温消化汚泥を用いて実験を行い、メタン生成速度や細菌叢の比較や、最適な導電性材料の種類や割合の検討を行う。

参考文献

- 1) Carolina Cruz Viggli et al., (2014), Environ. Sci. Technol., vol 48, pp. 7536-7543.
- 2) Fanghua Liu et al., (2012), Energy Environ. Sci., vol 5, pp. 8982-8989.
- 3) Kyohei Kuroda et al., (2021), Environ. Technol. Innov., vol 24, 101835

表-1 メタン発酵バッチ実験のラグタイムと最大メタン生成速度

系列	ラグタイム (day)	最大メタン生成速度 (mg-COD/vial/day)		
		1回目	2回目	3回目
CM_0%	7	35 ± 0.37	32 ± 5.1	47 ± 5.2
MT_5%	4	52 ± 17	47 ± 2.2	57 ± 3.3
MT_10%	4	75 ± 8.7	43 ± 1.2	53 ± 4.4
AC_5%	4	74 ± 3.9	40 ± 3.0	66 ± 3.2
AC_10%	4	69 ± 2.7	42 ± 7.3	63 ± 5.3
GT_5%	4	83 ± 0.37	29 ± 1.6	67 ± 4.3
GT_10%	4	63 ± 8.3	29 ± 1.9	72 ± 4.4

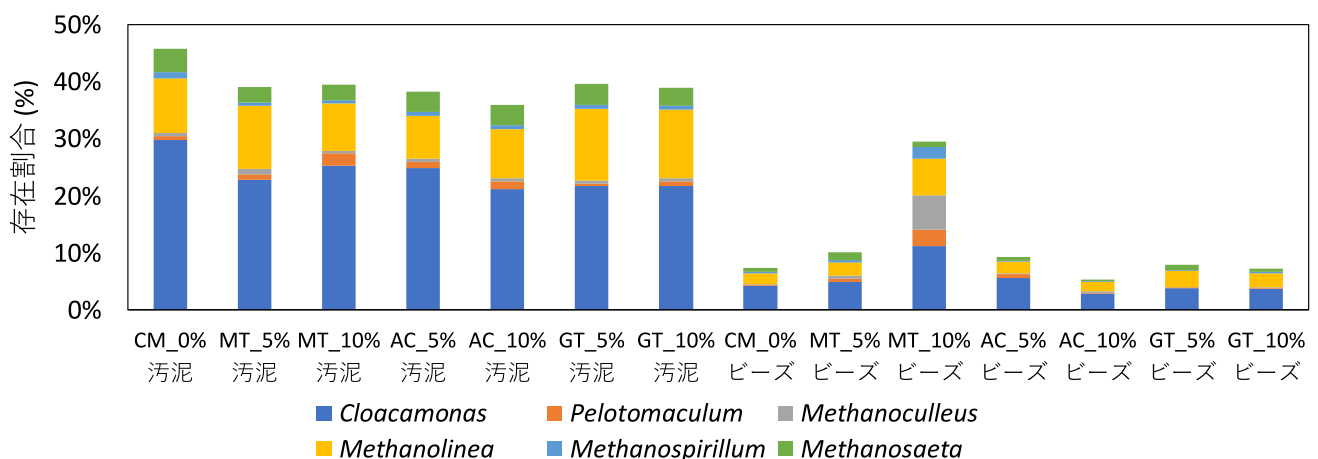


図-1 汚泥と PVA ゲルビーズに付着した汚泥のプロピオン酸分解細菌とメタン生成古細菌の割合