

種間電子伝達促進粒子を含有した微生物保持担体の添加が メタン発酵の促進と微生物群集に与える影響

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) の蓄積により pH の低下などが起きるため、VFA の安定した分解が処理の要となる¹⁾。また、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、嫌気性処理の処理槽内に導電性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²⁾。

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³⁾。我々はこの PVA ゲルビーズと導電性粒子を組み合わせた導電性粒子含有 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。

本研究では導電性粒子を含有した PVA ゲルビーズに含まれる導電性粒子がメタン発酵と微生物群集に与える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))、ゼラチン (2% (w/v)) を純水に添加し、95℃に加熱して完全に溶解させ、PVA 溶液を作成した (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。また、導電性粒子は溶液①に添加した。

2.2 メタン発酵バッチ実験

本研究では 2 回のメタン発酵バッチ実験を行った。1 回目のバッチ実験は 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 500 mg-COD/vial (1100 mg-COD/L) で加え、36℃, 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、計 3 回プロピオン酸を加えた。本実験では PVA ゲルビーズに含まれる導電性粒子 (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、導電性粒子の含有割合を 0% (CM_0%) と 10% (MT_10%, AC_10%, GT_10%) で行った。

2 回目のバッチ実験は 1 回目のバッチ実験で使った微生物を保持した PVA ゲルビーズと widdel 培地 290 mL、プロピオン酸を終濃度 500 mg-COD/vial を加え、1 回目と同様の条件で実験を行った。

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

1 回目の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。

キーワード 嫌気消化, メタン発酵, 直接種間電子伝達, PVA ゲルビーズ

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

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ラグタイムと最大メタン生成速度を示す. 1 回目のバッチ実験の結果, ラグタイムが AC_10%は CM_0%に比べ 13%減少した. しかし, 最大メタン生成速度は導電性粒子の有無や種類に関わらず変化は見られなかった ($p>0.05$). 一方, 2 回目のバッチ実験では PVA_MT と PVA_AC では, CM_0%に比べてラグタイムが 61~72%短くなった. さらに, 最大メタン生成速度が PVA_MT は CM_0%よりも 1.6 倍高かった.

図-1 に 1 回目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属レベルの割合を示す. 本実験の主要なプロピオン酸分解細菌は *Cloacamonas*, メタン生成古細菌は *Methanolinea* と *Methanothrix* であった. PVA ゲルビーズに保持された汚泥に注目すると, PVA_MT と PVA_GT は CM_0%に比べメタン発酵に寄与する微生物の存在割合が高くなっていた.

以上の結果より微生物保持担体として PVA_MT

を用いることでメタン発酵に寄与する微生物を選択的に保持し, 微生物を保持した PVA_MT を微生物保持担体として加えることでラグタイムの短縮と最大メタン生成速度を上昇させ, 安定したメタン発酵が可能になると示唆された.

4. まとめ

脂肪酸分解嫌気共生細菌とメタン生成古細菌を保持した導電性粒子含有 PVA ゲルビーズを用い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. また微生物群集解析より, PVA_MT と PVA_GT に保持された汚泥にはメタン発酵に寄与する微生物の存在割合が高くなっていた.

参考文献

1) Carolina Cruz Viggí 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	1回目バッチ実験						2回目バッチ実験	
	プロピオン酸添加1回目		プロピオン酸添加2回目		プロピオン酸添加3回目		プロピオン酸添加1回目	
	ラグタイム (day)	最大メタン生成速度 (mg-COD/vial/day)	ラグタイム (day)	最大メタン生成速度 (mg-COD/vial/day)	ラグタイム (day)	最大メタン生成速度 (mg-COD/vial/day)	ラグタイム (day)	最大メタン生成速度 (mg-COD/vial/day)
CM_0%	8.7±0.1	107.2±11.0	1.8±0.1	238.6±21.4	1.5±0.1	369.3±12.8	67±8.3	18.4±4.4
PVA_MT	8.8±0.1	94.3±10.3	1.8±0.1	266.4±11.5	1.5±0.1	324.4±23	19±1.5	28.8±7.2
PVA_AC	7.7±0.1	102.3±10.2	1.7±0.1	250.1±6.2	1.5±0.1	337.0±23.1	26±1.1	17.7±1.0
PVA_GT	8.6±0.1	103.5±4.3	1.7±0.1	261.0±3.3	1.5±0.1	382.6±9.3	57±5.1	17.2±2.4

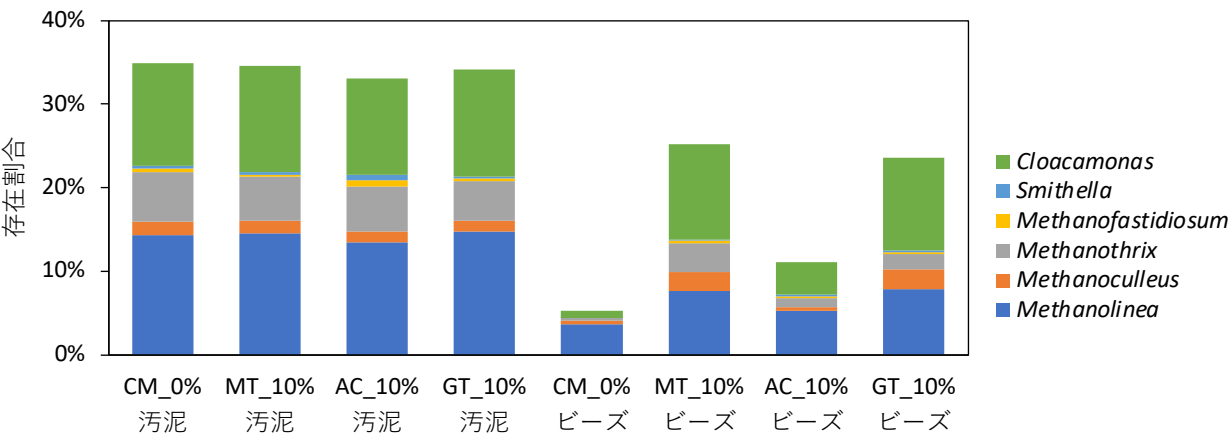


図-1 汚泥と PVA ゲルビーズに付着した汚泥のプロピオン酸分解細菌とメタン生成古細菌の割合