

低濃度酢酸を基質とした UASB リアクター内のグラニュール汚泥の微生物群集構造解析

長岡技術科学大学 (非) ○荒谷伊武樹 (学) 中久保敬悟
(正) 渡利高大, (正) 幡本将史, (正) 山口隆司

1. はじめに

我が国は温室効果ガスの削減を目標としており、2030 年度には、2013 年度の温室効果ガス排出量から 46 %削減を目標にしている (環境省, 2022). この目標を達成するには、日本の温室効果ガス排出量の約半分を占める大規模プラントへの対策が必要とされている. このような中で、注目を集めているのが、メタン生成菌を用いて二酸化炭素をメタンに転換する生物学的メタネーションである. 生物学的メタネーションは、中温性あるいは好熱性のメタン生成古細菌が自己触媒の役割を果たすことで達成される. この方法は、ランニングコストや環境負荷の低さから期待されている. 近年、嫌気性処理において直接種間電子伝達 Direct Interspecies Electron Transfer; DIET) が確認されている. DIET とは、微生物の代謝によって生成された電子が直接他の微生物へ移動する電子伝達経路である (Wang and Lee 2021). DIET を行うメタン生成菌の中に *Methanosaeta* 属が報告されている.

そこで、我々の研究室では、*Methanosaeta* 属に着目し、電気培養により効率的に増殖させ、メタンを生成する技術の開発を目標としている. *Methanosarcina* 属は酢酸に加えて、水素やギ酸、メタノールなどの他のメタン生成基質でも生育でき、*Methanosaeta* 属よりも生育速度が速いことが知られている (Peter H Janssen, 2003). 一方で、*Methanosaeta* 属は酢酸のみをメタン生成基質とするため、生育速度が遅い. そこで我々は、低濃度酢酸を基質とした上昇流嫌気性汚泥床 (Up-flow Anaerobic Sludge Blanket: UASB) リアクターで生成された、グラニュール汚泥内の *Methanosaeta* 属の存在割合を確認することを目的とした.

2. 実験方法

2.1 UASB リアクター

本実験で使用した UASB リアクターを図-1 に、リアクターの条件を表-1、培地の組成を表-2 に示す.

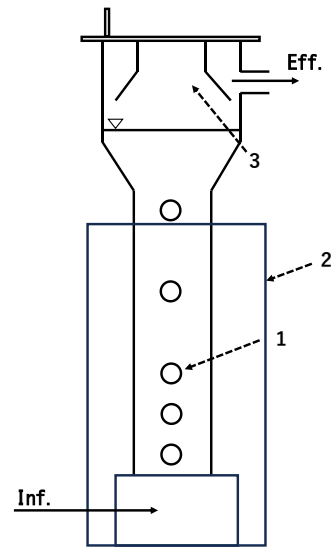


図-1 *Methanosaeta* 属培養リアクターの概要図
(1) サンプルポート(2)ウォータージャケット
(3)気固分離器

UASB リアクターは、高さ 118 cm、内径 20.2 cm の硬質塩化ビニル製で、カラムはウォータージャケットに覆われており、ウォータージャケットに常時恒温水を循環させることで温度を制御した. また、リアクター内の全容量は 41.4 L である. の Inf.と Eff. の水温および、pH、供給培地を以下に示す.

表-1 *Methanosaeta* 属
培養リアクターの条件

| | Inf. / Eff. |
|----|-------------------|
| 水温 | 36.1°C / 32.3°C |
| pH | 7.5±0.1 / 7.6±0.1 |

表-2 供給培地

| 組成 |
|---|
| CH ₃ COONa (500 mg-CH ₃ COO ⁻ /L) |
| K ₂ HPO ₄ (15 mM) |
| KH ₂ PO ₄ (5 mM) |

2.2 測定項目と分析方法

本実験では、pH、ORP、水温、炭酸塩、酢酸塩、COD および溶存メタン濃度を測定した。サンプル採取直後に測定した。炭酸塩および酢酸塩濃度はキャピラリー電気泳動装置 (Agilent7100, Agilent technology) を用いた。溶存メタンは、ヘッドスペース法でガス化し、ガスクロマトグラフィーTCD (GC-8A, 島津製作所) で測定を行った。

2.3 微生物群集構造解析

汚泥の採取場所は、0.1 m～0.3 m とした。DNA 抽出は FastDNA Spin Kit for Soil (MP Biomedicals) を用いて行った。PCR 増幅には 515F/806R のプライマーセットを用いた。PCR 増幅産物は QIAquick PCR Purification Kit (QIAGEN) を用いて精製し、その後、iSeq 100 により塩基配列を決定した。得られた 16S rRNA 遺伝子データは QIIME 2 ソフトウェアにより解析した。

3. 結果および考察

3.1 UASB リアクター内での *Methanosaeta* 属の培養結果

UASB リアクターの運転開始から、185 日から 309 日の酢酸塩の濃度を図-2 に示す。本実験では、酢酸添加量を 500 mg/L とし、既往の知見の酢酸濃度よりも高かったにもかかわらず、消費率はほぼ 100% であった。

3.2 微生物群集構造解析結果

UASB 保持汚泥のサンプルについて、16S rRNA 遺伝子解析の結果を図-4 に示す。高さ 0.1 m 地点では、約 40%、0.2 m 地点では約 50%、0.3 m 地点では約 60% の *Methanosaeta* 属の存在が確認できた。これらの結果から、*Methanosaeta* 属が優先しているといえる。定常状態の酢酸濃度が低い場合には *Methanosaeta* 属が優勢であり、酢酸濃度が低い場合には *Methanosarcina* 属が優勢であると知られているため (Patel, 2001)、本実験では *Methanosaeta* 属の優占が確認されたと考える。

4. 結論および今後の予定

本実験では、酢酸濃度 500 mg/L を基質とした UASB リアクターのグラニューール汚泥内の

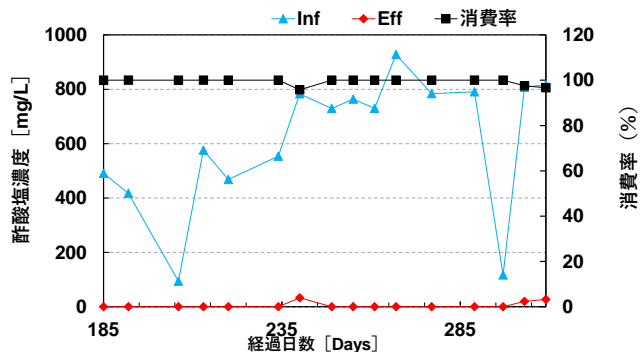


図-2. リアクター内の酢酸塩濃度の変化

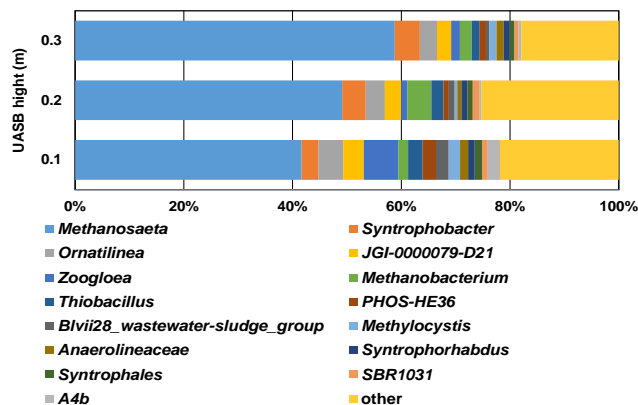


図-4 グラニューール汚泥の 16S rRNA 遺伝子解析 (0.1 m～0.3 m の平均存在割合 1%以上)

Methanosaeta 属の存在割合を確認した。微生物群集構造解析の結果から、低濃度酢酸を基質とした UASB リアクターのグラニューール汚泥内で *Methanosaeta* 属の優占が確認できた。

Methanosaeta 属は酢酸資化以外にも DIET を行うことでメタンを生成すると知られている (van Steendam et al. 2019)。今後は、今回リアクター内で培養を行った *Methanosaeta* 属を用いて、DIET を介したメタン生成を行う予定である。

参考文献

- Summers et al., *Science*, 330(6009), 1413-1415(2010).
- G.B. Patel, Springer, New York (2001), pp.289-294.
- Van Steendam, et al., *Curr. Opin. Biotechnol.*, 57 (2019), pp.183-190.
- Wei Wang and Duu-Jong Lee. *Bioresour. Technol.*, 330: 12498 (2021).
- 環境省 地球温暖化対策計画(令和 3 年 10 月 22 日閣議決定) | 環境省 (env.go.jp)