

## PA-036 下水処理UASBプロセスの汚泥内微生物群集構造解析と高頻度に検出される未培養微生物群の検出

○井口 晃徳<sup>1,6</sup>, 大久保 努<sup>2</sup>, 大矢 明子<sup>3</sup>, 高橋 優信<sup>3</sup>,  
久保田 健吾<sup>6</sup>, 重松 亨<sup>1</sup>, 関口 勇地<sup>4</sup>, 荒木 信夫<sup>5</sup>, 山口 隆司<sup>3</sup>,  
原田 秀樹<sup>6</sup>

<sup>1</sup>新潟薬大・応生科, <sup>2</sup>木更津高専, <sup>3</sup>長岡技科大, <sup>4</sup>産総研, <sup>5</sup>長岡高専, <sup>6</sup>東北大・院工

Key Word : Municipal wastewater, Anaerobic sludge, Microbial community analysis, Uncultured microorganisms

上昇流嫌気性スラッジブランケット (UASB) 法に代表される嫌気性廃水処理プロセスは、高濃度有機性廃水処理において中核的な技術として認知されているが、昨今のエネルギー事情や本プロセスの省エネルギー性といった観点から、都市下水等の低濃度有機性廃水への適用も注目されている。本研究は、下水処理 UASB プロセスの微生物生態学的な基礎的情報収集として、国内2カ所・海外1カ所での無加温で稼働しているパイロットスケール下水処理UASB反応槽から採取した汚泥の16S rRNA遺伝子を標的としたクローン解析を行い、各UASB反応槽および季節別の微生物群集構造の比較解析を行った。また高頻度に検出された未培養微生物に対して特異的な遺伝子プローブを設計・適用し、Fluorescence *in situ* hybridization 法により視覚化を行った。各種汚泥の微生物群集構造解析の結果、系統的に多様なphylogroupが多数検出されたが、*Deltaproteobacteria* 綱、*Bacteroidetes* 門、*Firmicutes* 門、*Caldiserica* 門に属するクローンが比較的高頻度に検出された。季節による比較では、冬期において *Bacteroidetes* 門に属するクローンが高い頻度で検出されるなど、下水処理UASBプロセスの特徴的な微生物群集構造が明らかとなった。また解析したすべての汚泥において、*Caldiserica* 門に属するひとつの未培養phylogroupが高い頻度で検出された。本phylogroup特異的プローブを用いたFISH法により検出を試みた結果、標的細菌と思われる球菌様の細胞が多数検出された。現在、本phylogroupの汚泥内の存在量・基質酸化能の調査を行い、本未培養phylogroupの汚泥内における機能解明を試みている。

## PA-038 高濃度塩分環境下に生息するポリリン酸蓄積細菌

○間口 暢之, 小寺 博也, 阿部 憲一, 金田一 智規,  
尾崎 則篤, 大橋 晶良  
広島大・院工

Key Word : polyphosphate accumulating organisms (PAOs), enhanced biological phosphorus removal (EBPR), high-salinity environment

ポリリン酸蓄積細菌 (PAOs) は嫌気と好気を繰り返すことで増殖し、下水処理場ではリン除去の主要な微生物として利用されている。一方、海洋などの高濃度塩分環境下に生息するPAOsについては知見が得られておらず、これらの知見を得ることで、海洋や高濃度塩分排水からのリン回収技術の創出につながると考えられる。そこで本研究では、微生物保持能力に優れたdownflow handing sponge (DHS) リアクターを用いて高濃度塩分環境下に生息するPAOsの集積培養を試み、リンの摂取・放出を担う細菌について調査した。潮汐の影響で定期的に好気・嫌気に晒されている干潟はPAOsが存在できる環境ではないかと考え、植種源に有明海干潟底泥を用い人工海水 (塩分濃度3.5%) で連続培養を行った。好気9時間、嫌気3時間の1サイクル12時間で繰り返し運転を行い、好気時にはリン含有基質 (5 mgP・L<sup>-1</sup>) と空気を、嫌気時には窒素パージした基質を供給した。リアクターの運転結果より、高濃度塩分環境下でも淡水環境と同様にリンの摂取・放出が見られたため、運転開始199日目にバイオマスの16S rRNA遺伝子に基づくクローン解析を行った。クローン解析より、下水処理場で見られるPAOsである *Candidatus* 'Accumulibacter phosphatis' clade IIa と近縁な種が全53クローン中14クローン検出され、顕微鏡観察よりこの菌がポリリン酸を蓄積していることが確認できた。当初、高濃度塩分環境下では新種の細菌がリンの摂取・放出を担っていると考えていたが、高濃度塩分環境下でも淡水環境下で生息する細菌が担っていることが示唆された。

## PA-037 微生物燃料電池内に存在する細胞外キノンの生態学的意義に関する研究

○木村 善一郎, 伊藤 皓亮, 岡部 聡  
北大・院工

Key Word : Quinone, Geobacter, Microbial fuel cell

【目的】微生物燃料電池 (Microbial Fuel Cell; MFC) は微生物の代謝作用を利用したエネルギー回収型の新しい水処理技術である。MFCプロセスは現在のところ、得られるエネルギーがメタン発酵をはじめとする従来の嫌気処理プロセスと比較し小さく、実用化には電気生産力の向上が不可欠である。MFCの出力は様々な因子によって制限を受けているが、特に微生物反応は重要な制限因子の一つである。MFC陰極槽は嫌気複合微生物系となっており、陰極近傍に形成される微生物群集は有機物から電極に至る電子フローを作る役割を果たす。しかしながら、どのような微生物が反応を触媒し、電極に電子伝達しているかは不明な点が多い。本研究は、各種分子技法、化学的バイオマーカー法の利用による、MFC内の電子フローを担う微生物群の同定と電子伝達メカニズムの解明を目的とする。

【結果および考察】酢酸を唯一のエネルギー源とするMFCを構築し、PCR-DGGE法及びキノンプロファイル法を用いてMFC陰極槽の真正細菌群集構造を解析した。結果、系内の優占種が、*Geobacter* 属細菌であり酢酸の主たる分解者であることが判明した。一方で抽出源が不明なキノンとしてUbiquinone-10 (UQ-10) が検出された。UQ-10を持つ *Alphaproteobacteria* 綱細菌はDGGEバンドからは検出されなかった。この結果を受け、UQ-10通常の呼吸鎖キノンと異なる働きを持つと仮定し、細胞外からのキノン抽出を試みたところ、陰極槽のろ過上清と陰極バイオフィルムの細胞外マトリクスからUQ-10が検出された。UQ-10は細胞外に特異的に存在していることが明らかとなった。これらの結果はUQ-10が細胞外電子伝達の電子シャトルとして働きうることを示唆している。

## PA-039 酸性条件下で硝化反応を示す廃水処理リアクター内の微生物群集構造

○田原 和典, 阿部 憲一, 金田一 智規, 尾崎 則篤,  
大橋 晶良  
広島大・院工

Key Word : Acidphilic, Ammonia-oxidizing archaea, Nitrification, Nitrospira

一般的な廃水処理プロセスにおける硝化反応はpH 6を下回ると著しく低下、もしくは完全に反応が止まることが知られているが、稀により低いpH条件下でも硝化反応が進行することが報告されている。本研究では、スポンジを微生物保持担体とした散水ろ床型リアクターを用いて酸性条件下での硝化反応を確認すると共に、これに関与する微生物群の特定を試みた。本リアクターは下水処理場の返送汚泥を植種源とし、30℃の室内で運転した。供給基質には、pH4に調整したアンモニア態窒素20 mg-N/Lを含む無機模擬廃水を用いた。運転開始120日目以降より、リアクター流出水でNH<sub>4</sub><sup>+</sup>の減少とNO<sub>3</sub><sup>-</sup>の増加、pHの低下が継続的に観察され、硝化反応が進行していることが確認された。運転開始216日目にリアクター上部のスポンジ担体からバイオマスを抽出し、細菌・古細菌の16S rRNA遺伝子を標的としたクローン解析を行った。細菌のクローンライブラリーからは、アンモニア酸化細菌と推定されるクローンは検出されなかったが、一方で、亜硝酸酸化細菌としては *Nitrospira* sublineage VI に近縁なファイロタイプ (3%) が検出された。古細菌のクローンライブラリーは全てアンモニア酸化古細菌 (AOA) と推定される *Thaumarchaeota* Group 1.1a に属するファイロタイプから構成されており、古細菌に限ればAOAが優占的に存在している可能性が示された。以上の結果から、本リアクター内では古細菌 (AOA) と細菌 (*Nitrospira* sp.) により硝化反応が遂行されていることが示唆された。