

メタン発酵処理系内における古細菌の多様性および定量的評価

まき けいこ せきぐち ゆうじ いまち ひろゆき おおはしあきよし はらだ ひでき

○牧 敬子¹⁾、関口 勇地²⁾、井町 寛之¹⁾、大橋 晶良¹⁾、原田 秀樹¹⁾長岡技術科学大学環境システム工学系¹⁾、産業技術総合研究所生物機能工学研究部門²⁾

【目的】嫌気性微生物を利用してバイオマスからエネルギーとしてメタンを回収するメタン発酵プロセスは広く世の中に浸透しつつあり、さらなる高効率化に向けた研究開発が活発に行われている。バイオマスからのメタン生成効率にはその内部の微生物叢が密接に関わっており、特にメタン生成を担うメタン生成古細菌はその指標となる重要な微生物である。そのメタン生成古細菌の評価方法には培養法に依存したメタン生成活性試験や、16S rDNA/RNA を分子マーカーとした分子生物学的手法を用いるのが一般的である。しかしながらそれぞれの評価方法が異なるため、これらの結果を総合的に評価した知見はない。そこで本研究ではいくつかの嫌気性汚泥を対象として、メタン生成古細菌の定量、多様性解析および汚泥のメタン生成活性の測定を行うことにより、各評価方法の相関関係を調査した。

【実験方法】中温・高温性嫌気消化汚泥を各2種類、嫌気性グラニュール汚泥2種類および家畜糞尿を処理しているラグーン汚泥の計7種類をサンプルとして使用した。環境サンプルの古細菌の定量は、16S rRNA に基づいたメンブレンハイブリダイゼーション法により行った。クローン解析には古細菌の16S rRNA 遺伝子に特異的なプライマーセットを用いた。メタン生成活性は、バイアル瓶に所定濃度の各汚泥を嫌氣的に密封し、酢酸または水素を基質として添加し培養した際のメタン生成速度から算定した。

【結果および考察】環境サンプル内の古細菌由来の16S rRNA の定量を行った結果、全SSU-rRNA 中およそ10～40%程度がメタン生成古細菌で占められていると推定された。また各種のメタン生成古細菌群を検出するプローブでさらに詳細な定量を行った結果、消化汚泥およびラグーン汚泥では水素資化性、グラニュール汚泥では酢酸資化性のメタン生成古細菌由来と推定される16S rRNA が優占的に存在していることが確認された。これは古細菌の16S rDNA のクローンライブラリを作成した結果ともほぼ一致しており、消化汚泥およびラグーン汚泥からは *Methanobacteriales* に属する水素資化性メタン生成古細菌由来と思われるクローン、グラニュール汚泥からは *Methanosarcinales* に属する酢酸資化性メタン生成古細菌由来と推定されるクローン配列が高頻度で検出された。また各サンプルのメタン生成活性試験においても定量および多様性解析の結果と同様な傾向が得られた。以上、メタン生成古細菌の評価には、どの従来法を用いた場合にも同様な結果が得られることが確認された。しかしこれらの手法はどれも手順が非常に煩雑でかつ汎用性に乏しいため、今後はより簡便で汎用性に優れた手法の開発が望まれる。

E-mail : maki@stn.nagaokaut.ac.jp (牧 敬子)