

PA-40

嫌気性汚泥における高級脂肪酸酸化共生細菌の解析

はたもとまさし いまちひろゆき おおはしあきよし はらだひでき
 ○幡本将史、井町寛之、大橋晶良、原田秀樹

長岡技術科学大学 環境システム工学系

Cultivation and Identification of Anaerobic Syntrophic Long-Chain Fatty Acids Oxidizing
 Microorganisms in Anaerobic Sludges

Masashi Hatamoto, Hiroyuki Imachi, Akiyoshi Ohashi, and Hideki Harada

Dept. of Environmental Systems Engineering, Nagaoka University of Technology

Key words: Long-chain fatty acids (LCFA), anaerobic digestion, anaerobic syntrophic LCFA-oxidizer, 16S rRNA gene

【目的】高濃度脂質含有廃水は、嫌気性処理の適用が難しい廃水種の1つである。その主な原因は脂質に含まれる高級脂肪酸に起因すると考えられている。従って、高濃度脂質含有廃水の効率的な嫌気性処理を行うには、高級脂肪酸の分解に関与する微生物の基礎的な情報の蓄積が必要であると考えられる。しかしながら、嫌気(メタン生成)環境下において高級脂肪酸の分解を担う微生物は、熱力学的な制約のために水素資化性のメタン生成古細菌と強固な共生関係を要求する嫌気共生細菌であり、その分離培養は極めて困難であることから、高級脂肪酸分解共生細菌の知見は乏しい。そこで我々は、嫌気性処理において高級脂肪酸の分解を担っている微生物の基礎的知見を得るために、高濃度脂質含有廃水を処理していた嫌気性汚泥を用いて、高級脂肪酸の分解を担う微生物の分離培養を試みた。また同時に、16S rRNA/16S rRNA 遺伝子に基づいた解析を行った。

【方法】本研究にはパームオイル製造廃水処理を行っていた中温性(35°C)と高温性(55°C)の2種類の嫌気性汚泥を使用した。高級脂肪酸分解細菌の集積培養には人工培地にパルミチン酸(C16)、ステアリン酸(C18)、オレイン酸(C18:1)およびリノール酸(C18:2)の4種類を基質(各1 mM)として用い、中温(37°C)および高温(55°C)条件で嫌氣的に培養した。

【結果および考察】高級脂肪酸分解細菌の選択的な培養を試みるために上記の2種類の嫌気性汚泥を植種源として、4つの高級脂肪酸を用いた計8種類の集積培養を行った。その結果、高級脂肪酸分解細菌とメタン生成古細菌との共生系により高級脂肪酸を分解して生育する集積培養系を得た。次に、これら集積培養系内において高級脂肪酸の分解を担っている微生物を推定するために、細菌の16S rRNA 遺伝子に基づいたクローン解析を行った。その結果、既知の高級脂肪酸分解細菌が属する *Syntrophomonadaceae* 科の細菌だけでなく、系統分類学的に全く異なるグループの細菌(*Deltaproteobacteria* 綱に属する細菌や、*Firmicutes* 門の新目を代表する細菌)も高級脂肪酸の分解に関与している可能性があることが示唆された。これらの細菌の分離を試みた結果、高温パルミチン酸集積培養系より *Syntrophomonadaceae* 科に属する細菌をほぼ純粋に培養することに成功した。現在これら集積培養において優占的に培養されてきた細菌が実際に嫌気性汚泥において高級脂肪酸の分解に関与しているかを推定するために、植種源として用いた嫌気性汚泥における脂肪酸分解細菌について、16S rRNA 遺伝子を分子マーカーとした解析を進めている。

幡本 将史 Masashi Hatamoto:hatamoto@stn.nagaokaut.ac.jp