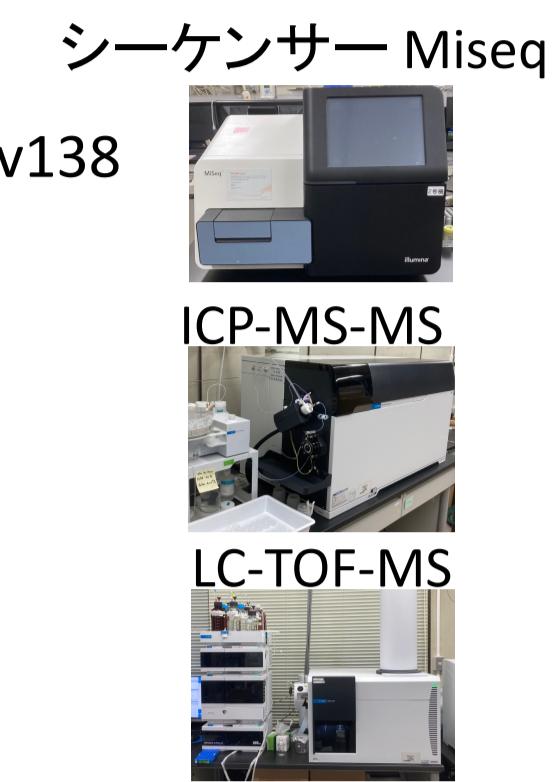


概要

嫌気性消化では、加水分解菌、発酵性菌、共生酸化菌及びメタン生成菌等の働きにより廃水中の有機物がバイオガス(メタン、CO₂等)へ変換される。嫌気性消化槽に存在する元素や化合物はこれら微生物の働きに影響を及ぼすが、異種要素間の関係性は不明であり嫌気性消化の性能を安定化するための指標は乏しい。本研究では、嫌気性消化槽における有機物負荷の変化に応答した微生物、元素と化合物の異種要素間の関係性を、ベイジアンネットワーク解析により明らかにすることを目指した。水理学的滞留時間(Hydraulic retention times [HRTs])が7、6、5日の時、バイオガス生産量は平均8.8 L/dであり、揮発性低級脂肪酸(Volatile fatty acids [VFAs])の蓄積はなく、COD除去率は比較的高い値を示した(60-68%)。この時、加水分解菌*Fervidobacterium riparium*や*Bacteroides timonensis*と精密質量723-767や201-301の化合物との相関が観察され、これら微生物による加水分解と代謝産物の生成が示唆された。また、糸状性菌*Longilinea arvoryzae*と酢酸資化性メタン生成菌*Methanothrix soehngenii*の直接的な相関を含む嫌気性消化過程に関わる一連の微生物群のネットワークが示され、これら微生物群の相互作用が安定なメタン生成に寄与していることが示唆された。HRT 4日では、バイオガス生産量の急激な低下、VFAの蓄積及びCOD除去率の低下(~42%)が観察された。この時、*Prevotella herbatica*が酢酸やプロピオン酸を産生していること、*Ruminococcus gauvreauii*が還元的酢酸生成に関与していること、鉄還元菌*Lachnotalea glycerini*が余剰還元力を金属元素へ放出していることが示唆された。

実験方法

OLR 条件

OLR 表
非公開

シーケンサー MiSeq

ICP-MS-MS

LC-TOF-MS

(1) リアクター運転および化学分析

- リアクター: 連続攪拌槽型反応装置(容積: 6 L、温度: 35°C、pH: 7.0)
- 接種源: 下水処理場由来の嫌気性消化汚泥
- 模擬産業廃水: ドッグフード懸濁液(濃度: 24.4 g-CODcr/L)
- 有機物負荷(Organic loading rate [OLR]): HRT短縮による段階的増加
- 化学パラメータ: 温度、pH、ORP、ガス生産量、VFAs、NH₄⁺、TOC/IC、MLVSS、TVS、溶存有機物

(2) 微生物、元素、化合物の網羅的解析

- 16S rRNA 遺伝子 V4領域: qPCR、Sequencer; Illumina MiSeq, Software; QIIME2, Database; SILVA v138
- 全58元素: ICP-MS-MS; Agilent 8900, Cell gas; None, He, H₂, O₂
- 陽・陰イオン(質量数: 50-1700): LC-TOF-MS; Agilent 1290 G6230, Column; Zorbax RRRHD SB-Aq

(3) 相関解析(Multi-dimensional scaling [MDS] およびベイジアンネットワーク)

- MDS: 個々のデータセットと処理性能を個別解析
 - ベイジアンネットワーク: 複数データセットと処理性能を一斉解析
- 全916要素中216要素(微生物は属レベル)を選抜しネットワーク解析に使用
→微生物(属レベル)で形成された相関を基に微生物(種レベル)の相関を特徴づけ

結果・考察

● 化学パラメータ

リアクター性能

COD、MLVSS、TVSの処理水中濃度と除去率

リアクター処理性能 表
非公開

[HRT 7日、6日(定期)] • バイオガス生産量は平均8.6 L/dであり、COD、MLVSS及びTVSの除去率は比較的高い値を示した。HRT 7日で有機物負荷を考慮した除去率は2.35 g-COD/L/d、除去COD当たりのメタン生成量は0.39 L/gであった。HRT 6日で除去率は2.57 g-COD/L/d、メタン生成量は0.40 L/gであった。

[HRT 5日(転換期)] • バイオガス生産量が平均9.2 L/d、除去率は2.93 g-COD/L/dと高い値を示した。しかし酢酸やプロピオン酸濃度の増加が観察され、除去COD当たりのメタン生成量は0.34 L/gであった。

[HRT 4日(荒廃期)] • バイオガス生産量の急激な低下とTOC及びVFAsの増加が見られ、除去COD当たりのメタン生成量は0.26 L/gであった。

リアクター処理性能 図
非公開

溶存有機物のプロファイル

溶存有機物 図
非公開

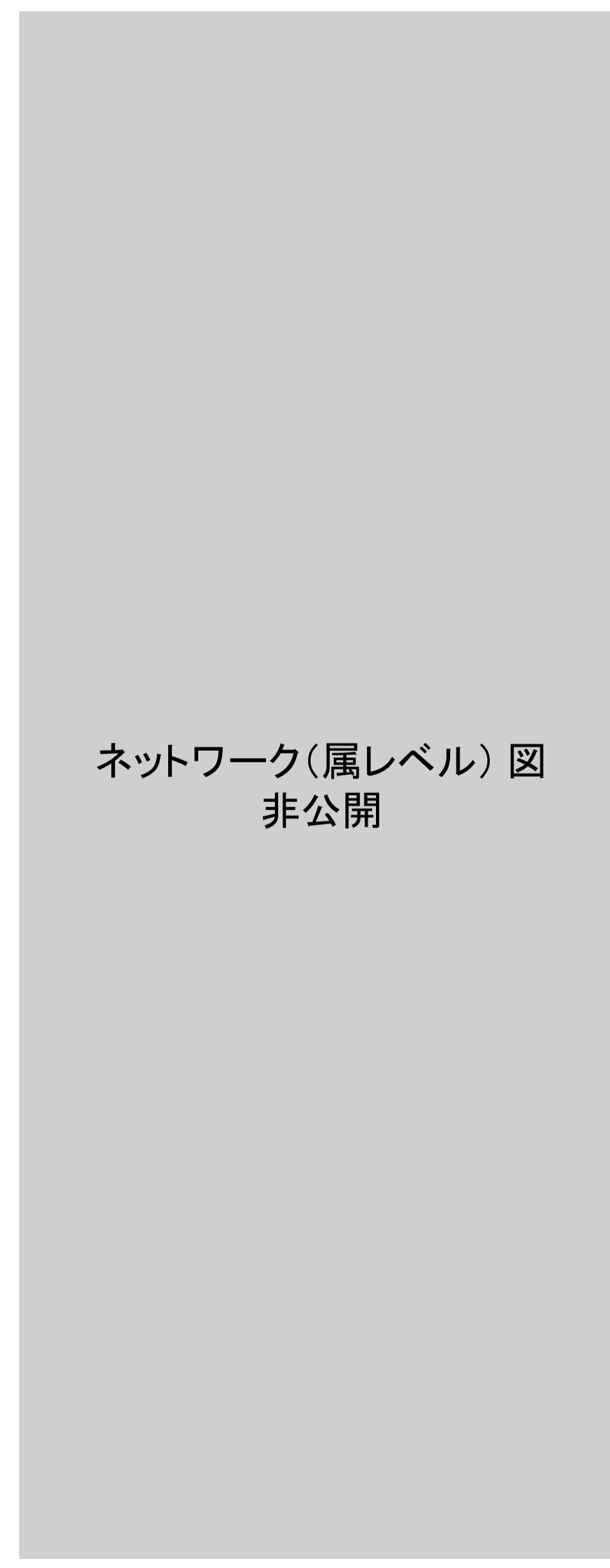
[HRT 7日、6日]
• HRT 7日でNH₄⁺は安定であり、HRT 6日では次第に減少した。タンパク質を表す蛍光(励起/発光: 250-300 nm/280-350 nm)がHRT 6日で観察された。

[HRT 5日、4日]
• NH₄⁺は次第に減少し、タンパク質を表す蛍光は急激に増加した。これらは高い有機物負荷条件で微生物の働きによるアンモニアの生成が減少したことを示唆する。

● 異種要素(微生物、元素、化合物、処理性能)間のベイジアンネットワーク

属レベルの相関

種レベルの相関

ネットワーク(属レベル) 図
非公開ネットワーク(種レベル) 図
非公開ネットワーク(種レベル) 表
非公開

*属レベルの相関では、異種要素を含む4つのネットワークが示された。

*上記4つのネットワークに関係する微生物種(Amplicon sequence variants [ASVs])を抽出し他要素との相関を解析した。

- 加水分解菌 ASVs 1046 (*Fervidobacterium riparium*) や123 (*Marinilabilis nitratireducens*) は精密質量723-767の高分子化合物と相関を示した。
- ASVs 1046と123はHRT 7日で高い存在量を示した(~2%及び~5%)。高分子化合物もHRT 7日で高い存在量であった。

→ ASVs 123や1046は有機物分解の役割を担っており、HRT 7日におけるCOD、MLVSSやTVSの高い除去率に貢献していたことが示唆された。

- 加水分解菌 ASVs 136 (*Bacteroides timonensis*) や406 (*Granulicella cerasi*) と精密質量201-301の化合物とのネットワークが観察された。
- このASVsと化合物はともにHRT 6日で増加を示した。

→ ASVs 136や406は高分子分解に関与していたことが示唆された。

- 属レベルのネットワークでは、加水分解菌、発酵性菌、共生酸化菌及びメタン生成菌といった嫌気性消化過程に関わる一連の微生物群の相関が示された。
- 糸状性菌 ASV 280 (*Longilinea arvoryzae*) は酢酸資化性メタン生成菌 ASV 25 (*Methanothrix soehngenii*) と直接的な相関を示した。ASV 280が属するAnaerolineaceae科は凝集体を形成しメタン生成菌に水素や酢酸を効率的に供給することでメタン生成を促進することが知られている。

→ この微生物群の相互作用が安定なメタン生成に寄与したものと示唆された。

- pH調整剤としてNaOHが多量に添加されていたHRT 4日では、発酵性菌 ASV 193 (*Prevotella herbatica*) がVFAs(酢酸及びプロピオン酸)やNaと相関を示した。

→ ASV 193は高い有機物負荷条件での酸生成に寄与していたことが示唆された。

- 発酵性菌 ASV 586 (*Ruminococcus gauvreauii*) はCo等の元素と正の相関を示した。*R. gauvreauii*は、Coが補因子として作用するWood-Ljungdahl経路によって、還元的に酢酸を生成することが知られている。
- ASV 586や元素はHRT 5日や4日で増加を示した。

→ ASV 586による還元的酢酸生成が最終電子受容反応であることが示唆された。

- 鉄還元菌 ASV 584 (*Lachnotalea glycerini*) はFeやMn等の金属元素と正の相関を示し、このネットワークはバイオガス生産と負の相関を示した。

→ ASV 584は、定期的にメタン生成菌に渡すことで処理していた還元力(余剰還元力)を、荒廃期には金属元素に放出していたことが示唆された。

結論

異種要素を統合したベイジアンネットワーク解析は嫌気性消化の処理性能に寄与する微生物、元素および化学物質の関係性を明らかにした。

- F. riparium*や*B. timonensis*等の加水分解菌が高いCOD除去率に貢献
- 糸状性菌*L. arvoryzae*とメタン生成菌*M. soehngenii*の直接的な正の相関があり、これらを含む嫌気性消化反応を担う微生物群が安定なメタン生成に重要
- 嫌気性消化の荒廃期では、発酵性菌*P. herbatica*による過剰な酸生成、*R. gauvreauii*による還元的酢酸生成、鉄還元菌*L. glycerini*による異なる最終電子受容体の利用が示唆