

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 18 日現在

機関番号：82101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25820256

研究課題名(和文)炭素・窒素安定同位体比を指標とした排水処理システムにおける浄化機構と食物網の解析

研究課題名(英文)Evaluation of food webs and treatment mechanism in wastewater treatment systems using carbon and nitrogen stable isotope ratios

研究代表者

小野寺 崇 (Onodera, Takashi)

独立行政法人国立環境研究所・地域環境研究センター・研究員

研究者番号：30583356

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、生物学排水処理システムにおける微生物生態系の解明を進め、処理の効率化・安定化を行うため、炭素・窒素安定同位体比に基づく被食-捕食の関係および処理特性の評価を行った。その結果、排水処理リアクターでは、汚泥や高次生物の窒素安定同位体比が大きく変化しており、処理特性や生物の摂餌関係が影響していると示唆された。このため、炭素・窒素安定同位体比は排水処理システムにおける微生物生態系と処理特性を評価するための有用な指標になると結論した。

研究成果の概要(英文)：The study conducted the evaluation of prey-predator relationship and treatment characteristics based on carbon and nitrogen stable isotope ratios so as to reveal the microbial ecosystem and to enhance the process performance in biological wastewater treatment systems. As a result, ^{13}C and ^{15}N of the retained sludge and associated organisms changed drastically within the system. Therefore ^{13}C and ^{15}N reflected both treatment and dietary characteristics. We concluded that ^{13}C and ^{15}N values are potentially useful as alternative indicators for investigating microbial ecosystems and treatment characteristics of biological wastewater treatment systems.

研究分野：生物学的排水処理

キーワード：炭素・窒素安定同位体比 下水処理 高次生物 微生物生態系

1. 研究開始当初の背景

活性汚泥法に代表される生物学的排水処理システムは、微生物を利用した浄化技術であるため、処理性能の安定化・効率化には、浄化機構と微生物生態系を把握することが重要である。処理システムでは、主に真正細菌、原生動物、微小後生動物など、餌や栄養段階が異なる微生物によって食物網が形成されている。この微生物群集(汚泥)の評価方法には、物性試験、活性試験、遺伝子解析による真正細菌の同定などがある。また、顕微鏡観察などにより、微生物生態系の上位に属する、高次生物(原生動物や微小後生動物)の同定・定量が行われている。

生物学的排水処理システムでは、汚泥中に微小動物が多数存在することが確認され、汚泥減容化に大きな影響を及ぼしていることが示唆されたが、まさに目の前にいる微小後生動物でさえも、「何を補食し、何に捕食されているのか?」という摂餌関係に関する情報を得るのは難しい。実際に、微小動物による捕食作用の解明に関しては、培養系における実験は行なわれてきたが、実際のリアクターではほとんど行なわれていない。このため、微小動物による汚泥削減効果に関しては、その評価方法すら確立されていない。このように、下水処理システムでは、摂餌関係を明らかにする解析手法がないため、微生物群集における食物網の解明は十分に進められていない。

そこで本研究では、炭素・窒素安定同位体比を指標とした食物網解析の手法に着目した。この安定同位体比は、生態学、海洋学、陸水学、微生物生態学などの自然環境の研究分野において、生物の摂餌関係を介しての食物網内の物質輸送を解析するための共通指標として利用されている。一方、排水処理の分野における安定同位体を利用した評価方法に関しては、申請者の知る限り、安定同位体を標識した基質をトレーサーとして用いた解析方法などに限られ、安定同位体比に基づいた浄化機構や微生物生態系の解析はほとんど行なわれていない。

このため、安定同位体比という新たな指標を用いることで、排水処理システムにおける浄化機構や微生物生態系の解明を飛躍的に進めることができると考えた。本手法を適用することで、これまで概念的に示していた微生物生態系に関して、より具体的・定量的に提示することが期待でき、生物学的排水処理の研究分野において、学術的に有用な知見を得ることができる。さらに、排水処理システムにおける処理性能と微生物生態系の関係をリンクして評価することで、処理性能の安定化・効率化のための基礎的知見を得ることが可能となる。

2. 研究の目的

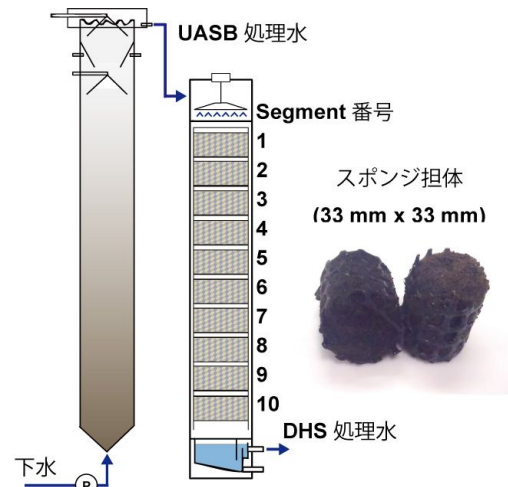
上記の研究背景を踏まえ、本研究では、下水処理リアクターにおける $\delta^{13}\text{C}$ や $\delta^{15}\text{N}$ の分

布を明らかにするとともに、その値を用いて食物網の一端を解析する試みを行った。本実験に用いたモデルリアクターは、Upflow anaerobic sludge blanket リアクター(以下、UASB)と Down-flow Hanging Sponge リアクター(以下、DHS)である。DHSは、スポンジ担体に高濃度の汚泥が保持され、SRTが長いことや高次生物が数多く生息するため、モデルリアクターとして選定した。

3. 研究の方法

(1) 実験装置

図-1に本実験装置の概要を示す。UASBは全容積1,148 L、塔長4 mとした。DHSの微生物保持担体は、33 mm立方体のスポンジをプラスチックネットリング(33 mm x 33 mm)に挿入したものとした。DHSはスポンジ担体をランダムに充填したセグメントを10段積み上げたもので構成した。スポンジ総容積は454 L(スポンジ担体16,240個)とし、リアクター容積に対する担体充填率は53%とした。DHSの下部には容量32.5 Lの沈殿槽を設けた。



UASB リアクター DHS リアクター

図-1 本実験装置の概要

(2) 運転方法

本実験装置にはスクリーン通過後の実下水を供給した。HRTはUASBで8.0時間、DHSで3.2時間とした。なお本実験装置は無加温条件で運転した(9-28°C)。UASBには植種汚泥として中温下水消化汚泥約500 Lを用いた。DHSへの植種は行わなかった。UASB+DHSシステムは2年以上の安定運転が行われているものを用いた。

(3) 試料の採取

UASBからの汚泥採取は、高さ方向3箇所(下部、中部、上部)から行った。DHSの汚泥と高次生物は、各カラムに充填されているスポンジ担体をランダムに3個採取し、それぞれ高次生物として、ミズミズ(*Nais*属)、

チョウバエ (*Psychodidae* 科)の幼虫を採取し、その後、蒸留水を用いて圧搾して汚泥を得た。また、下水、UASB 処理水および DHS 処理水の SS (DHS 沈殿槽の SS) を採取した。

(4)炭素・窒素安定同位体比の分析

SS および汚泥は、採取後速やかに前処理を施した。SS は蒸留水を用いた洗浄を 2 回行った。チョウバエの幼虫は、解剖して腸管系を取り除いた。また、ミズミズは、2 日間水中に放置し、腸管系内容物を排出させた。各サンプルは、60 °C で一晩乾燥させた後、分析に供するまで -20 °C で保存した。サンプルは、脱脂および無機炭素除去を行った後、ガスクロマトグラフ質量分析計 (NC-2500/Delta Plus or EA-300/Delta XP systems, Finnigan Mat) を用いて ^{13}C および ^{15}N を測定した。 ^{13}C および ^{15}N は以下の式 (1) で算出した。

$$\delta^{13}\text{C} \text{ or } \delta^{15}\text{N}(\text{‰}) = (R_{\text{sam}}/R_{\text{std}} - 1) \times 1000 \quad (1)$$

$$R = {}^{13}\text{C}/{}^{12}\text{C} \text{ or } {}^{15}\text{N}/{}^{14}\text{N}$$

ここで、 R_{std} は、国際標準物質として、炭素はペレムナイト化石 (Pee Dee Belemnite)、窒素は大気中の窒素とした。ワーキングスタンダードとして、D-アラニンと L-ヒスチジンをを用いた。

4. 研究成果

(1) UASB および DHS リアクターの処理性能

UASB+DHS システムにおける処理水質は、汚泥の安定同位体比測定前後を含む運転期間 956 日において、 COD_{Cr} 濃度は、下水 320 mg/L、UASB 処理水 180 mg/L、DHS 処理水 50 mg/L 程度、SS 濃度は、下水 90 mg/L、UASB 処理水 40 mg/L、DHS 処理水 20 mg/L 程度であった。

図-2 に DHS の高さ方向における水質プロファイル (773 日目) を示す。DHS における有機物分解は、リアクター上部で進行し、中部から下部では硝化が進行していた。その結果、アンモニア性窒素は、カラム 0.5 m 付近でほぼ消失した。また、流下方向で全窒素

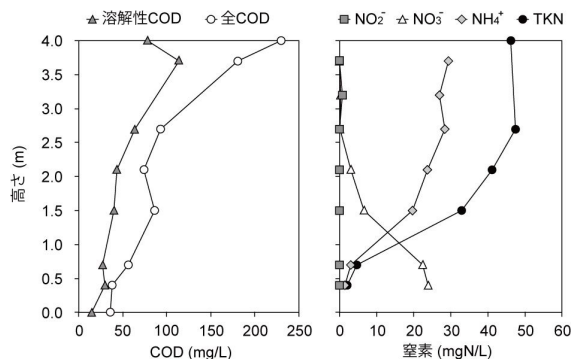


図-2 水質プロファイル

(TKN+NO_x-N) の濃度が減少しているため、微生物による脱窒や同化が進行している可能性が示された。なお、DHS の流下水における DO は、2 段目通過後には 4 mg/L 以上となり、好気条件が保たれていることが確認された。

(2) DHS リアクターの保持汚泥濃度

保持汚泥濃度 (787 日目) は、DHS 上部で約 30 gVSS/L であり、流下方向で変動はあるが、リアクター全体を通じて高濃度であった。DHS は、生物膜法であり、汚泥の SRT も長いことから、輪虫類、貧毛類、ミジンコなどの後生動物が多く生息していることが確認されている。本研究においても、DHS では、嫌気性処理水が直接供給されるカラム 1 段目を除き、採取可能な高次生物が数多く生息していた。

(3) SS および汚泥の安定同位体比

図-3 に SS および汚泥の炭素・窒素安定同位体比 (^{13}C 、 ^{15}N) を示す。下水と UASB 処理水の SS は、同程度の ^{13}C と ^{15}N であった。一方、DHS 処理水の SS は、UASB 処理水の SS とは明らかに異なり、DHS 下部の汚泥の ^{13}C および ^{15}N に近い値であった。このため、DHS 処理水中の SS は、流入水 (UASB 処理水) の SS が DHS リアクターで捕捉されないために流出するのではなく、保持汚泥の剥離によって流出していることが示唆された。

UASB 保持汚泥の ^{13}C および ^{15}N は、UASB 上部と UASB 下部・中部とは異なっており、UASB 上部の汚泥は下水と UASB 処理水の SS と同程度であった。このため、UASB 上部の浮遊汚泥が流出することで、UASB 処理水の SS となると推察された。一方、UASB 中・下部の汚泥は、主にグラニュー汚泥であるため、UASB 内に長期間滞留していたと考えられる。このとき、メタン発酵では大きな同位体分別が起きることから、長期間滞留するグラニュー汚泥の ^{13}C および ^{15}N も変化したと推

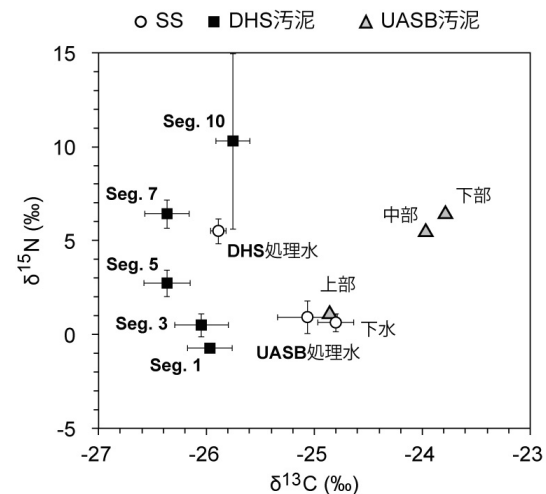


図-3 汚泥等の炭素・窒素安定同位体比

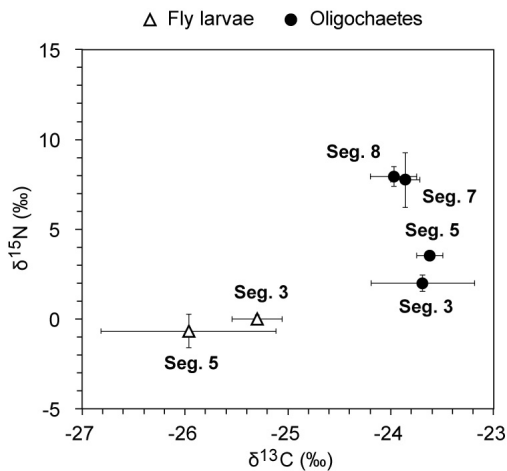


図-4 後生動物の炭素・窒素安定同位体比

察された。

DHS 保持汚泥および沈殿汚泥の ^{13}C は -26% 程度で変化は少ないが、 ^{15}N は流下方向で大きく増加することが明らかとなった。この現象の理由には2つの要因が推察される。一つは、汚泥中の食物連鎖の進行（微生物生態系の高次化）に伴い ^{15}N が上昇したことである。もう一つはアンモニア揮発、硝化、脱窒により流下水に残存するアンモニアもしくは硝酸の ^{15}N が上昇し、それを微生物が同化することで汚泥（微生物）の ^{15}N も増加することである。自然環境などにおいても報告があり、下水処理リアクターにおいても同様のメカニズムが働いている可能性が考えられた。

(4) 高次生物の安定同位体比

図-4 に DHS に生息する主な後生動物の ^{13}C および ^{15}N を示す。ミズミミズの ^{13}C はいずれのカラムにおいても -24% 付近の値を示していたが、 ^{15}N は流下方向で明らかに増加していた。この傾向は保持汚泥と同様であることから、汚泥中の餌の安定同位体比に影響されていたと考えられる。一方、チョウバエの幼虫の安定同位体比は、ミズミミズとは大きく異なっていた。よって、ほぼ同所的に生息しているにもかかわらず、両者は異なる餌を利用している可能性が示唆された。このため、チョウバエの幼虫は、DHS 保持汚泥以外の有機物、即ち、UASB 処理水に含まれる SS やウォッシュアウト汚泥などを嗜好していることが示唆された。これは、チョウバエの幼虫は年間を通じて生息しているのではなく、UASB の水質が悪化する春季や汚泥ウォッシュアウト後に限定的に発生する傾向と一致している。このことから、チョウバエの発生抑制のためには UASB リアクターから SS の流出を抑制することが効果的である可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計1件)

Onodera, T., Kanaya, G., Syutsubo, K., Miyaoka, Y., Hatamoto M., Yamaguchi, T. Spatial changes in carbon and nitrogen stable isotope ratios of sludge and associated organisms in a biological sewage treatment system, Water Res. 68, 387-393, 2015. (査読あり)
doi: 10.1016/j.watres.2014.10.020

[学会発表](計2件)

Onodera, T., Kanaya, G., Syutsubo, K., Miyaoka, Y., Hatamoto M., Yamaguchi, T. Evaluation of microbial and treatment characteristics in a sewage treatment system based on carbon and nitrogen stable isotope ratios, IWA World Water Congress 2014, Poster 460, 2014.9.23, Lisbon (Portugal)

小野寺崇、金谷弦、珠坪一晃、宮岡佑馬、幡本将史、山口隆司、下水処理リアクターにおける炭素・窒素安定同位体比の空間的・微生物的分布の解析、第50回環境工学研究フォーラム講演集、pp. 209-211、2013.11.20、北海道大学(札幌・北海道)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小野寺 崇 (ONODERA, Takashi)

国立環境研究所・地域環境研究センター・研究員

研究者番号：30583356