

窒素安定同位体比を用いた活性汚泥における捕食の進行度の把握

国立環境研究所 正会員 ○小野寺 崇, 珠坪 一晃, 金谷 弦, 水落 元之
長岡技術科学大学 幡本 将史, 山口 隆司

1. はじめに

活性汚泥では、細菌、原生動物、後生動物などの栄養段階の異なる多種多様な生物により食物連鎖が形成されている。この活性汚泥における食物連鎖は、有機物分解のみならず、処理水の清澄性向上や余剰汚泥削減に寄与する重要な役割を担っている。そのため、微生物群集における摂餌関係（被食-捕食の関係）を理解し、食物連鎖の機能を最大限に活かすことは、処理性能の安定化・向上に寄与する重要な鍵であると考えられる。しかし、活性汚泥における食物網に関して定量的な解析はこれまでほとんど行われておらず、食物連鎖に伴う余剰汚泥削減効果等も明らかとされていなかった。これは、微生物の食物連鎖が極めて複雑であることに加え、食物連鎖を解析するツールも無いことが要因として挙げられる。

そこで本研究では、活性汚泥における食物連鎖を把握するため、炭素・窒素安定同位体比（ $\delta^{13}\text{C}$ ・ $\delta^{15}\text{N}$ ）に着目し、新たな解析方法を提案する。 $\delta^{13}\text{C}$ ・ $\delta^{15}\text{N}$ は生物生態系における摂餌関係（食物網）の解析ツールとして広く利用されている¹⁾。 $\delta^{13}\text{C}$ は食物源の指標、 $\delta^{15}\text{N}$ は栄養段階の指標となり、捕食者の $\delta^{15}\text{N}$ は、被食者の $\delta^{15}\text{N}$ と比較して約3.4‰上昇する¹⁾。しかし、活性汚泥に生息する微生物を単独で分析することは現実困難なうえ、微生物の種類や数も膨大であり、その関係性も極めて複雑であることから、実際に $\delta^{13}\text{C}$ ・ $\delta^{15}\text{N}$ を適用した例は極めて少ない²⁾。また、多種多様な微生物を扱う生物学的排水処理の技術では、微生物群集（汚泥）での被食-捕食作用を総合的に評価することが肝要であると考えられる。そこで本研究では、従来の方法とは異なり、汚泥の $\delta^{13}\text{C}$ ・ $\delta^{15}\text{N}$ を把握することで、微生物群集の栄養段階の相対的な変化を把握し、汚泥における捕食の進行を定量的に示すことができると考えた（図-1）。

2. 実験方法

容量2Lのリアクターを用いて、活性汚泥を飢餓条件（基質供給なし、曝気あり）で培養した。pHは約7.0に調整した。温度は20℃とした。植種汚泥には霞ヶ浦浄化センターの曝気槽から採取した活性汚泥を用いた。植種汚泥は採取後、速やかに実験室に持ち帰り、DOが残存していることを確認後（4 mg/L以上）、実験を開始した。実験は3連で行った。なお、活性汚泥にはpH調整剤を添加して、pHを中性付近となるように調整した。

連続モニタリングでは、リアクターから活性汚泥を定量採取してサンプルに供した。汚泥濃度としてMLSS、MLVSS、CODを測定した。また、温度、pH、DOに加えて、0.45 μm フィルターで濾過したサンプルのCOD及び無機態窒素を測定した。無機態窒素はHPLCを用いて分析した。活性汚泥の炭素・窒素安定同位体比は、元素分析計質量分析計システム（EA-300/-Delta XP system, Finnigan Mat）で測定した。 $\delta^{13}\text{C}$ および $\delta^{15}\text{N}$ は以下の式（1）で算出した。

$$\delta^{13}\text{C} \text{ or } \delta^{15}\text{N} (\text{‰}) = (R_{\text{sample}} / R_{\text{standard}} - 1) \times 1000 \quad \dots \text{式(1)}$$

$$R = {}^{13}\text{C}/{}^{12}\text{C} \text{ or } {}^{15}\text{N}/{}^{14}\text{N} \quad \dots \text{式(2)}$$

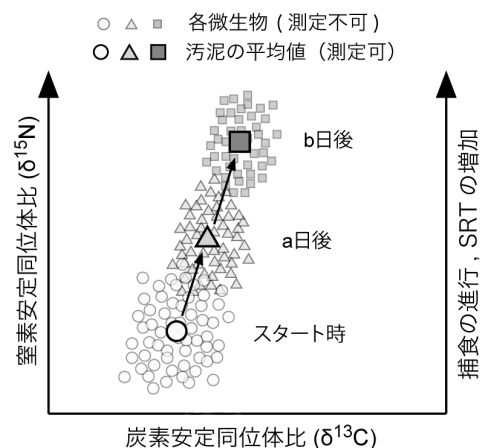


図-1 本提案方法の概念図

キーワード 汚泥, 食物連鎖, 捕食, 炭素・窒素安定同位体比

連絡先 〒305-0081 茨城県つくば市小野川 16-2 国立環境研究所地域環境研究センター TEL 029-850-2494

ここで、 $R_{standard}$ は、国際標準物質として、炭素はベレムナイト化石 (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。

3. 実験結果と考察

図-2 に活性汚泥における汚泥濃度の経日変化を示す。活性汚泥は飢餓条件下で運転することで自己分解を促した。実験スタート時、リアクター内の活性汚泥の MLSS と MLVSS は、それぞれ 2240 mg/L および 1770 mg/L であり、運転継続とともに徐々に減少していく傾向が確認された。運転の 37 日目における平均汚泥濃度は、それぞれ 1230 mg/L および 870 mg/L であり、初期濃度と比較して、概ね半減していることが確認された。同様に、汚泥の COD 濃度は、運転継続とともに減少し、2800 mg/L から 1130 mg/L となった。このため、活性汚泥は飢餓条件下において、内生呼吸や捕食などの作用により、自己分解が進行していたといえる。

図-3 に活性汚泥の $\delta^{13}\text{C}$ ・ $\delta^{15}\text{N}$ の経時変化を示す。実験開始時、汚泥の $\delta^{13}\text{C}$ は -25.0‰ 、 $\delta^{15}\text{N}$ は 7.4‰ であった。運転継続に伴い $\delta^{13}\text{C}$ は -25.0‰ ～ -25.4‰ の範囲となり、大きな変化は確認されなかった。これは、炭素安定同位体比は捕食に伴う変化はほとんどないためであると考えられる。一方で、汚泥濃度の低下とともに、活性汚泥の $\delta^{15}\text{N}$ は増加する傾向があり、37 日目には平均 9.9‰ となった。このため、汚泥の自己分解には、捕食作用の進行が寄与していると考えられた。

図-4 に活性汚泥に顕微鏡観察の結果を示す。本活性汚泥では、運転期間を通じて、原生動物や後生動物の存在が確認された。後生動物では、クマムシなどが確認された。これらの高次生物による捕食作用が汚泥の分解に寄与していたといえる。一方で、高次生物も小型の原生動物や細菌に捕食される様子が確認されたことから、高次生物が捕食者だけでなく被食者となることで、さらに汚泥分解が進行していることが示唆された。

4. まとめ

本研究では、飢餓条件下で活性汚泥を運転したところ、汚泥濃度の減少とともに、汚泥の $\delta^{15}\text{N}$ が増加する傾向がみられた。これは、食物連鎖を通じた ^{15}N の濃縮が関与していると考えられた。よって、 $\delta^{15}\text{N}$ は活性汚泥の食物連鎖における捕食作用の進行度を示す指標となる可能性が示唆された。

参考文献

- 1) Post E.M. (2002) Ecology 83, 703-718.
- 2) Onodera T. et al., (2015) Water Res. 68, 387-393.

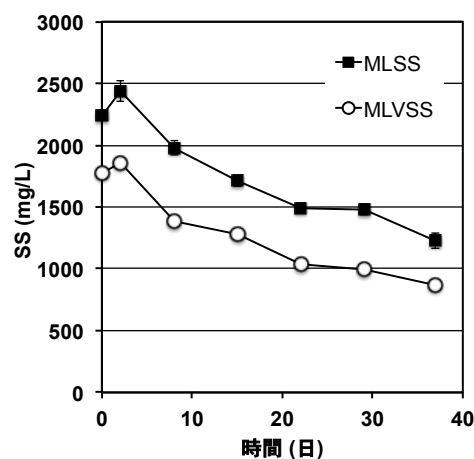


図-2 汚泥濃度の経日変化

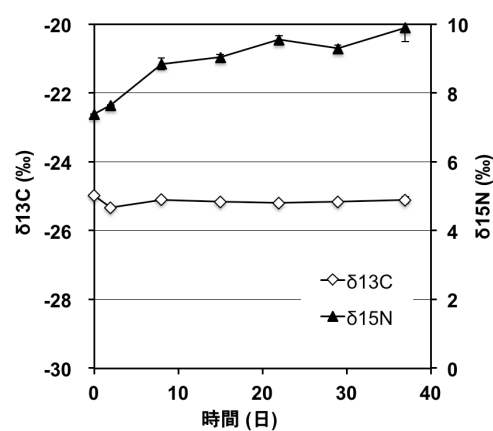


図-3 炭素窒素安定同位体比の変化

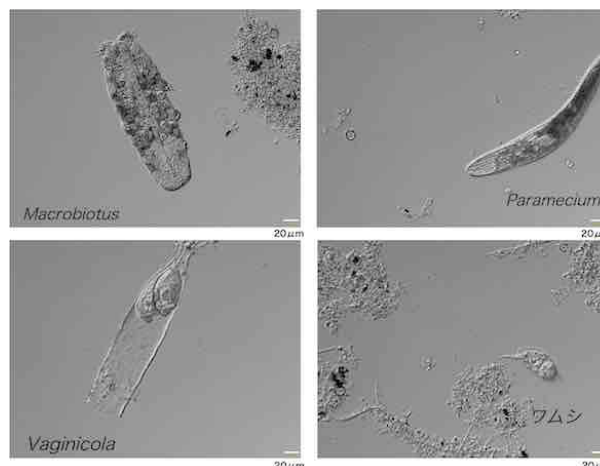


図-4 顕微鏡観察の結果