

# 農業排水を対象とした水質浄化装置内での 脱窒反応とキノン組成の関係

濱田康治\*・藤田昌史\*\*・人見忠良\*・久保田富次郎\*・白谷栄作\*

## 目 次

I 緒言	101	2 脱窒活性確認試験	103
II 実験方法	102	3 キノン分析結果	104
1 ライシメータでの水質浄化実験	102	IV 考察	104
2 水質浄化装置	102	1 水質浄化装置内の微生物群集構造の変化	104
3 脱窒活性確認試験	102	2 脱窒反応と微生物群集構造	105
4 水質分析	103	V 結言	107
5 キノン分析	103	参考文献	108
III 結果	103	Summary	109
1 水質浄化装置による浄化試験	103		

## I 緒言

一般に、自然浄化と微生物の関係は非常に強い。しかしながら、農業地域での水質浄化における微生物の役割に着目した研究は少なく、従来は農業地域における浄化機構をブラックボックスとして扱うことが主流であったため、浄化に寄与する微生物の種類やその群集構造に関する検討がほとんどなされていなかった。例えば、水田が生物反応による窒素除去能を持つことは広く知られているが、そこでの微生物の挙動はほとんど解明されていない。

三浦ら(2006)は、水田レベルで栄養塩・有機物の除去を達成することを目指した木炭を利用した水質浄化装置を考案し、その浄化作用を検証した。三浦ら(2006)や濱田ら(2007)により水質浄化装置が有機物や栄養塩類の除去が可能であることが既に報告されている。木炭を利用した水質浄化の場合、長期に利用する場合には物理吸着だけでなく微生物による浄化作用も大きい。木炭表面の細孔は微生物にとって恰好の生息場となる。よって、木炭は吸着剤としてだけでなく、微生物付着固定化担体としての機能も発揮する。よって、木炭の単位表面積あたりの水処理能力は、短期的には物理的吸着のみに

よるが、長期的には木炭表面の微生物も密接に関係すると考えられる。よって、微生物による浄化を利用すると、木炭の寿命を伸ばしたり、使用量を減らしたりして、コストを削減できる可能性がある。

微生物はその呼吸鎖の補酵素としてキノンを利用している。キノンは呼吸鎖や光合成電子伝達鎖の必須成分として生物界に広く分布しており、微生物が持つキノンの種類はそのエネルギー代謝機構や微生物種に依存するため、環境中の微生物からキノンを抽出してその組成を調べることで、その環境でのエネルギー代謝の酸化還元レベルや優占微生物種ならびに微生物群集構造を把握することが可能となる。キノンをバイオマーカーとして利用する微生物群集構造解析法であるキノンプロファイル法は、化学分析のみに基づいた手法であり、培養などの微生物学的な専門知識を必要としないため、比較的容易に利用可能であり、排水処理や底泥観測などの分野において微生物群集構造の評価に活用されている(藤田ら, 2002, 藤田ら, 2003)。

本研究では、農地排水を対象とした水質浄化装置に充填されている木炭表面に付着している微生物のキノン組成を利用して、木炭を利用した水質浄化装置内の微生物群集構造を評価するとともに、脱窒活性と関係の深いキノン種の特定を試みる。また、透明素材と遮光素材で作成した2種類の水質浄化装置を製作し光条件が脱窒活性に与える影響を評価した。

\* 農村環境部 水環境保全研究室

\*\* 茨城大学工学部

平成21年12月14日受理

キーワード：窒素除去, キノンプロファイル, バイオマーカー, 光条件, 水田排水

## II 実験方法

### 1 ライシメータでの水質浄化実験

ライシメータ (3 m × 3 m) に水質浄化装置を設置した (Fig.1)。図に示したとおり、ライシメータへは水田の真ん中から給水しており、水田の流出口 (水尻) に水質浄化装置を設置した。装置は2007年7月3日に設置した。水質浄化装置への流入直前の地点 (流入地点) と流出直後の地点 (流出地点) において定期的に採水した。採水したサンプル中の溶存態有機炭素 (DOC) 濃度、溶存態窒素 (DN) 濃度を測定した。

対象のライシメータでは、水稲移植後から中干しままではかけ流しで水管理されており、水田内の水深は水尻に設置された堰板 (欠口) 高さにより決定されていた。中干し後は間断灌溉がなされており、水田からの排水が降雨時を除いて観察されなかった。対象としたライシメータでは下方浸透が無い為、水質浄化装置内への流入水量は、水田への流入水量、降雨量、田面からの蒸発散量の差引とした。蒸発散量はMakkink式により気温と日射量を元に算出した (永井, 1993)。降水量、気温、日射量は、試験地に最寄りのアメダス (つくば) の値を使用した。

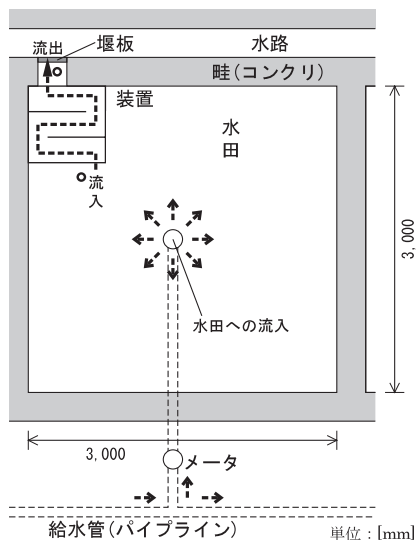


Fig.1 水質浄化装置の水田内への設置状況 (○: 採水地点)  
Set point of the water treatment apparatus in the paddy

### 2 水質浄化装置

水質浄化装置は幅 300mm × 奥行き 300mm × 高さ 300mm のアクリル製で、内部が中仕切りによって3段に分けられている (Fig.2)。上流側の段から順に木炭チップが見かけの容積率で 50% (第1段)、70% (第2段)、90% (第3段) の割合で充填されている。図に示したように、流入した水は木炭が充填された装置内部をジグザクに流れる。装置の開閉部と中仕切りの開口部にはナイロン網 (NB90) が張ってあるため、木炭の外部への流

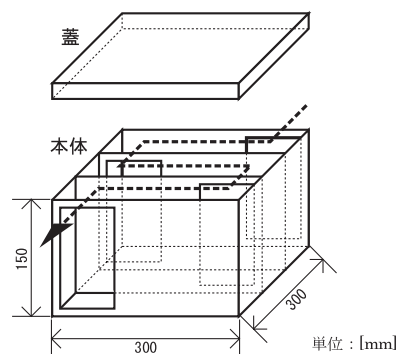


Fig.2 水質浄化装置の概要 (破線矢印は水の流れ)  
Outline of the Water treatment apparatus

Table 1 水質浄化装置に充填した木炭量  
Charcoal volume in the water treatment apparatus

	木炭の 体積充填率 [%]	木炭充填量	
		遮光 [kg]	透明 [kg]
1段	50	0.30	0.30
2段	70	0.40	0.42
3段	90	0.54	0.54

出や、装置内での偏在が生じない。また、取り外し可能な蓋により、装置上部からの水の侵入がない。装置は、透明なアクリルで作成したもの (以後は透明装置と表記) と光を通さない黒色アクリルで作成したもの (以後は遮光装置と表記) の2種類のライシメータに、それぞれを設置した。これは、硝化反応などの生物反応にかかる菌群などが光阻害を受けることが知られているためである。

Table 1 に水質浄化装置に充填した木炭の重量を示す。木炭は三浦ら (2007) により最も有機物除去能力が高いとされた 1050℃ で焼成されたスギの再生炭を利用した。また、水質浄化装置に充填した木炭は、水質浄化装置設置後に、装置から木炭の極細粒が流出するのを予防するために、蒸留水による洗浄で極細粒の木炭を除去した後、環境制御室 (30℃) において乾燥させたものである。乾燥後の木炭は含水率 6% であった。

### 3 脱窒活性確認試験

圃場に設置してある水質浄化装置から、装置の設置から約1ヶ月後 (2007年8月6, 7日)、約2ヶ月後 (2007年9月2, 3日)、約3ヶ月後 (2007年10月9, 11日) に微生物が付着している木炭を採取した。木炭は装置の第1段、第2段、第3段の3カ所から採取した。採取に際しては、装置上部からみて各段の中心位置において鉛直方向に偏りのないよう採取した。採取した木炭を湿潤状態で 100g を目安に、1L のガラス製三角フラスコに投入した。木炭が入った三角フラスコに活性試験用の基質を 300mL 添加した。実験中は窒素を通気し無酸素条

件を保持させ、液相を対流させた。実験中は、実験開始時、実験開始から1, 3, 6, 9時間後の計5回採水して、サンプル中の $\text{NO}_3^-$ -N濃度を測定した。

脱窒活性確認試験回分実験に使用した基質の組成は、基質1Lあたり $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ : 113.3 mg (45 mg-C),  $\text{KNO}_3$ : 101.1 mg (10 mg-N),  $\text{NH}_4\text{Cl}$ : 10.7 mg,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ : 1.82 mg,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ : 7.17 mg,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ : 9.0 mg,  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ : 1.4 mg,  $\text{KCl}$ : 3.6 mg,  $\text{EDTA}$ : 0.3 mg,  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ : 45  $\mu\text{g}$ ,  $\text{H}_3\text{BO}_3$ : 4.5  $\mu\text{g}$ ,  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ : 0.9  $\mu\text{g}$ ,  $\text{KI}$ : 0.9  $\mu\text{g}$ ,  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ : 3.6  $\mu\text{g}$ ,  $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ : 1.8  $\mu\text{g}$ ,  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ : 3.6  $\mu\text{g}$ ,  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ : 4.5  $\mu\text{g}$ とした。

#### 4 水質分析

水溶液中のDOC, 溶存態窒素濃度は、メンブレンフィルタ(孔径0.2 $\mu\text{m}$ , Advantec)でろ過した後のろ液中の濃度とした。DOCはTN測定器付きTOC計(TOC-V<sub>CPN</sub>, 島津製作所)でNPOCとして、 $\text{NO}_3^-$ -Nはイオンクロマトグラフ(DX-320, Dionex)で、DNはTN測定器付きTOC計(TOC-V<sub>CPN</sub>, 島津製作所)で分析した。

#### 5 キノン分析

脱窒活性確認実験と同時に、採取した木炭表面からキノンを抽出・測定した。キノンは乾燥重量を量った木炭にクロロホルム・メタノール混合液(2:1,v/v)を添加して一晩振とうして抽出した後、抽出液をロータリーエバポレータ(RE400, Yamato)にて乾固させた。乾固物をヘキサンで抽出した後、固相抽出カートリッジ(Sep-Pac Plus Silica, Waters)に吸着させた。固相抽出カートリッジに吸着させたキノンから、2%ジエチルエーテル・ヘキサン溶液によりメナキノンを、10%ジエチルエーテル・ヘキサン溶液によりユビキノンを回収した後、再度ロータリーエバポレータで乾固させた。乾固した各キノンをアセトンで回収した。アセトンで回収したキノンをODSカラム(HPLC Column ZORBAX ODS (4.6  $\phi$  × 250mm), Agilent Technologies)を装着した高速液体クロマトグラフィー(SCL-10AVP, 島津製作所)により分離して、フォトダイオードアレイ検出器(SPD-M10A, 島津製作所)によりメナキノンは270 nm, ユビキノンは

275nmの吸光度にて定量した。

木炭表面からキノン類は、キノンの含有量を木炭の単位重量当たりの含有量(抽出量)として整理した。

### III 結果

#### 1 水質浄化装置による浄化試験

Fig.3に、小型ライシメータに設置した水質浄化装置への流入水両と装置の上流側(流入)と下流側(流出)におけるDOCとDN濃度の変化を示す。装置への流入水量が安定していた2007年7月3日~19日では上流側と下流側の濃度の差から各物質の除去率を求めると、DOCでは透明装置が平均17.7%, 遮光装置が平均23.7%と、DNでは透明装置が平均11.3%, 遮光装置が平均23.2%と、遮光装置への流入水量が透明装置のそれに比較して多く、滞留時間が短かったにもかかわらず、DOC, DNともに高い除去率を達成していた。ここで、装置への流入水量が少なく、装置内の滞留時間がそれまでに比較して長くなった期間は除去率の計算対象から除外したが、装置の前後でDOC, DN濃度を比較した場合、遮光装置よりも透明装置を経ると各濃度の低下率が高い傾向が見られた。なお、9月3日以降は水田への灌漑水の供給がほとんどなかったため、装置内での水の水平方向の流れはわずかであったと考えられる。

#### 2 脱窒活性確認試験

回分実験により生物学的な反応である脱窒速度を測定した。木炭と $\text{NO}_3^-$ を含む基質を混合して無酸素条件とした脱窒活性確認試験において経時的な $\text{NO}_3^-$ -N濃度の低下を確認した。木炭は $\text{NO}_3^-$ をほとんど吸着しないと報告があるため(例えば、森・小野(1995)), これは装置内の木炭表面に付着した微生物が生物学的な脱窒活性を有していることを示しているといえる。また、実験開始から時間が経過するに従い $\text{NO}_3^-$ -N濃度やDOC濃度の低下速度、つまり、脱窒速度が低下している様子が観察されたため、本研究では実験毎に観測された最も高い脱窒速度を脱窒速度とした。Table 2に木炭重量当たりの脱窒速度をまとめる。表中での脱窒速度は木炭の乾

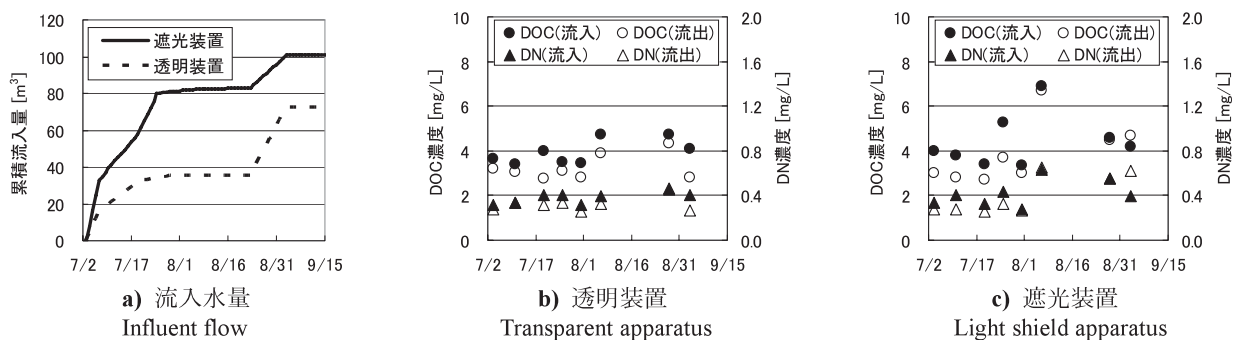


Fig.3 水質浄化装置への流入水量と水質浄化効果  
Water treatment activities of the water treatment apparatus

**Table 2** 回分実験による脱窒速度のまとめ  
Results of denitrification batch experiments

		1月後	2月後	3月後
透明装置	第1段	—	0.43	0.60
	第2段	—	0.42	0.38
	第3段	—	0.74	0.37
遮光装置	第1段	1.15	0.98	0.81
	第2段	1.33	0.44	0.69
	第3段	0.46	1.03	0.61

単位：[mg/g-SS/d]

乾燥重量当たりの速度とした。表中での脱窒速度は木炭の乾燥重量当たりの速度とした。透明装置の設置から1月後のデータは、試験において有意な $\text{NO}_3^-$ -N濃度の低下が確認されなかったためデータなしとした。木炭重量あたりの脱窒速度は、透明装置に比較して遮光装置が高い傾向にあった。

### 3 キノン分析結果

脱窒活性確認試験と同時に、水質浄化装置から採取した木炭表面からキノン類を抽出し、キノンの含有量を木炭の単位重量当たりの含有量（抽出量）で評価した。**Table 3**に木炭から抽出・測定したユビキノンとメナキノンを示す。一般に微生物は好気呼吸をする際にはユビキノンを、嫌気呼吸をする際にはメナキノンを利用すると言われている。ユビキノンは、遮光装置内の木炭表面に比較して、透明装置内の木炭表面から抽出されたキノン量が高い傾向にあった。呼吸レベルを示す指標として使用されるメナキノンとユビキノンのモル比であるMK/Q比は透明装置で1.41～3.38、遮光装置で1.49～5.13であった。2つの装置のMK/Q比に明確な差は見いだせなかった。MK/Q比は、一般的な水環境では0.14～0.54、

土壌環境では2.5～3.4との報告がある（平石，1992）。木炭表面の環境は、土壌環境に近い環境であると考えられる。

キノン分析の結果、3種類のユビキノンと11種類のメナキノンが検出・定量された。**Fig.4**に水質浄化装置各段の木炭から回収したキノンの分析結果を示す。透明装置第2段の3月後での優占キノンがQ-10だったことを除けば、透明装置と遮光装置ともに優占キノンはMK-6であった。また、透明装置では、ユビキノンは $Q-10 > Q-8 > Q-9$ となる傾向が、遮光装置では、 $Q-10$ と $Q-8$ が同程度に高く、次いで $Q-8$ となる傾向が見られた。メナキノンではMK-6、MK-7、MK-8、MK-8( $\text{H}_2$ )の含有量が高い傾向にあった。活性汚泥法などを利用した都市下水などの好気処理にみられる一般的な傾向として、ユビキノンの分布比率は $Q-8 > Q-10 > Q-9$ の順であり、メナキノンではMK-7やMK-8の優占頻度が高いとされており（平石，1992）、遮光装置と透明装置を比較すると遮光装置が活性汚泥のキノン構造に近いといえる。

## IV 考察

### 1 水質浄化装置内の微生物群集構造の変化

微生物の群集は、場所的、時間的に違いがあることが考えられる。キノンを利用した微生物群集構造解析では、非類似度という指標を利用して微生物群集の違いを定量的に評価されることが多い。そこで、キノン分析結果をもとに非類似度を算出した。非類似度(D)は式(1)に従い2試料間の同一キノン分子種についてモル%の差を絶対値として求め、全分子種におけるその値の総和(総計の最大値を100とするため2で割る)であり、プロファ

**Table 3** 木炭表面のキノンの含有量  
Quinone content on the Charcoal

		a) 透明装置 Transparent apparatus								
		第1段			第2段			第3段		
		1月後	2月後	3月後	1月後	2月後	3月後	1月後	2月後	3月後
ユビキノン	[mmol/kg]	202	252	169	346	287	191	136	497	59
メナキノン	[mmol/kg]	466	560	516	1139	970	269	251	1429	191
全キノン	[mmol/kg]	668	812	685	1485	1256	460	386	1926	250
MK/Q比	[-]	2.31	2.22	3.06	3.29	3.38	1.41	1.84	2.88	3.25
		b) 遮光装置 Light shield apparatus								
		第1段			第2段			第3段		
		1月後	2月後	3月後	1月後	2月後	3月後	1月後	2月後	3月後
ユビキノン	[mmol/kg]	124	230	98	170	85	74	100	53	69
メナキノン	[mmol/kg]	185	671	328	426	434	255	176	144	147
全キノン	[mmol/kg]	308	901	426	596	518	329	276	197	215
MK/Q比	[-]	1.49	2.91	3.34	2.51	5.13	3.45	1.77	2.74	2.14

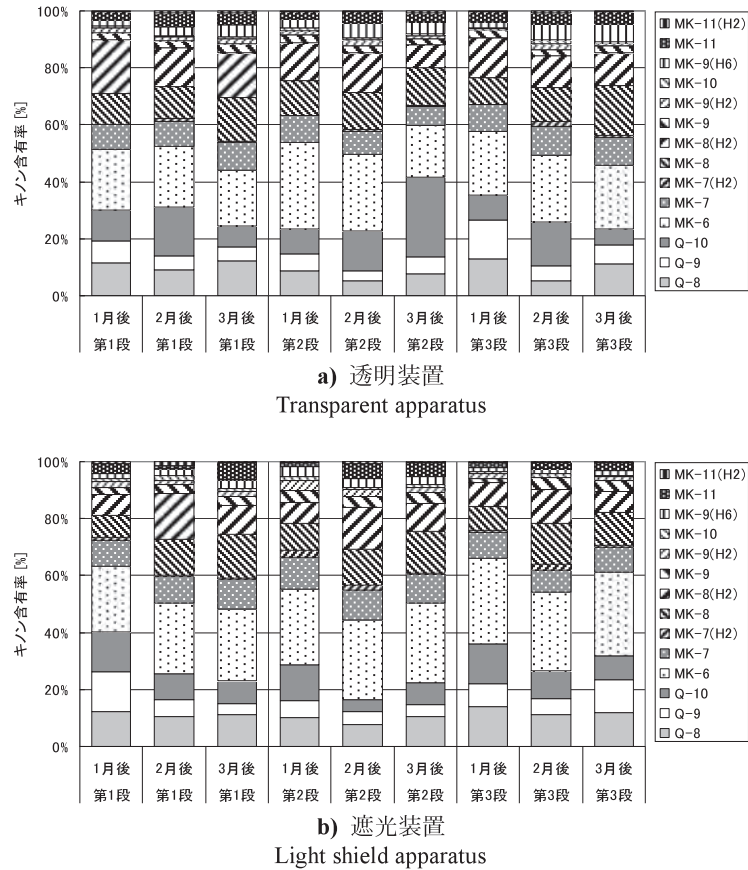


Fig.4 水質浄化装置内のキノン含有率  
Quinone content in the water treatment apparatus

イルの違いを定量的に評価できる。

$$D = \frac{\sum_{i=1}^n |Q_i - Q_i'|}{2} \dots \dots \dots (1)$$

ここで、 $Q_i$ ・ $Q_i'$ ：キノン成分  $i$  の物質質量 [モル%]， $n$ ：キノンの種類数。

Table 4 に水質浄化装置内の微生物群集の非類似度を示す。Table 4a には水質浄化装置の第1段，第2段，第3段の間の非類似度を，Table 4b には水質浄化装置内の時間変化による微生物群集の変化に対する非類似度を示した。D 値は 0～100 の値をとり，値が小さいほど類似性が高く，値が大きいほど類似性が低い。D 値が 20% を超えた場合には微生物群集構造に有意な差があるとされ，D 値が 10% 以下の場合には微生物群集構造に実質的な違いがないとされる。

同時期における水質浄化装置内の微生物群集構造の非類似度は小さく，3 月後の透明装置の第2段が第1段，第3段と微生物群集構造に有意な差が見られた以外は，同時期の装置内での微生物群集構造はどこでも類似性が高く，実質上の違いはないと考えられる。装置内の同位置における時間的な変化に関しても，透明装置の第2段で 23.1 という値がみられた以外は，他の非類似度の値は小さく，実質上微生物群集構造に違いがないと考えられる。つまり，透明装置，遮光装置ともに，それぞれの

装置の中の微生物群集構造は，場所的，時間的に安定しており変動が小さい。また，Fig.4 より遮光装置でのユビキノンの含有率は 1 月後に比較的高いものの，2 月後，3 月後には低くなる傾向が見られた。一方，透明装置でそうした傾向が見られるのは第3段のみであった。このことから，透明装置と遮光装置では，微生物群集構造の変遷には違いがあったといえる。

## 2 脱窒反応と微生物群集構造

脱窒速度とキノン組成を比較する場合，Table 2 に示した脱窒速度と Table 3 に示した木炭あたりのキノン含有率より，キノンあたりの脱窒速度に変換する必要がある。Table 5 にキノンあたりの脱窒速度を示す。ライシメータでの水質浄化試験では，流入水が連続的に供給されている条件では DN 除去率は遮光装置が高かったことから (Fig.3)，水質浄化装置のポテンシャルとしては，遮光装置の高い可能性がある。木炭あたりのキノンの含有率は透明装置が高い傾向にあったものの (Table 2)，Table 5 に示したキノンあたりの脱窒速度は遮光装置が高い傾向にあり，遮光装置内では脱窒反応に関与する微生物が優占的に存在していたと考えられる。しかしながら，装置内に流入水が流入せず，水が停滞するような環境では，透明装置での DN 除去率が高い傾向も見られたことから，そのような状況下ではライシメータに設置し

**Table 4** 水質浄化装置内の場所毎の非類似度  
Dissimilarity of quinone profiles in the water treatment apparatus

a) 装置内での場所の違いによる比較  
Comparison between differences of place

		透 明 装 置			遮 光 装 置		
		第1段	第2段	第3段	第1段	第2段	第3段
1 月 後	第1段	0.0			第1段	0.0	
	第2段	12.8	0.0		第2段	14.3	0.0
	第3段	10.1	13.5	0.0	第3段	10.7	12.1
		第1段	第2段	第3段	第1段	第2段	第3段
2 月 後	第1段	0.0			第1段	0.0	
	第2段	10.8	0.0		第2段	13.0	0.0
	第3段	9.1	7.4	0.0	第3段	10.3	13.5
		第1段	第2段	第3段	第1段	第2段	第3段
3 月 後	第1段	0.0			第1段	0.0	
	第2段	21.4	0.0		第2段	4.2	0.0
	第3段	8.8	22.6	0.0	第3段	13.8	11.1

b) 経過時間による変化  
Change by time

		透 明 装 置			遮 光 装 置		
		1月後	2月後	3月後	1月後	2月後	3月後
第 1 段	1月後	0.0			1月後	0.0	
	2月後	11.5	0.0		2月後	18.7	0.0
	3月後	11.6	13.0	0.0	3月後	18.9	11.1
		第1段	第2段	第3段	第1段	第2段	第3段
第 2 段	1月後	0.0			1月後	0.0	
	2月後	11.4	0.0		2月後	16.2	0.0
	3月後	23.1	19.2	0.0	3月後	12.2	8.4
		第1段	第2段	第3段	第1段	第2段	第3段
第 3 段	1月後	0.0			1月後	0.0	
	2月後	19.5	0.0		2月後	15.0	0.0
	3月後	14.9	14.5	0.0	3月後	10.0	12.0

**Table 5** キノン当たりの脱窒速度  
Denitrification rate per unit quinone

		1月後	2月後	3月後
透明装置	第1段	—	1.69	3.58
	第2段	—	1.46	2.00
	第3段	—	1.49	6.23
遮光装置	第1段	9.33	4.26	8.21
	第2段	7.81	5.15	9.37
	第3段	4.62	19.48	8.90

単位：g-N/mmol-quinone/d

た装置内での窒素除去機構には、本論文で対象としている生物学的脱窒反応とは別の現象の寄与が大きいことが示唆される。

次に、Table 5 に示したキノンあたりの脱窒速度に対する各キノンの相関関係を直線回帰により推定して、相関係数を算出した。解析の際には、透明装置と遮光装置

を区別せずに、両方の装置の結果をまとめて1セットのデータとして用いた。1セットのデータとして解析した理由は、両装置内で増殖する微生物が共に水田由来であることから、装置内に流入して装置内で増殖する微生物の種類は同じであり、それらの微生物群集の構造（組成割合）が変化することにより微生物あたり（ここではキノン当たり）の脱窒速度が変化していると考えられるからである。Table 6 に各キノンの平均、最小、最大含有率、脱窒速度に対する各キノン含有率の相関係数を示す。全体的に、個別のキノン含有率が脱窒速度との高い相関を示さなかった。その中でも、脱窒速度と正の相関が高かったのはQ-8、負の相関が高かったのはMK-7とMK-11であった。

さらに、脱窒速度確認実験により測定した脱窒速度を対象として、キノンの含有率を説明変数として式(2)に従い重回帰分析を変数増加法により実施した。

**Table 6** 脱窒速度に対するキノンの相関係数  
Correlation coefficients

	キノン含有率 [%]			相関係数
	平均	( 最小	- 最大 )	
Q-8	10.0	( 5.1	- 14.0 )	0.49
Q-9	6.3	( 3.6	- 13.9 )	-0.17
Q-10	11.7	( 4.1	- 28.0 )	-0.33
MK-6	24.9	( 18.1	- 30.1 )	0.08
MK-7	9.3	( 6.6	- 11.0 )	-0.64
MK-7(H <sub>2</sub> )	1.0	( 0.3	- 2.7 )	0.21
MK-8	12.6	( 7.7	- 17.7 )	0.02
MK-8(H <sub>2</sub> )	11.2	( 7.4	- 16.3 )	-0.13
MK-9	3.0	( 1.7	- 4.2 )	0.26
MK-9(H <sub>2</sub> )	1.6	( 0.0	- 3.4 )	-0.16
MK-10	1.0	( 0.4	- 2.0 )	0.29
MK-9(H <sub>0</sub> )	3.3	( 1.4	- 6.2 )	0.12
MK-11	3.6	( 1.0	- 6.2 )	-0.48
MK-11(H <sub>2</sub> )	0.5	( 0.2	- 1.3 )	0.05

$$DNR = \beta_0 + \beta_1 Q_1 + \beta_2 Q_2 + \dots + \beta_m Q_m \dots \dots \dots (2)$$

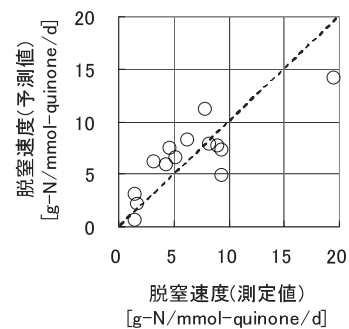
ここで、DNR：脱窒速度、 $\beta_i$ ：重回帰係数、 $m$ ：説明変数として使用したキノンの種類数。重回帰分析の際、説明変数同士の相関が高いと多重共線性が問題となる。そこで、各キノンの含有率同士の相関を調べた。相関係数の絶対値が0.5以上の場合に相関が高いと判断して、重回帰分析の際にその両方のキノンが説明変数とならないようにした。相関が高いキノンのどちらを説明変数とするかを選ぶ際には、平均含有率を比較してより高いキノンを説明変数とした。さらに、解析の結果で相関係数と重回帰係数の符号が一致しない場合には、変数の選定に問題があると判断して、変数から取り除いて再度解析を試みる変数減少法により脱窒速度に対する説明変数を決定した。解析を繰り返した結果、説明変数を Q-8, MK-6, MK-7(H<sub>2</sub>), MK-8 の4つとして下記式が得られた。

$$DNR = -27.86 + 1.10Q_{Q-8} + 0.40Q_{MK-6} + 3.57Q_{MK-7(H_2)} + 0.75Q_{MK-8} \dots \dots \dots (3)$$

**Fig.5** に得られた重回帰式により予測される脱窒速度と観測された脱窒速度の比較を、**Table 7** に重回帰分析の結果を示す。補正 R<sup>2</sup> が 0.51 であり、**Fig.5** に示した観測値と予測値の比較はまずまずの一致である。t 値は重回帰係数を標準偏差で除した値であるが、t<sup>2</sup> 値はいずれも 2 以上の値が得られた。MK-6 と MK-8 に対する P- 値が 0.15 と 0.06 とやや高い値を示したが、それ以外は 0.05 以下であった。信頼係数がやや小さかったが、解析の対象としたデータ数が説明変数に比較してそれ程大きくないことが理由と考えられる。重回帰分析により説明変数として採択された4種類のキノン種の重回帰係数は全て正の値であった。これらのキノン種は微生物群集の脱窒速度に大きく関係すると考えられる。説明変数とした

**Table 7** 脱窒速度に対する重回帰分析の結果  
Result of multiple linear regression analysis

	重回帰分析		
	係数	t値	P-値
Q-8	1.10	2.99	0.01
Q-9			
Q-10			
MK-6	0.40	1.56	0.15
MK-7			
MK-7(H <sub>2</sub> )	3.57	2.64	0.02
MK-8	0.75	2.10	0.06
MK-8(H <sub>2</sub> )			
MK-9			
MK-9(H <sub>2</sub> )			
MK-10			
MK-9(H <sub>0</sub> )			
MK-11			
MK-11(H <sub>2</sub> )			
切片	-27.86	-2.98	0.01
R <sup>2</sup>		0.65	
補正R <sup>2</sup>		0.51	



**Fig.5** 脱窒速度と観測値と重回帰分析による予測値の比較  
Comparisons between observed denitrification rate and values predicted by multiple linear regression analysis

キノンのうち Q-8, MK-6, MK-8 の3種の平均含有率は10%を超えておりキノン組成において主要なキノン種であったが、MK-7(H<sub>2</sub>)の平均含有率は1.0%と非常に小さかった。微生物のキノン含有総量が種別間で大きな差がないとすると、微生物群集のなかでの含有率がより高いキノンが、脱窒速度により大きく関係していると考えられるため、解析結果から Q-8, MK-6, MK-8 の3種のキノンが本装置内での脱窒速度と大きく関係すると考えられ、これらのキノン種を利用する微生物群が本水質浄化装置内での脱窒速度に強く関与していることを示している。

## V 結 言

木炭を利用した水質浄化装置の現地での水質浄化活性確認実験と、室内での脱窒速度確認試験により、水質浄化装置の活性を評価すると共に、装置内の微生物群集構

造をキノン組成で評価した。これらの結果を比較することにより、

- 1) キノンあたりの脱窒速度は透明装置に比較して遮光装置が高いこと、
- 2) 水質浄化装置の中の微生物群集構造は、場所的、時間的に安定しており変動が小さいこと、
- 3) Q-8, MK-6, MK-8 を含む微生物が水質浄化装置内での脱窒速度に大きく関与する可能性が高いこと

が示された。本研究により脱窒活性との強い関係が指摘されたキノン種を利用する微生物群が脱窒活性に直接的に関与する可能性が高く、脱窒活性の有用な指標となる可能性が高い。しかしながら、現段階では解析対象としたデータが限られており、今後、様々なサンプルを対象としてデータを蓄積することで精度を徐々に高めていく必要がある。

### 参考文献

- 1) 藤田昌史・古米弘明・中島典之 (2002) : ショ糖溶液を用いて比重分画した実下水処理リン除去汚泥のキノンプロファイル解析, 水環境学会誌, 25(12), 57-61.
- 2) 藤田昌史・鯉淵幸生・Udin HASANUDIN・小倉久子・藤江幸一・磯部雅彦 (2003) : 東京湾における水質動態と底質微生物群集構造の解析, 海岸工学論文集, 50, 996-1000.
- 3) 濱田康治・三浦 麻・吉永育生・人見忠良・高木強治 (2007) : 木炭を利用した水質浄化装置内の微生物群集構造, 平成 19 年度農業農村工学会大会講演要旨集, 618-619.
- 4) 平石 明 (1992) : 呼吸鎖キノンをバイオマーカーとして用いる廃水処理系微生物群集の動態解析, 水環境学会誌, 15, 558-563.
- 5) 三浦 麻・吉永育生・人見忠良・濱田康治・高木強治・白谷栄作 (2006) : 水田排水浄化実験における再資源炭使用量の検討, 平成 18 年度農業土木学会九州支部大会講演要旨集, 186-187.
- 6) 三浦 麻・白谷栄作・人見忠良・吉永育生・高木強治・濱田康治 (2007) : スギ再資源炭による難分解性溶存有機物の除去特性, 水環境学会誌, 30, 39-44.
- 7) 森 昭憲・小野信一 (1995) : 木炭の塩化鉄処理による硝酸イオンの吸着能の発現, 日本土壤肥料科学雑誌, 66(4), 415-417.
- 8) 永井明博 (1993) : Makkink 式による計器蒸発量の推定と考察, 水文・水資源学会誌, 6(3), pp.238-243.



# Comparison between Denitrification Activity and Quinone Content in the Water Treatment Apparatus for Paddy Drainage Treatment

HAMADA Koji, FUJITA Masafumi, HITOMI Tadayoshi,  
KUBOTA Tomijiro and SHIRATANI Eisaku

## Summary

Two apparatuses, a transparent apparatus and a light shield apparatus, for water conservation that uses charcoal media were adapted to remove nutrients from paddy field drainage. Quinone contents of microorganisms on the charcoal media in the water treatment apparatus were analyzed to compare the denitrification activity and quinone profiles. Q-8 content, the highest ubiquinone, had the strongest correlation coefficient between the denitrification rate and the detected ubiquinone. Three results as follows were obtained in this study.

- i) Denitrification rate per quinone in the transparent apparatus was higher than that in light shield apparatus,
- ii) Microorganisms community structure was stable toward time and place,
- iii) Ubiquinone Q-8, menaquinone MK-6 and/or menaquinone MK-8 containing microorganisms acted the important roll in the denitrification rate in the water treatment apparatus.

**Keywords :** nitrogen removal, quinone profiling, biomarker, light condition, paddy drainage