

生活排水の無終端水路反応槽における亜酸化窒素の動態と
抑制技術の構築に関する研究

Study on emission dynamics and mitigation strategy of nitrous oxide
in full-scale Carrousel reactor for domestic wastewater treatment

2023 年 3 月

大友 渉平

Shohei Otomo

目次

略語.....	IV
第1章 緒論.....	1
第1節 研究背景.....	1
第2節 下水道終末処理場の反応槽構造と N ₂ O の排出箇所.....	3
第3節 生物学的な N ₂ O の生成特性.....	6
第4節 生物反応槽の N ₂ O 排出に関する既往研究.....	8
第5節 本論文の研究目的と構成.....	11
第2章 下水処理場における DN ₂ O 排出量評価の重要性.....	12
第1節 はじめに.....	12
第2節 方法.....	13
2-2-1 対象処理場諸元および調査方法.....	13
2-2-2 分析方法.....	17
2-2-3 N ₂ O 排出量の算出方法.....	18
第3節 結果と考察.....	19
2-3-1 反応槽の水質と DN ₂ O 濃度.....	19
2-3-2 反応槽と処理水における N ₂ O 排出量の関係.....	22
2-3-3 処理水と放流河川における N ₂ O フラックスの関係.....	23
2-3-4 DN ₂ O 成分の重要性に関する考察.....	26
第4節 まとめ.....	29
第3章 無終端水路反応槽における N ₂ O 生成機構解析.....	30
第1節 はじめに.....	30
第2節 方法.....	31
3-2-1 対象処理場諸元.....	31
3-2-2 調査方法.....	34
3-2-3 DN ₂ O 分析方法の精度確認試験.....	35
3-2-4 測定および分析方法.....	35
3-2-5 機能遺伝子転写量解析のための DNA/RNA の抽出と定量方法.....	35
3-2-6 菌叢解析のための DNA 抽出と定量方法.....	37
第3節 結果と考察.....	38
3-3-1 DN ₂ O 分析方法の精度.....	38
3-3-2 無終端水路反応槽における窒素動態と DN ₂ O の関係.....	39
3-3-3 機能遺伝子転写量と窒素動態および DN ₂ O の関係.....	43
3-3-4 無終端水路内における菌叢の偏り.....	47
第4節 まとめ.....	49

第4章 無終端水路反応槽における N ₂ O 動態解析	50
第1節 はじめに	50
第2節 方法	51
4-2-1 調査方法	51
4-2-2 N ₂ O 排出量と排出係数の算出方法	53
4-2-3 N ₂ O 生成ポテンシャルの試験方法	57
4-2-4 N ₂ O 生成ポテンシャルの解析方法	59
第3節 結果と考察	60
4-3-1 DN ₂ O 濃度の長期変動	60
4-3-2 水路内の DN ₂ O 濃度勾配	63
4-3-3 DN ₂ O 濃度の経時変化	65
4-3-4 機械式攪拌における GN ₂ O 排出量の算出方法に関する考察	68
4-3-5 N ₂ O 排出量および排出係数の経日変動とその要因に関する考察	71
4-3-6 N ₂ O 生成ポテンシャルと N ₂ O 排出量の比較	76
第5節 まとめ	78
第5章 N ₂ O 抑制に向けた攪拌方法の検討	79
第1節 はじめに	79
第2節 方法	80
5-2-1 調査方法	80
5-2-2 調査期間中の攪拌方法	83
5-2-3 N ₂ O 排出量と排出係数の算出方法	83
5-2-4 短期 N ₂ O 生成動態試験の方法	84
5-2-5 N ₂ O 排出のシミュレーション方法	85
第3節 結果	88
5-3-1 流入 NH ₄ ⁺ 負荷の変動傾向	88
5-3-2 各攪拌方法における DN ₂ O 濃度の経時変化	89
5-3-3 短期 N ₂ O 生成動態試験の結果	91
5-3-4 シミュレーションによる N ₂ O 排出傾向の解析結果	93
第4節 考察	95
5-4-1 攪拌方法の違いが N ₂ O 動態に与える影響	95
5-4-2 N ₂ O 抑制および窒素除去促進のための攪拌方法に関する検討	97
5-4-3 反応槽流入地点が好気エリアである場合の攪拌方法に関する検討	99
第5節 まとめ	101
第6章 無終端水路反応槽の N ₂ O 抑制を目的とした運転方法の実証試験	102
第1節 はじめに	102
第2節 方法	102
6-2-1 調査方法および運転方法	102
6-2-2 N ₂ O 排出量と排出係数の算出方法	103

第3節 結果と考察	104
6-3-1 通常運転時の N ₂ O 排出傾向.....	104
6-3-2 N ₂ O 抑制運転の方針	107
6-3-3 N ₂ O 抑制運転時の N ₂ O 排出傾向.....	108
6-3-4 N ₂ O 抑制運転の評価	111
6-3-5 N ₂ O 抑制運転の水平展開	114
第4節 まとめ	115
第7章 総括および展望	116
第1節 総合考察	116
第2節 課題と今後の展望.....	119
謝辞.....	120
本研究に関する成果発表	122
参考文献	123

略語

BOD	生物化学的酸素要求量
CH ₄	メタン
CO ₂	二酸化炭素
COD _{Cr}	化学的酸素要求量（重クロム酸カリウムにおける酸化量）
COD _{Mn}	化学的酸素要求量（過マンガン酸カリウムにおける酸化量）
DIN	溶存態無機窒素
DN ₂ O	溶存態亜酸化窒素
DO	溶存酸素
DOC	溶存態有機炭素
ECD	電子捕獲型検出器
E _D	溶存態亜酸化窒素排出量
E _G	ガス態亜酸化窒素排出量
E _{G/In.TN}	ガス態亜酸化窒素排出量を流入窒素量で除した排出係数
E _T	ガス態亜酸化窒素排出量と溶存態亜酸化窒素排出量の合算値
E _{T/ΔDIN}	ガス態亜酸化窒素排出量と溶存態亜酸化窒素排出量の合算値を溶存態無機窒素除去量で除した排出係数
GN ₂ O	ガス態亜酸化窒素
HRT	水理学的滞留時間
IPCC	気候変動に関する政府間パネル
K _{La}	ガス移動容量係数
MLSS	活性汚泥浮遊物質質量
MLVSS	活性汚泥浮遊物質の強熱減量
N ₂	窒素
N ₂ O	亜酸化窒素
NH ₂ OH	ヒドロキシルアミン
NH ₄ ⁺	アンモニウムイオン
NO	一酸化窒素
NO ₂ ⁻	亜硝酸イオン
NO ₃ ⁻	硝酸イオン
Sc	シュミット数（流体の動粘度と拡散係数の比）
SRT	汚泥滞留時間
SS	浮遊物質質量
TN	全窒素

第 1 章 結論

第 1 節 研究背景

世界気象機関（World meteorological organization：WMO）の報告によると、代表的な温室効果ガスである二酸化炭素（CO₂）、メタン（CH₄）、亜酸化窒素（N₂O）は産業革命以前の 1750 年代から濃度が増加し続け、2021 年現在もその最高値を更新し続けている¹⁾。そのため、温暖化による悪影響は年々深刻な状況となっており、被害は生態系、感染症、食料などへ及んでいる²⁾。その中で、国連気候変動枠組条約第 26 回締約国会議（The 26th united nations climate change conference of parties：COP 26）では、2030 年までを「決定的な 10 年間」と位置づけ、産業革命からの気温上昇を 1.5 °C に抑えることがグラスゴー気候合意として正式に採択された³⁾。これにともない、温室効果ガス排出量削減に対する機運は一段と高まることが予想され、あらゆる分野において排出削減目標の再検討および削減計画の強化が必要になると考えられる。

上記の温室効果ガスの中で、N₂O は 100 年間での地球温暖化係数が約 300 倍で大気寿命も長く⁴⁾⁶⁾（表 1-1）、21 世紀最大のオゾン層破壊物質との報告もされている⁷⁾。さらに、大気中の濃度は 2021 年現在で 334.5 ppb であり、直近 10 年間の平均では 1.01 ppb yr⁻¹ の速度で増加しているのが現状である¹⁾。ここで、気候変動に関する政府間パネル（IPCC）の第 6 次評価報告書によると、N₂O の人為的排出量は 7.3 TgN yr⁻¹ であり、下水処理を含む排水由来のカテゴリでは 0.4 TgN yr⁻¹ と試算されている⁸⁾。排水由来の N₂O が全人為的排出に占める割合は決して高くはないものの、複数の研究⁹⁻¹¹⁾において IPCC の算出方法が過小評価である可能性を指摘しており、さらなるデータの蓄積が必要であることを言及している。

下水処理由来の温室効果ガス排出は、カーボンフットプリント（ライフサイクルを通じた全体的な温室効果ガス排出量）としてマクロな解析がされており^{12), 13)}、主な計上項目に、エネルギー使用（CO₂ 換算）、CH₄ の直接排出、N₂O の直接排出などがある。この中で、N₂O の直接排出は生物反応槽が排出源とされており、カーボンフットプリント値に大きく寄与することが報告されている¹⁴⁾。これは、表 1-1 に示すとおり N₂O の高い地球温暖化係数によってカーボンフットプリントへの感度が高くなるためであり¹²⁾、その割合は、海外の複数の下水処理場において 14% から 48%¹³⁾、わが国の汚泥焼却を行う下水処理場において 10%¹⁵⁾との報告がされている。そのため、生物反応槽の N₂O 排出を抑制する意義は大きく、生成機構の解析¹⁴⁾や排出動態の解析¹⁶⁾がヨーロッパやオーストラリアの下水処理場を中心に複数実施されている。また、フルスケールの下水処理場を対象とした研究により、実際に N₂O 排出を抑制した事例も報告されている¹⁷⁾。ただし、処理場ごとに N₂O 生成機構および排出動態が異なることから、統一された抑制方法は確立されていないのが現状である^{18), 19)}。

日本でも下水処理場からの温室効果ガス排出が懸念されたことから、「下水道における地球温暖化対策マニュアル」が、環境省および国土交通省より 2016 年 3 月に策定された²⁰⁾。各下水処理場では、これをガイドラインとし、温室効果ガス排出抑制の取組みが進められている。しかし、その内容は、設備更新によるエネルギー使用消費量の低減が主であり、カーボンフットプリントへの寄与が大きい生物反応槽の N₂O 排出に対する方針は策定されていない。

表 1 - 1 主要な温室効果ガスの大気寿命および地球温暖化係数

	大気寿命 ⁶⁾	地球温暖化係数 (100年値)		
	年	IPCC第4次 評価報告書 ⁴⁾	IPCC第5次 評価報告書 ⁵⁾	IPCC第6次 評価報告書 ⁶⁾
CO ₂	—	1	1	1
CH ₄	11.8	25	28	化石燃料 由来 29.8
				非化石燃料 由来 27.0
N ₂ O	109	298	265	273

第2節 下水道終末処理場の反応槽構造とN₂Oの排出箇所

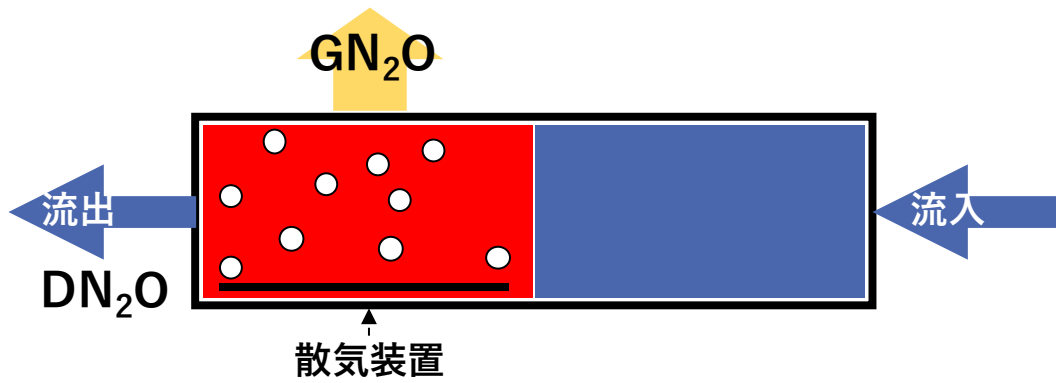
下水道終末処理場における反応槽の形式には、押し出し流れ式、回分式、無終端水路式などがある²¹⁾。図1-1に示す通り、押し出し流れ反応槽は、流入する排水が水路内をそのまま流下していく形式である。回分反応槽は、単一の反応槽内に排水が流入し、逐次的に好気・無酸素雰囲気を形成する方法である。

無終端水路反応槽は、排水量に比べて反応槽面積が大きく、溶存酸素(DO)濃度勾配が形成されている水路内を循環しながら流出していく形式である。特徴として、汚泥滞留時間(SRT)が長く、安定した水処理が可能である。この無終端水路反応槽は、主にオキシデーションディッチ法で採用されている全国で最多の反応槽形式であり²²⁾、地方都市の小規模処理場に多い傾向があることも報告されている²³⁾。また、秋田県においても最多の反応槽形式であり、県が管轄する5つの流域下水道終末処理場の内の4つ(大館処理センター、鹿角処理センター、大曲処理センター、横手処理センター)が最初沈殿池を有する無終端水路反応槽である(図1-2)。なお、図1-2に示す秋田県の流域下水道は主に生活排水を処理しており、無終端水路反応槽を採用している下水処理場での処理水量は、2021年度実績における算出値で24%を占める(表1-2)²⁴⁾。

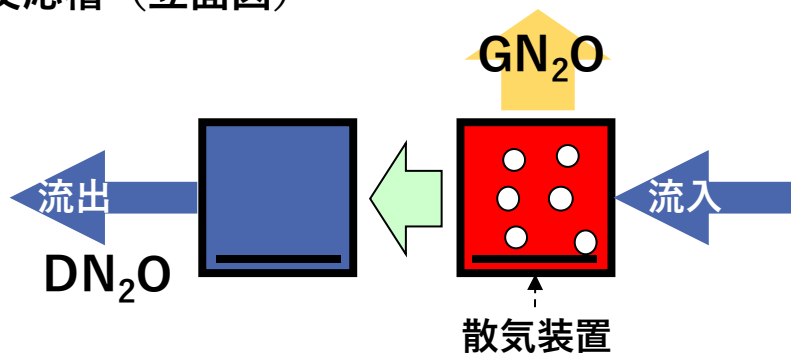
生物反応槽では、N₂Oは生物学的な硝化反応と脱窒反応による窒素除去の過程で生成される^{14), 16), 18), 25)}。そのため、当然ではあるが窒素除去が促進されていない反応槽ではN₂O排出量が低い。一方で、富栄養化の原因となる窒素の除去は、下水道の重要な役割であることから、窒素除去を促進しつつも、温室効果ガスでありオゾン層破壊物質でもあるN₂Oの排出を抑制することが求められる。ここで、硝化反応は好気、脱窒反応は無酸素で促進するため、反応槽において窒素除去を促進するためには、図1-1のように時空間的に異なるDO濃度エリアを形成する必要がある²¹⁾。なお、既存の全面曝気を行う押し出し流れ反応槽では、前段の曝気量を抑えて無酸素槽を形成する、疑似嫌気好気法により窒素除去を促進することが可能である²⁶⁾。

N₂Oはこの窒素の除去過程で溶存態亜酸化窒素(DN₂O)として生成される。生成されたDN₂Oは、DO濃度を調整する役割を担う、散気装置による曝気¹⁴⁾(図1-1(a)(b))や機械式攪拌機の攪拌²⁷⁾(図1-1(c))によって、ガス交換作用の促進により大気中にガス態亜酸化窒素(GN₂O)として排出される。一方で、N₂Oは水に溶けやすい性質があるため²⁸⁾、DN₂Oとして処理水に溶存する形で放流され、放流先の河川において間接的にガス化する事例も報告されている²⁹⁻³¹⁾。そのため、既往研究では、DN₂OもGN₂Oと同様にN₂O排出として計上されている場合もある¹⁵⁾。ただし、IPCCのガイドライン³²⁾および日本国温室効果ガスインベントリ³³⁾では、処理水中のDN₂Oは計上項目とされていないことから、DN₂Oを計上する重要性については十分な検討が必要と考えられる。なお、温室効果ガスインベントリとは、国ごとに取りまとめる年間の総温室効果ガス排出量のことである。算出方法としては、活動量に排出係数を乗じるのが基本的な計算式であり^{32), 34)}、わが国の下水処理場終末処理場のGN₂O排出量の算出には、活動量として処理水量が使用され、排出係数は処理形式によって異なる数値が使用されている³³⁾。

(a) 押し出し流れ反応槽 (立面図)



(b) 回分反応槽 (立面図)



(c) 無終端水路反応槽 (平面図)

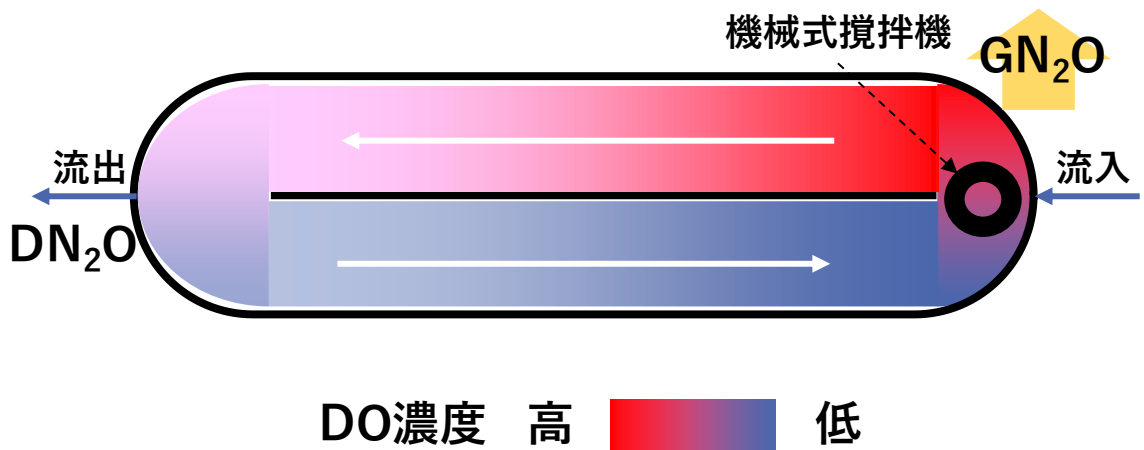


図1-1 下水道終末処理場の生物反応槽形式 ((a) 押し出し流れ (b) 回分 (c) 無終端水路) と N_2O 排出地点

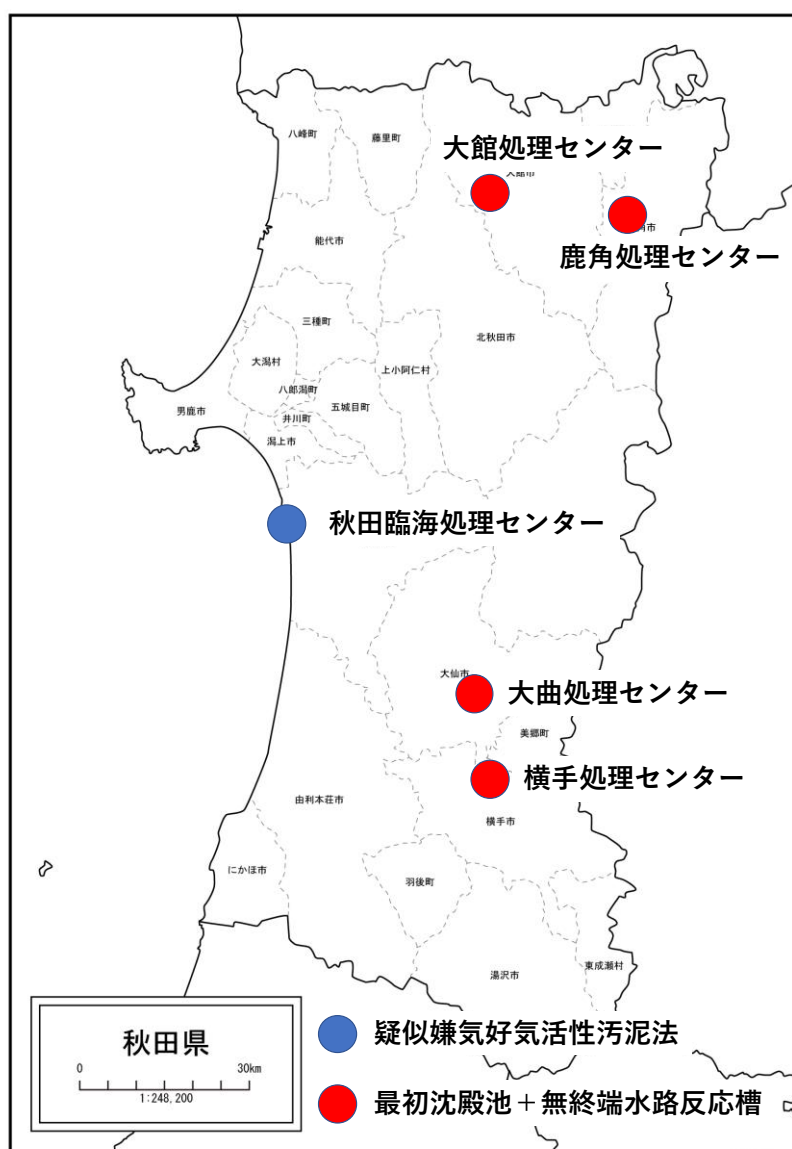


図 1 - 2 秋田県の流域下水道終末処理場

表 1 - 2 秋田県の流域下水道終末処理場の 2021 年度水処理実績²⁴⁾

	処理区域内人口 人	処理水量 $m^3 d^{-1}$	流入BOD $mg L^{-1}$
秋田臨海処理センター	363,700	113,300	160
大館処理センター	42,300	9,100	207
鹿角処理センター	16,700	4,100	177
大曲処理センター	41,600	10,200	150
横手処理センター	42,300	11,500	120

第3節 生物学的な N₂O の生成特性

図1-3に生物学的な硝化反応および脱窒反応による窒素の除去経路を示す。N₂Oの主な生成経路としては、アンモニウムイオン(NH₄⁺)を起源としたアンモニア酸化細菌によるヒドロキシルアミン(NH₂OH)酸化の副産物、亜硝酸イオン(NO₂⁻)を起源としたアンモニア酸化細菌による脱窒の最終生成物、NO₂⁻や硝酸イオン(NO₃⁻)を起源とした従属栄養細菌による脱窒の中間生成物があり、それぞれNH₂OH酸化経路、硝化菌脱窒経路、従属栄養細菌脱窒経路と呼称されている^{14), 16), 18), 25)}。各経路の進行はDOによる支配が大きく、NH₂OH酸化経路は高DO濃度におけるN₂O生成への寄与率が高く³⁵⁾、実処理場においてDO濃度とN₂O排出量に正の相関がみられた事例が報告されている¹⁷⁾。硝化菌脱窒経路はDO濃度が1 mg L⁻¹付近³⁶⁾、0.5 mg L⁻¹から1.0 mg L⁻¹³⁷⁾、0.05 mg L⁻¹から0.2 mg L⁻¹³⁸⁾でN₂O生成速度が最大、もしくは1.0 mg L⁻¹を超えるとN₂O生成速度が安定すると報告され³⁵⁾、いずれの事例でも、好気条件でN₂O生成が促進するものの、生成速度とDO濃度が単純な比例関係ではないことが報告されている。従属栄養細菌脱窒経路は無酸素条件下で促進し、わずかな酸素の存在がDN₂O蓄積につながることを報告されている^{37), 38)}。そのため、既往の研究では、DOがN₂O生成に与える影響が最も大きい操作因子であることを言及している¹⁴⁾。なお、従属栄養細菌の脱窒反応はN₂O生成よりも2倍から10倍のN₂O削減能力を有する³⁹⁾ことから、N₂Oの掃除屋、いわゆるN₂Oスカベンジャーとしての認識もされている¹⁸⁾。

その他のN₂O生成に影響を与える処理場の操作因子としては、水温、SRT、活性汚泥浮遊物質質量(MLSS)などが報告されている。活性汚泥のN₂O抑制に適した水温は25℃から30℃であり¹⁸⁾、低水温ではN₂O還元酵素が不活化されてDN₂Oが蓄積する傾向にある²⁵⁾。長いSRTは完全アンモニア酸化細菌(NH₄⁺からNO₃⁻までの硝化に関与する機能遺伝子を有する細菌)の増加およびNO₂⁻とN₂Oの還元を担う細菌の増加につながり、これらがN₂O抑制に寄与することが報告されている³⁸⁾。MLSSは反応槽中の微生物量を示す指標であり、上記のN₂O抑制に寄与する細菌量が増加することで、N₂O排出量と負の相関関係が生じることが報告されている⁴⁰⁾。なお、MLSSの強熱減量(MLVSS)も同様に微生物量を示す指標であるとともに、MLSSの非揮発性無機物質を除いた数値であることから、実際の微生物量により近い数値であると言える。

水質では、流入窒素および有機物負荷がN₂O生成に影響を与えることが報告されている^{14), 16), 18), 41)}。流入窒素負荷は、基本的にN₂O排出量を増加させる重要なパラメータであり¹⁴⁾、海外では温室効果ガスインベントリを算出する際の活動量として使用されている³²⁾。有機物は、電子供与体として従属栄養細菌のN₂までの完全他脱窒を促進するため、十分な有機物がある場合にN₂O排出を抑制できることが示唆されている¹⁸⁾。既往研究では、この有機物負荷と窒素負荷の比で表されるC/N比について解析されており、この値が低い場合にN₂O排出量が増加する可能性が高いことを報告している^{18), 41)}。

反応槽中の水質に関しては、NO₂⁻が硝化菌脱窒および従属栄養細菌脱窒経路の実質的な前駆体であり¹⁸⁾、N₂O生成に関与する重要な物質であると言及されている^{14), 18), 41), 42)}。わが国では、NO₂⁻濃度が週試験(1週間に1回程度行う試験)の対象項目となっていることから⁴³⁾、NO₂⁻濃度とN₂O排出に関係性がみられる場合は、N₂O排出量の目安としての役割も期待される。

その他に、降雨⁴⁴⁾や気候⁹⁾などの環境条件がN₂O排出に影響することも報告されており、これらが相互に影響しあう中で排出量が増減すると考えられる。既往の研究では、上記のパラメータが非定常であるフルスケールプラントにおいて、N₂O排出量に大きな日変動と季節変動が生じることが報告されており⁴⁵⁻⁴⁷⁾、N₂O排出量を正確に捕捉するためには高頻度の連続モニタリングおよび長期的なモニタリングが必要であると言及されている¹⁶⁾。

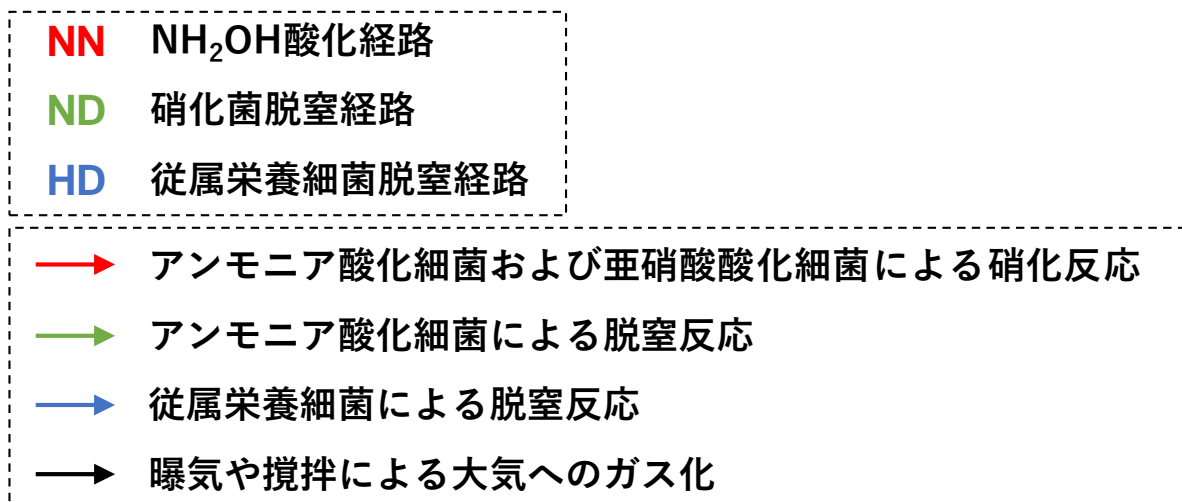
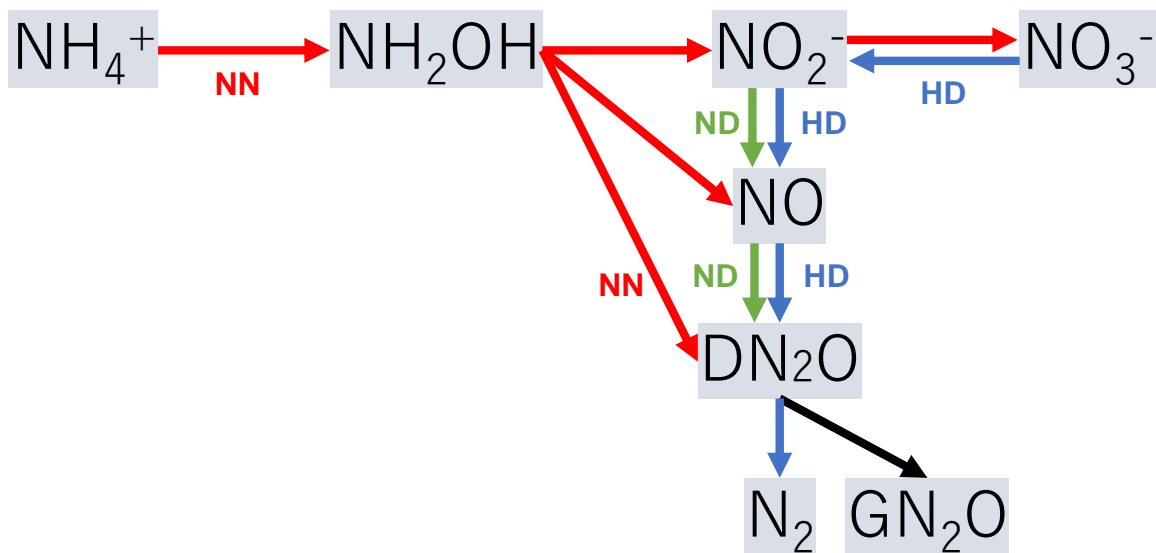


図1-3 生物学的な窒素除去過程におけるN₂O生成経路

第4節 生物反応槽のN₂O排出に関する既往研究

表1-3にフルスケールの押し出し流れ反応槽^{9), 45), 46), 48-51)}と回分反応槽^{9), 17), 52), 53)}を対象としたN₂O排出に関する主要な既往研究の一覧を示す。押し出し流れ反応槽はN₂O排出量が多く、回分反応槽は排出係数が高い傾向にあるため¹⁶⁾、これらのN₂O排出を抑制する意義は大きく、センサーを導入した高頻度の連続測定が複数実施されている。さらに、曝気量の適正化によるN₂O抑制の実証試験も実施されている^{17), 50), 53)}。

一方で、フルスケール無終端水路反応槽を対象としたN₂Oの研究事例は、押し出し流れや回分反応槽と比較して少なく、非連続モニタリング調査や^{15), 27)}、前段に押し出し流れ式反応槽を備えた無終端水路⁴⁷⁾、並列した無終端水路への間欠流入形式⁵⁴⁾、などのやや特殊な形式における連続モニタリング調査に限られている(表1-4)。そのため、一般的なフルスケール無終端水路反応槽におけるN₂O排出の実態は把握できておらず、連続モニタリング調査による知見の蓄積が必要である。ただし、パイロットスケール無終端水路反応槽における研究事例は複数報告されており^{37), 38), 40), 55), 56)}、N₂O抑制に向けた知見が蓄積してきている(表1-5)。中でも、Sunら⁵⁶⁾は無終端水路反応槽への流入地点と攪拌地点の位置関係を最適化することでN₂O排出量が低下することを報告している。具体的には、流入付近に低DO濃度エリアを形成する攪拌方法により、流入有機物を電子供与体としたN₂までの完全脱窒が促進され、N₂O排出を抑制できるという方法である(図1-4)。これは、新たな設備の導入に頼らず、既存の施設における攪拌方法の工夫によりN₂O抑制が可能であることを示唆している。ただし、無終端水路反応槽では、DO濃度³⁷⁾、SRT³⁸⁾、窒素と有機物の流入負荷量⁴⁰⁾などもN₂O排出量に影響することが報告されており、これら変動するフルスケール無終端水路反応槽での、Sunら⁵⁶⁾の方法の有用性は不明である。

表 1 - 3 フルスケールの押し出し流れおよび回分式反応槽における N₂O 排出に関する
 主要な研究の一覧

反応槽形式	国	測定方法	内容	参考文献		
押し出し流れ	イギリス	連続	動態把握	Aboobakar et al.	2013	48)
回分	スウェーデン	連続	動態把握	Stenström et al.	2014	52)
回分	スペイン	連続	実証試験	Rodriguez-Caballero et al.	2015	53)
押し出し	フィンランド	連続	動態把握	Kosonen et al.	2016	46)
押し出し	イタリア	連続	動態把握	Spinelli et al.	2018	49)
押し出し	日本	連続	動態把握	Jia et al.	2019	45)
押し出し	アメリカ	連続	実証試験	Wen et al.	2020	50)
回分	オーストラリア	連続	実証試験	Duan et al.	2020	17)
押し出し流れ、 回分など	スイス	連続	動態把握	Gruber et al.	2021	9)
押し出し	ポルトガル	連続	動態把握	Dias et al.	2022	51)

表 1 - 4 フルスケール無終端水路反応槽における N₂O 排出に関する主要な研究の一覧

反応槽形式	国	測定方法	内容	参考文献		
無終端水路	オーストラリア	非連続	動態把握	Ye et al.	2014	27)
押し出し流れ+ 無終端水路	オランダ	連続	動態把握	Daelman et al.	2015	47)
無終端水路	日本	非連続	動態把握	Masuda et al.	2018	15)
無終端水路 (間欠流入)	デンマーク	連続	実証試験	Chen et al.	2019	54)

表 1-5 パイロットスケール無終端水路反応槽における N₂O 排出に関する主要な研究の一覧

国	測定方法	内容	参考文献
中国	非連続	攪拌と流入の位置関係	Sun et al. 2015 56)
中国	非連続	操作エラー時の動態	Zheng et al. 2015 37)
中国	非連続	HRT、SRT変動の影響	Zhou et al. 2019 38)
中国	非連続	流入負荷変動の影響	Zheng et al. 2021 40)
中国	非連続	バイオオーグメンテーション	Tian et al. 2021 55)

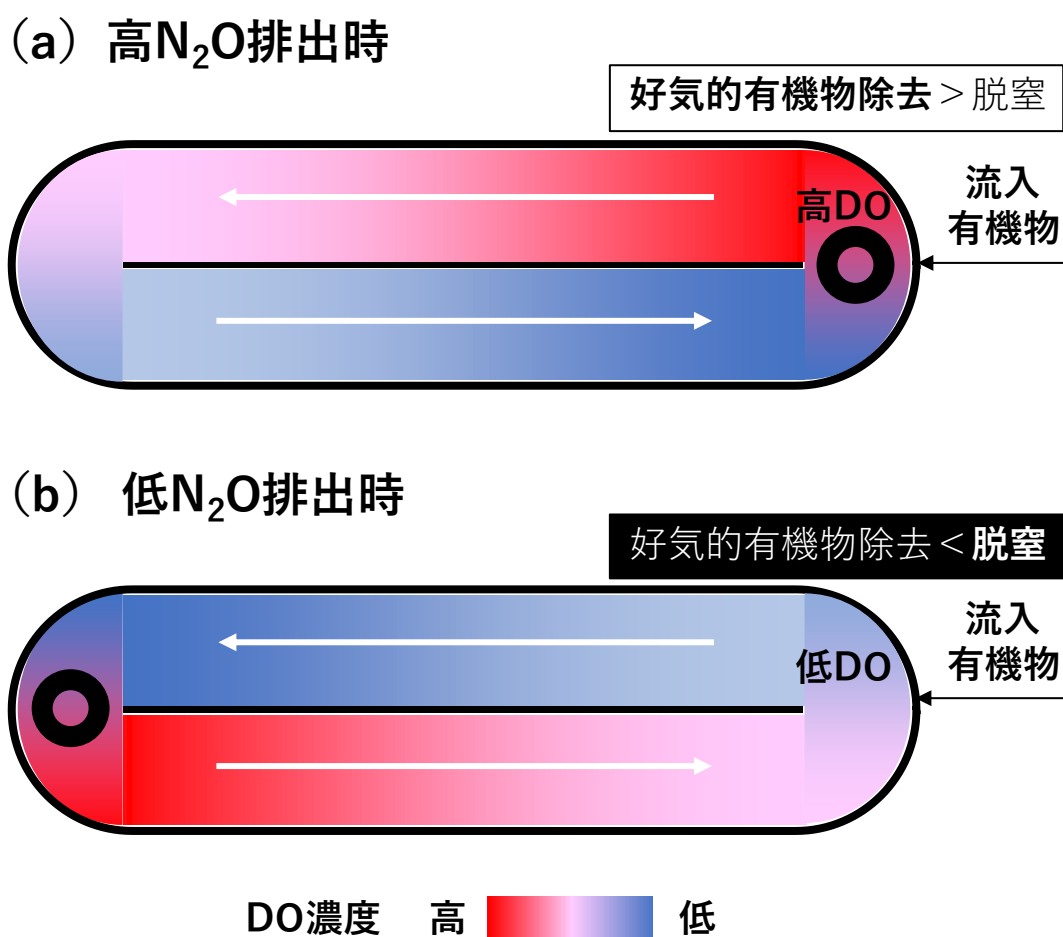


図 1-4 パイロットスケール無終端水路反応槽での既往研究⁵⁶⁾における流入と攪拌の位置関係で N₂O 排出量が異なるイメージ ((a) 高 N₂O 排出時の攪拌条件 (b) 低 N₂O 排出時の攪拌条件)

第5節 本論文の研究目的と構成

本章第1節から第4節に記載した背景に鑑み、本研究では日本最多の反応槽形式であるものの、 N_2O 排出の実態が不明で、その抑制技術も構築されていない無終端水路反応槽に着目した。そして、フルスケール無終端水路反応槽における N_2O 動態を明らかにし、 N_2O 排出抑制を可能とする運転条件を確立することを目的とした。初めに中規模の生活排水処理場での現地調査によって、下水処理施設からの N_2O 排出の評価方法を確立し、次に、フルスケールの無終端水路反応槽を対象として、 N_2O の生成機構と排出動態を調査解析した。最終的に、無終端水路反応槽を対象とする N_2O 抑制運転の実証試験を行った。

なお、 N_2O 抑制の方針としては、前節に記載した Sun らの研究⁵⁶⁾をはじめとしたパイロットスケール無終端水路の研究結果^{37), 38), 40), 55)}に着目し、流入地点と攪拌の位置関係の最適化や、流入負荷に対して適切な攪拌を行うことを基軸とした。また、一般的に排水処理由来の N_2O 排出を抑制する場合は、同時に窒素除去を促進させることが前提であり⁵⁰⁾、フルスケールの回分反応槽では DO 濃度の制御によって N_2O 排出抑制と窒素除去を同時達成した事例が報告されている¹⁷⁾。したがって、本研究でも N_2O 抑制と窒素除去の同時達成を目指した。以下に本論文における各章の主な内容を記載する。

第2章では、下水処理場終末処理場から排出される DN_2O 排出量評価の重要性を明らかにするため、フルスケールの下水処理場とその放流先河川を対象とした N_2O 排出の体系的な評価を行った。なお、第2章ではいわゆる中規模処理場（処理水量：10,000 $\text{m}^3 \text{d}^{-1}$ から 50,000 $\text{m}^3 \text{d}^{-1}$ ）に該当し⁵⁷⁾、標準活性汚泥法（対象とした施設は前段の曝気量抑えた疑似嫌気好気法により硝化を促進）で水処理を行う実処理場を対象とした。

第3章から第6章までの研究においては、秋田県大仙市に位置し、主に生活排水を処理する大曲処理センターの無終端水路反応槽を調査対象とした。第3章では、無終端水路反応槽における N_2O 生成機構を明らかにするため、 DN_2O を含めた窒素化合物などの水質解析、硝化および脱窒に関わる活性汚泥細菌叢の機能遺伝子転写量解析、活性汚泥細菌の 16S rRNA 遺伝子のアンプリコン解析を行った。

第4章では、無終端水路反応槽における N_2O 動態を明らかにするため、約14カ月にわたる非連続モニタリング調査と約1カ月の連続モニタリング調査による DN_2O 濃度測定を行った。また、活性汚泥が有する N_2O の最大生成能力、いわゆる N_2O 生成ポテンシャルを測定する室内試験を実施し、実反応槽における N_2O 排出量との関係を解析した。

第5章では、無終端水路反応槽における N_2O 抑制に向けた攪拌方法を検討するため、複数の攪拌条件を試行した場合の DN_2O 濃度の連続測定を行った。また、水質と N_2O 生成との関係を明らかにするための、実反応槽の水処理条件を想定した室内試験を行った。さらに、実処理場の反応槽構造を組み込んだ活性汚泥モデルによるシミュレーション解析を行った。これらを総括し、 N_2O 抑制と窒素除去の同時達成を可能とする攪拌機の運転方法を提案した。

第6章では、第5章で提案された N_2O 抑制運転の実証試験を行い、その効果について定量的な評価を行った。

第7章では、本研究の総合的な考察を行うとともに、本研究における課題と今後の展望について記載した。

第2章 下水処理場における DN₂O 排出量評価の重要性

第1節 はじめに

あらゆる分野における温室効果ガス排出量は、温室効果ガスインベントリとして国連気候変動枠組条約（United nations framework convention on climate change：UNFCCC）に基づいた事務局へ提出される³³⁾。わが国における下水道終末処理場に関連する N₂O 排出は、反応槽からの直接発生が対象である水処理プロセス、汚泥濃縮タンクおよび脱水機室などから大気中に排出される汚泥処理プロセス、放流された窒素が N₂O に変換し大気中に排出される処理後排水などがインベントリの算定対象となっている⁵⁸⁾。一方で、処理水を經由した DN₂O は対象となっていない。

既往研究では、窒素除去が促進されている下水処理場において、処理水中の DN₂O 排出量が水処理プロセス全体の N₂O 排出量に占める割合を試算しており、疑似嫌気好気法で 47.2 %（処理水濃度：29.1 μgN₂O L⁻¹ から 272.3 μgN₂O L⁻¹）、循環式硝化脱窒法で 14.3 %（処理水濃度：9.9 μgN₂O L⁻¹ から 107.1 μgN₂O L⁻¹）、多段硝化脱窒法で 21.2 %（処理水濃度：15.3 μgN₂O L⁻¹ から 19.9 μgN₂O L⁻¹）と、いずれも DN₂O 排出が無視できない割合となっている⁵⁹⁾。この際、処理水中の DN₂O 濃度は、大気平衡濃度（大気濃度 334.5 ppb¹⁾・水温 20 °C において 0.55 μgN₂O L⁻¹）に比べて 1 から 3 オーダー程度高く、基本的に過飽和状態であるため、処理水中の DN₂O はガス化しやすい状態にあると考えられる。実際に、既往の研究では、処理水が放流に至るまでの管路内で DN₂O がガス化した事例が報告されている⁶⁰⁾。さらに、放流先の河川における DN₂O フラックスの増加に寄与し、その河川において間接的にガス化する事例も報告されている²⁹⁻³¹⁾。

以上より、下水処理場由来の DN₂O 成分はインベントリとしては算定項目に該当していないものの、放流までの管路や放流先河川においてガス化する可能性があることは、GN₂O 排出と同様に計上する必要があることを示唆している。ただし、上記した既往研究は、下水処理場⁵⁹⁾か放流先河川²⁹⁻³¹⁾、⁶⁰⁾のいずれかを中心とした調査の結果であり、処理水中の DN₂O を評価項目とする重要性は示されていない。そのため、処理場と放流先を包括的に調査し、DN₂O 成分の評価項目としての重要性を検討する必要がある。

そこで本研究は、窒素除去を促進する中規模の下水処理場終末処理場（処理水量：10,000 m³ d⁻¹ から 50,000 m³ d⁻¹⁵⁷⁾）の水処理工程と、その放流河川を対象とした包括的な調査を行い、一体的な N₂O 排出動態を示すことで、DN₂O 成分を計上する重要性を明らかにすることを目的とした。

第2節 方法

2-2-1 対象処理場諸元および調査方法

本章では、宮城県の下水处理場である T 浄化センターと、処理水の放流河川である T 川を調査対象とした。図 2-1 に対象フィールドの簡略図および調査地点を、表 2-1 に T 浄化センターの 2014 年度水処理実績を示す。T 浄化センターの水処理工程は沈砂池、最初沈殿池、反応槽、最終沈殿池、消毒槽からなり、反応槽は流下方向で第一槽、第二槽、第三槽、第四槽と 4 つに区切られている。T 浄化センターは既存の押出し流れ反応槽を活用した疑似嫌気好気法を採用している²⁶⁾。具体的には、第一槽、第二槽を弱曝気の無酸素槽にするとともに、硝化液を汚泥とともに無酸素槽に返送する（汚泥返送率を 100%と設定）ことで、硝化反応および脱窒反応を促進させて窒素除去を行っている（表 2-1）。

放流先河川の T 川（図 2-2）は一級河川で、調査定点の川幅は約 5 m である。流域の主な土地利用形態は水田、畑地であり、処理水の流入地点から約 77 m 下流左岸の用水路から農業用水が流入している。

調査は 2013 年 9 月 11 日、2013 年 12 月 3 日、2014 年 9 月 2 日に、いずれも 13 時から翌日の 13 時まで実施した（表 2-2）。2013 年の調査は、T 浄化センター全体と T 川からの N_2O 動態を解析することを目的として、両者の一体的な調査を行った。 GN_2O 濃度測定用のガスサンプルは、沈砂池、最初沈殿池、汚泥処理棟の脱臭ダクト、第四槽末端で各 1 つ、 DN_2O および水質測定用の水サンプルは第四槽末端、処理水、T 川の上流、下流、用水路で各 3 つ採取した。

2014 年の調査は、反応槽における GN_2O 排出量と処理水の DN_2O 排出量の関係を解析することを目的とし、反応槽と処理水を対象とした詳細調査を実施した。 GN_2O 濃度測定用のガスサンプルは第三槽末端、第四槽末端で各 1 つ、 DN_2O および水質測定用の水サンプルは第三槽末端、第四槽末端、処理水で各 1 つ調査時間に採取した。なお、第一槽、第二槽は弱曝気であり、 DN_2O のガス化量は第三槽、第四槽に比べてはるかに少ないと考え、反応槽全体の曝気は全て第三槽、第四槽におけるものと仮定した。また、2013 年と 2014 年の反応槽におけるサンプル採取は、3 系統に分かれている（1 系、2 系、3 系）内の 2 系を対象とした。

サンプルの採取方法は既往の研究にしたがった^{61), 62)}。反応槽のガスサンプルは大気開放したチャンバーを活性汚泥混合液水面に浮かべ（図 2-3）、曝気により大気拡散するガスサンプルをアルミガスバックに採取した。沈砂池と最初沈殿池および汚泥処理棟のガスサンプルはダクトから直接アルミガスバックに採取した。各調査地点の水サンプルはバケツまたは柄杓を用いて採取した。なお、ろ過サンプルは調査現場にて $0.45 \mu\text{m}$ セルロース混合エステルメンブレンフィルター（SLHA025NB、Merck 社）を用いて作製した。

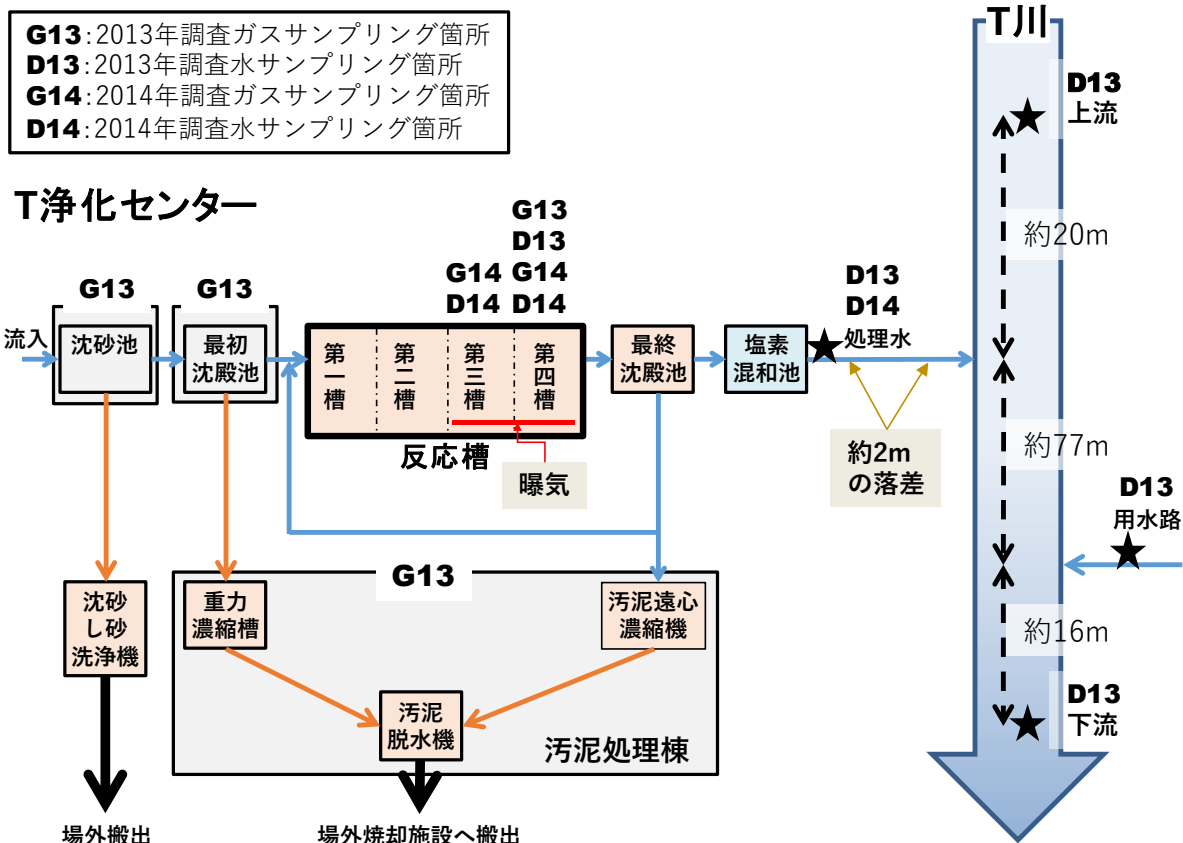


図 2 - 1 T 浄化センターおよび T 川の簡略図と調査地点

表 2 - 1 T 浄化センター-2014 年度水処理実績

2014年度水処理実績 (平均値)	
計画処理人口	71,700 人
流入下水量	28,000 m ³ d ⁻¹
汚泥返送率	100 %
HRT	8.3 h
SRT	16 d
BOD容積負荷	0.25 kg m ⁻³ d ⁻¹
BOD-SS負荷	0.12 kg kg ⁻¹ d ⁻¹
MLSS	2,000 mg L ⁻¹
BOD除去率	99 %
COD _{Mn} 除去率	92 %
TN除去率	76 %

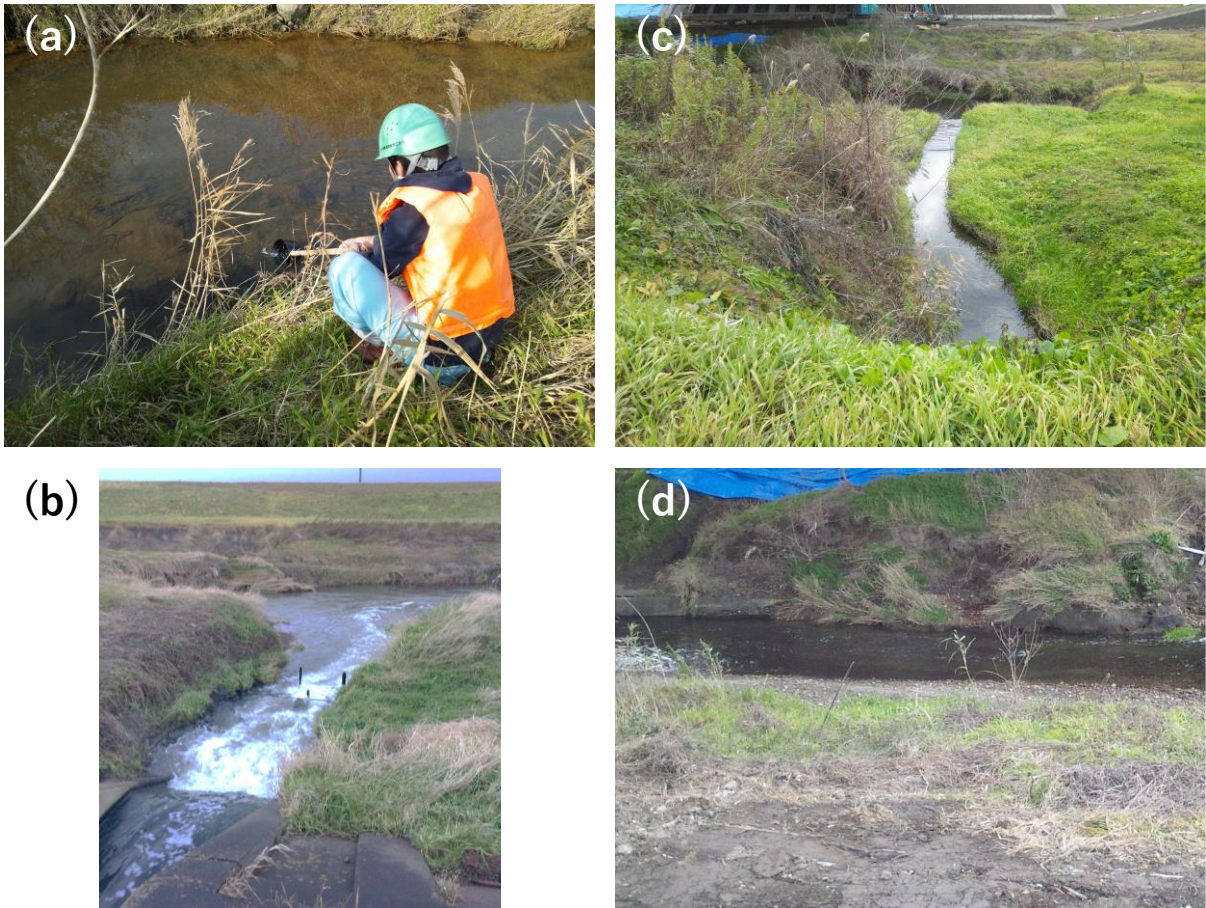


図 2 - 2 T 川の (a) 上流調査地点 (b) T 浄化センター処理水との合流地点
(c) 農業用水路調査地点 (d) 下流調査地点
(各調査地点は図 2 - 1 参照のこと)

表 2-2 T 浄化センターと T 川の調査項目およびスケジュール
(各調査地点は図 2-1 参照のこと)

	2013年調査 (9月11日、12月3日)						2014年調査 (9月2日)						
	T 浄化センター					T 川		T 浄化センター					
	沈砂池 最初沈殿池 汚泥処理棟	第四槽			処理水		上流 用水路 下流	水質	第三槽 第四槽			処理水	
	GN ₂ O	GN ₂ O	DN ₂ O	水質	DN ₂ O	水質	DN ₂ O	水質	GN ₂ O	DN ₂ O	水質	DN ₂ O	水質
13:00	—	—	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
14:00	○	○	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
15:00	—	—	—	—	—	—	—	—	○	○	○	○	○
17:00	—	—	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
21:00	—	—	—	—	—	—	○	○	—	—	—	—	—
1:00	—	—	—	—	—	—	○	—	—	—	—	—	—
5:00	—	—	—	—	—	—	○	○	—	—	—	—	—
9:00	—	—	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
10:00	○	○	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
11:00	—	—	—	—	—	—	—	—	○	○	○	○	○
13:00	—	—	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○



図 2-3 反応槽における GN₂O サンプルの (a) 採取用チャンバー (b) 採取箇所

2-2-2 分析方法

水質は、オートクレーブ分解装置付オートアナライザー (AA-II、ビーエルテック株式会社) を用いて全窒素 (TN) 濃度、オートアナライザー (QuAAtro2-HR、ビーエルテック株式会社) を用いて NH_4^+ 、 NO_2^- 、 NO_3^- 濃度を分析した。また、調査現場では蛍光式 DO センサー (HQ30d、Hach 社) を用いて DO 濃度と水温、ポータブル pH センサー (HM-30P、東亜ディーケーケー株式会社) を用いて pH、プロペラ式流速計 (VR-301、株式会社ケネック) を用いて河川の流速を測定、熱線式風速計 (AM-4204HA、株式会社アイ電子技研) を用いて沈砂池と最初沈殿池および汚泥処理棟の風速を測定した。

N_2O は電子捕獲型検出器 (ECD) ガスクロマトグラフ (GC-14B、島津製作所) で分析し、カラムには Porapak Q 80 (ジーエルサイエンス株式会社) を用いた。カラム、注入口、検出器の温度はそれぞれ $60\text{ }^\circ\text{C}$ 、注入口は $80\text{ }^\circ\text{C}$ 、検出器は $340\text{ }^\circ\text{C}$ とし、キャリアガスには純 N_2 ガスを用いた。

DN_2O 濃度測定用サンプルの作製は、既往の研究⁶³⁾を参考にしたヘッドスペース法で行った。調査現場において 60 ml プラスチックシリンジに試料水 22 ml を採取し、微生物による反応を防ぐために殺菌剤 (グルコン酸クロルヘキシジン 5% 溶液) 3 ml を添加および封入した (図 2-4)。実験室に運搬した後、アルゴンガス 25 ml を封入し、 $20\text{ }^\circ\text{C}$ で 1 時間以上静置し、シリンジ内のヘッドスペース部と液相部を気液平衡状態とした。その後、ヘッドスペース部のガスを別のシリンジで採取し、 N_2O 濃度を分析した。なお、 DN_2O 濃度は以下の(2-1)式に従い算出した。

$$C_L = ((C_{G,SRY} \times (V_{G,SRY} + \beta \times V_{L,SRY})) / V_{L,SRY}) \times 25 / 22 \dots \dots \dots (2-1)\text{式}$$

ここで、 C_L : サンプル中の DN_2O 濃度 ($\mu\text{gN L}^{-1}$)、 $C_{G,SRY}$: シリンジヘッドスペース部の気液平衡後の濃度 (ppm)、 $V_{G,SRY}$: シリンジヘッドスペース部の体積 (L)、 β : N_2O の溶解度係数、 $V_{L,SRY}$: シリンジ液相部の体積 (L) とした。なお、 $C_{G,SRY}$ は単位を ppm から $20\text{ }^\circ\text{C}$ および 1 atm での $\mu\text{gN L}^{-1}$ に変換して使用した。また、 β は既往の研究²⁸⁾を基に水温で補正して使用した。



図 2-4 DN_2O 濃度測定用サンプルの現場での前処理

2-2-3 N₂O 排出量の算出方法

沈砂池と最初沈殿池および汚泥処理棟の GN₂O 排出量は、測定した濃度に脱臭ダクトの送風量を乗じて算出した。2013 年調査における 1 日目の 14 時と 2 日目の 10 時に風速を測定し、その平均値にダクトの断面積を乗じて送風量とした。

反応槽の GN₂O 排出量は、測定した濃度に曝気量を乗じて算出した。反応槽における曝気量は、系列毎の合計送風量を、第三槽と第四槽の曝気量比に応じて割り振った。曝気量比は、2014 年調査において大気開放したチャンバーを用いて、各槽を流下方向に等分した 4 箇所から 30 秒間の曝気量を実測し、算出した。

処理水中の DN₂O 排出量は、測定した DN₂O 濃度に据付計器から読み取った流量を乗じて算出した。上流、用水路、下流の DN₂O フラックスは、測定した DN₂O 濃度にそれぞれの流量を乗じて算出した。上流、用水路、下流の流量測定は、水深測線間隔、流速測線間隔とともに 1 m とした 1 点法で行った。なお、流量測定は 1 日目の 14 時と二日目の 10 時に行い、その平均値をフラックス算出に用いた。

以上の方法に基づき、本研究では沈砂池由来の GN₂O、最初沈殿池由来の GN₂O、汚泥処理棟由来の GN₂O、反応槽由来の GN₂O、処理後排水、わが国の温室効果ガスインベントリでは対象となっていない処理水中 DN₂O のガス化および放流河川における DN₂O、以上の項目を T 浄化センター由来の N₂O 排出として計上した。放流された窒素が N₂O に変換して排出される値を表す処理後排水は、IPCC の 2019 年度版ガイドライン³²⁾に従って、排出係数を好気雰囲気でのデフォルト値である 0.5 % (日本国温室効果ガスインベントリは IPCC のガイドラインに従っている³³⁾)、活動量を処理水中の TN 量として両者を乗じて算出した。処理水中 DN₂O のガス化は、上流、処理水、用水路の DN₂O フラックス合計値から下流の DN₂O フラックスを減じた値とした。また、放流河川の DN₂O は下流の DN₂O フラックスから上流と用水路の DN₂O フラックスを差し引いた分を計上した。

第3節 結果と考察

2-3-1 反応槽の水質と DN₂O 濃度

2013 年の第四槽における月平均水温は、据付計器の読み取りで 9 月が 24.8 °C、12 月が 17.5 °C と 9 月の方が高く、9 月、12 月のいずれの調査日においても、月平均水温と同程度であった。同じく据付計器の読み取りによる 2013 年の第四槽月平均 DO 濃度は、9 月、12 月ともに 0.5 mg L⁻¹ であり、基本的にいずれも微好気状態であった。

図 2-5 に 2013 年調査時、図 2-6 に 2014 年調査時の T 浄化センター反応槽における DN₂O および NH₄⁺、NO₂⁻、NO₃⁻ 濃度を示す。これより、2013 年調査では、DN₂O 濃度と NH₄⁺ 濃度は 12 月の方が高い傾向を示した ($p=0.14$ 、 $p=0.26$) (図 2-5)。また、NO₂⁻ と NO₃⁻ は有意に 12 月の方が高い傾向を示した (いずれも $p<0.01$) (図 2-5 (b))。T 浄化センターの管理データによると、最初沈殿池流出水の NH₄⁺ 濃度は、年間を通して 23 mgN L⁻¹ から 31 mgN L⁻¹ 程度であることから、T 浄化センター反応槽では 9 月と 12 月のいずれにおいても硝化が促進され、その過程で 12 月の方が NO₂⁻ および NO₃⁻ 蓄積しやすい状況であったと推察された。

2014 年の 9 月調査では、DN₂O 濃度は第三槽から第四槽にかけて増加する傾向にあった ($p=0.40$) (図 2-6 (a))。また、NH₄⁺ 濃度が減少傾向 ($p=0.05$)、NO₃⁻ 濃度が有意な増加を示したことから ($p=0.03$) (図 2-6 (b))、第三槽から第四槽にかけて硝化反応が促進し、その過程で DN₂O が生成されたと考えられる。

以上より、T 浄化センターでは硝化の過程で DN₂O が生成され、12 月の方が蓄積しやすい状況であったと考えられる。ここで、既往の研究では DN₂O 蓄積の要因として、水温、DO、pH、C/N 比などが挙げられている⁶⁴⁾。水温については、好気状態において水温が低いほど硝化由来の N₂O への転換率が高くなる⁶⁵⁾とともに、脱窒速度の低下⁶⁶⁾も報告されている。これより、T 浄化センターでは 9 月よりも水温の低い 12 月の方が、硝化由来の N₂O 生成が促進され、脱窒速度の低下により N₂O が蓄積しやすい状況であったと考えられる。

DO、pH については T 浄化センターでは年間で大きな変化はないことから、9 月と 12 月で DN₂O 濃度が異なった要因とは考えにくい。一方で、人工排水を用いた試験より、DO 濃度が 0.5 mg L⁻¹ の条件下では NH₄⁺ 酸化速度は NO₂⁻ 酸化速度よりも卓越する⁶⁷⁾とされている。すなわち、T 浄化センターは年間を通して DO 濃度が 0.5 mg L⁻¹ 程度であることから、NO₂⁻ が蓄積しやすい状況であったと判断できる。なお、本調査における反応槽での DN₂O 濃度と NO₂⁻ 濃度の相関をみたところ、NO₂⁻ 濃度が 0.6 mgN L⁻¹ 以上で DN₂O 濃度にばらつきがみられるものの、有意な正の相関関係がみられた ($R^2 = 0.47$ 、 $p < 0.01$) (図 2-7)。NO₂⁻ は硝化菌脱窒および従属栄養細菌脱窒経路での N₂O 生成における実質的な前駆体であり¹⁸⁾、ラボスケールプラント^{36), 68), 69)}、フルスケールプラント^{47), 53), 70)}において N₂O 排出との関係が報告されている。また、NO₂⁻ 濃度と DN₂O 濃度に関係性があることは、T 浄化センターと同様に、疑似嫌気好気法を採用している日本の下水処理場においても報告されている⁶³⁾。以上より、T 浄化センターでは、DO 濃度の観点から年間を通して N₂O 生成が誘発されやすい状況であったと考えられる。

C/N 比については、第 1 章に記載したとおり、電子供与体である有機物の供給が多いほど従属栄養細菌の N₂ までの完全脱窒が促進され、N₂O を抑制できる¹⁸⁾。反対に、C/N 比が低

い場合には N_2O 還元が抑制されることによる N_2O 排出量増加へつながる可能性が言及されている^{18), 41)}。T 浄化センターの管理データより、流入水における C/N 比（有機物指標としての生物学的酸素要求量（BOD）⁷¹⁾と $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 濃度の比により算出）は、8 月から 10 月の平均値が 9.03 であったのに対して 12 月から 2 月の平均値は 7.67 であった。これより、T 浄化センターは C/N 比の観点から、12 月から 2 月の冬季において DN_2O が蓄積しやすい状況にあり、本調査において 12 月の DN_2O が高濃度になった要因の一つと推察された。

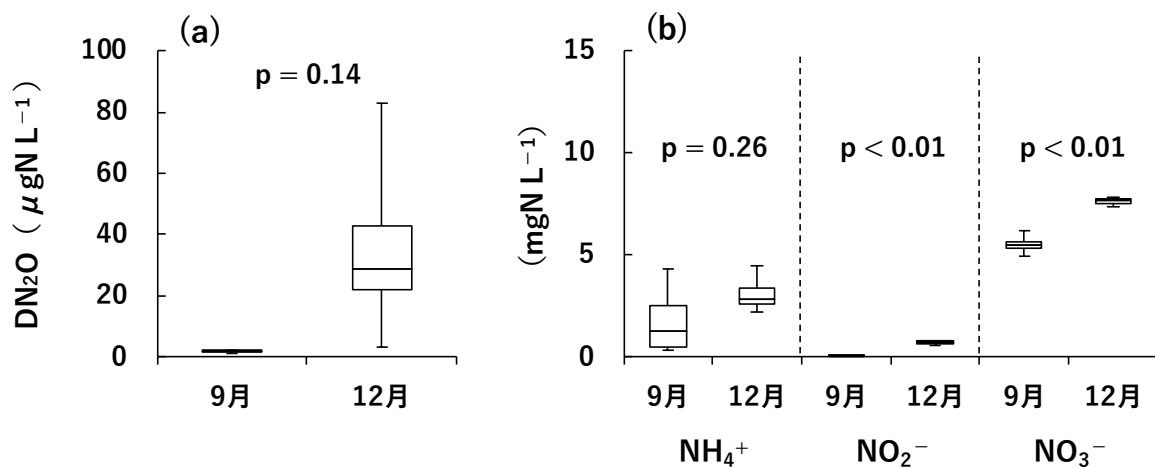


図 2-5 T 浄化センター 2013 年 9 月調査時および 12 月調査時の第四槽における (a) DN_2O 濃度 (b) NH_4^+ 、 NO_2^- 、 NO_3^- 濃度 (箱ひげ図の上端と下端は最大値と最小値を示す)

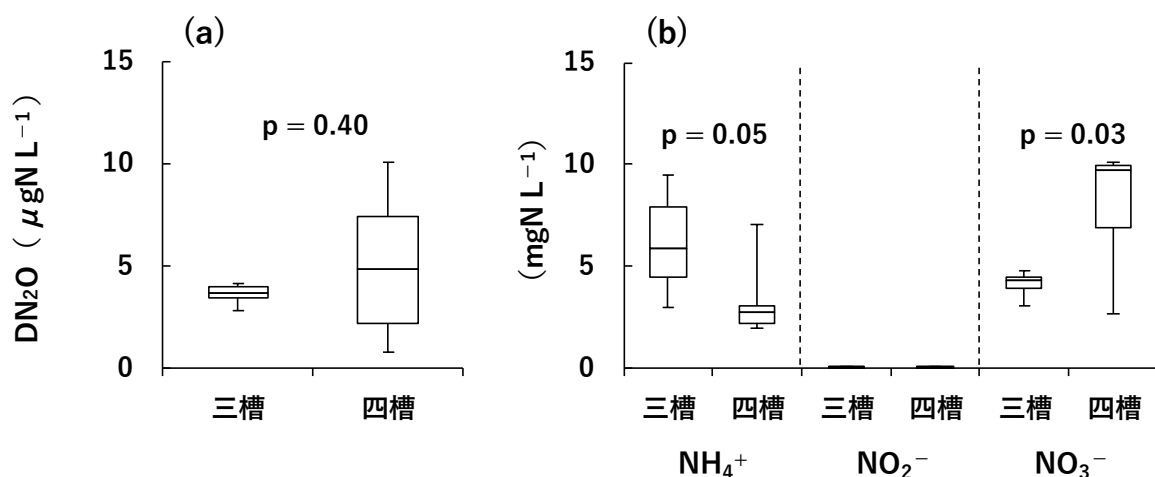


図 2-6 T 浄化センター 2014 年 9 月調査時の第三槽および第四槽における (a) DN_2O 濃度 (b) NH_4^+ 、 NO_2^- 、 NO_3^- 濃度 (箱ひげ図の上端と下端は最大値と最小値を示す)

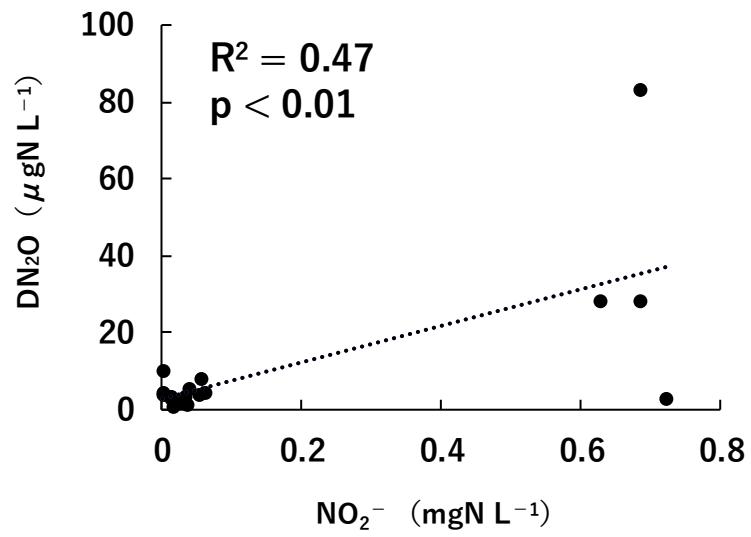


図 2-7 T 浄化センター反応槽における NO_2^- 濃度と DN_2O 濃度の関係

2-3-2 反応槽と処理水における N₂O 排出量の関係

図 2-8 に 2014 年の 9 月調査における反応槽の GN₂O 排出量 : E_G と処理水中の DN₂O 排出量 : E_D の相関を示す (n = 6)。これより、両者に有意な正の相関関係がみられた (R² = 0.75、p = 0.03)。さらに、E_D に対する E_G の比 (E_G/E_D) の平均値を算出したところ、4.4 であった。両者に正の相関がみられたのは、GN₂O は排出時に必ず DN₂O を経由してガス化するとともに¹⁴⁾ (図 1-1)、溶存態のまま最終沈殿池および消毒プロセスを経て放流される^{64), 72)} ためであると考えられる。なお、E_G/E_D の値はガスストリッピングの状況、ひいては曝気強度および散気装置の構造の影響を受けて変動することが予想されるため、本調査で得られた値は窒素除去が促進されている T 浄化センター固有の値であると考えられる。

ここで既往の研究と比較するため、E_G と E_D の合算値を仮の全 N₂O 排出量とし、このうちの E_D が占める割合を算出したところ、本研究では 18.2 % であった。複数の処理場で調査を行った既往の研究では、この値が 14.3 % から 83.2 %⁵⁹⁾ と報告されており、本データは比較的低い値であることが確認された。

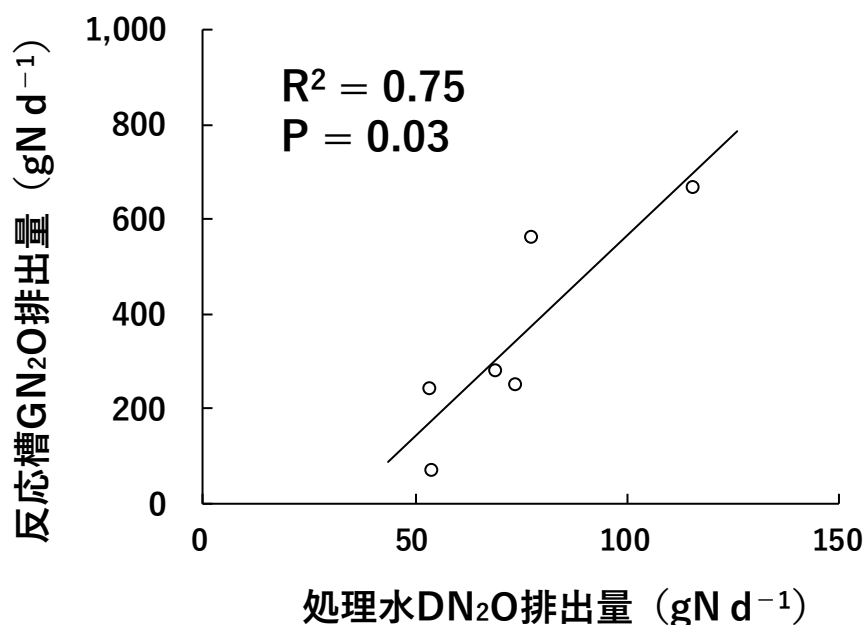


図 2-8 2014 年の 9 月調査における反応槽の GN₂O 排出量と処理水中の DN₂O 排出量の関係

2-3-3 処理水と放流河川における N₂O フラックスの関係

図 2-9 に 2013 年調査における処理水と T 川の DN₂O 濃度、DN₂O フラックスおよび NH₄⁺、NO₂⁻、NO₃⁻濃度を示す。これより 9 月の上流と下流では DN₂O 濃度に大きな変化はなく (図 2-9 (a))、下流における DN₂O フラックスの増加もわずかであった (図 2-9 (b))。ただし、下流の日平均水温 (24.0 °C) を基に算出した大気平衡濃度は 0.24 μgNL⁻¹ (大気濃度 334.5 ppb¹⁾にて算出) であり、下流の DN₂O は 5 倍程度過飽和であった。また、9 月の NH₄⁺、NO₂⁻、NO₃⁻は、全て下流における有意な濃度増加が確認され (全て p < 0.01) (図 2-9 (c))、とりわけ NO₃⁻は上流が 0.11 mgNL⁻¹ から 0.19 mgNL⁻¹ に対して下流が 1.37 mgNL⁻¹ から 2.27 mgNL⁻¹ と、10 倍程度の濃度増加がみられた。なお、下水処理水による河川での NO₃⁻成分の増加は複数の研究でも報告されており^{30), 73), 74)}、河川中での N₂O 生成の実質的な前駆体であることが言及されている^{73), 75)}。これより、T 川では処理水による NO₃⁻濃度の増加によって、本調査地点外での生物学的な N₂O 生成が発生している可能性が示唆された。

12 月の DN₂O 濃度は上流から下流にかけて濃度の増加がみられた (p = 0.02) (図 2-9 (d))。既往の研究では、処理水放流後の河川における DN₂O 濃度の上昇について、処理水中の DN₂O と生物学的な N₂O 生成の両方の影響であるといった報告や^{30), 60)}、アイソトポマー比の解析から処理水の影響が大きいと考察した報告がある²⁹⁾。本研究の調査対象エリアでは、T 川の流速より、処理水放流からおよそ 1 分で下流の測定地点に到達することを考慮すると、現時点では、高 DN₂O 濃度の処理水の流入で河川中の DN₂O 濃度が増加し、生物学的な N₂O 生成の影響は少なかったと推察された。また、下流の日平均水温 (12.1 °C) を基に算出した大気平衡濃度は 0.35 μgNL⁻¹ であり (大気濃度 334.5 ppb¹⁾にて算出)、下流の DN₂O は 3 倍から 35 倍程度、過飽和状態であった。さらに、DN₂O フラックスも処理水の流入により下流の値が増加し (p = 0.02) (図 2-9 (e))、NH₄⁺、NO₂⁻、NO₃⁻も、下流における有意な濃度増加が確認された (全て p < 0.01) (図 2-9 (f))。

ここで、表 2-3 および図 2-10 に示すように 2013 年調査における T 川の日平均 DN₂O フラックスを算出したところ、下流における DN₂O フラックスは、上流、処理水、用水路の DN₂O フラックス合計値よりも、9 月は 16.1 gN d⁻¹、12 月は 738.7 gN d⁻¹ 低い値となった。これは、T 浄化センターの塩素混和池から T 川の合流地点に至る、消毒槽流出部の落差工、暗渠、河川への落差工、においてガス化した量だと考えられる。このガス化量が処理水の DN₂O フラックスに占める割合としては 9 月: 26 %、12 月: 59 %に相当した。9 月よりも 12 月において割合が高くなったのは、12 月の処理水中 DN₂O の過飽和濃度が高く、よりガス化しやすい状態であったためと考えられる。

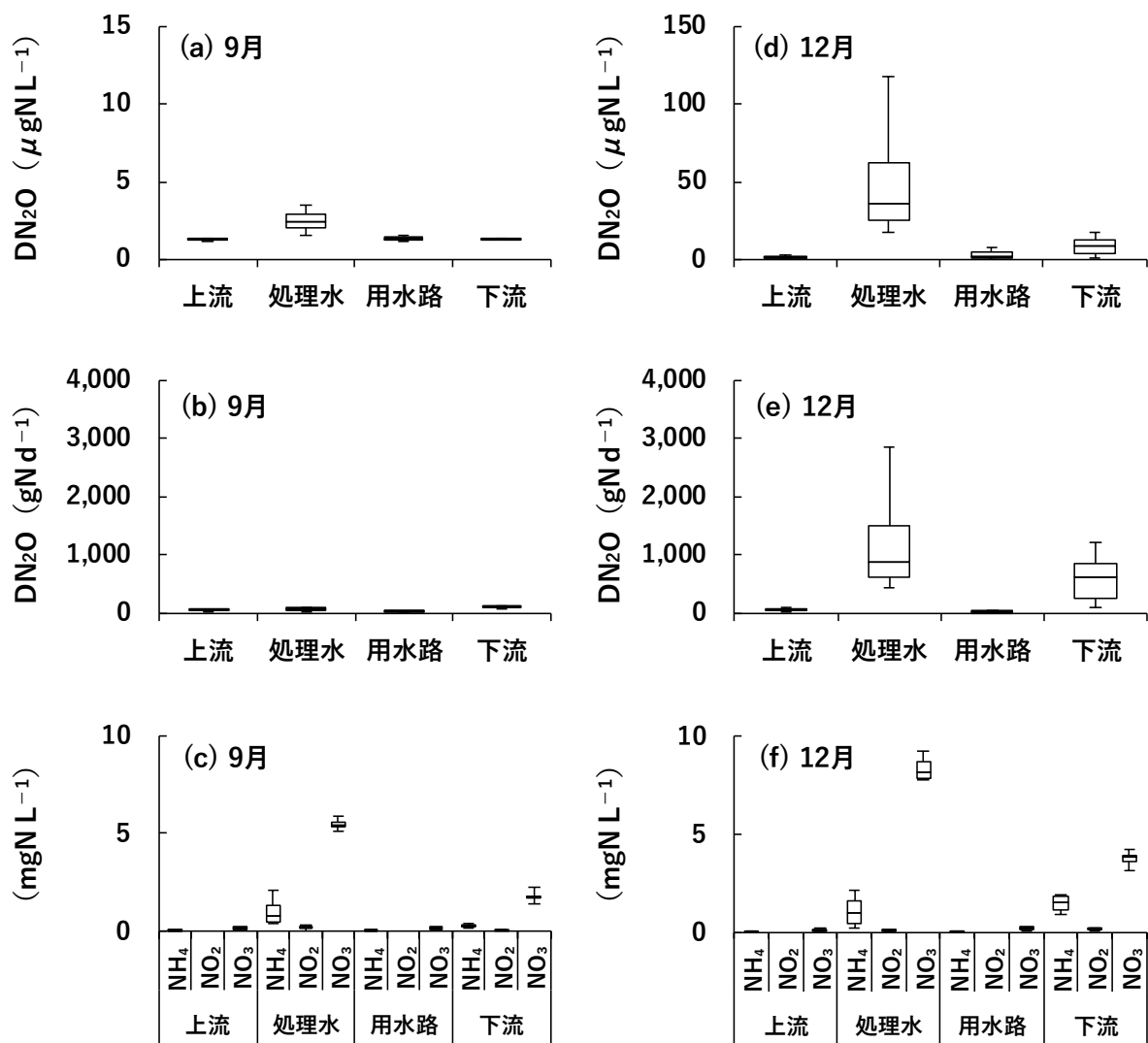


図 2-9 処理水と T 川の 2013 年 9 月調査における (a) DN₂O 濃度 (b) DN₂O フラックス (c) NH₄⁺、NO₂⁻、NO₃⁻濃度、12 月調査における (d) DN₂O 濃度 (e) DN₂O フラックス (f) NH₄⁺、NO₂⁻、NO₃⁻濃度 (箱ひげ図の上端と下端は最大値と最小値を示す)

表 2 - 3 T 浄化センター処理水および T 川の DN₂O 動態

			DN ₂ Oフラックス	
			9月	12月
①	上流	gN d ⁻¹	50.5	57.8
②	処理水	gN d ⁻¹	62.4	1255.7
③	用水路	gN d ⁻¹	10.0	14.9
④	下流	gN d ⁻¹	106.8	589.7
⑤	①+②+③	gN d ⁻¹	122.9	1328.4
			DN ₂ O消失量	
⑤ - ④		gN d ⁻¹	16.1	738.7
			DN ₂ O消失割合	
(⑤ - ④) / ②		%	26	59

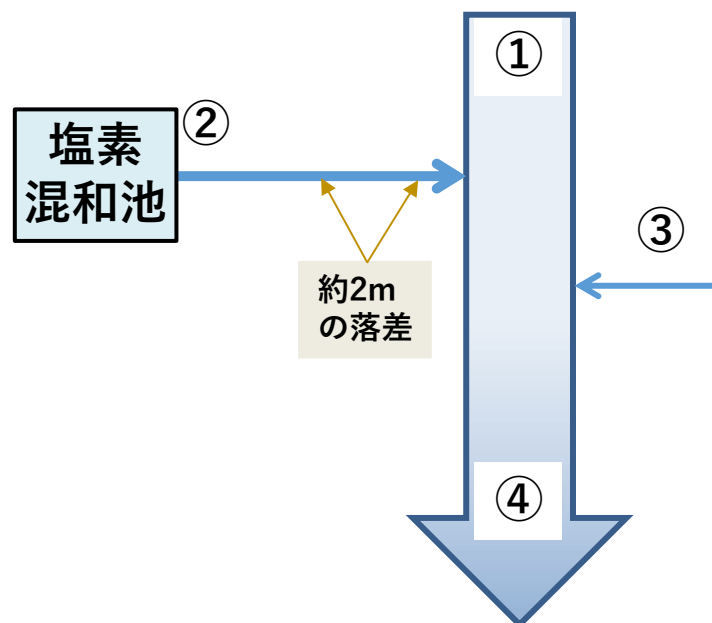


図 2 - 10 T 川の調査地点 (表 2 - 3 の補足)

2-3-4 DN₂O 成分の重要性に関する考察

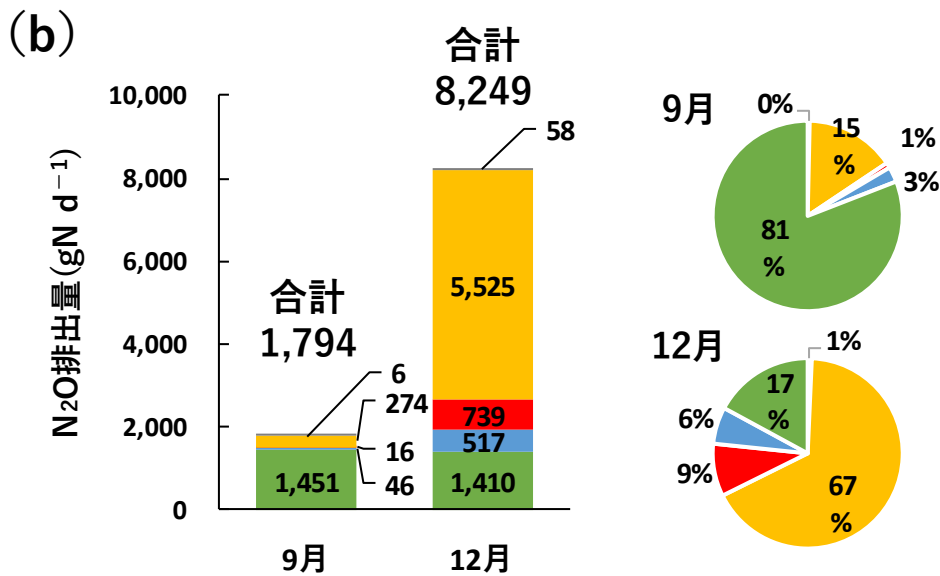
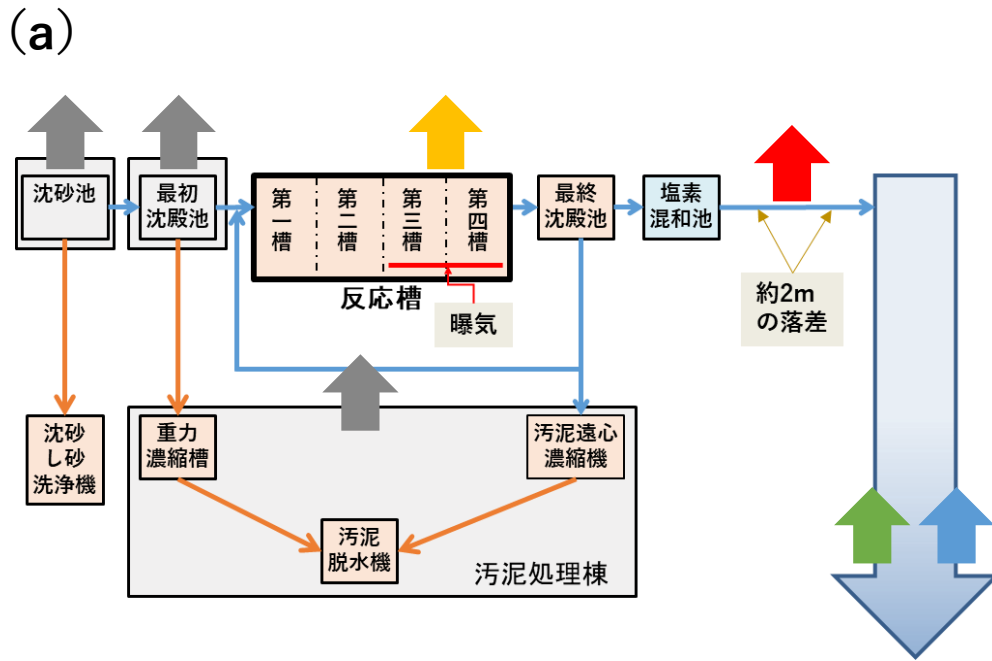
図 2-11 に T 浄化センター由来の N₂O 排出量および割合を示す。なお、反応槽由来の GN₂O は、2-3-2 項で算出した 2014 年 9 月調査における E_D に対する E_G の比 (E_G/E_D) の平均値：4.4 を、2013 年調査における処理水の DN₂O 排出量に乗じて算出した。

ここで、図 2-12 に沈砂池、最初沈殿池、汚泥処理棟の GN₂O 濃度および送風量を示す。これより、GN₂O 濃度と送風量は同程度か 12 月の方が高く、両者に乗じて算出した N₂O 排出量は 12 月の方が高い値となった。これらの差が生じた原因は不明だが、既往の研究において、処理場へ流入する下水管で N₂O が生成された報告があり⁷⁶⁾、流入水に含まれる DN₂O がガス化にともない検出された可能性がある。ただし、沈砂池、最初沈殿池、汚泥処理棟由来の GN₂O が全 N₂O 排出量に占める割合は、9 月、12 月ともにごくわずかであったため (図 2-12)、これらの N₂O 排出量の変化が N₂O 排出割合に与える影響は小さかった。

処理後排水は IPCC の評価手法により処理水中 TN 量を変数として用いたが³²⁾、日平均 TN 濃度は 9 月が 11.46 mgN L⁻¹、12 月が 11.64 mgN L⁻¹ と差が小さく、処理水量の差も小さかったため、値はほぼ同程度であった。なお、処理場の管理データによると、処理水中の TN 濃度および処理水量は年間を通して安定していることが確認されているため、処理後排水の項目は年間を通してほぼ一定であると考えられる。

以上の沈砂池、最初沈殿池、汚泥処理棟の GN₂O および処理後排水に加えて、2-3-2 項で検討した反応槽由来の GN₂O、2-3-3 項で検討した放流河川の DN₂O および処理水からのガス化、以上の項目が相互に連動しながら絶対値が大きく変動した (図 2-11 (a))。とりわけ、反応槽由来の GN₂O 排出量は増減が大きく、その影響で全 N₂O 排出量は 9 月が 1,794 gN d⁻¹ であったのに対して、12 月が 8,249 gN d⁻¹ と変動した。ここで、本データにおいて IPCC³²⁾ と同様の算出方法 (反応槽からの GN₂O 排出量を流入 TN 量で除す) における排出係数：E_{G/In.TN} を算出したところ、9 月が 0.02%、12 月が 0.43% と、いずれも IPCC のデフォルト値：E_{G/In.TN} = 1.6%³²⁾ よりも低かった。これより、両調査日において T 浄化センターの N₂O 排出量は低く、9 月は特に抑制傾向であったと考えられる。

N₂O 排出量が比較的多かった 12 月の排出割合において、インベントリの非対象項目とされている DN₂O 成分は、処理水からのガス化が 9%、放流河川は 6% で合計 15% と試算された。河川における N₂O 動態はその河川環境に依存するため⁷³⁾、T 川の DN₂O が流下にもなって、調査地点外においてどの程度ガス化するかは現時点での検討が難しいが、処理水の放流過程でガス化する割合が 9% 確認されたことは、インベントリとして広く用いられている方法が過小評価である可能性を示している。そのため、反応槽の GN₂O 排出が下水道の温室効果ガス排出に大きく寄与していることに加えて、DN₂O 成分の排出も無視できない値であり、正確に温室効果ガス排出実態を把握するために重要な項目であることが明らかになった。



インベントリ対象項目

- ↑ 沈砂池+最初沈殿池+污泥処理棟 (GN₂O)
- ↑ 反応槽 (GN₂O)
- ↑ 処理後排水 (処理水TN量×0.5%)

インベントリ非対象項目

- ↑ 処理水からのガス化 (放流過程でガス化したDN₂O)
- ↑ 放流河川 (DN₂O)

図2-11 T浄化センター由来の (a) N₂O 排出調査地点 (b) N₂O 排出量および排出割合

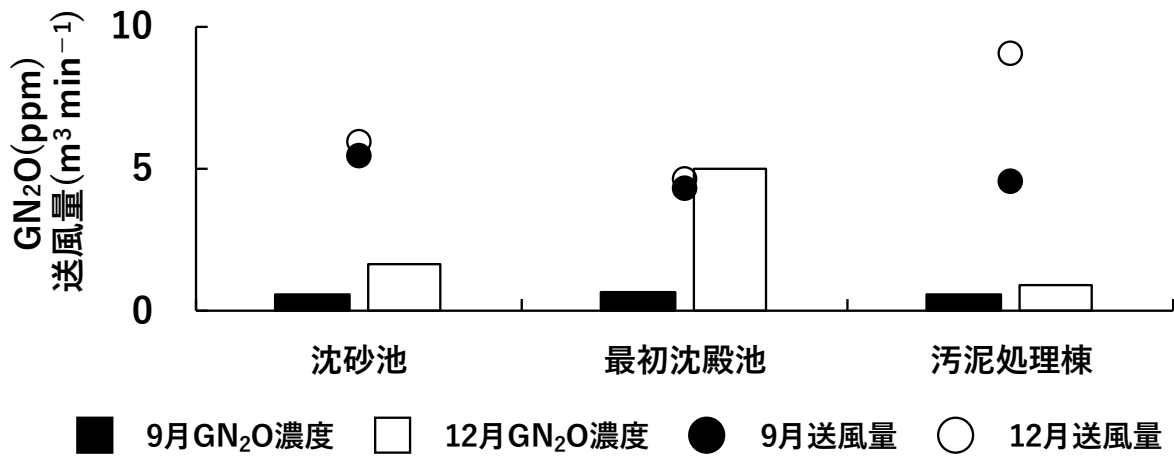


図 2 - 1 2 沈砂池、最初沈殿池、污泥处理棟の GN₂O 濃度および送風量

第4節 まとめ

本章では、下水処理場の N_2O 排出管理において DN_2O 成分を評価することの重要性を示すことを目的に、中規模処理場の T 浄化センターとその放流河川において N_2O 排出動態の一体的な調査を 2013 年 9 月と 12 月に行った。また、反応槽の GN_2O 排出動態の詳細解析を目的とした調査を 2014 年 9 月に行った。

その結果、全 N_2O 排出量は反応槽由来の GN_2O 排出に影響を受け、9 月は $1,794 \text{ gN d}^{-1}$ 、12 月は $8,249 \text{ gN d}^{-1}$ と大きく異なった。その中で、温室効果ガスインベントリの非対象項目である DN_2O 成分は、12 月は全 N_2O 排出量の 15% を占めていた。また、その内の 59% (全 N_2O 排出量の 9%) は放流過程でガス化していたと推察された。これより、下水処理や放流過程において DN_2O は無視できない項目であり、 N_2O 排出量を正確に捕捉するためには、 GN_2O とともに計上して把握する必要性が示された。

この結果に基づき、第 4 章以降での無終端水路反応槽における N_2O 排出については、 DN_2O 排出量も計上することとした。

第3章 無終端水路反応槽における N₂O 生成機構解析

第1節 はじめに

第1章で述べたように、生物反応槽における N₂O 排出を抑制するための重要なステップとして、N₂O 生成機構を解析する必要がある¹⁴⁾。複数の研究において、生物反応槽における N₂O 生成の主経路として、NH₂OH 酸化経路、硝化菌脱窒経路、従属栄養細菌脱窒経路などが報告されている^{14), 16), 18), 25)}。各経路の進行は DO による支配が大きく、NH₂OH 酸化経路³⁵⁾と硝化菌脱窒経路³⁵⁻³⁸⁾は好気条件下で促進、従属栄養細菌脱窒経路は無酸素条件下^{37), 38)}で促進することが報告されている。また、従属栄養細菌の脱窒反応は、十分な電子供与体としての有機物を利用できる場合に N₂O 生成より大きな N₂O 削減能力を発揮する³⁹⁾ことから、N₂O スカベンジャーとしての認識もされている¹⁸⁾。一方で、本章で対象とする無終端水路反応槽は、一般的に同一反応槽内で DO 濃度勾配が形成される²¹⁾。そのため、N₂O 生成および削減のメカニズムは、同一水路内でも地点ごとに異なる可能性があり、平面的な水質変動に基づく N₂O 生成機構の解析が必要と考えられる。

さらに、Sun ら⁵⁶⁾の研究では、無終端水路反応槽において、流入と攪拌の位置関係を最適化することで N₂O 生成量が少なくなるという報告がされている。具体的には、流入付近に低 DO 濃度エリアを形成する攪拌方法により、流入有機物を電子供与体とした N₂ までの完全脱窒が促進され、N₂O 生成が抑制されるといった内容である (図 1-4)。ただし、この研究はパイロットスケール無終端水路において実施されており、フルスケール無終端水路での検証が必要と考えられる。

ここで、従来の物理化学的パラメータに加えて、硝化と脱窒に関与する機能遺伝子転写量の解析が N₂O 生成機構を解明するための強力なツールとして使用されている。既往のフルスケールプラントでは、嫌気好気法における DN₂O 濃度とアンモニア酸化酵素転写量および亜硝酸還元酵素転写量のピークの一致⁴⁵⁾、循環式硝化脱窒法における N₂O 還元酵素と亜硝酸還元酵素の転写量比と N₂O 削減量の一致⁷⁷⁾、従来型活性汚泥法での N₂O 還元酵素転写量と N₂O 還元速度の一致⁷⁸⁾が報告されている。無終端水路反応槽における機能遺伝子転写量の解析事例は乏しいものの、上記の研究事例と同様に、N₂O 生成機構解明への活用が期待される。

以上の背景に鑑み、本章では、無終端水路反応槽の N₂O 排出を抑制するための基礎研究として、フルスケール無終端水路反応槽を対象とした、水質および窒素変換に関与する機能遺伝子転写量解析を無終端水路内の複数地点で行い、N₂O 生成機構の解析を試みた。さらに、活性汚泥の 16S rRNA 遺伝子のアンプリコン解析を行い、無終端水路内における菌叢の偏りが N₂O 生成に与える影響も評価した。

第2節 方法

3-2-1 対象処理場諸元

本章では、秋田県大仙市の流域下水道終末処理場である大曲処理センターを調査対象とした。なお、本章以降（第3章から第6章）の調査対象は大曲処理センターであり、2017年から2022年にかけて断続的に調査を行った。図3-1に大曲処理センターの全体図、図3-2に大曲処理センターの水処理工程簡略図および調査地点、表3-1に大曲処理センターの2017年度から2021年度にかけての水処理実績を示す。下水の排除方式は分流式であり、処理場内の水処理工程は沈砂池、最初沈殿池、無終端水路反応槽、最終沈殿池、消毒槽からなる。なお、無終端水路を有する代表的な処理形式であるオキシデーションディッチ法は一般的に最初沈殿池を有さないが、大曲処理センターは有機物負荷の軽減、浮遊物質(SS)の除去、流入量増加への対応を目的に⁷⁹⁾、上記のシステム構成をとっている。反応槽と最終沈殿池は3系統に分かれているが(1系、2系、3系)、本研究では、処理水量が多く、窒素除去が促進されている3系を対象とした。3系の反応槽は、表面積が約1,005 m²、容積が約2,500 m³、水路長が約125 mで大気開放されており、流入地点付近とその対側に縦軸型攪拌機が2台設置されている(図3-2)。なお、大曲処理センターでは、通常管理業務として表3-2に示す水質検査を下水試験法に則って行っている⁷¹⁾。NH₄⁺、NO₂⁻、NO₃⁻は2018年度までは週5回、2019年度からは週2回、BODは週3回、化学的酸素要求量(過マンガン酸カリウムにおける酸化量)(COD_{Mn})、水温、DO、pH、SS、MLSS、MLVSSは週5回、分析および測定を行っている。また、通日試験を年に4回行っており、その際にはTN濃度の計測も行っている。

無終端水路反応槽に設置された2台の攪拌機は、通常、3時間ごとに交互に1台ずつ稼働させ、攪拌機の切り替え時に脱窒を促進させるために0分から30分の2台停止時間を設けている。また、攪拌機の酸素供給能力を表す回転速度は可変であり、処理状況を確認しつつ定期的に設定を変更している。なお、攪拌機が稼働している際の水路内の流速は約0.5 m s⁻¹である。

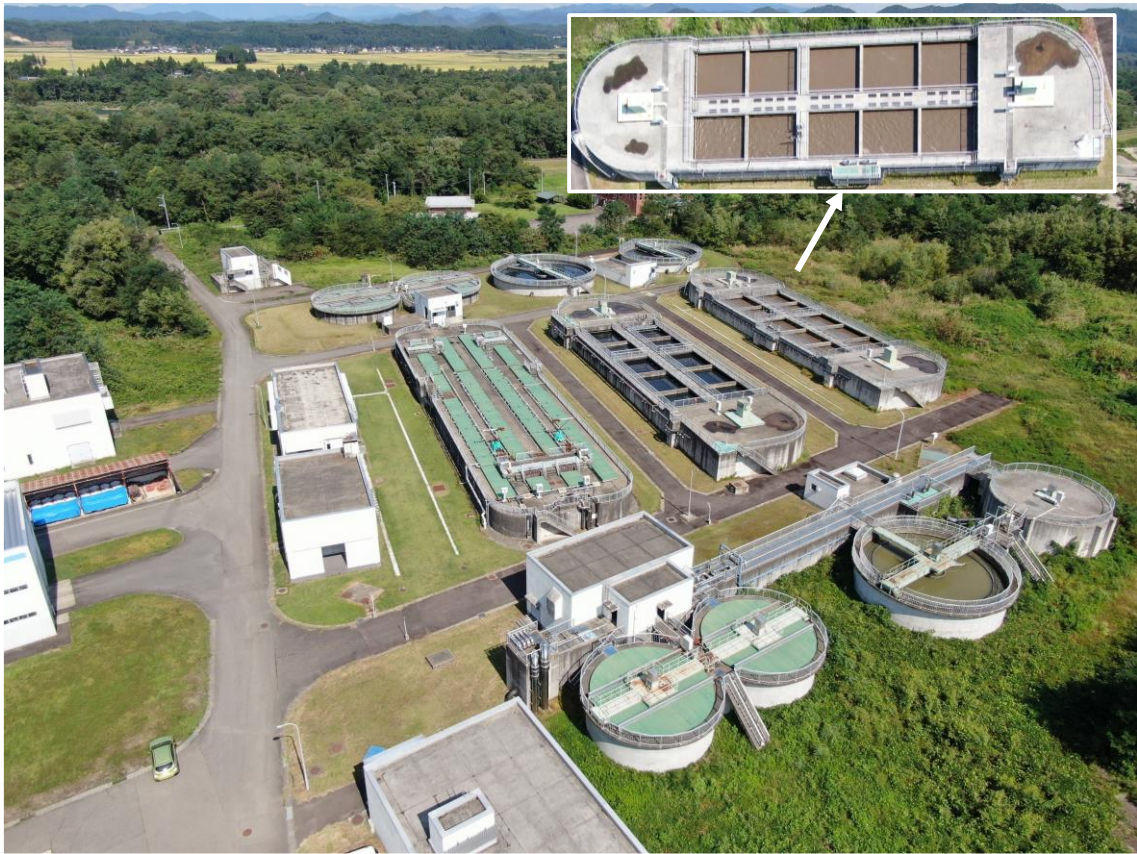


図3-1 大曲処理センターセンター全体および3系無終端水路反応槽平面写真

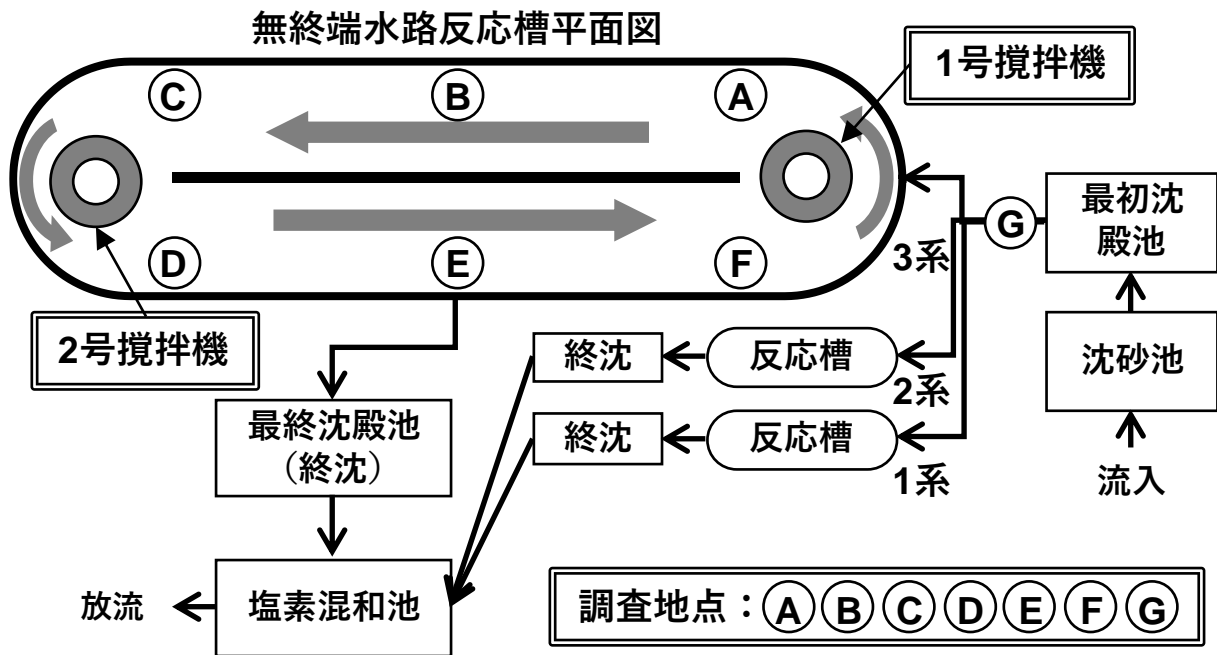


図3-2 大曲処理センター水処理工程簡略図および調査地点

表 3 - 1 大曲処理センターの 2017 年度から 2021 年度にかけての水処理実績

			2017年度	2018年度	2019年度	2020年度	2021年度	
処理区域内人口	人	年度末値	38,100	39,700	39,800	42,000	41,600	
流入水量	m ³ d ⁻¹	平均値	9,480	9,221	9,038	9,993	10,174	
3系流入水量	m ³ d ⁻¹	平均値	5,498	4,799	4,354	4,277	4,192	
流入水質	COD _{Mn}	mg L ⁻¹	平均値	85.2	97.7	137.1	69.9	70.6
	BOD	mg L ⁻¹	平均値	200	210	280	150	150
	NH ₄ ⁺	mgN L ⁻¹	平均値	23.3	22.6	22.1	21.8	22.8
	NO ₂ ⁻	mgN L ⁻¹	平均値	0.02	0.01	0.06	0.05	0.07
	NO ₃ ⁻	mgN L ⁻¹	平均値	< 0.1	< 0.1	0.13	< 0.1	0.21
最初沈殿池流出水質	COD _{Mn}	mg L ⁻¹	平均値	53.8	57.8	57.0	50.3	52.8
	BOD	mg L ⁻¹	平均値	120	120	120	100	110
3系反応槽	水温	°C	範囲	11.3-22.4	12.0-22.5	12.5-23.2	11.8-22.8	11.7-23.2
	pH	-	範囲	6.7-7.1	6.7-7.0	6.7-6.8	6.6-7.1	6.7-7.1
	MLSS	mg L ⁻¹	平均値	2,400	2,400	2,200	2,100	2,000
	MLVSS	mg L ⁻¹	平均値	2,100	2,000	1,900	1,900	1,700
3系最終沈殿池流出水	COD _{Mn}	mg L ⁻¹	平均値	10.1	9.2	9.7	12.1	11.0
	BOD	mg L ⁻¹	平均値	19	15	15	18	13
	NH ₄ ⁺	mgN L ⁻¹	平均値	9.0	9.0	3.6	9.7	10.1
	NO ₂ ⁻	mgN L ⁻¹	平均値	0.25	0.07	0.13	0.12	0.14
3系管理データ	NO ₃ ⁻	mgN L ⁻¹	平均値	< 0.1	< 0.1	0.39	0.18	< 0.1
	汚泥返送率	%	平均値	34	34	27	23	21
	SRT	d	平均値	14	18	19	18	16

表 3 - 2 大曲処理センターの通常管理業務における主な水質検査項目

検査箇所	NH ₄ ⁺ 、NO ₂ ⁻ 、NO ₃ ⁻	COD _{Mn}	水温、DO、pH、SS	MLSS、MLVSS
流入水	○	○	○	-
反応槽流入水 (G地点)	-	○	○	-
反応槽(E地点)	-	-	○ (SSを除く)	○
最終沈殿池流出水	○	○	○	-

3-2-2 調査方法

本章では、無終端水路反応槽における N_2O 生成機構を明らかにするため、2017年7月20日と2017年11月29日に、それぞれ1号攪拌機稼働時と2号稼働時に反応槽6地点（**図3-2**）で調査を行った。調査概要は**表3-3**に示す。調査は、センサーを使用した水温、pH、DOの測定と、活性汚泥混合液の採取を行った。採取した活性汚泥混合液から、その場で0.45 μm セルロース混合エステルメンブレンフィルター（SLHA025NB、Merck社）でろ過した溶存態の水質分析用ろ過サンプル、 DN_2O 分析用サンプル、機能遺伝子転写量解析用サンプルを作製した。

DN_2O 分析用サンプルの作製は既往の研究を参考にした^{63), 80)}。70 mL バイアル瓶を全て満たすように反応槽混合液を注入した後、微生物活性を失活させるために5%グルコン酸クロロヘキシジン液を2 mL 注入し、ブチルゴム栓とアルミキャップで蓋をして室内実験室に搬入した。その後、実験室において、バイアル瓶中の液槽部25 mLと N_2 もしくは大気ガス25 mLを60 mL プラスチックシリンジに封入し、1分間混合攪拌して気液平衡状態にさせた後、シリンジ内のヘッドスペースガス15 mLを、別のシリンジを使用して真空状態の10 mL バイアル瓶に正圧となるよう封入し、これを DN_2O 濃度分析用サンプルとした。以下に、サンプル分析値を用いた反応槽混合液中の DN_2O 濃度算出式を示す（(3-1)式）。

$$C_L = (C_{G,SRY} \times (V_{G,SRY} + \beta \times V_{L,SRY}) - C_{G,A} \times V_{G,SRY}) / V_{L,SRY} \dots\dots\dots (3-1)式$$

ここで、 C_L ：反応槽混合液中の DN_2O 濃度 ($\mu\text{gN L}^{-1}$)、 $C_{G,SRY}$ ：シリンジヘッドスペース部の気液平衡後の濃度 (ppm)、 $V_{G,SRY}$ ：シリンジヘッドスペース部の体積 (L)、 β ： N_2O の溶解度係数、 $V_{L,SRY}$ ：シリンジ液相部の体積 (L)、 $C_{G,A}$ ：サンプリング地点付近の N_2O 大気濃度 (ppm) である。なお、シリンジ内での気液平衡時に N_2 ガスを使用した場合は、 $C_{G,A}$ を0 ppmとして算出した。また、 $C_{G,SRY}$ および $C_{G,A}$ は、単位を大気平衡作業時の温度および1 atmでの $\mu\text{gN L}^{-1}$ に変換して使用した。さらに、 β は既往の研究²⁸⁾を基に水温で補正して使用した。

表3-3 2017年調査の概要
(地点A、B、C、D、E、F、Gは**図3-2**参照のこと)

	調査地点		攪拌条件
	2017年7月20日	2017年11月29日	
10:30-12:00	A、B、C、D、E、F	A、B、C、D、E、F	1号攪拌機稼働
13:00		G	2号攪拌機稼働
13:30-15:00	A、B、C、D、E、F、G	A、B、C、D、E、F	
測定および分析項目			
	A、B、C、D、E、F		G
水温、pH、DOC、 NH_4^+ 、 NO_2^- 、 NO_3^- 、DO、 DN_2O 、機能遺伝子転写量	水温、pH、DOC、 NH_4^+ 、 NO_2^- 、 NO_3^- 、 DN_2O		

3-2-3 DN₂O 分析方法の精度確認試験

前項に記述した DN₂O 分析用サンプルについて、気液平衡作業に起因する人為的な誤差を確認するための室内試験を行った。試験は、サンプル作製が未経験である3名（それぞれ K、T、M とする）に行ってもらった。DN₂O 濃度が既知である試験水について DN₂O 分析用サンプルを作製し、DN₂O 濃度を分析した。試験水は、容積 2 L、高さ 0.22 m のガラス製容器に蒸留水を 1,700 mL 程度注入し、1,500 ppm の N₂O + N₂ ガスを 5 分以上曝気して飽和状態とした。この際、水温も測定し、DN₂O 濃度の水温補正に使用した。なお、ガスの曝気時に DN₂O 濃度分析用センサー（N₂O Microsensor、Unisense 社）を使用して電圧値をモニタリングし、試験水中の電圧が増加しないことで飽和状態であることを確認した。

3-2-4 測定および分析方法

水温および DO 濃度は、ポータブル DO 濃度センサー（HQ30d、Hach 社）、pH はポータブル pH センサー（HM-30P、東亜ディーケーケー株式会社）を使用し、現場で測定を行った。NH₄⁺、NO₂⁻、NO₃⁻ 濃度はイオンクロマトグラフ（10A-vp、島津製作所）を使用してろ過サンプルを分析した。溶存態有機炭素（DOC）濃度は、全有機体炭素計（TOC-L_{CSH}、島津製作所）を使用してろ過サンプルを分析した。

N₂O 濃度は、ECD ガスクロマトグラフ（GC-14B、島津製作所）を使用し、GN₂O 濃度分析用サンプルおよび DN₂O 濃度分析用サンプルを分析した。なお、このガスクロマトグラフには 1 m のカラム（Porapak N 80-100-mesh、ジーエルサイエンス株式会社）が備わっており、注入口、カラム、検出器の温度をそれぞれ 250 °C、60 °C、340 °C に設定した。

3-2-5 機能遺伝子転写量解析のための DNA/RNA の抽出と定量方法

窒素変換に関与する機能遺伝転写量の解析を行うため、2017 年 7 月 20 日と 11 月 29 日の調査時に、各調査地点の活性汚泥混合液における DNA と RNA の抽出と定量を行った。DNA は、採取した活性汚泥混合液を実験室に輸送後、Fast DNA SpinKit for Soil（MP Biomedicals 社）を使用し、製造元プロトコルに従って DNA を抽出した。次に、DNA 抽出物の純度および濃度を超微量紫外可視分光光度計（NanoDrop2000c、Thermo Scientific 社）を使用し、260nm および 280nm での吸光度に基づいて評価した。

RNA は、反応槽の各調査箇所において活性汚泥混合液を採取し、15 mL 遠沈管で 30 分間重力濃縮させた後、その濃縮汚泥を 100 μL と、Fast RNA pro BlueKits（MP Biomedicals 社）に付属している RNA pro solution を 1 mL 注入した。その後、実験室において -30 °C で冷凍保存し、Fast RNA pro BlueKits の製造元プロトコルに従って RNA を抽出した。また、既往の研究と同様に、QuantiTect Reverse Transcription Kit（Qiagen 社）を用いて RNA の逆転写を行った⁷⁸⁾。

抽出された相補的 DNA をさらに、**図 3-3** に示すアンモニア酸化酵素：*amoA*、ヒドロキシルアミン酸化酵素：*haoA*、亜硝酸還元酵素：*nirS*（シトクローム型）、*nirK*（銅型）、および 2 つの異なる N₂O 還元酵素：*clade I type nosZ*、*clade II type nosZ* をコードする機能遺伝子転写量の定量のため、リアルタイム PCR 解析システム（RT-qPCR：CFX96 Touch Real-Time PCR Detection System、BioRad Laboratories 社）にかけた。詳細なプライマーおよび PCR 条

件は、それぞれ既往研究を参考とし (*amoA*⁸¹⁾、*haoA*⁸²⁾、*nirS*⁸³⁾、*nirK*⁸⁴⁾、*nosZ* clade I⁸⁵⁾、*nosZ* clade II⁸⁶⁾)、表3-4に示す条件で行った。

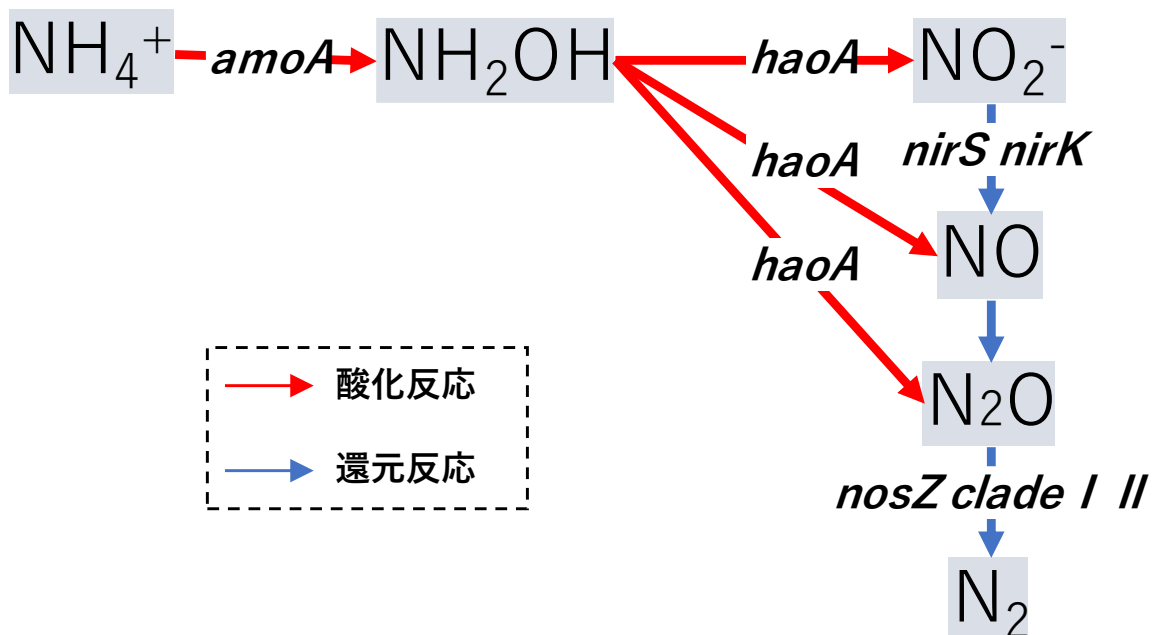


図3-3 硝化および脱窒反応に関与する機能遺伝子と発現された酵素による窒素酸化物の反応経路

表3-4 機能遺伝子転写量解析におけるプライマーおよびPCR条件

対象	プライマー	配列 (5'-3')	PCR条件	参考文献
amoA	amoA-1f	GGGGTTTCTACTGGTGGT	94°Cで5分間の初期変性に続き、60°Cで90秒、72°Cで90秒、94°C60秒を42サイクル行い、最後に60°Cで90秒と72°Cで10分間	Rotthauwe et al., 1997 ⁸¹⁾
	amoA-2r	CCCCTCKGSAAAGCCTTCTTC		
haoA	HAO1Fq	TGAGCCAGTCCAACGTGAT	94°Cで5分間の初期変性に続き、60°Cで90秒、72°Cで90秒、94°C60秒を42サイクル行い、最後に60°Cで90秒と72°Cで10分間	Yu et al., 2010 ⁸²⁾
	HAO2Rq	AAGGCAACAACCCCTGCCTCA		
nirS	nirS4QF	G TSAACGYSAAGGARACSSG	95°Cで15分間の初期変性に続き、95°Cで15秒、63°Cで30秒、72°Cで30秒、80°Cで30秒を6サイクル、95°Cで15秒、58°Cで30秒、72°Cで30秒、80°Cで30秒を40サイクル	Throback et al., 2004 ⁸³⁾
	nirS4QR	GASTTCGGRTGSGTCTTSAYGAA		
nirK	nirK876-F	ATYGGCGGVCAYGGCGA	95°Cで15分間の初期変性に続き、95°Cで15秒、63°Cで30秒、72°Cで30秒、80°Cで30秒を6サイクル、95°Cで15秒、58°Cで30秒、72°Cで30秒、80°Cで30秒を40サイクル	Henry and Kenchington, 2004 ⁸⁴⁾
	nirK1040-R	GCCTCGATCAGRTRTRTGTT		
nosZ clade I	nosZ2F	CGCRACGGCAASAAGGTSMSST	95°Cで15分間の初期変性に続き、95°Cで15秒、67°Cで30秒、72°Cで30秒、80°Cで30秒を6サイクル、95°Cで15秒、62°Cで30秒、72°Cで30秒、80°Cで30秒を40サイクル	Henry et al., 2006 ⁸⁵⁾
	nosZ2R	CAKRTGCAKSGCRTGGCAGAA		
nosZ clade II	nosZ-II-F	CTIGGICCIYTKCAYAC	95°Cで1分間の初期変性に続き、95°Cで15秒、54°Cで30秒、72°Cで30秒、80°Cで30秒を50サイクル	Jones et al., 2013 ⁸⁶⁾
	nosZ-II-R	GCIGARCARAAITCBGTRC		

M = A or C; W = A or T; Y = C or T; S = C or G; R = A or G; K = G or T; H = A or C or T; V = A or C or G; B = C or G or T; I = Inosine (イノシン)

3-2-6 菌叢解析のための DNA 抽出と定量方法

無終端水路反応槽内の菌叢の平面分布を確認するため、2022 年 10 月 13 日と 2022 年 10 月 20 日に、活性汚泥の 16S rRNA 遺伝子のアンプリコン解析を行った。反応槽 B 地点と E 地点からバケツまたは柄杓を用いて反応槽混合液を 50 mL 採取し、室内実験室で遠心濃縮した後に、上澄み液を廃棄した状態で -30°C で保存した。採取時間はいずれも 10 時頃の 1 号攪拌機稼働時とした。

DNA 抽出には ISOIL for Beads Beating (株式会社ニッポンジーン) を使用し、製造元プロトコルに従って DNA を抽出した。抽出物の純度および濃度を超微量紫外可視分光光度計 (NanoDrop2000c、Thermo Scientific 社) を使用し、260 nm および 280 nm での吸光度に基づいて評価した。

抽出した DNA を鋳型として、既往研究と同様に 2-Step Tailed-PCR によりアンプリコンライブラリーを調製した⁸⁷⁾。1st PCR は、真正細菌 16S rRNA 遺伝子の V4 領域に特異的なプライマー (515F-806R プライマーセット : 5'-GTGCCAGCMGCCGCGGTA-3'、5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3') を使用して実行した⁸⁸⁾。使用したポリメラーゼは Ex Taq (タカラバイオ株式会社) と dNTPs であり、組成は Ex Taq 付属のマニュアルに従って決定し、反応液の総量を 10 μL とした。PCR 反応は PCR サーマルサイクラー (Simpli Amp Thermal Cycler、Thermo Scientific 社) を使用し、 94°C で 5 分間の初期変性に続き、 94°C で 30 秒間の変性、 55°C で 30 秒間のアニーリング、 72°C で 30 秒間の伸長を 25 サイクル行い、最後に 72°C で 7 分間の最終伸長とした。1st PCR 産物は AMpure XP (Beckman Coulter 社) で精製し、MiSeq (Illumina 社) のアダプター配列を連結した 2nd PCR のテンプレートとして使用した。2nd PCR は 94°C で 5 分間の初期変性に続き、 94°C で 30 秒間の変性、 55°C で 30 秒間のアニーリング、 72°C で 30 秒間の伸長を 8 サイクル行い、最後に 72°C で 7 分間の最終伸長とした。2nd PCR 産物は AMpure XP (Beckman Coulter 社) で再度精製した。

調整したライブラリーは、秋田県立大学バイオテクノロジーセンターの MiSeq を使用してシーケンスするとともに、Claident v0.9 (<https://www.claident.org>) により、97% の配列同一性にもとづいた運用分類単位 (Operational taxonomic unit : OTU) に分割された。また、属レベルでの硝化菌^{73), 89)}と脱窒菌^{50), 90-93)}は、既往の論文中に記載されていた細菌を評価した。さらに、各 α 多様性指数の解析には、R 4.2.1 (オープンソースフリーソフトウェア) の vegan パッケージ⁹⁴⁾を使用した。

第3節 結果と考察

3-3-1 DN₂O 分析方法の精度

表3-5にDN₂O分析方法の精度確認試験結果を示す。これより、いずれもDN₂O濃度の実測値と理論値に誤差が生じ、相対誤差は-3.9%から+8.0%であった。また、平均相対誤差は3.2%であった。この原因としてはシリンジ内にサンプルを移動する際のガス化、液部とヘッドスペース部の濃度の不均衡、シリンジ内へのサンプル封入時における大気ガスの混入、などが挙げられる。したがって、現場作業時においても同様に、3%程度の誤差が内在していたと考えられる。

表3-5 DN₂O分析方法の精度確認試験結果

試験実施者 ID	水温 °C	DN ₂ O (mgN L ⁻¹)			(%)	
		実測値	理論値	絶対誤差 ^a	相対誤差 ^b	
K	17.9	1.275	1.300	-0.025	-1.9	
	17.9	1.310	1.300	+0.009	+0.7	
	17.9	1.346	1.300	+0.046	+3.6	
	18.1	1.293	1.291	+0.002	+0.2	
	18.1	1.305	1.291	+0.014	+1.1	
T	17.9	1.362	1.300	+0.062	+4.7	
	18.4	1.335	1.277	+0.058	+4.6	
	18.5	1.375	1.272	+0.102	+8.0	
	18.3	1.375	1.282	+0.093	+7.3	
	18.2	1.344	1.286	+0.057	+4.5	
M	18.1	1.282	1.291	-0.009	-0.7	
	17.8	1.275	1.305	-0.029	-2.3	
	17.3	1.342	1.329	+0.013	+1.0	
	17.3	1.380	1.329	+0.051	+3.8	
	17.4	1.272	1.324	-0.052	-3.9	
平均相対誤差					3.2 %^c	

^a 実測値 - 理論値

^b 絶対誤差 / 理論値 × 100

^c 相対誤差の絶対値の平均

3-3-2 無終端水路反応槽における窒素動態と DN_2O の関係

図3-4に、2017年7月20日と2017年11月29日の1号攪拌機稼働時と2号稼働時における反応槽6地点のDO濃度、表3-6に、両調査日の水処理状況と反応槽水質の一覧を示す。これより、DOは一般的な無終端水路と同様に²¹⁾、攪拌直後を最高値とした濃度勾配を形成していたことが確認された(図3-4)。ただし、両調査日のDO濃度を比較すると、7月の方が低い傾向にあった。酸素供給能力を示す攪拌機回転速度は同じ設定であったことから、DO濃度が7月の方が低い傾向にあったのは、水温とMLVSS(表3-6)に関連した活性汚泥の酸素消費速度の増加によるものと考えられる。一般的な活性汚泥の呼吸活性は30℃から35℃で最大となる傾向にあり⁹⁵⁾、Phelpsの式で表されるBODの温度補正係数は $1.065^{(T-20)}$ で与えられる(T =水温)⁹⁶⁾。Phelpsの式の温度補正係数に本調査時の水温を代入したところ、7月20日の水温平均値:22.4℃では1.16、11月29日の水温平均値:15.3℃では0.74と7月の方が約1.6倍高い値であった。また、MLVSSは活性汚泥量をあらわす数値であり、活性汚泥量の増加が酸素消費量の増加につながったと推察された。

次に、図3-5に各調査日の反応槽6地点におけるDOC濃度、 NH_4^+ 濃度、 NO_2^- 濃度、 NO_3^- 濃度を示す。これより、DOC濃度は、7月、11月ともにいずれの攪拌機稼働時でも大きな違いはみられなかった(図3-5(a)(e))。また、表3-6に示す反応槽水質に基づいてDOCの除去率を算出したところ、7月が1号攪拌機稼働時:89%、2号攪拌機稼働時:88%、11月は1号攪拌機稼働時:90%、2号攪拌機稼働時:89%と試算され、有機物の除去能力は同程度に高いことが確認された。以上より、反応槽内に流入した易分解性有機物⁹⁷⁾は瞬時に希釈されつつも、有機物酸化もしくは脱窒反応により除去されていたと考えられる。なお、表3-1の大曲処理センター水処理実績より、3系反応槽の COD_{Mn} とBODの除去率はいずれも75%以上の高い除去率を有していることが確認された(最初沈殿池流出水質と3系最終沈殿池流出水質にて算出)。

NH_4^+ 濃度は、7月の2号攪拌機稼働時において、流入地点近傍(A地点)が他の地点よりも高濃度になる場合があったが(図3-5(f))、1号攪拌機稼働時は概ね均一な値であった(図3-5(b))。また、 NO_2^- 濃度はいずれの攪拌条件でも概ね均一な値であり(図3-5(c)(g))、 NO_3^- は低濃度でやや特長がみえづらいものの、濃度域としては同様であった(図3-5(d)(h))。反応槽への流入ゲートは水面より上に設置されているため、7月の2号攪拌機稼働時は、流入した高濃度の NH_4^+ が縦方向に攪拌されず(流入地点の1号攪拌機は停止中)、A地点で採取した活性汚泥混合液が他地点と比べて高濃度になったと推察された。

NH_4^+ の除去率を表3-6に示す反応槽水質に基づいて算出したところ、7月が1号稼働時で50%、2号稼働時で37%、11月は1号稼働時で97%、2号稼働時で91%と試算され、調査日による NH_4^+ 酸化能力の違いがみられた。なお、表3-1の大曲処理センター水処理実績より、 NH_4^+ の除去率は56%から84%であった(処理場流入水と3系最終沈殿池流出水にて算出)。そのため、2017年11月は特に NH_4^+ 酸化能力が高かったと考えられる。既往の研究では、DO増加にともなうアンモニア酸化細菌増殖速度⁹⁸⁾、硝化効率⁹⁹⁾の増加が報告されており、本研究でもDOが高濃度であった11月(図3-4、表3-6)の NH_4^+ 酸化活性が高く、 NH_4^+ 酸化に有利な状況であったと推察された。一方で、 NH_4^+ 酸化速度が水温上昇とともに高まるという報告もあるが¹⁰⁰⁾、本調査時の水温は7月の方が高かったことから(表

3-6)、アンモニア酸化細菌の活性は水温よりも DO 濃度に強く影響を受けていたと推察された。

NO₂⁻濃度は、11月の1号攪拌機稼働時が高い値であった(表3-6、図3-5(c)(g))。これは、11月の1号攪拌機稼働時における脱窒活性の低下を示すものと考えられる。既往研究では、酸素の存在^{101), 102)}、水温の低下⁶⁶⁾、有機物の利用制限¹⁰³⁾が脱窒活性を低下させることを報告している。7月よりも高 DO 濃度、低水温であった11月は、脱窒活性が低下する条件下にあったとともに、流入地点付近の DO 濃度が高い(図3-4)1号攪拌機稼働時は、好氣的な有機物酸化が促進し⁵⁶⁾、脱窒に利用する有機物が制限されていたと推察された。

最後に、図3-6に各調査日の反応槽6地点におけるDN₂O濃度を示す。これより、7月はいずれの攪拌条件においても流入濃度(G地点)と同程度に低く、概ね均一であった。一方で、11月はいずれもの攪拌条件でも流入濃度より高い傾向にあり、平面空間的な濃度勾配がみられた。1号攪拌機稼働時は、A地点からF地点まで増加し、最高値が247.9 μgN L⁻¹であった。2号稼働時は、全ての地点におけるDN₂O濃度が1号稼働時よりも低く、A地点が135.7 μgN L⁻¹の最高値で、流下方向に減少していった。特に変化量が大きい2号稼働時のF地点からA地点は、流入負荷の影響で生物学的なN₂O生成が促進されていたと推察された。ただし、本研究では各地点のサンプリング時に数分のタイムラグがあったとともに、前項に記述したように人為的な分析誤差が内在する。そのため、詳細な平面変動解析にはセンサーを使用した連続測定データが必要と考えられる。本無終端水路の連続測定による平面的DN₂O濃度変動の解析結果は、第4章に示す。

DN₂Oが高濃度であった11月の1号攪拌機稼働時は(表3-6、図3-6)、NO₂⁻も高濃度であった(表3-6、図3-5(c)(g))。複数の既往研究においてNO₂⁻が硝化菌脱窒と従属栄養細菌脱窒経路のN₂O生成に關与する重要な物質であることが報告されており^{14), 18), 41), 42)}、本研究でも同様の結果となった。また、N₂Oの還元活性はNO₂⁻と同様に、酸素の存在^{101), 102)}、低水温⁶⁶⁾、有機物の利用制限¹⁰³⁾の影響を受ける。そのため、11月の1号攪拌機稼働時はNO₂⁻と同様にDN₂Oが蓄積しやすい状況であったと考えられる。なお、N₂O還元活性は酸素、水温、有機物のいずれも、NO₂⁻よりも影響を受けやすいことが報告されている^{66), 101-103)}。

以上より、本研究対象の無終端水路反応槽では、水温とMLVSSに起因した生物学的な酸素消費速度の影響で、DO濃度が11月調査時に高くなり、NH₄⁺酸化が促進、脱窒が抑制された。また、DN₂O濃度はNO₂⁻濃度との関連がみられ、11月の1号攪拌機稼働時に高濃度となった。一方で、11月の2号攪拌機稼働時は、1号攪拌機稼働時よりも、NO₂⁻とDN₂Oが低濃度となる傾向を示した。これは、Sunら⁵⁶⁾の、流入と攪拌の位置関係でN₂O排出を抑制できるというパイロットスケール無終端水路の研究結果が、フルスケール無終端水路反応槽でも同様であることを示唆するものと考えられる。なお、pHは7付近で安定しており、調査日および攪拌条件による大きな違いはみられなかった(表3-6)。

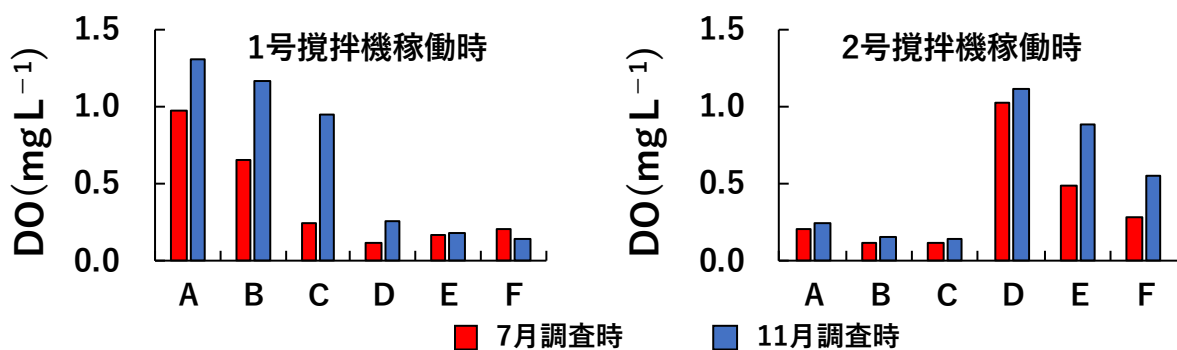


図3-4 2017年7月20日および11月29日の反応槽6地点におけるDO濃度
(地点A、B、C、D、E、Fは図3-2参照のこと)

表3-6 2017年7月調査時および11月調査時の水処理状況と反応槽水質

単位		2017年7月20日			2017年11月29日		
		反応槽 流入水 (G地点)	反応槽6地点の平均値		反応槽 流入水 (G地点)	反応槽6地点の平均値	
			1号稼働時	2号稼働時		1号稼働時	2号稼働時
HRT ^a	h	11.6			10.3		
SRT ^a	d	19.9			17.8		
MLSS ^a	mg L ⁻¹	2,500			2,100		
MLVSS ^a	mg L ⁻¹	2,300			1,900		
水温	°C	22.7	22.1	22.6	15.4	15.2	15.4
pH	—	6.8	7.1	7.2	7.4	6.9	7.0
DOC	mg L ⁻¹	55.9	6.2	6.6	46.4	4.7	5.2
NH ₄ ⁺	mgN L ⁻¹	17.6	8.8	11.0	33.5	1.2	3.1
NO ₂ ⁻	mgN L ⁻¹	<0.01	0.03	0.02	0.03	1.54	0.16
NO ₃ ⁻	mgN L ⁻¹	0.01	0.01	0.01	0.02	0.02	0.01
DN ₂ O	μgN L ⁻¹	1.1	0.9	0.6	2.4	191.6	39.9
DO	mg L ⁻¹	—	0.39	0.37	—	0.66	0.51

^a 処理場管理データ

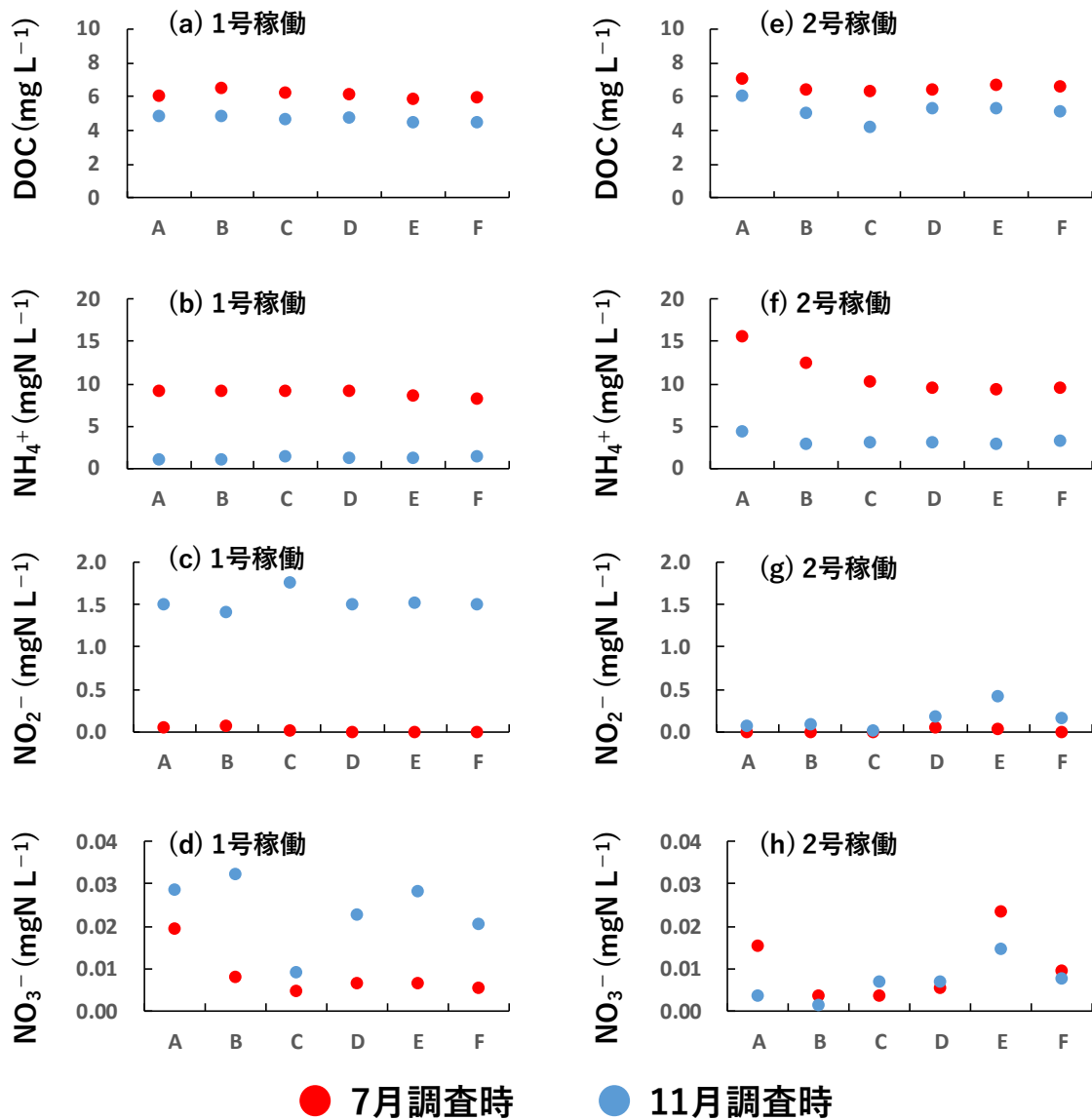


図3-5 2017年7月調査時および11月調査時の反応槽6地点における、1号攪拌機稼働時の(a)DOC濃度(b)NH₄⁺濃度(c)NO₂⁻濃度(d)NO₃⁻濃度、2号攪拌機稼働時の(e)DOC濃度(f)NH₄⁺濃度(g)NO₂⁻濃度(h)NO₃⁻濃度(地点A、B、C、D、E、Fは図3-2参照のこと)

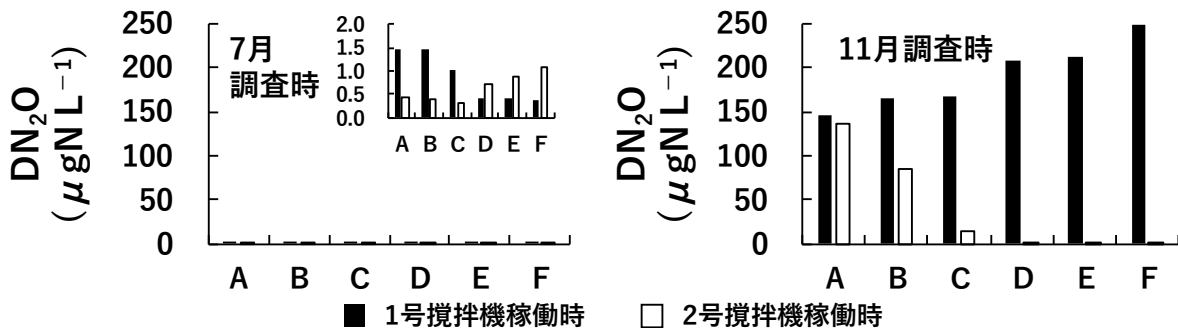


図3-6 2017年7月調査時および11月調査時の反応槽6地点におけるDN₂O濃度(7月調査時には縦軸スケールの異なるグラフを表示、地点A、B、C、D、E、Fは図3-2参照のこと)

3-3-3 機能遺伝子転写量と窒素動態および DN₂O の関係

図 3-7 に 2017 年 7 月 20 日と 2017 年 11 月 29 日の 1 号攪拌機稼働時と 2 号稼働時における反応槽 6 地点の窒素変換に關与する機能遺伝子の転写量を示す。既往の研究では、DO 濃度増加時の *amoA* mRNA 転写量の増加⁴⁵⁾、亜硝酸還元酵素の転写を制御するタンパク質の酸素存在下での不活性化¹⁰⁴⁻¹⁰⁷⁾、低酸素水環境での脱窒に關与する酵素転写量の増加¹⁰⁸⁾、*nosZ* の転写を調節するタンパク質の酸素の存在下での不活化^{104), 105)}、などが報告されていることから、DO 濃度が窒素変換の機能遺伝子転写に關与すると考えられる。一方で、本解析結果では、いずれの機能遺伝子転写量も平面的な DO 濃度(図 3-4)との関係性はみられなかった(図 3-7)。無終端水路内では DO 濃度勾配が形成されているが、活性汚泥は水路内の高 DO 濃度エリアと低 DO 濃度エリアを交互に通過するとともに十分に攪拌混合されながら循環するため、平面的な関係性がみえづらくなつたと考えられる。

そこで、機能遺伝子転写量について反応槽全体での比較を行った(図 3-8)。これより、*amoA* mRNA の転写量を比較したところ、いずれの攪拌条件でも 11 月の方が高い傾向を示した(1 号攪拌機稼働時： $p=0.07$ 、2 号攪拌機稼働時： $p=0.06$)。これらのデータは、11 月の調査日におけるアンモニア酸化細菌の活性の高さを示唆しており、前項で示した NH₄⁺濃度の関係性(7 月が高濃度で 11 月が低濃度)(表 3-6、図 3-5 (b) (f))とも合致する結果であった。

次に、*nirS* mRNA および *nirK* mRNA の転写量を比較した。なお、本解析における *nirS* mRNA および *nirK* mRNA は従属栄養細菌脱窒活性のみを反映している。*nirS* mRNA は 2 号攪拌機稼働時に大きな差はみられなかったが(図 3-8 (b))、1 号攪拌機稼働時は 11 月の方が低い傾向を示した($p=0.05$)(図 3-8 (a))。さらに、11 月の攪拌機別で比較すると、1 号攪拌機稼働時が低い傾向を示した($p=0.13$)(図 3-8)。 *nirK* mRNA も同様な傾向となり、1 号攪拌機稼働時は 11 月の方が低い傾向を示し($p=0.11$)(図 3-8 (a))、11 月の攪拌条件で比較すると 1 号攪拌機稼働時が低い傾向を示した($p=0.60$)(図 3-8)。これらのデータについても、前項の NO₂⁻濃度の関係性(11 月の 1 号攪拌機稼働時が高濃度)(表 3-6、図 3-5 (c) (g))と合致する結果であり、11 月の 1 号攪拌機稼働時における従属栄養細菌の NO₂⁻還元活性の低下を示唆するものと考えられる。

最後に、clade I type *nosZ* mRNA および clade II type *nosZ* mRNA の転写量を比較した。なお、clade II type は N₂O との親和性が高く、N₂O 還元反応により影響を与える可能性が言及されている¹⁰⁹⁾。clade I type *nosZ* mRNA は大きな違いはみられなかった一方で、clade II type *nosZ* mRNA はいずれの攪拌条件でも 11 月の方が低い傾向を示した(1 号攪拌機稼働時： $p=0.05$ 、2 号攪拌機稼働時： $p=0.30$)(図 3-8)。また、11 月の clade II type *nosZ* mRNA について、攪拌条件で比較したところ、1 号攪拌機稼働時に低い傾向を示した($p=0.29$)(図 3-8)。これらの clade II type *nosZ* mRNA のデータは、前項の DN₂O 濃度の関係性(11 月の 1 号攪拌機稼働時が高濃度)(表 3-6、図 3-6)と合致する結果であり、11 月の 1 号攪拌機稼働時における従属栄養細菌の DN₂O 還元活性の低下を示唆するものと考えられる。

ここで、DN₂O が高濃度であった 11 月の 1 号攪拌機稼働時は、*nirS* mRNA および *nirK* mRNA が他の条件と比較して低かったことから、従属栄養細菌脱窒経路が N₂O 生成の主経路ではなかったと推察された。さらに *haoA* mRNA 転写量はいずれの条件においても低い傾向にあったことから、既往研究と同様に⁴⁵⁾ヒドロキシルアミン酸化経路での N₂O 生成が限

定的であったと考えられる。これより、高 DN₂O 濃度時における N₂O 生成の主経路は硝化菌脱窒であり、N₂O 還元活性の低下により DN₂O が蓄積したと推察された。なお、既往研究では DN₂O 濃度と *amoA* mRNA および *nirK* mRNA 転写量の増加ピーク的一致⁴⁵⁾、*nosZ* / (*nirK* + *nirS*) mRNA で表される転写量の比と N₂O 消費との関連⁷⁷⁾、*nosZ* mRNA 転写量と N₂O 減少速度の関連⁷⁸⁾が報告されているが、本研究では *amoA* mRNA 転写量が高く、clade II type *nosZ* mRNA の転写量が低いこと (図 3 - 8) が DN₂O の蓄積と関連していた (表 3 - 6、図 3 - 6)。

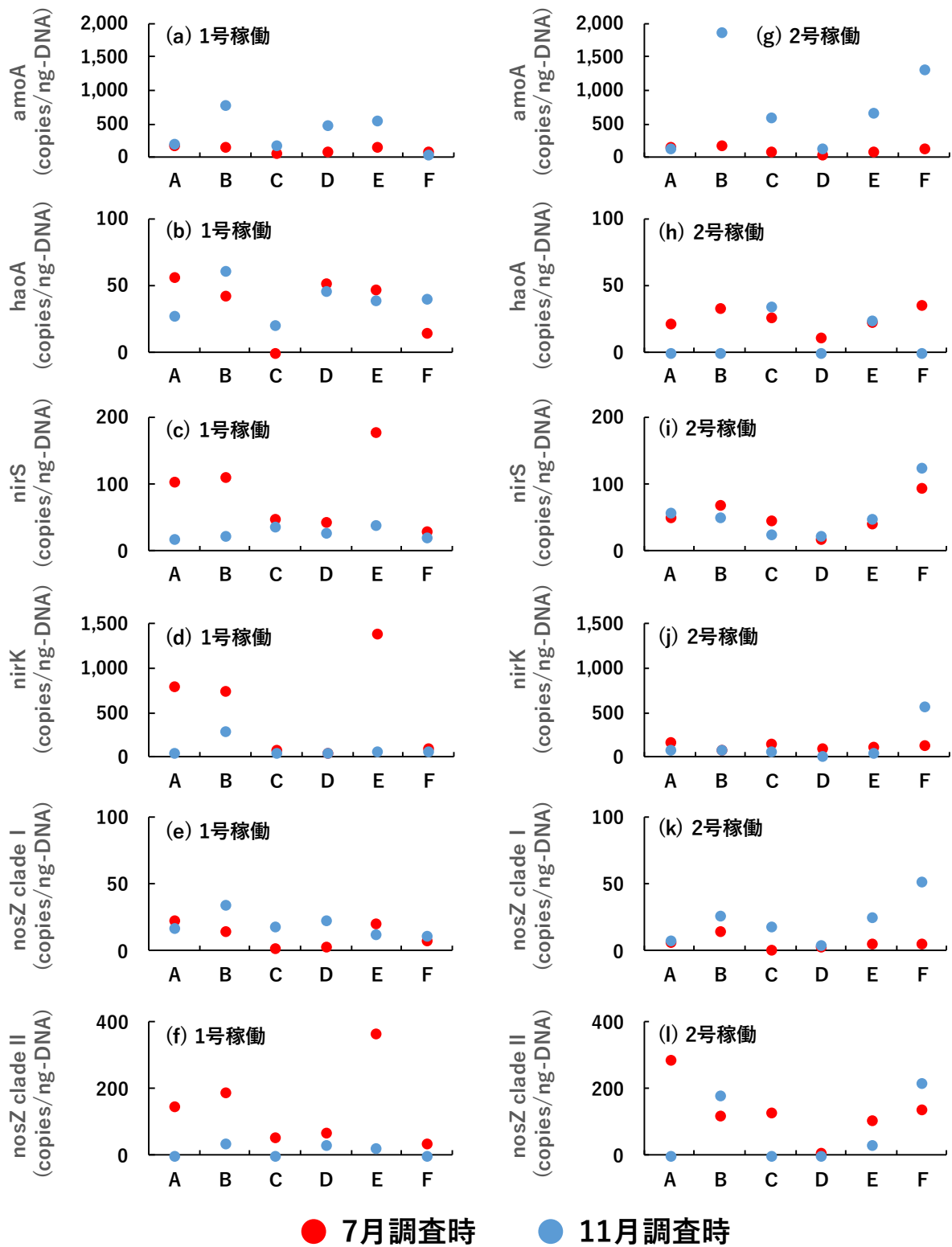


図3-7 2017年7月調査時および11月調査時の反応槽6地点における、1号攪拌機稼働時の(a) *amoA* (b) *haoA* (c) *nirS* (d) *nirK* (e) *nosZ clade I* (f) *nosZ clade II*、2号攪拌機稼働時の(g) *amoA* (h) *haoA* (i) *nirS* (j) *nirK* (k) *nosZ clade I* (l) *nosZ clade II* mRNA 転写量 (地点A、B、C、D、E、Fは**図3-2**参照のこと)

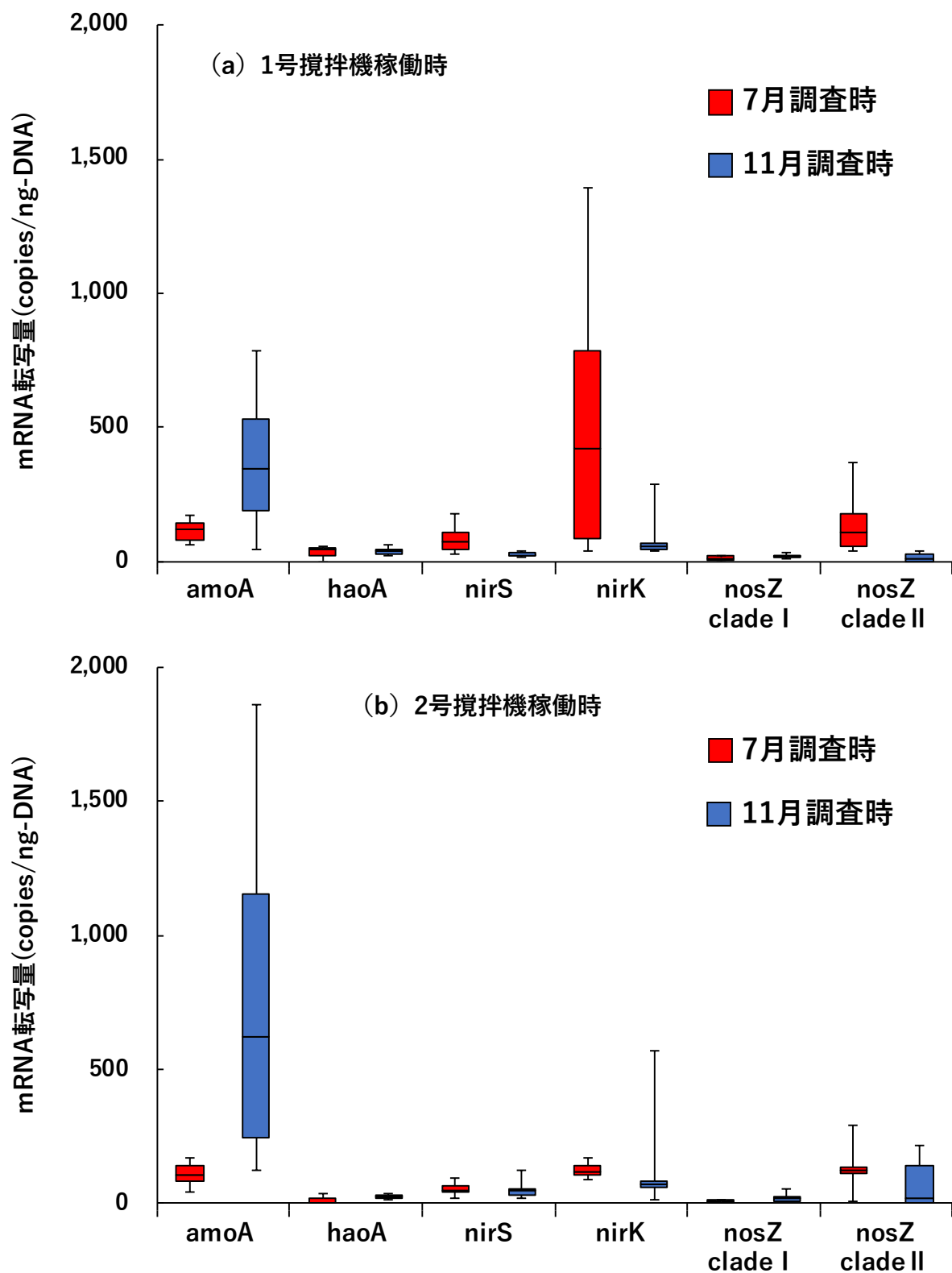


図3-8 2017年7月調査時および11月調査時の(a)1号攪拌機稼働時(b)2号攪拌機稼働時における窒素変換に関与する機能遺伝子の転写量(上端と下端は最大値と最小値を示す)

3-3-4 無終端水路内における菌叢の偏り

図3-9に2022年の10月13日および10月20日の無終端水路反応槽のBおよびE地点における門レベルでの細菌叢相対存在率を示す。これより、いずれの調査日においても、既往研究と同様に *Proteobacteria* 門および *Bacteroidetes* 門が優占し^{110), 111)}、相対存在率は採取地点での大きな違いがみられなかった。また、属レベルでの脱窒菌も優占種およびその相対存在率について大きな違いはみられなかった(図3-10)。属レベルでの硝化菌は相対存在率が低く、既往研究と同様に特徴がみえづらい結果¹¹⁰⁾であったが(図3-11)、いずれの調査日および調査地点においても優占種は同様であった。さらに、種数の推定量を表す ACE¹¹²⁾、種の多様性(0から1で示す)を表す Simpson 指数¹¹³⁾のいずれも大きな違いはみられなかった(表3-7)。以上より、無終端水路内では、押し出し流れ形式の反応槽と同様に^{50), 110)}菌叢の違いはほとんどないことが確認された。また、大曲処理センター無終端水路反応槽内では MLSS が均一化されていることも確認されていることから、水路内の微生物は混合されて偏りがなく、窒素除去機構には影響を与えないことが推察された。

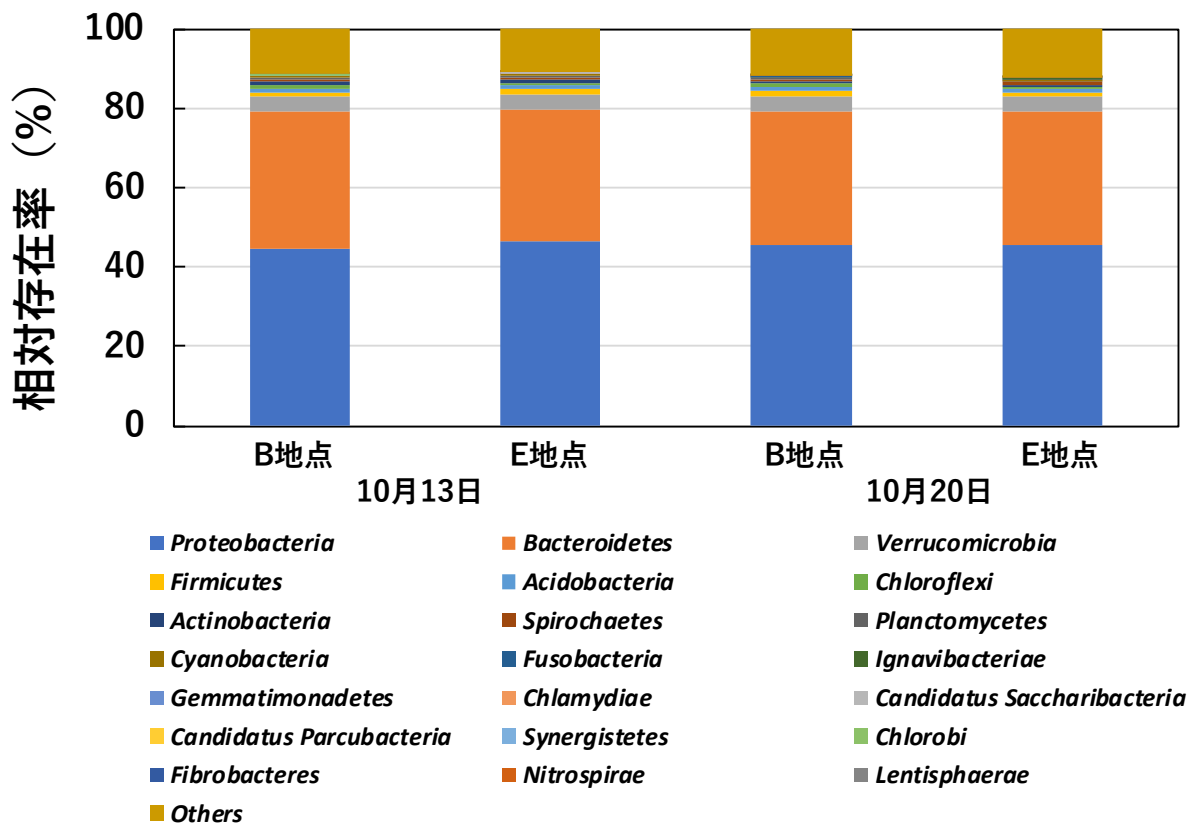


図3-9 2022年10月調査時の無終端水路反応槽B、E地点における門レベルでの細菌叢相対存在率(地点B、Eは図3-2参照のこと)

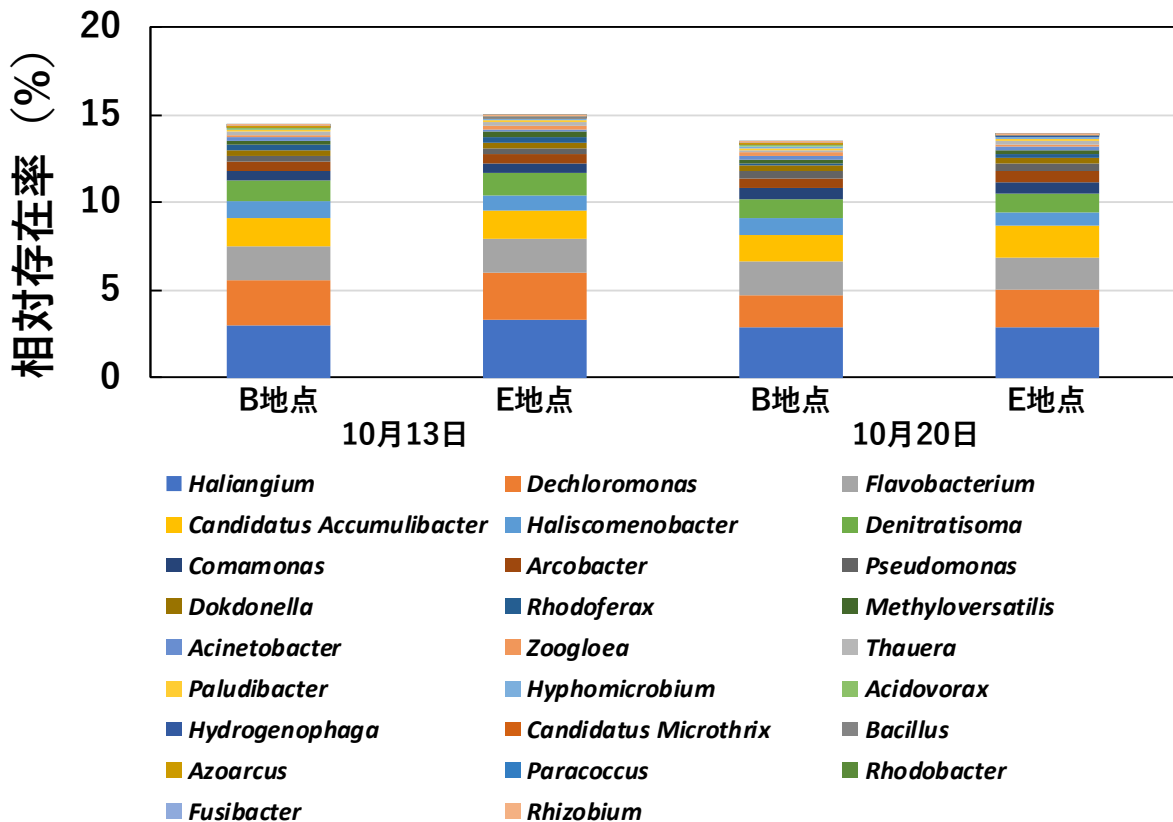


図 3 - 1 0 2022 年 10 月調査時の無終端水路反応槽 B、E 地点における属レベルでの脱窒菌相対存在率（地点 B、E は図 3 - 2 参照のこと）

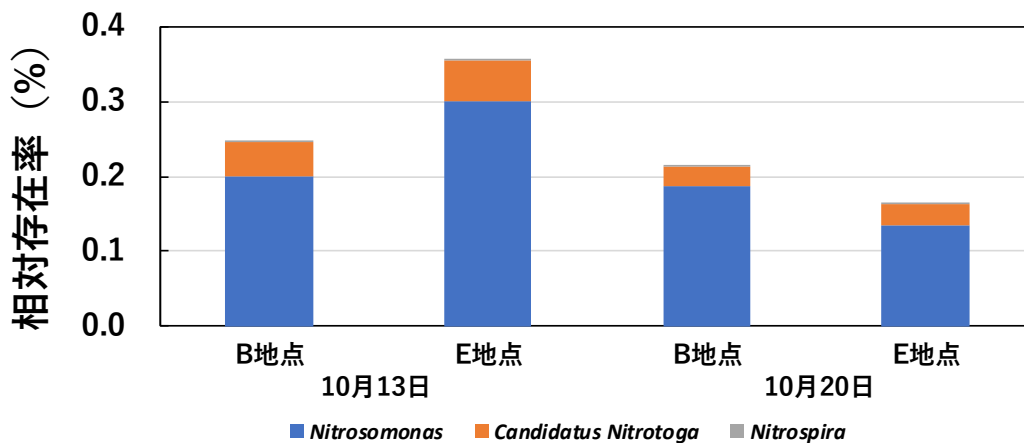


図 3 - 1 1 2022 年 10 月調査時の無終端水路反応槽 B、E 点における属レベルでの硝化菌相対存在率（地点 B、E は図 3 - 2 参照のこと）

表 3 - 7 2022 年 10 月調査時の無終端水路反応槽 B、E 地点における α 多様性指数（地点 B、E は図 3 - 2 参照のこと）

	10月13日		10月20日	
	B地点	E地点	B地点	E地点
ACE	1,847	1,806	1,808	1,756
Simpson	0.99	0.99	0.99	0.99

第4節 まとめ

本章では、フルスケール無終端水路反応槽における N_2O 生成機構を明らかにすることを目的に、秋田県大仙市に位置する大曲処理センターにおいて 2017 年 7 月と 11 月に現場調査を行った。具体的には、 DN_2O などの窒素化合物を含めた水質解析、硝化と脱窒に關与する機能遺伝子転写量解析を無終端水路内の複数地点で行った。さらに、2022 年 10 月に活性汚泥の 16S rRNA 遺伝子のアンプリコン解析を行い、水路内の菌叢の偏りを確認した。

その結果、11 月は無終端水路反応槽内の DO 濃度が高い傾向にあり、 NH_4^+ 濃度が低かったことから、 NH_4^+ 酸化が促進していたことが確認された。一方で、 NO_2^- 濃度と DN_2O 濃度は攪拌機の稼働条件で異なり、11 月の調査日で比較すると 1 号攪拌機稼働時に高く、2 号攪拌機稼働時は低い値を示した。1 号攪拌機稼働時は、有機物負荷の高い排水の流入地点付近が高 DO 低濃度となる条件であったため、流入有機物を電子供与体とした脱窒反応が停滞したと推察された。この結果は、既往研究で言及された攪拌条件の最適化により、窒素除去と N_2O 抑制を同時に達成できることを示唆するものと考えられる。

機能遺伝子転写量は、11 月はアンモニア酸化酵素をコードする *amoA* の mRNA 転写量が多く、従属栄養細菌の亜硝酸還元酵素をコードする *nirS*、*nirK*、 N_2O 還元酵素をコードする *nosZ* (clade II type) の各転写量は 11 月の 1 号攪拌機稼働時に低い傾向を示した。さらに、ヒドロキシルアミン酸化酵素をコードする *haoA* mRNA 転写量はいずれの条件においても低い傾向を示した。これより、本無終端水路反応槽では、主として硝化菌脱窒経路で N_2O が生成し、同時に従属栄養脱窒による N_2O 還元が停滞することにより DN_2O が高濃度で検出されたと推察された。

なお、2022 年の菌叢解析より、水路内の菌叢に偏りがみられなかったことから、地点ごとの窒素除去機構に微生物の影響が關与していないことが推察された。

第4章 無終端水路反応槽における N₂O 動態解析

第1節 はじめに

既往の研究では、フルスケール反応槽を対象とした N₂O の連続モニタリング調査が複数実施されており、押出し流れ式反応槽^{9), 45), 46), 48-51)}と回分式反応槽^{9), 17), 52), 53)}において N₂O 排出に時間変動が生じることが報告されている。また、1年以上の長期連続モニタリング調査では^{46), 47), 114)}、N₂O 排出に季節的な変動があることも報告されている。そのため、フルスケール反応槽の N₂O 排出量を正確に捕捉するためには、長期かつ高頻度の測定が必要とされている^{16), 114)}。一方で、既往のフルスケール無終端水路反応槽における N₂O 排出解析としては、非連続モニタリング調査や^{15), 27)}、前段に押し出し流れ式反応槽を備えた無終端水路⁴⁷⁾、並列した無終端水路への間欠流入形式⁵⁴⁾、などのやや特殊な形式における連続モニタリング調査に限られている(表1-4)。そのため、無終端水路反応槽の N₂O 排出抑制に向けて、長期調査や連続モニタリング調査による、N₂O 排出動態解析データの蓄積が必要と考えられる。

ここで、大気開放型反応槽における GN₂O 排出量の測定方法について、曝気により酸素供給を行っている場合は、第2章で使用したようなチャンバー(図2-3(a))を水面に浮かべ、ストリップングされたガスを捕捉する方法が広く用いられている^{9), 51), 114)}。一方で、機械式攪拌により酸素供給を行っている場合は、攪拌機のフレーム構造の問題からチャンバーの利用は難しく³⁷⁾、現状ではサンプリング技術が未確立である¹¹⁵⁾。既往の研究では、攪拌地点以外の水面からガス化速度を実測する方法^{37), 38)}、機械式攪拌付近のガスを採取する方法^{15), 56)}、二重境膜説¹¹⁶⁾に基づくガス移動容量係数(K_{La})を使用した方法²⁷⁾、以上の方法が用いられているが、いずれも精度は不明である。

以上に鑑み、本章では第3章と同様に大曲処理センターの3系無終端水路反応槽を対象とし、DN₂O 濃度の非連続モニタリング調査による1年以上の長期変動解析、センサーを使用した約1カ月の経時変動解析を行った。なお、パイロットスケール無終端水路反応槽の研究結果では、N₂O 生成に DO 濃度³⁷⁾、SRT³⁸⁾、MLSS⁴⁰⁾、流入負荷⁴⁰⁾などが影響すると報告しており、本研究でもこれらのパラメータとの関係性の解析を試みた。また、機械式攪拌における GN₂O 排出量の算出方法について、既往の知見^{27), 37), 38)}に基づいた検証を行った上で、GN₂O 排出と DN₂O 排出を合算した総排出量の日変動解析を行った。さらに、既往の研究で実施されている N₂O の生成ポテンシャル試験¹¹⁷⁾を本処理場でも実施し、活性汚泥の N₂O 生成能力の変化が実際の N₂O 排出に与える影響についても評価した。

第2節 方法

4-2-1 調査方法

本章で対象とした施設は第3章と同様に大曲処理センターの3系水処理工程である（図3-1、図3-2）。反応槽におけるDN₂O濃度の長期変動および時空間的なDN₂O濃度の経時変化を把握するため、長期非連続モニタリング調査と約1カ月の連続モニタリング調査を行った。

長期非連続モニタリング調査は、2017年5月10日から2017年11月29日の2号攪拌機稼働時、2018年9月4日から2019年3月26日の1号攪拌機稼働時、以上2つの期間において、約2週間に1回の頻度で行った（表4-1）。

調査では、バケツもしくは柄杓を使用して反応槽C地点もしくはE地点の活性汚泥混合液を採取し、その場で0.45 μmセルロース混合エステルメンブレンフィルター（SLHA025NB、Merck社）でろ過した。これを溶存態の水質分析用ろ過サンプルとし、イオンクロマトグラフ（10A-vp、島津製作所）を使用してNH₄⁺、NO₂⁻、NO₃⁻濃度を分析した。

さらに、活性汚泥混合液からDN₂O分析用サンプルも作製した。DN₂O分析用サンプルの作製は、作業の都合上、上記した2つの期間で異なる方法を採用した。2017年5月10日から2017年11月29日は、第3章の3-2-2項に記載した方法で行った（(3-1)式）。2018年9月4日から2019年3月26日は、調査地点において60 mLプラスチックシリンジに反応槽混合液とN₂ガスもしくは大気ガスを25 mLずつ封入し、1分間混合攪拌して気液平衡状態にさせた。その後、シリンジ内のヘッドスペースガス15 mLを、別のシリンジを使用して真空状態の10 mLバイアル瓶に正圧となるよう封入し、これをDN₂O濃度分析用サンプルとした。反応槽混合液中のDN₂O濃度算出式は(3-1)式と同様である。なお、いずれの方法も既往研究を参考にしたものである^{63), 80)}。

連続モニタリング調査は、DN₂O測定用コントローラー（N₂O Wastewater Controller、Unisense Environment社）に、DN₂Oセンサー（N₂O Wastewater Sensor、Unisense Environment社）を2本接続し、2019年10月22日から10月27日に（停電により計測が中断した日を除いた実質測定日数：5日）、センサー検出部を反応槽B地点およびE地点に約30 cm浸漬させ、水温とともに10秒間隔で計測を行った。その後、DN₂Oセンサー1本を継続して使用し、11月29日までB地点の計測を行った（停電により計測が中断した日を除いた実質測定日数：5日：38日）。ここで、本研究では鉛直方向のDN₂O濃度勾配は測定していなかったものの、既往研究において、攪拌されている反応槽の鉛直方向の濃度勾配は生じないことが報告されているとともに¹¹⁸⁾、DN₂Oと溶解度が近いDO濃度¹¹⁹⁾は鉛直方向に勾配が生じないことをあらかじめ確認していたことから、対象反応槽では鉛直方向にDN₂O濃度勾配が生じないと仮定した。なお、DN₂Oセンサーの検出下限および上限濃度は、それぞれ0.005 mgN L⁻¹および2.00 mgN L⁻¹であり、事前に製造元プロトコルに従って校正作業を行った。また、調査期間中は定期的にセンサーの付着物の除去を行うとともに、3-2-3項のDN₂O分析方法の精度確認試験でも使用した既知DN₂O濃度水において、測定精度の確認を行った。さらに、DN₂O連続モニタリング期間中は、E地点に設置されているDO濃度測定計器において1時間ごとに正時にDO濃度の計測を行った。

表 4 - 1 長期非連続モニタリング調査の概要（地点 C、E は図 3 - 2 参照のこと）

調査期間	調査回数	調査地点	調査時の 稼働攪拌機	分析項目
2017年5月10日 - 2017年11月29日	21回 (約2週間に1回の頻度)	C	2号	NH ₄ ⁺ 、NO ₂ ⁻ 、 NO ₃ ⁻ 、DN ₂ O
2018年9月4日 - 2019年3月26日	29回 (約2週間に1回の頻度)	E	1号	

4-2-2 N₂O 排出量と排出係数の算出方法

反応槽における GN₂O 排出量は、攪拌地点のガス化量を攪拌地点以外のガス化量と同じとみなす方法（実測法）^{37),38)}と、N₂O の K_{La} 値から算出する方法（K_{La} 法）²⁷⁾の2つの方法で算出し、比較と検討を行った。

実測法では、はじめに反応槽水面からの N₂O ガス化速度： R_{N2O} と、DN₂O 過飽和濃度の関係を明らかにすることを目的に、2017年9月14日と2019年2月27日に N₂O ガス化速度計測試験を行った（表4-2）。試験は、既往の研究¹²⁰⁾を参考にしたクローズドチャンバー法により実施した。直径約0.29 m、高さ約0.6 m、開口面積0.066 m²の円柱型アクリル製クローズドチャンバーをヘッドスペース部の有効高さが0.54 mとなるように活性汚泥混合液水面に10分間固定し（図4-1）、その時間内に定期的にチャンバー内のガスサンプルとチャンバー付近の活性汚泥混合液を採取した。ガスサンプルは、チャンバー上部に連結させたシリコン製チューブ末端からプラスチックシリンジで採取した。採取時間直前にチューブ内のガスをシリンジで20 mL程度採取して即座に破棄し、再度15 mL採取して真空状態の10 mLバイアル瓶に正圧となるよう封入し、これを GN₂O 濃度分析用サンプルとした。 R_{N2O} は、水温に依存するシュミット数 (S_C)¹²¹⁾も考慮し、(4-1)式および(4-2)式に従い算出した。なお、活性汚泥混合液からは、3-2-2項に記載した方法で DN₂O 分析用サンプルの作製し、室内実験室で GN₂O 濃度分析用サンプルとともに分析を行った。

$$\alpha_S = 0.000165 \times T^2 + 0.019628 \times T + 0.541408 \dots \dots \dots (4-1)式$$

$$R_{N2O,20} = (V_{G,CC} / Acc) \times (dCg / dt) / \alpha_S \dots \dots \dots (4-2)式$$

ここで、 α_S ： S_C に基づく水温の補正係数（20°Cのときに1）、 T ：反応槽水温（°C）、 $R_{N2O,20}$ ：20 °Cでの値に補正された反応槽水面からの N₂O のガス化速度（ $\mu\text{gN m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ）、 $V_{G,CC}$ ：クローズドチャンバー内のヘッドスペース容積（m³）、 Acc ：クローズドチャンバーの開口面積（m²）、 dCg / dt ：クローズドチャンバー内の GN₂O 濃度増加速度（ppm s⁻¹）である。なお、 dCg / dt は、試験時の温度および1 atmでの $\mu\text{gN m}^{-3} \text{s}^{-1}$ に単位変換して使用した。

ガス化速度計測試験の結果から、DN₂O 過飽和濃度と $R_{N2O,20}$ の関係を表す係数 ($K_{N2O,20}$) を算出し、センサー測定値から算出する各 DN₂O 過飽和濃度を用いて一日当たりの GN₂O 排出量を算出した（(4-3)式）

$$E_{GM} = \sum (\alpha_S \times K_{N2O,20} \times S_{CLM} \times A \times MI) \dots \dots \dots (4-3)式$$

ここで、 E_{GM} ：実測法による反応槽からの GN₂O 排出量（kgN d⁻¹）、 $K_{N2O,20}$ ：ガス化速度計測試験結果から導いた係数（L m⁻² s⁻¹）、 S_{CLM} ：DN₂O 過飽和濃度（mgN L⁻¹）、 A ：反応槽面積（m²）、 MI ：DN₂O センサーの測定間隔（s）である。なお、 S_{CLM} は DN₂O センサーの実測値から水温に依存する大気平衡濃度²⁸⁾を減じた値とするとともに、単位を kgN m⁻³ に変換して使用した。また、攪拌機が稼働していない時間帯はガス交換が促進されないと考え、 E_{GM} を計上しないこととし、DN₂O センサーの測定間隔である10（s）ごとの値の合算により、一日あたりの E_{GK} （kgN d⁻¹）を算出した。

二重境膜説¹¹⁶⁾に基づく K_{La} 法は、既往研究を参考に^{119), 122), 123)}、以下の(4-4)式、(4-5)式で算出した。

$$K_{La,N_2O} = K_{La,O_2} \times \sqrt{D_{N_2O}/D_{O_2}} \dots\dots\dots(4-4)式$$

$$E_{GK} = \Sigma (K_{La,N_2O} \times \theta^{(T-20)} \times R / R_{MAX} \times SC_{LM} \times \alpha \times MI \times V_R) \dots\dots\dots(4-5)式$$

ここで、 K_{La,N_2O} : N_2O の移動容量係数 (s^{-1})、 K_{La,O_2} : 酸素の移動容量係数 (s^{-1})、 D_{N_2O} : 浄水における 20 °C の N_2O 拡散係数 ($m^2 s^{-1}$)、 D_{O_2} : 浄水における 20 °C の酸素拡散係数 ($m^2 s^{-1}$)、 E_{GK} : K_{La} 法による反応槽からの GN_2O 排出量 ($kgN d^{-1}$)、 θ : K_{La} の温度補正係数、 R : 攪拌機回転速度 (min^{-1})、 R_{MAX} : K_{La,O_2} 計測時の攪拌機の最高回転速度 (min^{-1})、 α : 浄水と活性汚泥混合液のガス移動速度比、 MI : DN_2O センサーの測定間隔 (s)、 V_R : 反応槽容積 (m^3) である。なお、 K_{La,O_2} は大曲処理センターの管理データ : 3.65 (h^{-1}) を 3.65/60 (s^{-1}) に単位変換して使用し、 θ は 1.024^{122), 123)}、 D_{N_2O} は 2.11¹²⁴⁾、 D_{O_2} は 2.01¹²⁴⁾、 α は第 5 章に記載するシミュレーションモデル (SUMO、Dynamita 社) のデフォルト値 : 0.9 を使用した。また、 E_{GM} と同様に攪拌機が稼働していない時間帯は E_{GK} を計上せず、 DN_2O センサーの測定間隔である 10 (s) ごとの値の合算により、一日あたりの E_{GK} ($kgN d^{-1}$) を算出した。

反応槽からの一日の DN_2O 排出量は(4-6)式により算出し、 GN_2O と DN_2O の合計量を総 N_2O 排出量とした ((4-7)式)。

$$E_D = \Sigma (C_{LM} \times W) \dots\dots\dots(4-6)式$$

$$E_T = E_G + E_D \dots\dots\dots(4-7)式$$

ここで、 E_D : 反応槽からの DN_2O 排出量 ($kgN d^{-1}$)、 C_{LM} : センサーによる DN_2O 濃度実測値 ($mgN L^{-1}$)、 W : 1 時間あたりの処理水量 ($m^3 h^{-1}$)、 E_T : 反応槽からの総 N_2O 排出量 ($kgN d^{-1}$)、 E_G : E_{GM} もしくは E_{GK} いずれか一方の値 ($kgN d^{-1}$) である。なお、 E_D は 1 時間ごとの値の合算により 1 日当たりの値を算出した。また、 C_{LM} は 1 時間当たりの平均値を使用するとともに、単位を $kgN m^{-3}$ に変換して使用した。

本研究における N_2O 排出係数は、溶存態無機窒素 (DIN) 除去量 ((4-8)式) あたりの総 N_2O 排出量とした ((4-9)式)。なお、DIN 除去量は、大曲処理センターの管理データ (流入 DIN 量と最終沈殿池流出 DIN 量) を使用するとともに、本章では各週の平均値を使用した。

$$\Delta DIN = (DIN_{In} - DIN_{Ef}) \times \Sigma W \dots\dots\dots(4-8)式$$

$$E_{T/\Delta DIN} = E_T / \Delta DIN \times 100 \dots\dots\dots(4-9)式$$

ここで、 ΔDIN : DIN 除去量 ($kgN d^{-1}$)、 DIN_{In} : 流入 DIN 濃度 ($kgN m^{-3}$)、 DIN_{Ef} : 最終沈殿池流出 DIN 濃度 ($kgN m^{-3}$)、 $E_{T/\Delta DIN}$: 反応槽からの N_2O 排出量係数 (%) である。

さらに、他の処理場との比較のため、流入 TN 量あたりの GN_2O 排出量で表す N_2O 排出

係数も算出した。ただし、大曲処理センターの通常の管理業務では TN 濃度は計測していないため、2016 年から 2022 年にかけて 14 回行われた通日試験の結果 (n=84) を流入 TN 濃度の推定に利用し (図 4-2)、(4-10)式により N₂O 排出係数を算出した。したがって、この排出係数は推定値として取扱った。

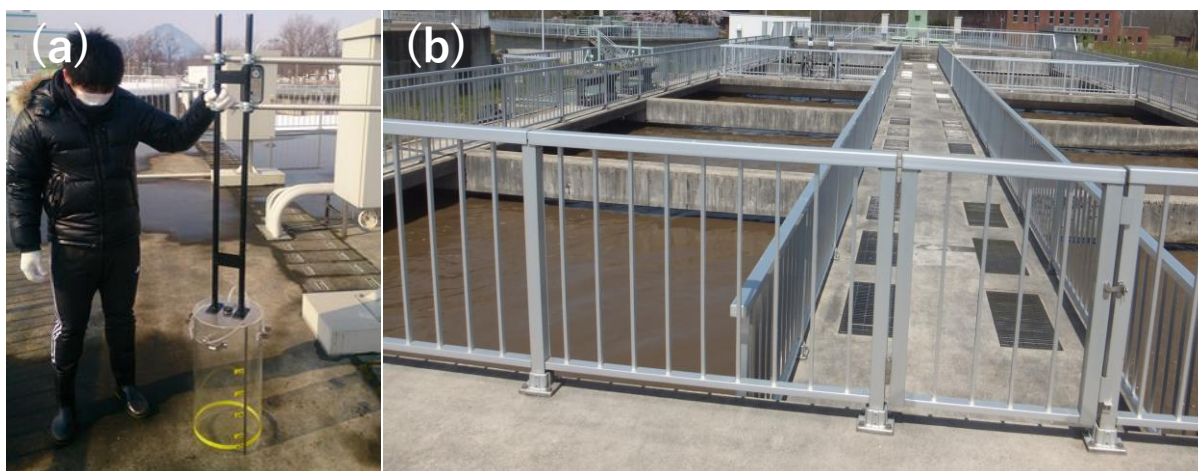
$$E_{G/m.TN} = E_G / ((DIN_{In} \times 0.79 + 15.47) \times \Sigma W) \dots\dots\dots (4-10)式$$

ここで、 $E_{G/m.TN}$ ：流入窒素量あたりの反応槽からの GN₂O 排出量係数 (%) である。

表 4-2 N₂O ガス化速度計測試験の概要
(地点 A、D、E、F は図 3-2 参照のこと)

調査日	調査地点	チャンバー内ガス採取間隔 (s)	活性汚泥混合液採取間隔 (s)
2017年9月14日	A、E、F	0、60、180、300、600	0、300、600
2019年2月27日	D、E、F	0、180、360、600	0、600

図 4-1 N₂O ガス化速度計測試験における (a) アクリル製クローズドチャンバー (b) 実施した反応槽水面



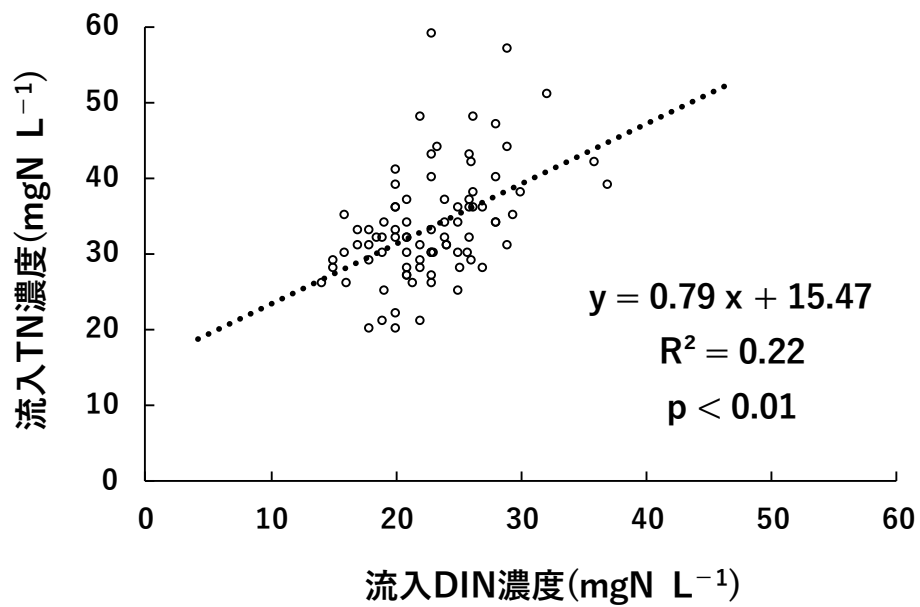


図4-2 2016年から2022年に実施された通日試験での流入DIN濃度と流入TN濃度の関係

4-2-3 N₂O 生成ポテンシャルの試験方法

N₂O 生成ポテンシャル試験は既往の研究を参考に¹¹⁷⁾、2019年11月11日、2019年11月18日、2019年11月22日に行った。試験当日に大曲処理センターの3系反応槽混合液を採取し、室内実験室に置いて遠心分離機（CR21N、エッペンドルフ・ハイマック・テクノロジー株式会社）に5,000 rpmで7分間供した後、上澄み液を20℃のBOD測定用の希釈水⁷¹⁾（N成分を除く）に置換した。この希釈水は表4-3に示す4つの試薬（A液、B液、C液、D液）を1Lの蒸留水に1mLずつ滴下して作製した。さらに、pHを6.8から7.2となるように1MのHClまたは1MのNaOHで調整し、これを試験水として以下の試験を行った。なお、希釈水に置換した直後の試験水のDIN成分が、イオンクロマトグラフ分析による検出限界以下（NH₄⁺：<0.1 mgN L⁻¹、NO₂⁻：<0.01 mgN L⁻¹、NO₃⁻：<0.01 mgN L⁻¹）であったことを確認している。

図4-3に示す通り、あらかじめ20℃に設定した恒温水槽に1L容器を設置し、800 mLの試験水を注いだ。図4-4は、試験装置一式である。試験水は、窒素と空気の混合ガスを3 L min⁻¹で連続曝気しつつ、DO濃度が1.0 mg L⁻¹となるように、窒素と空気の流量比を手動で制御した。なお、DO濃度制御値の1.0 mg L⁻¹は、第3章でN₂O生成の主経路とされた硝化菌脱窒の活性化を狙った数値である³⁵⁻³⁷⁾。DO濃度が安定した後、混合ガスのガスサンプルを15 mL採取し、真空状態の10 mLバイアル瓶に正圧となるよう封入しGN₂O濃度分析用サンプルとした。次に、基質濃度調整用の試薬として、NH₄ClとKNO₂試薬を添加し、添加後の1分、2分、5分、10分、20分、30分経過時に各容器に一箇所設けたガス排出口からガスサンプルを15 mL採取した。この際の試験水の初期濃度はNH₄⁺：20 mgN L⁻¹、NO₂⁻：5 mgN L⁻¹である。採取したガスサンプルは真空状態の10 mLバイアル瓶に正圧となるよう封入し、これをGN₂O濃度分析用サンプルとした。さらに、試験終了時（試薬添加30分後）に試験水を5 mL採取し、0.45 μmセルロース混合エステルメンブレンフィルター（SLHA025NB、Merck社）でろ過したDIN濃度分析用サンプルを作製した。なお、既往研究では試験中に曝気を行わず、試験終了後のみN₂O濃度を計測する方法を採用したが¹¹⁷⁾、本研究では、試験中のDO濃度の維持とN₂O濃度変化の把握を目的に、試験中も曝気を行うストリップング式を採用した。

N₂O濃度の分析には、第3章と同条件のECDガスクロマトグラフ（GC-14B、島津製作所）を使用した。水温およびDO濃度測定は、ポータブルDO濃度センサー（HQ30d、Hach社）、pH測定はポータブルpHセンサー（HM-30P、東亜ディーケーケー株式会社）、NH₄⁺、NO₂⁻、NO₃⁻濃度の分析はイオンクロマトグラフ（10A-*vp*、島津製作所）を使用した。

表4-3 N₂O 生成ポテンシャル試験の希釈水作製時に使用した試薬

A液：緩衝液	K ₂ HPO ₄	21.75	g L ⁻¹
	KH ₂ PO ₄	8.5	g L ⁻¹
	Na ₂ HPO ₄ · 12H ₂ O	44.6	g L ⁻¹
B液：硫酸マグネシウム溶液	MgSO ₄ · 7H ₂ O	22.5	g L ⁻¹
C液：塩化カルシウム溶液	CaCl ₂	27.5	g L ⁻¹
D液：塩化鉄（III）六水和物	FeCl ₂ · 6H ₂ O	0.25	g L ⁻¹

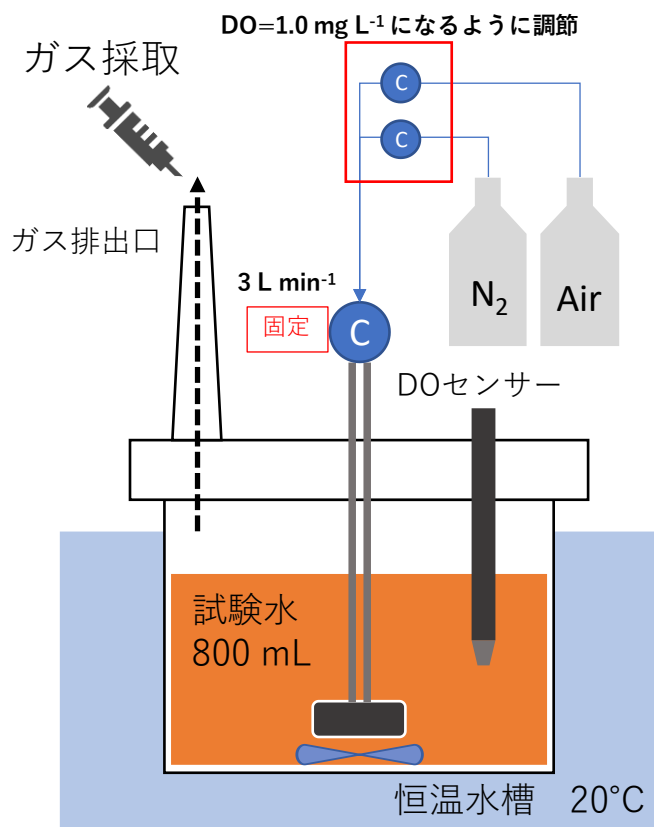


図4-3 N₂O 生成ポテンシャル試験装置の構成

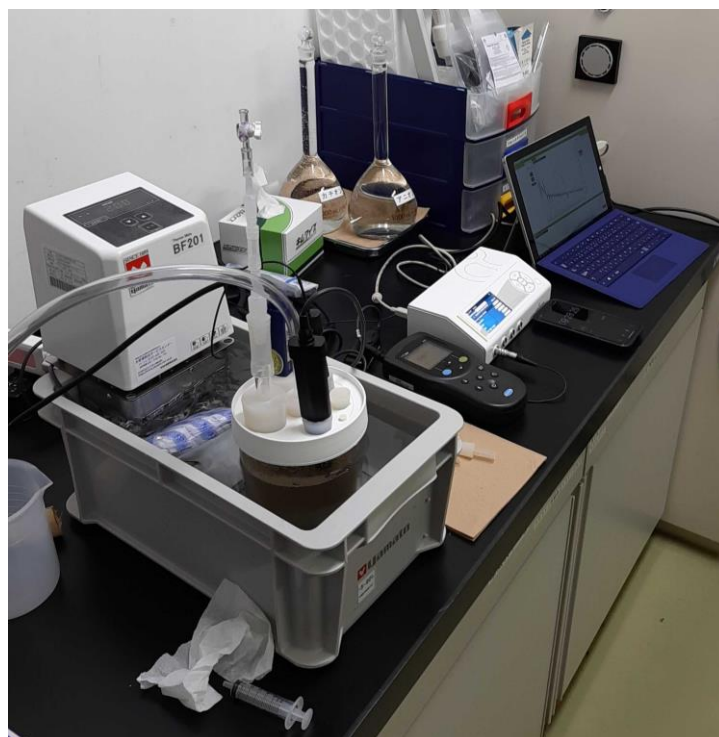


図4-4 N₂O 生成ポテンシャル試験装置一式 (ポンペを除く)

4-2-4 N₂O 生成ポテンシャルの解析方法

N₂O 生成ポテンシャルは好気条件での活性汚泥が有する N₂O の最大生成能力と定義し、以下の(4-11)式により算出した。本試験での N₂O 生成ポテンシャルは、N₂O 濃度最大値から試薬添加前の曝気ガス中の N₂O 濃度を減じた値に 1 時間あたりの曝気流量を乗じ、活性汚泥量としての MLVSS で除した値とした。

$$N_2OPP = (C_{G,MAX} - C_{G,STR}) \times F_{N2OPP} / (MLVSS \times V_{L,N2OPP}) \dots\dots\dots (4-11)式$$

ここで、 N_2OPP : N₂O 生成ポテンシャル (gN gVSS⁻¹ h⁻¹)、 $C_{G,MAX}$: N₂O 生成ポテンシャル試験中の最大 GN₂O 濃度 (ppm)、 $C_{G,STR}$: 試薬添加前の混合ガスの GN₂O 濃度 (ppm)、 F_{N2OPP} : N₂O 生成ポテンシャル試験中の曝気速度 (L min⁻¹)、 $MLVSS$: 活性汚泥浮遊物質の強熱減量 (活性汚泥量として使用) (gVSS m⁻³)、 $V_{L,N2OPP}$: N₂O 生成ポテンシャル試験サンプル量 (m³) である。なお、 $C_{G,MAX}$ および $C_{G,STR}$ は試験時の温度および 1 atm での gNL⁻¹ に単位変換して使用した。また、 F_{N2OPP} は単位を L h⁻¹ に変換して使用した。

第3節 結果と考察

4-3-1 DN₂O 濃度の長期変動

図4-5に長期非連続モニタリング調査におけるDN₂O濃度をはじめとした各取得データの変動グラフを示す。なお、DN₂O、NH₄⁺、NO₂⁻、NO₃⁻濃度は、2017年調査時は2号攪拌機稼働時に、2018年および2019年調査時は1号攪拌機稼働時に取得したデータである。また、水温、pH、MLVSSは大曲処理センターの管理データであり、SRTは反応槽中のMLSS量から余剰汚泥量と処理水中のSS量を合算した値を除いた数値である。さらに外気温はアメダスによる大曲の気象観測所データの日平均値である。

これより、DN₂O濃度は第3章における2017年調査時と同様に、1号攪拌機稼働時に高濃度となる傾向にあり、大きな変動もみられた。また、DN₂O濃度はNH₄⁺濃度と有意な負の相関関係が($R^2=0.38$ 、 $p<0.01$) (図4-6(a))、NO₂⁻濃度と有意な正の相関関係が($R^2=0.66$ 、 $p<0.01$) (図4-6(b))みられた。この結果も第3章と同様な傾向であり、NH₄⁺酸化が促進する中でNO₂⁻が蓄積したことがDN₂O生成に関連したと考えられた。

水温は気温に連動して増減し、調査期間中では11.6℃から22.8℃を測定した。また、1号攪拌機稼働時に取得したデータにおいて、水温とDN₂O濃度は負の相関関係を示し($R^2=0.09$ 、 $p=0.11$) (図4-7(a))、第3章と同様な傾向であることが確認された。

SRTとMLVSSは連動する形で増減し(図4-5(d))、SRTおよびMLVSSとDN₂O濃度はいずれも負の相関関係であった(図4-7(b)(c))。SRTの減少は、N₂O抑制に有利な菌叢の形成を停滞させる可能性が報告されており³⁸⁾、本研究でも同様であったと推察された。MLVSSは活性汚泥量を示す指標であり、上記のN₂O抑制に寄与する細菌量が減少することで、DN₂O濃度と負の相関関係が生じた⁴⁰⁾と推察された。また、3-3-2項で考察した通り、活性汚泥量が減少することは、反応槽全体の酸素消費速度の減少につながり、DO濃度の増加によるDN₂O濃度の増加を引き起こしたと推察された。なお、pHは6.8付近で安定していたことから、既往研究で報告されている通り、N₂O生成に対する影響は低かったと考えられた⁴¹⁾。

これより、長期的な非連続モニタリング調査結果において、無終端水路反応槽ではNO₂⁻濃度と関連したDN₂O濃度の変動がみられ、水温、SRT、MLVSSと負の相関関係が示された。ただし、水温、SRT、MLVSSのパラメータはDN₂O濃度と統計的な有意性はなく、決定係数も低かったため、季節的なDN₂O濃度の変動を十分に説明することはできなかった。

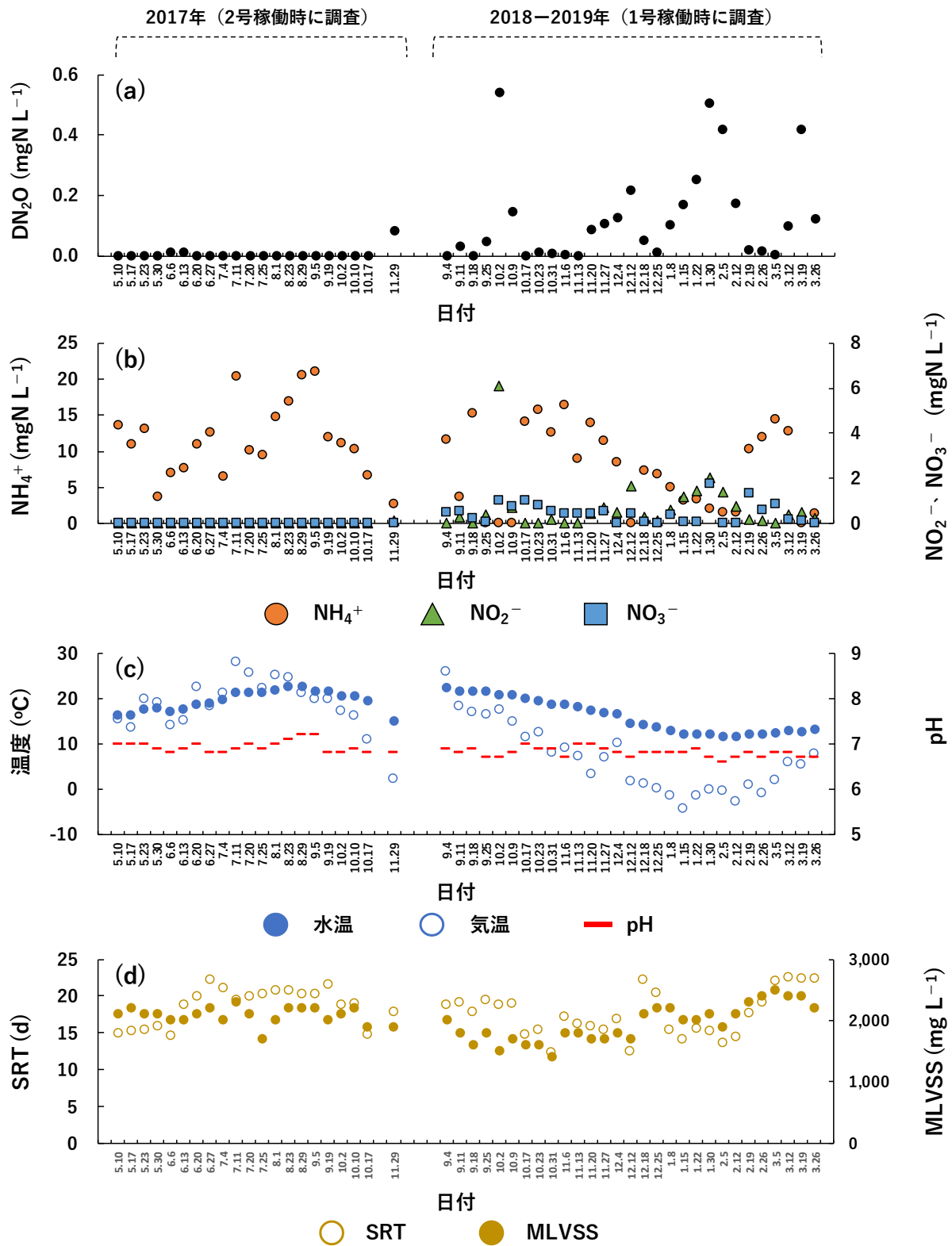


図4-5 長期非連続モニタリング調査における (a) DN_2O 濃度 (b) NH_4^+ 、 NO_2^- 、 NO_3^- 濃度 (c) 水温、気温、pH (d) SRT、MLVSS の変動

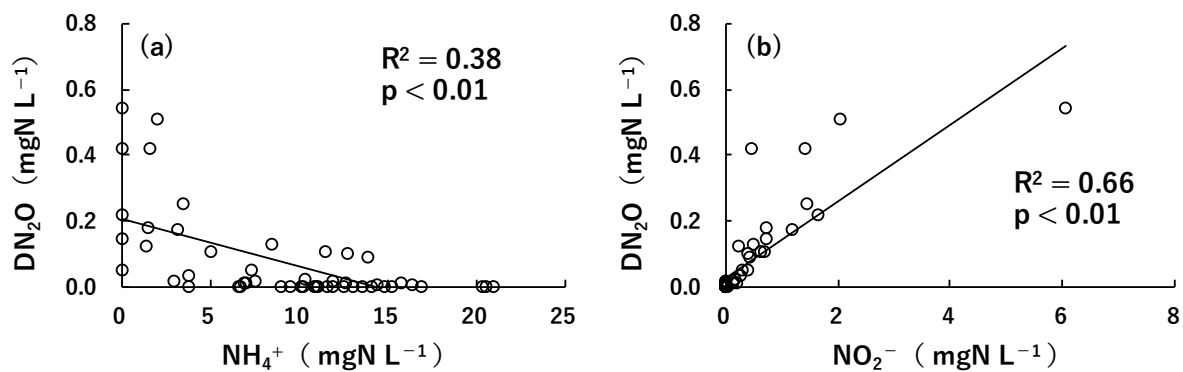


図4-6 長期非連続モニタリング調査時の (a) NH_4^+ 濃度 (b) NO_2^- 濃度と DN_2O 濃度の関係

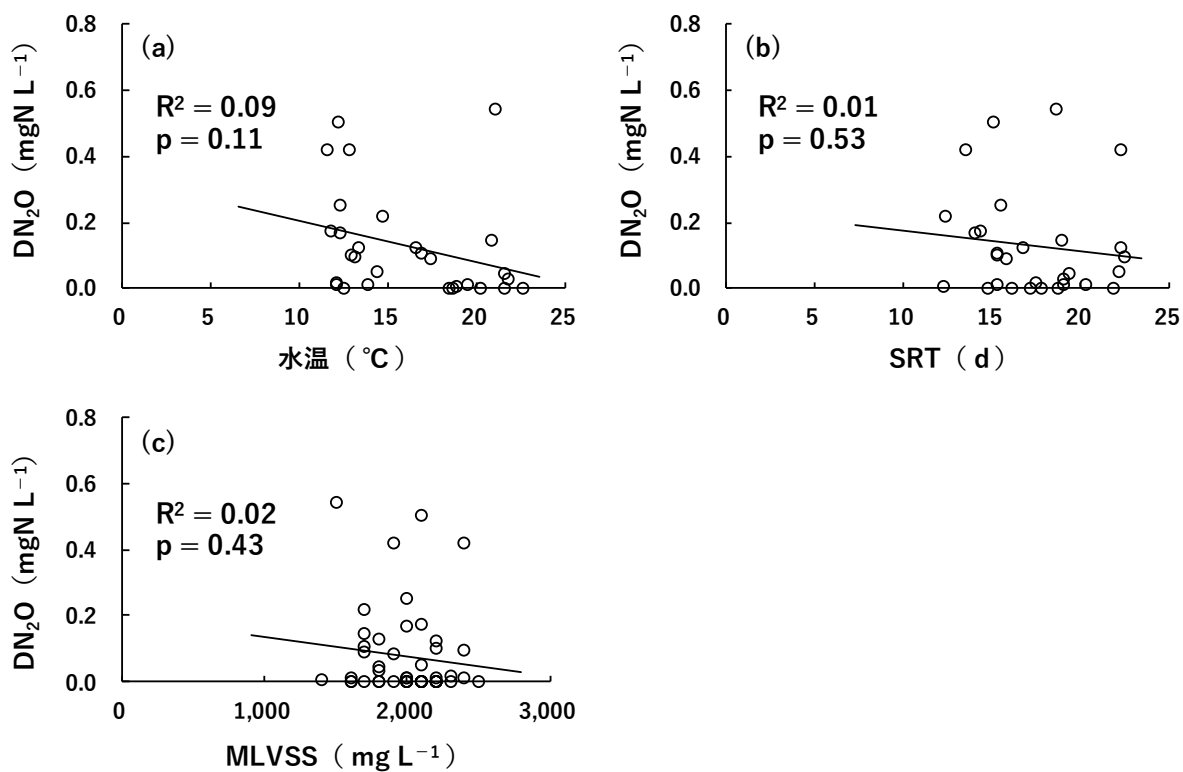


図4-7 長期非連続モニタリング調査時の1号攪拌機稼働時における (a) 水温 (b) SRT (c) MLVSS と DN_2O 濃度の相関

4-3-2 水路内の DN₂O 濃度勾配

図4-8に、反応槽内の2地点(B地点とE地点)でのDN₂O連続モニタリング時における、代表的なDN₂O濃度経時変化として、2019年10月23日の測定データを示す。E地点のDO濃度計器は、1号攪拌機が稼働している時間帯のほとんどで0mgを計測し、2号攪拌機が稼働している場合は0.2mg L⁻¹から2.0mg L⁻¹を計測した。これは、稼働攪拌機とDO濃度計器の位置関係によるものであり(図4-8(a))、本調査期間において無酸素エリアをとまなうDO濃度勾配が形成されていたことを意味する。

これより、攪拌機稼働時における2つのDN₂Oセンサー測定値はほぼ一致していた。一方で、攪拌機の停止時は5:45や11:45付近のように一時的にDN₂Oが高濃度になる場合があり、この時のセンサー測定値はわずかに流入側の方が高濃度であった。この傾向は本調査期間において同様であった。

第3章における2017年の調査では、攪拌時に反応槽内においてDN₂O濃度勾配が生じる場合があり(図3-6)、その主要因は流入地点近傍における生物反応の促進と考察された。ただし、2017年調査では、サンプリング時に数分のタイムラグがあったことを考慮すると、流入地点で高濃度になる可能性もあるが、リアルタイムで計測を行っているセンサー値の方が信頼性が高く、無終端水路反応槽内のDN₂O濃度の平面分布は攪拌によって概ね均一化されていたと考えられた。一方で、攪拌機の停止時は流入側のDN₂O濃度がわずかに高くなる傾向にあった。その要因は上述したメカニズムによるものであり、攪拌機の停止時は反応槽内のDN₂Oは完全に混合されず、流入地点側に設置したセンサーがわずかに高い値を計測したと考えられる。

以上より、N₂O排出量および排出係数の算出時は、無終端水路反応槽におけるDN₂O濃度が均一であったと仮定し、(4-3)式、(4-5)式、(4-6)式のDN₂O濃度およびDN₂O過飽和濃度にはB地点のセンサー測定値を使用した。

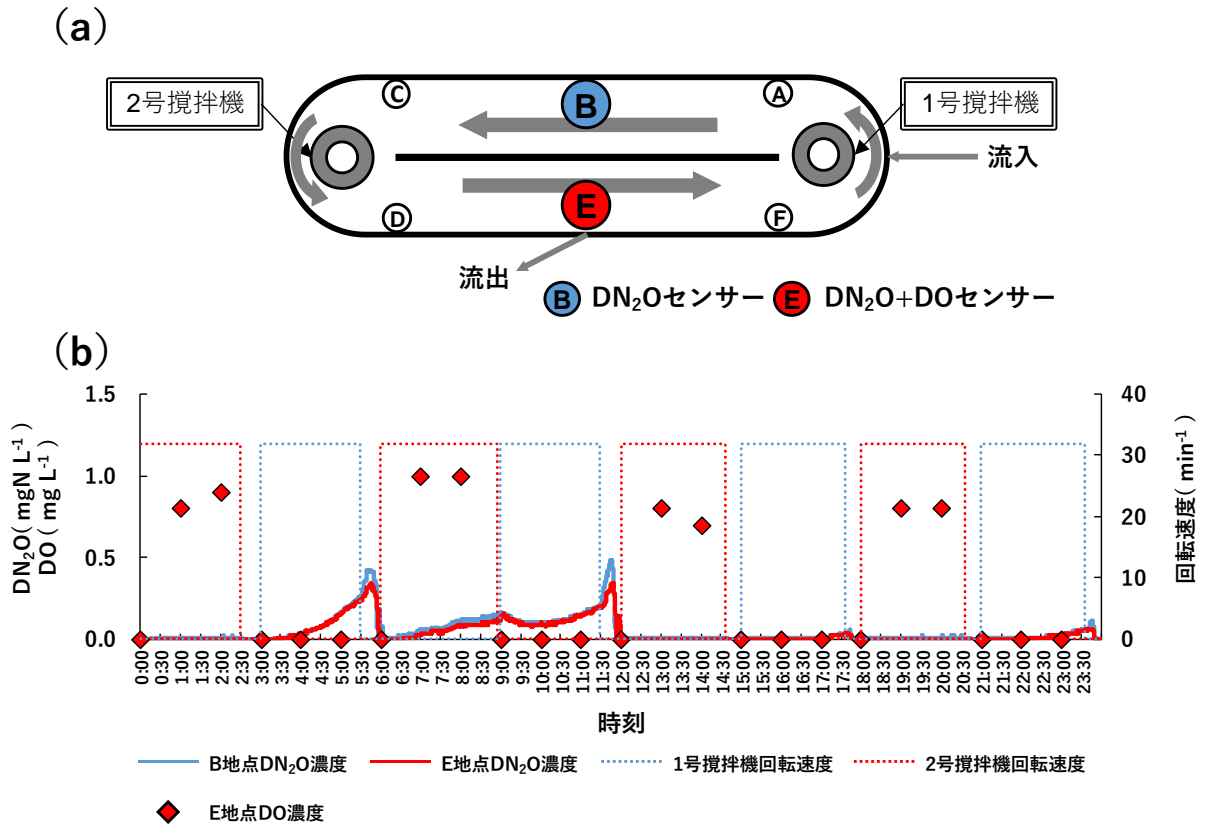


図4-8 DN₂Oセンサーを2本使用した連続モニタリング調査時の (a) 各種センサー設置地点 (b) 10月23日におけるDN₂O濃度経時変化

4-3-3 DN₂O 濃度の経時変化

図4-9に2019年の連続モニタリング調査期間における、DN₂O濃度の代表的な経時変化として、N₂O生成ポテンシャル試験実施日(11月11日、11月18日、11月22日)のデータを示す。なお、流入BOD負荷推定値は、大曲処理センターで年4回行っている通日試験の2019年度と2020年度の平均値(図4-10)より算出した値である。具体的には、通日試験のBOD平均値を基にして、23時から翌日3時を153 mg L⁻¹、3時から7時を124 mg L⁻¹、7時から11時を130 mg L⁻¹、11時から15時を193 mg L⁻¹、15時から19時を194 mg L⁻¹、19時から23時を158 mg L⁻¹と仮定し、それらの値に流入量を乗じて算出した。

流入量は朝方(3時から9時頃)に低下する傾向にあり、この時間帯の2号攪拌機稼働時はDO濃度が増加する傾向にあった(図4-9)。ここで、大曲処理センターでは流入有機物濃度の連続モニタリングは行っていないものの、年に4回実施している通日試験結果では、有機物指標としてのBODおよびCOD_{Mn}が朝方の5時や9時に低濃度となる流入量と同様な傾向がみられた(図4-10)。これより、基本的に流入有機物負荷は流入量と同じ傾向で変動すると考えられる。一方で、本調査期間における攪拌機の回転速度は固定されており、酸素供給能力は一定であった。すなわち、流入有機物負荷が経時的に変動したのに対し、酸素供給量が固定されていたため、両者の関係性の変化が反応槽中のDO濃度変動に影響したと推察された。

攪拌機稼働時のDN₂O濃度は、流入量が低下する傾向にある朝方を中心とした午前中に増加する傾向にあった。前述した通り、流入量の低下時にDOの増加みられたことから、第3章で考察した通り、NH₄⁺酸化の促進とNO₂⁻の蓄積に関連したDN₂O濃度の増加を引き起こしたと推察された。さらに、第1章に記載したとおり、有機物は電子供与体として従属栄養細菌のN₂までの完全脱窒を促進する¹⁸⁾。したがって、有機物指標としてのBOD負荷の低下がN₂O還元を停滞させ、DN₂O濃度が増加したと推察された。ただし、必ずしも流入量とDN₂O濃度の増加が関連するわけではなく、11月18日の4:00から5:30頃(図4-9(c))のように、流入量が低下した時間帯にDN₂O濃度増加がみられない場合や、11月22日の9:00から11:30頃(図4-9(e))のように、流入量が低下していない時間帯にDN₂O濃度増加がみられた場合があった。現時点では、これらの時間帯は流入量と有機物負荷が連動していなかった可能性が推察された。

攪拌機が2台停止している時間帯は、攪拌機が稼働している時間帯に比べてDN₂O濃度増減の傾きが大きい傾向にあった(11月11日の5:30から6:00(図4-9(a))、11月18日の11:30から12:00(図4-9(c))、11月22日の11:30から12:00(図4-9(e))など)。2台停止期間は攪拌機の酸素供給能力が無くなることから、反応槽内全面に無酸素エリアが形成されていたと考えられる。第1章に記載した通り、N₂O生成の主経路がDO濃度によって異なることをふまえると、攪拌機稼働中はNH₂OH酸化、硝化菌脱窒、従属栄養細菌脱窒経路によるN₂O生成が複合的に進行していたと推察される。一方で、攪拌機の2台停止期間は無酸素状態となるため、従属栄養細菌脱窒経路のN₂O生成および脱窒が促進していたと考えられる。これらのN₂O生成経路の変化が濃度増減の傾きに影響したと推察された。

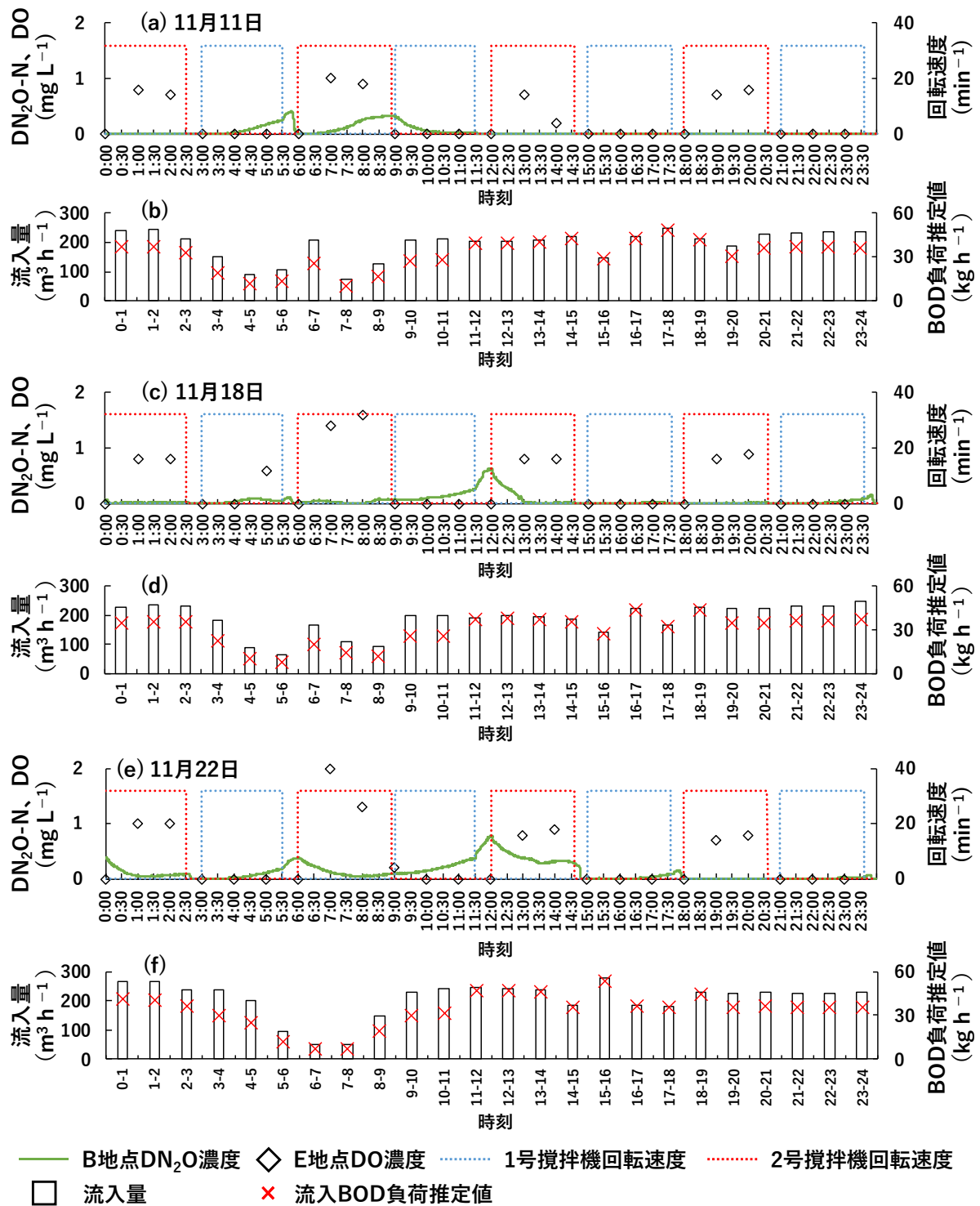


図4-9 N₂O 生成ポテンシャル試験実施日の実処理場の DN₂O 濃度経時変化 ((a) 2019年11月11日 (c) 2019年11月11日 (e) 2019年11月22日)、3系反応槽流入量および流入 BOD 負荷推定値の経時変化 ((b) 2019年11月11日 (d) 2019年11月11日 (f) 2019年11月22日) (地点 B、E は図4-8 (a) 参照のこと)

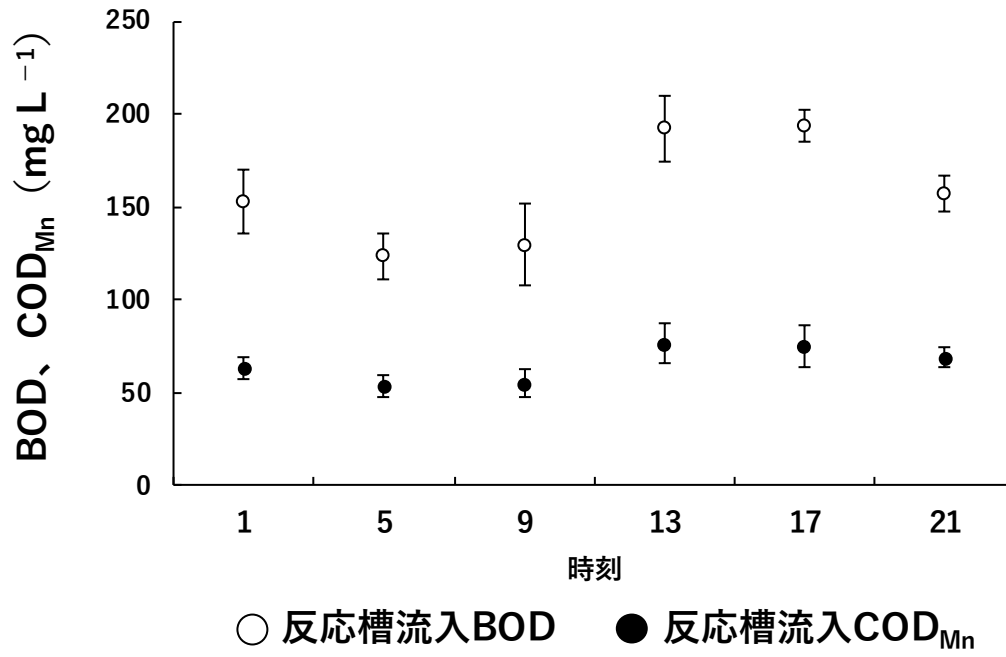


図4-10 2019年度と2020年度の大曲処理センター通日試験における反応槽流入BODおよびCOD_{Mn}濃度
(エラーバーは標準偏差を示す)

4-3-4 機械式攪拌におけるGN₂O排出量の算出方法に関する考察

既往の研究では、大気開放された機械式攪拌由来のGN₂O排出量の計上方法について、攪拌地点以外の水面からガス化速度を実測する方法^{37), 38)}と機械式攪拌付近のガスを採取する方法^{15), 56)}の2つの実測方法が報告されている。一方で、二重境膜説¹¹⁶⁾に基づいて、酸素のK_{La}からN₂OのK_{La}を補正算出し、GN₂O排出量を算出した事例も報告されている²⁷⁾。なお、このK_{La}を用いた算出方法はシミュレーションモデルにも広く使用されている方法である^{119), 122), 125)}。この中で、機械式攪拌付近のガスを採取する方法は、大曲処理センターの攪拌付近がコンクリート打設面で完全に覆われていることから(図4-11)検証が難しいと判断し、攪拌地点以外の水面からガス化速度を実測する方法(実測法)とK_{La}を用いて算出する方法(K_{La}法)での算出を行い、両者の比較を行った。

はじめに、実測法のためのガス化速度試験結果を図4-12に示す。初期GN₂O濃度の違いは反応槽水面付近のGN₂O濃度に起因するものと考えられる。これより、いずれの地点においても時間経過にともなう有意な濃度増加がみられた(いずれもR²>0.96, p<0.01)。一方で、ガス化速度:R_{N2O}は流体の動粘度と拡散係数の比で表されるS_cおよび水面乱流に影響を受けることが報告されている¹²¹⁾。各調査日の反応槽内の流速は概ね同じであり、水面乱流に大きな違いはなかったと考えられるが、S_cは水温に依存するため、各調査日で違いが生じた可能性がある。そこで、本章ではR_{N2O}をS_c^{-1/2}に比例する¹²¹⁾として補正した。図4-13に各試験における20℃の値に補正されたR_{N2O,20}(μgN m⁻² s⁻¹)とDN₂O過飽和濃度平均値(μgN L⁻¹)の関係を示す。これより、R²=0.97, p<0.01の有意な正の相関がみられ、回帰式の傾き:K_{N2O,20}は0.116(L m⁻² s⁻¹)で与えられた。したがって、実測法ではこのK_{N2O,20}=0.116(L m⁻² s⁻¹)を用いて(4-3)式によりGN₂O排出量:E_{GM}を算出した。

図4-14に実測法とK_{La}法で算出した各N₂O排出量の箱ひげ図を示す。これよりK_{La}法によるGN₂O排出量:E_{GK}が実測法によるGN₂O排出量:E_{GM}と比較して中央値で10倍以上高くなり、DN₂O排出量:E_Dと合わせた総N₂O排出量:E_Tも同程度に異なった。実測法では、攪拌由来とそれ以外の地点のガス排出量が同一とみなされるため、事実上、攪拌由来のガス化は考慮されていないものとなる。しかし、攪拌によりDO濃度が増加することをふまえると、攪拌機付近で活発なガス交換が行われていることは明らかであり、実測法は過小評価である可能性が高いと考えられた。一方で、K_{La}法に関してはガス吸収とストリップングの対称性、浸透理論の係数、浄水から汚水への変換といった点で補正が必要と言及されている¹²²⁾。すなわち、いずれの方法でも実排出量との誤差を含んでいると考えられるが、実測法では攪拌機由来の排出がほぼ考慮されていないため、より誤差が大きいと考えられた。なお、K_{La}において、DN₂O排出量が総N₂O排出量に占める割合は平均で2.7%であり、第2章の疑似嫌気好気法の18.2%よりも低い数値であった。これは、無終端水路反応槽の水理学的滞留時間(HRT)が長く、滞留時に何度も攪拌地点を通過することで、ガス化する割合が高くなったと推察された。

以上より、本研究では、両者を比較して誤差が少ないと考えられるK_{La}法を採用し、(4-4)式および(4-5)式でGN₂O排出量を算出することとした。ただし、K_{La}法に関する上記の課題は今後明らかにする必要があると考えられる。具体的には、ラボスケールでの既知DN₂O濃度水におけるガス化速度の検証、フルカバーされたフルスケールプラントでの溶存態とガス態の関係解析などにより、最適な算出式の導出が期待される。なお、曝気にて酸素供給

を行う反応槽でも K_{La} 法を使用した事例があり、補正を行うことで正確な算出が可能であると報告されている⁷⁰⁾。これより、機械式攪拌においても補正をともなった K_{La} 法を行うことで、正確な値を算出できると考えられる。



図4-11 無終端水路における縦軸型攪拌機がコンクリート打設面で覆われている様子

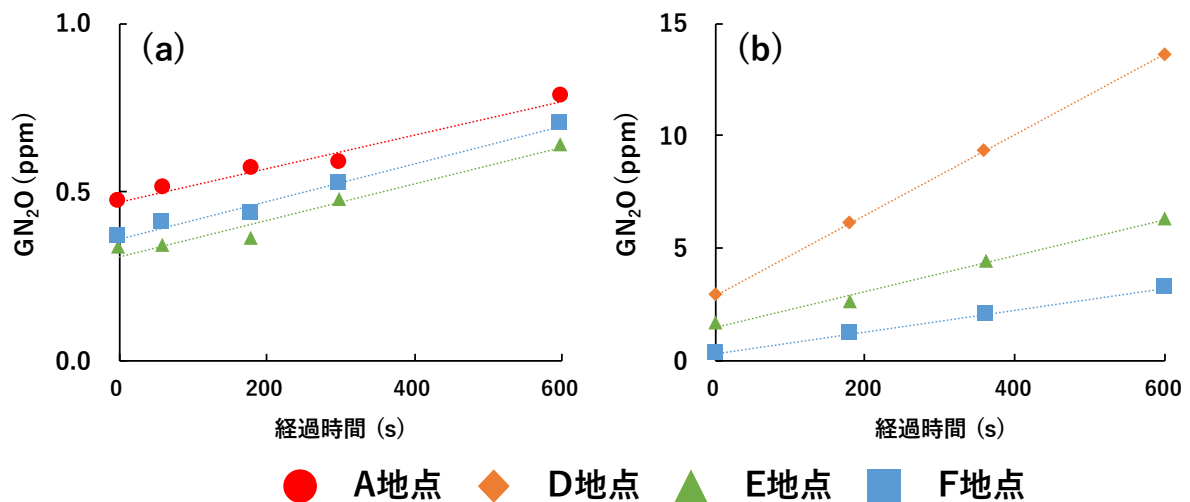


図4-12 N_2O ガス化速度計測試験における (a) 2017年9月14日 (b) 2019年2月27日のクローズドチャンバー内の GN_2O 濃度経時変化 (地点 A、D、E、F は図4-8 (a) 参照のこと)

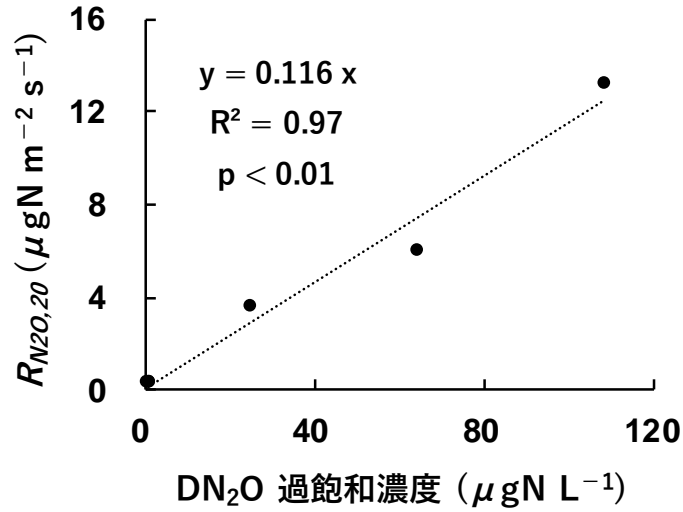


図4-13 N₂O ガス化速度計測試験における 20 °Cの値に補正された N₂O のガス化速度： $R_{N_{2}O,20}$ と DN₂O 過飽和濃度平均値の関係

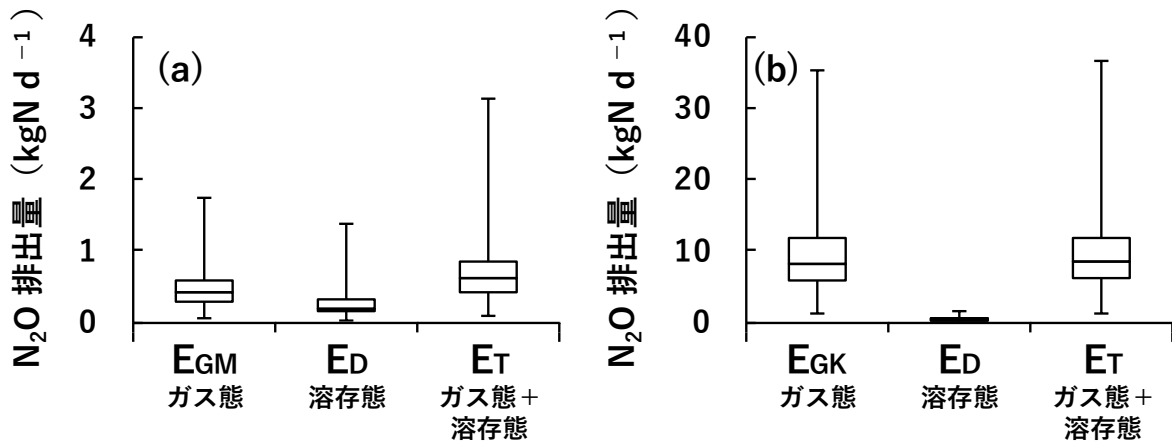


図4-14 大曲処理センター無終端水路反応槽の (a) 実測法 (b) K_La 法における N₂O 排出量の算出結果 (上端と下端は最大値と最小値を示す)

4-3-5 N₂O 排出量および排出係数の経日変動とその要因に関する考察

図4-15に、連続モニタリング調査期間におけるGN₂O排出量：E_GとDN₂O：排出量：E_Dを合算した総N₂O排出量：E_Tをはじめとした各取得データの経日変化を示す。E_Gは前項で検討したK_{La}法により算出した((4-4)式、(4-5)式、(4-7)式)。また、大曲降水量はアメダスによる大曲の気象観測所のデータであり、反応槽水温はDN₂Oセンサーにより取得した水温の日平均値である。さらに、反応槽への流入NH₄⁺濃度およびCOD_{Mn}濃度、SRT、MLVSSは大曲処理センターの管理データである。なお、10月24日は停電により正確なDN₂O濃度を取得できなかったため、E_T、N₂O排出係数：E_{T/ΔDIN}は計上しなかった。

図4-15(a)より、既往の調査事例と同様に、日単位での大きなE_Tの変化がみられた^{9), 46), 114)}。E_TはK_{La}法によるDN₂O濃度から算出した値であることから、4-3-3項で考察した有機物負荷およびDO濃度変動の影響によるDN₂O濃度変動が、日単位でのE_Tの変動に影響を与えたと考えられる。一方で、DIN除去率はいずれも77%から94%で比較的安定しており、高い窒素除去性能を有していたことが確認された。そのため、両者で算出されるE_{T/ΔDIN}は概ねE_Tと同じ傾向となった。

次に、E_Tと統計的な有意性(p<0.05)がみられた各取得データとの回帰分析結果を図4-16に示す。4-3-3項のDN₂O濃度経時変化では、流入水量および有機物としての流入BOD負荷推定値が低い時間帯にDN₂O濃度が増加する傾向がみられたが(図4-9)、日単位のE_Tは日単位の処理水量と有意な正の相関関係(R²=0.11、p=0.04)(図4-16(a))となった。また、流入COD_{Mn}濃度とは有意な負の相関関係を示した(R²=0.24、p=0.01)(図4-16(b))。ここで、大曲処理センターは分流式であるものの、降雨に関連する流入水量の増加が以前から確認されており、本連続モニタリング期間においても降水量と3系処理水量に有意な正の相関関係がみられた(R²=0.15、p=0.02)(図4-17(a))。さらに、処理水量と流入COD_{Mn}に負の相関関係がみられた(R²=0.13、p=0.08)(図4-17(b))ことから、大曲処理センターでは、降雨の影響による処理水量の増加にともなって、有機物が希釈されたと推察された。すなわち、流入水量と有機物濃度が必ずしも連動するわけではなく、降雨の影響で有機物濃度が低下することでN₂O還元が抑制され、E_Tの増加につながったと推察された。なお、4-3-3項において、11月18日の9:00から11:30(図4-9(c))、11月22日の9:00から11:30(図4-9(e))などの、流入量が低下していない時間帯におけるDN₂O濃度の増加が確認されたが、上記の考察の通り、降雨の影響により(図4-15(b))有機物が希釈されて、N₂O還元が抑制されたと推察された。

さらに、E_TはSRTおよびMLVSSと有意な負の相関関係がみられ(R²=0.23、p=0.01)(R²=0.32、p<0.01)(図4-16(c)(d))、4-3-1項での考察の通り、N₂O生成に関連する細菌量が増減していたと推察された。なお、SRTおよびMLVSSも処理水量と有意な負の相関がみられたが(R²=0.57、p<0.01)(R²=0.26、p<0.01)(図4-17(c)(d))、現場にて処理水量の増加にともなうHRTの減少と活性汚泥の流出が確認されていたことから、それに起因した関係性であると考えられた。

以上より、E_Tは日単位でのDN₂O濃度変動に影響を受けて大きく変動し、その要因としては、有機物負荷やDO濃度の短時間での変動に加えて、有機物濃度、SRT、MLVSSの日単位での変動も関係していることが示された。また、有機物濃度、SRT、MLVSSの変動は、降雨にともなう処理水量の増加の影響が示唆された。

次に、**図4-18**に1号攪拌機稼働時と2号攪拌機稼働時の E_T を示す。これより、中央値で比較すると2号稼働時の値が低く、第3章で述べた通り、流入地点を無酸素にする攪拌方法の有用性が示唆される結果となった。一方で、1号稼働時と2号稼働時に、統計的な有意差はみられなかった。これは、**図4-9 (a)**の11月11日6:00から8:50のように、2号機稼働時でも DN_2O 濃度の増加がみられたためである。これらの時間帯は流入量が低く、流入する電子供与体を利用した完全脱窒が促進されなかったと考えられた。また、11月18日の12:00 (**4-9 (c)**) および11月11日の12:00 (**4-9 (e)**) のように、2号攪拌機が稼働する前に DN_2O が高濃度の状況が複数あったことも要因の一つと考えられる。

最後に、既往の連続モニタリング調査（前段に押し出し流れ式反応槽を備えた無終端水路⁴⁷⁾、並列した無終端水路への間欠流入形式⁵⁴⁾）における N_2O 排出係数の比較のため、反応槽からの GN_2O 排出量を流入窒素量で除した排出係数： $E_{G/In.TN}$ を(4-10)式より算出した。また、 $E_{G/In.TN}$ は、降雨の影響とみられる突発的な数値の増加の影響を極力排除するため、平均値とともに中央値も算出した (**表4-4**)。その結果、本研究の平均値と中央値は、ともに既往研究よりも高い数値であった。これは、本無終端水路における、 N_2O 排出対策を構築する必要性が高いことを示すと考えられる。

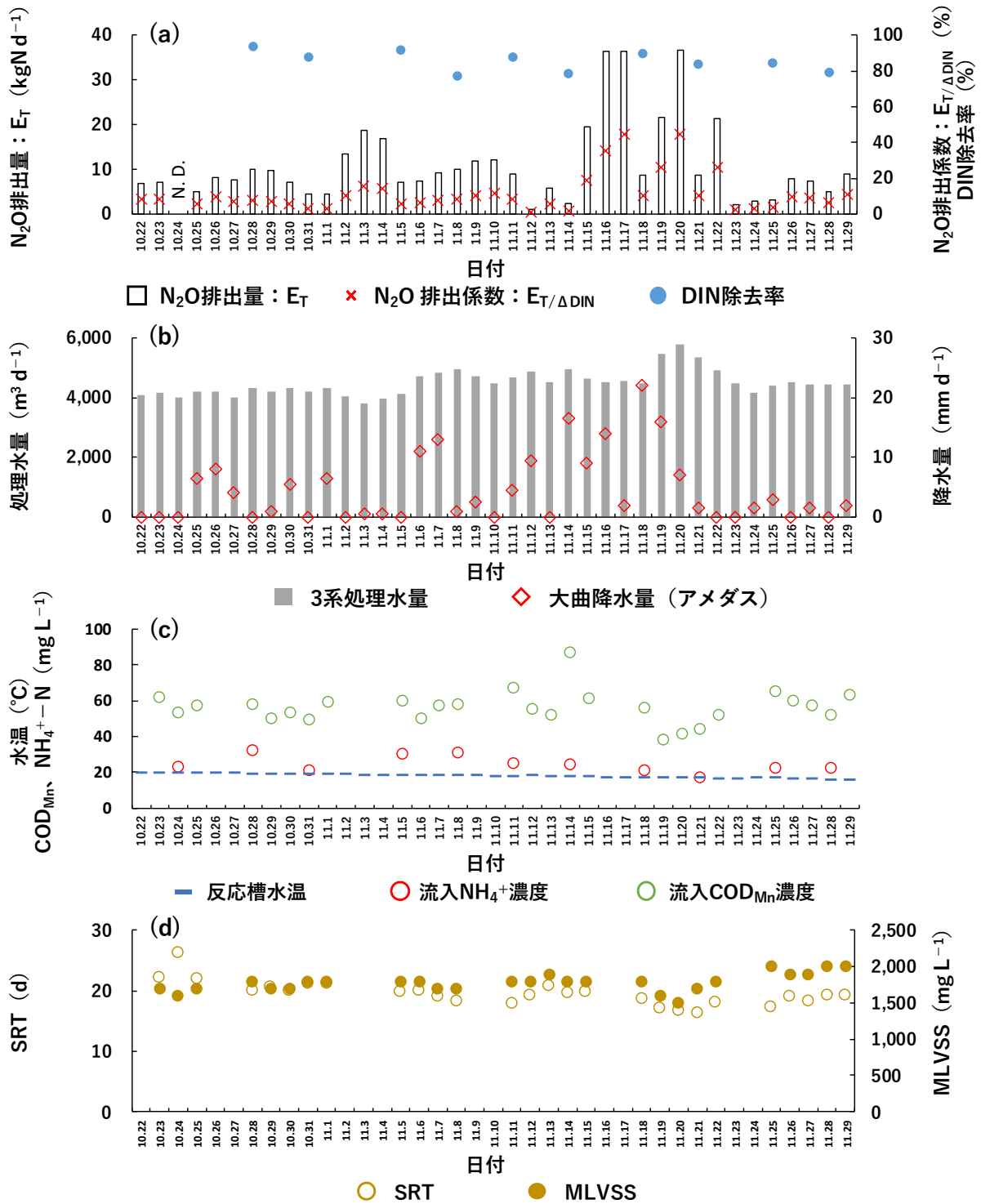


図4-15 2019年の連続モニタリング調査期間における (a) 総 N_2O 排出量： E_T 、 N_2O 排出係数： $E_T/\Delta\text{DIN}$ 、DIN 除去率 (b) 3系処理水量、大曲降水量 (c) 反応槽水温、流入 NH_4^+ 濃度、流入 COD_{Mn} 濃度 (d) SRT、MLVSS の経日変動 (10月24日の E_T 、 $E_T/\Delta\text{DIN}$ は停電により正確な DN_2O 濃度を取得できなかったため欠損)

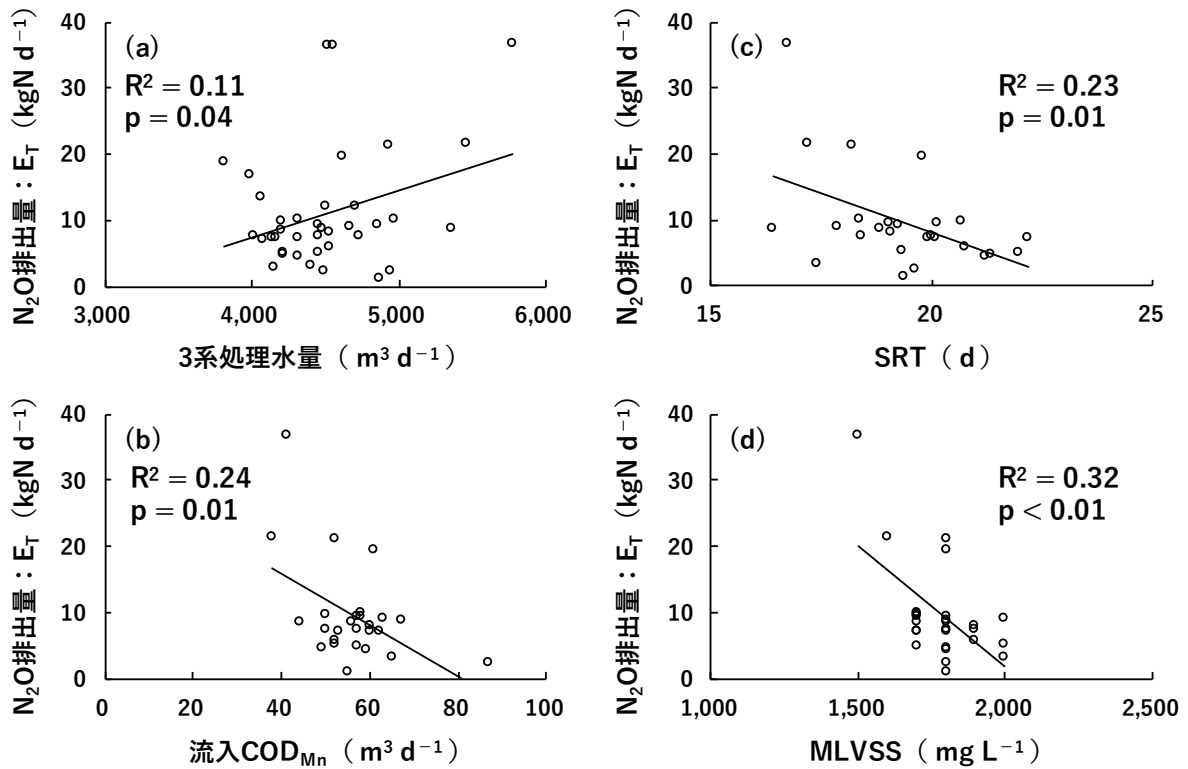


図4-16 2019年の連続モニタリング調査期間における (a) 3系処理水量 (b) 流入COD_{Mn}濃度 (c) SRT (d) MLVSSと総N₂O排出量：E_Tとの回帰分析結果

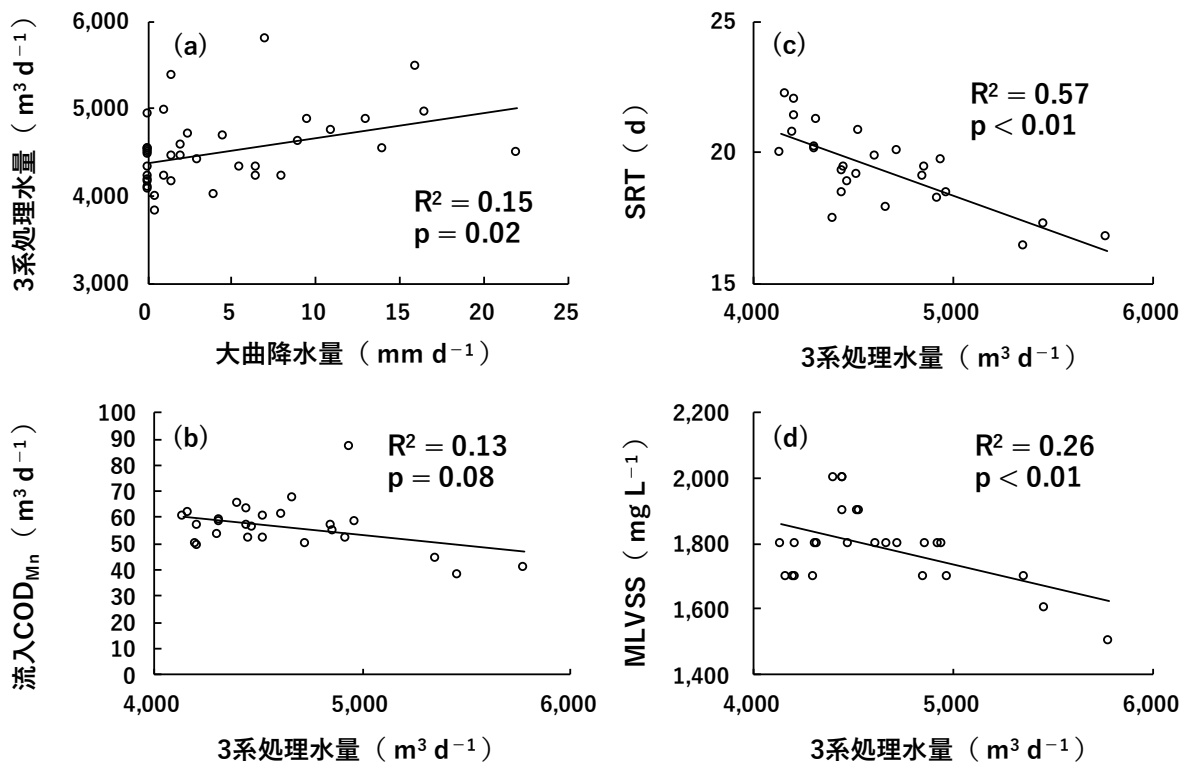


図4-17 2019年の連続モニタリング調査期間における (a) 大曲降水量と3系処理水量および3系処理水量と (b) 流入COD_{Mn}濃度 (c) SRT (d) MLVSSとの回帰分析結果

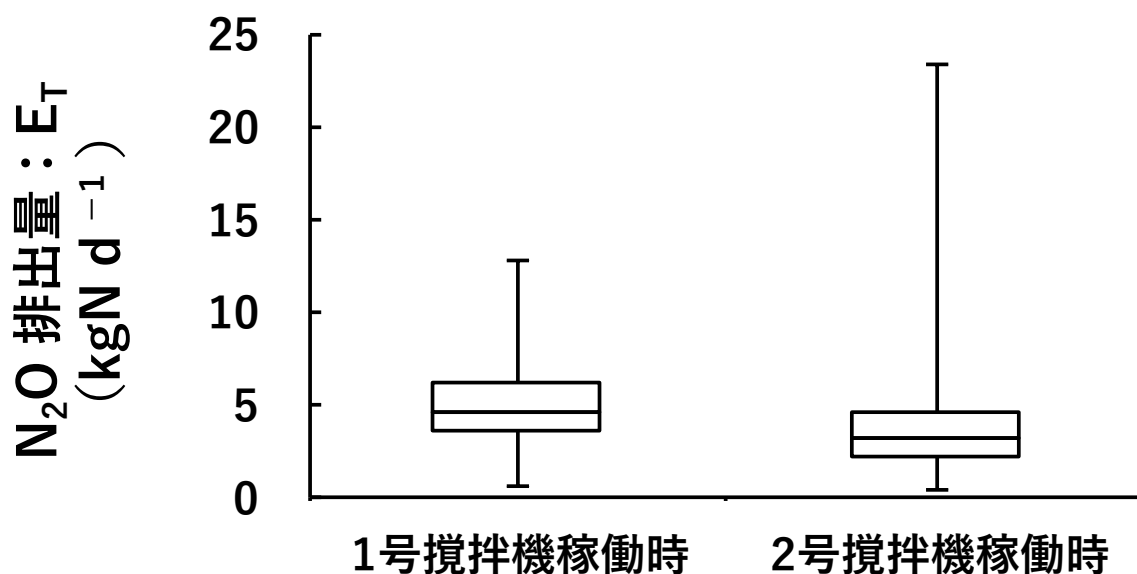


図4-18 2019年の連続モニタリング調査期間における稼働攪拌機別の総N₂O排出量：E_T
(上端と下端は最大値と最小値を示す)

表4-4 既往研究の連続モニタリング調査と本研究の2019年連続モニタリング調査における無終端水路反応槽のN₂O排出係数：E_{G/ln.TN}の比較

構成	N ₂ O排出係数：E _{G/ln.TN} %	参考文献
前段に押し流れ式反応槽を備えた無終端水路反応槽	2.8	Daelman et al. 2015 (47)
並列した無終端水路反応槽への交互流入形式	1.05	Chen et al. 2019 (54)
楕円形無終端水路反応槽	平均値：6.7 ^a 中央値：5.2 ^a	本研究（2019年連続モニタリング調査）

^a 推定TN濃度による算出

4-3-6 N₂O 生成ポテンシャルと N₂O 排出量の比較

図4-19に各 N₂O 生成ポテンシャル試験の GN₂O 濃度経時変化データを示す。これより、いずれの試験日においても GN₂O は試薬添加後すぐに濃度が増加し、高止まりしつつも徐々に低下する傾向にあった。GN₂O 濃度が低下した要因は N₂O の実質的な前駆体である NO₂⁻ の濃度低下と考えられ、試験終了時の濃度はいずれも 0.4 mgN L⁻¹ 以下であった。これより、活性汚泥が有する N₂O の最大生成能力は試験時間中に計測されていたことが確認され、N₂O 生成ポテンシャルの評価は、試験時間中の GN₂O 濃度の最高値で行った。

図4-20に N₂O 生成ポテンシャル試験を実施した日の実処理場の N₂O 排出量：E_T と N₂O 生成ポテンシャルの関係を示す。なお、N₂O 排出量の値は N₂O 生成ポテンシャルの単位と同じものに変換した。これより、全ての計測日において E_T よりも N₂O 生成ポテンシャルが高い値となった。これは実反応槽では N₂O の最大限の生成能力を發揮させなかったことを示唆する。また、N₂O 生成ポテンシャルは N₂O 排出量に比べて各試験日での変化が小さく、両者に関連性はみられなかった。N₂O 生成ポテンシャル試験は 2019 年 11 月 11 日、11 月 18 日、11 月 22 日と 11 日間で 3 回行っており、この間の活性汚泥において、N₂O 生成に関連する細菌叢や細菌量に大きな変化がなかったことを示唆するものと考えられる。

なお、N₂O 生成ポテンシャルは本章の調査期間では大きな変化はみられなかったが、他の処理場では細菌叢が長期的に変動し¹²⁶⁾、*Nitrospira* や *Nitrobacter* に代表される亜硝酸酸化細菌が多量に存在することで N₂O の実質的な前駆体である NO₂⁻ の蓄積を抑制する傾向が報告されている^{117), 126), 127)}。一方で、細菌叢データだけでは N₂O 抑制に向けた処理場の運用に十分な効果が發揮されないことも言及されており¹²⁶⁾、今回行った N₂O 生成ポテンシャルのような直接 N₂O 生成量を測定する試験などとの組み合わせにより、処理場の運用管理指標としての実用化が期待される。

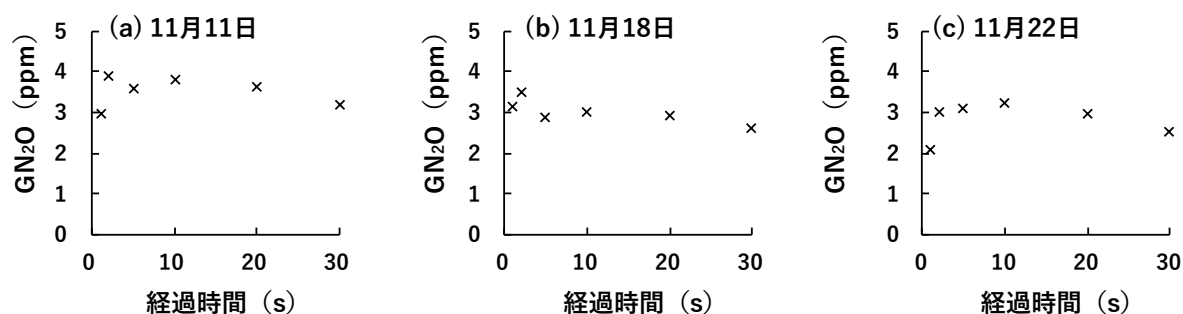
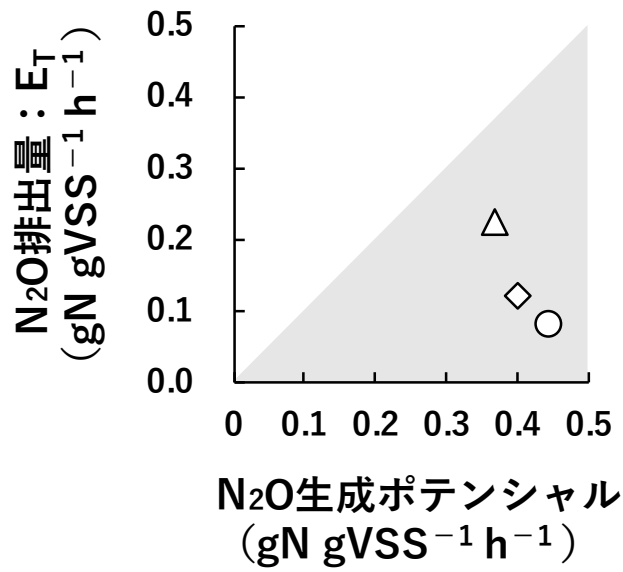


図4-19 2019年 (a) 11月11日 (b) 11月18日 (c) 11月22日に実施した N₂O 生成ポテンシャル試験におけるの GN₂O 濃度経時変化



○ 11月11日 ◇ 11月18日 △ 11月22日

図4-20 2019年11月11日、11月18日、11月22日における活性汚泥のN₂O生成ポテンシャルと実処理場の総N₂O排出量：E_Tの関係（灰色は反応槽のN₂O排出量よりもN₂O生成ポテンシャルが大きいこと示す）

第5節 まとめ

本章では、フルスケール無終端水路反応槽の N_2O 動態を明らかにすることを目的に、第3章と同様に大曲処理センターにおいて現場調査を行った。具体的には、2017年5月から2019年3月に長期の非連続モニタリング調査、2019年10月から11月に連続モニタリング調査を行った。さらに、2019年の連続モニタリング調査期間中に N_2O 生成ポテンシャル試験を複数回実施し、 N_2O 排出との関係性を解析した。

長期非連続モニタリング調査の結果、1号攪拌機稼働時に DN_2O 濃度が大きく変動し、 NH_4^+ 濃度と負の相関関係が ($R^2=0.38$ 、 $p<0.01$)、 NO_2^- 濃度とは正の相関関係が ($R^2=0.66$ 、 $p<0.01$) 示された。また、水温、SRT、MVLSS との負の相関関係も示されたが、いずれも統計的な有意性はなく、季節変動を説明することはできなかった。

連続モニタリング調査の結果、攪拌機稼働中に水路内の DN_2O 濃度勾配は確認されず、概ね濃度が均一化されていたと考えられた。また、 DN_2O 濃度の経時変化が確認され、概して流入有機物負荷が低い時間帯に DN_2O 濃度が増加する傾向がみられた。これは、有機物負荷の低下による DO 濃度の増加と、電子供与体の低下が従属栄養細菌の完全脱窒を停滞させ、 DN_2O が蓄積したことに起因すると推察された。さらに、 DN_2O 濃度と K_{La} を利用して算出した、全 N_2O 排出量ならびに溶存態無機窒素除去量で除した N_2O 排出係数は、日単位で大きく変動することも明らかになった。統計的な解析では、 N_2O 排出量は、処理水量と有意な正の相関関係 ($R^2=0.11$ 、 $p=0.04$)、流入 COD_{Mn} 濃度 ($R^2=0.24$ 、 $p=0.01$)、SRT ($R^2=0.23$ 、 $p=0.01$)、MLVSS ($R^2=0.32$ 、 $p<0.01$) と有意な負の相関関係を示し、処理水、流入 COD_{Mn} 濃度、SRT、MLVSS の増減には降雨が影響していたことも推察された。

なお、本連続モニタリング調査期間中において、 N_2O 生成ポテンシャルと N_2O 排出量に明確な関係性はみられなかった。

第5章 N₂O 抑制に向けた攪拌方法の検討

第1節 はじめに

第3章および第4章より、無終端水路反応槽の DN₂O 生成に影響を与える重要な操作パラメータが、他の形式と同様に DO 濃度¹⁴⁾であることが示された。そのため、N₂O 排出を抑制するためには、第4章で DO 濃度に影響することが示された流入有機物負荷を考慮し、攪拌機の制御によって、DO 濃度分布を最適化する必要があると考えられる。また、一般的には、窒素負荷の増加が生物反応槽における N₂O 排出を増加させるが¹⁴⁾、フルスケール無終端水路における窒素負荷の経時変化が N₂O 排出へ与える影響については明らかにされておらず、関係性の解明が課題である⁴⁷⁾。

第1章に記載したとおり、既往のパイロットスケール無終端水路反応槽を用いた Sun らの研究⁵⁶⁾では、流入地点の攪拌機を停止し、その下流の攪拌機を稼働する条件が N₂O 排出量を低下させると報告された。この傾向は、第3章および第4章で示された通り、本無終端水路においても同様である可能性がある。一方で、N₂O 排出抑制の観点では、単一の生物反応槽において硝化反応と脱窒反応が同時に生じる DO 条件は避けるべきであることが言及されており⁶⁴⁾、フルスケール回分反応槽では、反応槽全体の DO 濃度を増加させることで N₂O 排出量が抑制された事例も報告されている¹²⁸⁾。これより、上記の Sun ら⁵⁶⁾の運転方法の有用性については、さらなる検証が必要であり、様々な条件の DO 濃度分布を形成する中での N₂O 動態の解析が課題である。なお、第3章および第4章の非連続モニタリング調査において、無終端水路反応槽における NO₂⁻濃度と DN₂O 濃度の関連性が示されたが、DO 濃度が増加する中での両者の関係性は示されていない。わが国では、NO₂⁻濃度が週試験（1週間に1回程度行う試験）の対象項目となっていることから⁴³⁾、NO₂⁻濃度と N₂O 排出の関係性が明らかになることで、N₂O 排出量の目安としての役割が期待される。

ここで、水処理の運転最適化、設計、教育などを支援するツールとして、国際水協会（International water association : IWA）のタスクグループが提案する活性汚泥モデル⁹⁷⁾を用いたシミュレーションが活用されている。シミュレーションは、パイロットプラントにおける調査には多額の費用がかかること、フルスケールプラントにおける機構調査には限界があること、などの課題を解決する強力なツールである¹²⁹⁾。既往研究では、フルスケールプラントを想定した N₂O 排出のシミュレーションを行った事例が複数報告されており¹¹⁵⁾、¹³⁰⁾、¹³¹⁾、無終端水路反応槽における適用事例も報告されている¹³²⁾。

以上より、本章では、無終端水路反応槽における N₂O 抑制運転方法の構築を目的とし、攪拌機の回転速度、稼働台数を変更した複数の条件で、DO 濃度および流入有機物負荷や流入窒素負荷と N₂O 排出の関係性を評価した。また、第4章で使用した N₂O 生成ポテンシャル試験装置を活用した室内試験を行い、実無終端水路反応槽を想定した複数の DO 濃度条件下で、NO₂⁻などの水質と N₂O 生成の関係性を解析した。さらに、流入有機物濃度、流入窒素濃度、DO 濃度分布をパラメータとした、N₂O 排出に関する包括的なシミュレーション解析も行った。

第2節 方法

5-2-1 調査方法

本章で対象とした施設は、第3章および第4章と同様に大曲処理センターの3系である(図3-1、図3-2)。本章では攪拌機の特別運転を実施し、その DN_2O 動態を明らかにすることを目的に連続モニタリング調査を行った(図5-1)。方法は、2019年調査と同様に DN_2O 測定用コントローラー(N_2O Wastewater Controller、Unisense Environment社)に、 DN_2O センサー(N_2O Wastewater Sensor、Unisense Environment社)を1本接続し、2020年10月16日から11月4日にかけて、センサー検出部を反応槽E地点に約30cm浸漬させ、水温とともに10秒間隔で計測を行った(図5-2)。また、水質測定用コントローラー(DIQ/S 284、WTW社)に、 NH_4^+ センサー(VARiON Plus 700IQ、WTW社)を接続し、10月29日から11月24日に反応槽流入水(G地点)に検出部を約30cm浸漬させて、10分間隔で計測を行った(図5-3)。さらに、蛍光式DOセンサー(HQ30d、Hach社)を使用し、反応槽E地点付近に検出部を約30cm浸漬させ、10月15日10:48から10月16日11:48は5分間隔、11月2日9:25から11月5日10:10は15分間隔で計測を行った。また、調査期間中は各コントローラーおよびセンサーの状態を定期的に確認し、付着物の除去を行った。なお、蛍光式DOセンサーの設置地点は据付け型のDO濃度計器とほぼ同地点であり、クロスチェックを行った(図5-4)。

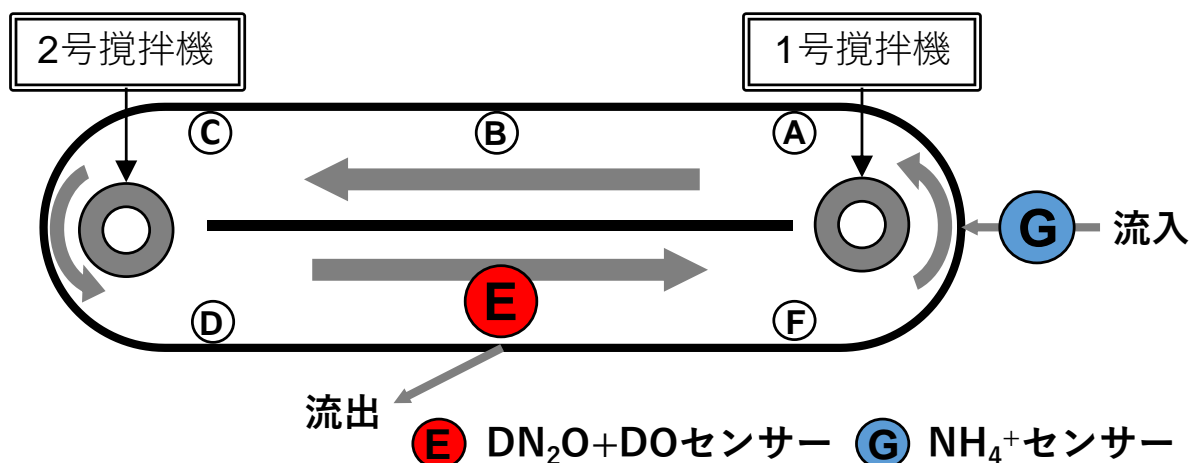


図5-1 2020年連続モニタリング調査時の各種センサー設置地点

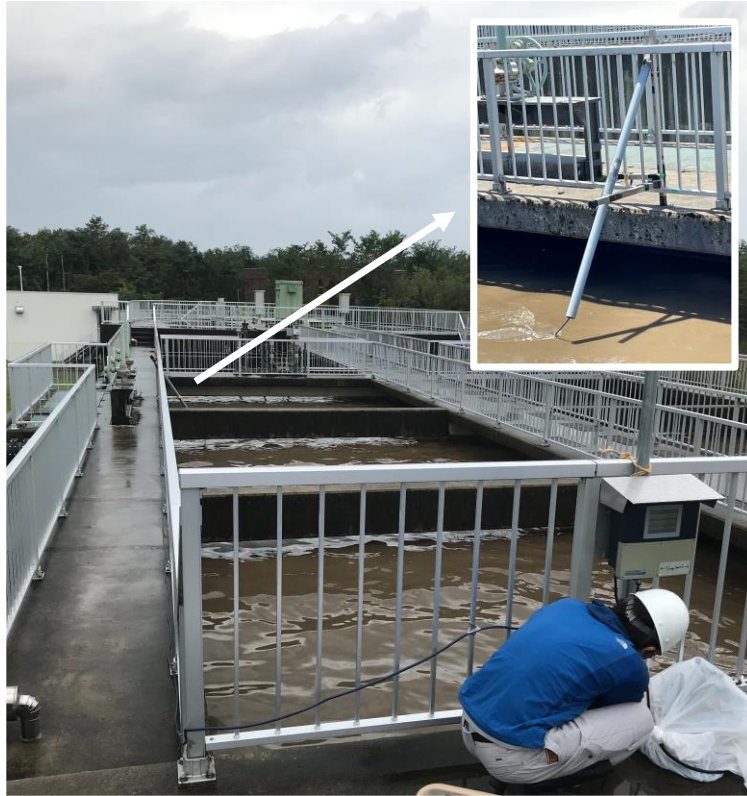


図 5 - 2 DN₂O 連続測定装置の設置状況 (図 5 - 1 参照)



図 5 - 3 反応槽への流入地点に設置した (a) 水質測定用コントローラー
(b) 水質測定用コントローラーに接続した NH₄⁺センサーを浸漬させた状況 (図 5 - 1 参照)



図 5 - 4 据え付け型 DO 濃度計器付近に浸漬させた蛍光式 DO 濃度センサー
(図 5 - 1 参照)

5-2-2 調査期間中の攪拌方法

本章の2020年連続モニタリング調査では、攪拌機の稼働条件が異なる3つの特別運転を実施し（表5-1）、時空間的なDO濃度分布の違いがN₂O生成に与える影響を評価した。

10月16日から21日は、1台を高速回転（回転速度30 min⁻¹以上）、もう1台を低速回転（回転速度20 min⁻¹から24 min⁻¹）で同時に稼働する方法を実施した。具体的には、2時間から2時間15分の高速と低速の同時稼働後、15分から30分の2台同時超低速回転での稼働、さらに30分の停止時間を設けた。高速回転と低速回転は、1号攪拌機と2号攪拌機で順次交替しながら実施した。

10月23日から11月2日は、攪拌機2台を3時間ごとに交互に高速回転で稼働する、大曲処理センターの通常の運転方法を実施した。なお、第4章の2019年連続モニタリング調査時は、攪拌機交代時の2台停止時間を最短で6分としていたが、その間にDN₂O濃度が完全に低下しない場合があり、攪拌機別のN₂O生成能力を評価することができなかった。そのため、2020年調査では、2台停止時間を20分から30分と長めに設定し、脱窒によるDN₂O濃度減少を促進させた。

11月3日と4日は、上記の通常運転を行っていく中で、6:00から8:00の2時間、2台同時に高速回転で稼働する特殊な方法である。なお、N₂O排出量が増加する可能性があったため⁵⁶⁾、2台同時高速回転時間を午前2時間のみとし、午後に通常よりも長い2台停止時間を設けて、脱窒によるN₂O還元を促進を狙った。

5-2-3 N₂O排出量と排出係数の算出方法

反応槽における1日のN₂O排出量と排出係数は、第4章で考察を行ったK_La法を採用した上で、(4-4)式、(4-5)式、(4-6)式、(4-7)式、(4-8)式、(4-9)式により算出した。なお、N₂O排出係数に使用するDIN除去量は、大曲処理場管理データにおける各期間の平均値を使用した。

表5-1 特別運転の実施スケジュールおよび水処理状況

期間	攪拌条件	水温平均値 (°C)	MLVSS平均値 (mg L ⁻¹)
2020 10/16-10/21	2台稼働（高速+低速）	20.2	1,500
2020 10/23-11/2	1台稼働（通常運転）	19.5	1,500
2020 11/3-11/4	2台稼働（高速+高速）	18.9	1,300

5-2-4 短期 N₂O 生成動態試験の方法

活性汚泥による N₂O 生成動態と水質の関係を明らかにすることを目的とし、水質と DO 濃度をパラメータとした室内試験を行った。この試験では、第 4 章で行った N₂O 生成ポテンシャル試験装置（図 4-3、図 4-4）を一部改良して使用し、無終端水路反応槽内の水質を想定した 5 つの系にて実施した（表 5-2）。試験は第 4 章と同様な試験水の作製方法で、2020 年 11 月 11 日に行った。

まず、あらかじめ 20 °C に設定した恒温水槽に 1 L 容器を設置し、N₂O 生成ポテンシャル試験と同じ方法で作製した試験水を 800 mL 注いだ。その後、3 L min⁻¹ の窒素と空気の混合ガスもしくは窒素ガスのみで連続曝気を行い、試験水中の DO 濃度を各系の設定値に制御した（表 5-2）。この際、混合ガスもしくは窒素ガスの流量は固定し、混合ガスの場合は窒素と空気の流量比を DO センサーの値を確認しつつ、手動で制御した。DO 濃度が安定した後、各系で異なる基質調整用の試薬を添加し、定期的に各容器に一箇所設けたガス排出口からガスサンプルを採取して N₂O 生成ポテンシャル試験と同じ方法で GN₂O 濃度分析用ガスサンプルを作製した。さらに、試験水も定期的に採取し、NH₄⁺、NO₂⁻、NO₃⁻ 濃度分析用ろ過サンプルを N₂O 生成ポテンシャル試験と同じ方法で作製した。なお試薬の N および C 量は既往研究と同様であるとともに¹¹⁷⁾、本反応槽における流入負荷条件相当の数値である。試験時間は試薬添加後 30 分とし、その間、GN₂O 濃度分析用ガスサンプル採取間の N₂O データの補間を目的として DN₂O 濃度分析用センサー（N₂O Microsensor、Unisense 社）により、試験水中の DN₂O 濃度を 30 秒間隔で計測した。なお、N 系は攪拌機が 1 台のみ稼働して、DO 濃度勾配が生じている反応槽内の各エリアを想定しており、N-0.0 系は無酸素エリア、N-0.5 系、N-1.0 系、N-1.5 系は好気エリアの想定である。H-0.0 系は直前の攪拌機稼働時に NO₂⁻ が蓄積した場合の攪拌機 2 台停止時を想定しており、試験中は曝気を停止して、DN₂O と NH₄⁺、NO₂⁻、NO₃⁻ で解析を行った。

GN₂O 濃度の分析には、第 3 章および第 4 章と同条件の ECD ガスクロマトグラフ（GC-14B、島津製作所）を使用した。水温および DO 濃度は、ポータブル DO 濃度センサー（HQ30d、Hach 社）、pH はポータブル pH センサー（HM-30P、東亜ディーケーケー株式会社）、NH₄⁺、NO₂⁻、NO₃⁻ 濃度はろ過サンプルをイオンクロマトグラフ（850 Professional IC、Metrohm 社）を使用して分析した。

表 5-2 短期 N₂O 生成動態試験の試験条件

系	初期水質 (mg L ⁻¹)	DO濃度調整値 (mg L ⁻¹)
N-0.0	NH ₄ ⁺ -N : 20	0.0
N-0.5	NH ₄ ⁺ -N : 20	0.5
N-1.0	NH ₄ ⁺ -N : 20	1.0
N-1.5	NH ₄ ⁺ -N : 20	1.5
H-0.0	NO ₂ ⁻ -N : 5 + CH ₃ COO-C : 60	0.0

5-2-5 N₂O 排出のシミュレーション方法

N₂O 排出抑制に向けた最適な運転方法の構築を目的に、有機物と窒素の流入負荷およびそれに対する DO 濃度分布が N₂O 排出に与える影響を、活性汚泥モデル⁹⁷⁾によるシミュレーション解析により評価した。解析には水処理シミュレーションソフトである SUMO ver. 21 (Dynamita 社) の Sumo 4N をプラットフォームとして使用し、大曲処理センター3系反応槽を想定したプラント設定 (図 5-5) と 2020 年度の処理実績に基づいた運転条件設定 (表 5-3) を行った。Sumo 4N の窒素変換は、既往の知見を基に、一般的な従属栄養生物の脱窒を NO₃⁻ から N₂ までの 4 つの生物反応¹³³⁾、アンモニア酸化細菌の硝化および脱窒を NH₄⁺ から N₂O までの 5 つの生物反応¹³⁴⁾としており (図 5-6)、これらを Monod 式⁹⁷⁾を組み込んだ数学モデルで表現している¹¹⁵⁾。なお、SUMO はオープンソースソフトウェアであり (<https://dynamita.com/index.html>)、Sumo 4N の数学モデルとパラメータの詳細はソフトウェア上で閲覧可能である (view → Directories → model library → Focus models → SUMO4N)。

ここで、活性汚泥モデルの構築方法としては、反応速度論定数、化学量論係数、変換係数などのパラメータのキャリブレーション作業を行うのが一般的である¹³⁰⁻¹³²⁾。一方で、活性汚泥モデルではプロセス構成や水理学的特性など、処理場の構成に関する設定が正確に反映されていることが重要である¹³⁵⁾。また、複数のパラメータが含まれているモデル (Sumo 4N は 384 個) は、キャリブレーションに使用するデータが限定されている場合に精度が損なわれる可能性も言及されている¹³⁰⁾。さらに、本章での目的が定量的な評価ではなく、N₂O 抑制方法の構築に向けた補足データの蓄積であることから、反応速度論定数、化学量論係数、変換係数などの主要なパラメータとして、Sumo 4N のデフォルト値を使用した。なお、既往研究においても、デフォルト値を使用して窒素および有機物除性能と DO 濃度の関係性を評価した事例が報告されている¹²⁹⁾。

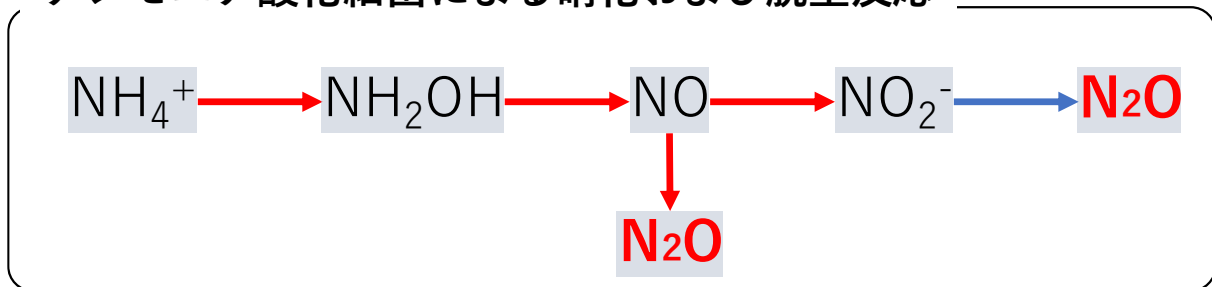
大曲処理センター3系無終端水路反応槽は、1 つの槽内を反時計周りに活性汚泥混合液が循環しているが (図 3-1、図 3-2)、モデルのシステム上、8 つの機械式攪拌リアクターを連結させる形で構成した (図 5-5)。また、大曲処理センターは最初沈殿池を有するが、本モデルでは最初沈殿池以降の水処理工程を設計し、最終沈殿池は非反応モデルとして単純化した。さらに、シミュレーション時は 1 号攪拌機か 2 号攪拌機のいずれか 1 台のみ、表 5-3 に示すスケジュールにて稼働させ、その他のリアクターは常に攪拌機を停止させた。この際、攪拌により DO が増加するが、その濃度は、攪拌地点の流下方向で 2 つ後のリアクターにおいて、それぞれ制御を行った (図 5-5 (b))。なお、攪拌機のスケジュール設定には、攪拌機のモーター効率を操作変数としたタイマー制御、DO 制御には攪拌機のワイヤーパワーを操作変数とした PID 制御を使用した。その他に、流入水温と外気温はプラント内で変化が生じないように同一値とし、MLVSS は返送汚泥が流入する 1 号攪拌機設置リアクターにおいて、返送汚泥のポンプ流量を操作変数とした P 制御により 1,900 mg L⁻¹ となるよう設定した。また、攪拌機稼働中の反応槽混合液が循環する流速を 0.5 m s⁻¹ に、攪拌機停止中は流入水流量と返送汚泥流量の合計値と同程度になるように、反応槽流出地点のポンプ流量の設定とタイマー制御を行った。

シミュレーションは、流入水の化学的酸素要求量 (重クロム酸カリウムにおける酸化量) (COD_{Cr}) 濃度と TN 濃度を 2022 年度の通日試験データを参考に 4 段階ずつに設定し (表

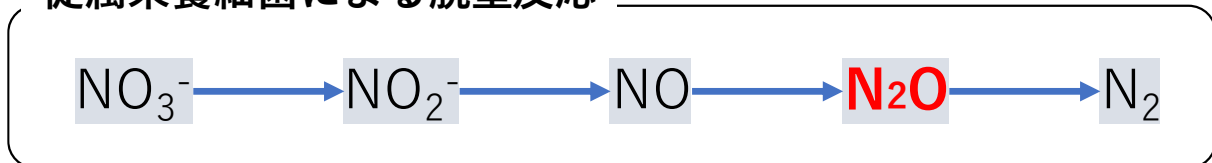
表 5 - 3 シミュレーションにおける攪拌条件と主要なパラメータ

攪拌条件 (1台のみ稼働)	
スケジュール	稼働：2時間40分 + 停止：20分のローテーション
ワイヤーパワー (W)	PID制御 (制御値 = DO : 0.2、0.4、0.6、0.8 mg L ⁻¹)
主要なパラメータ	
水温および外気温 (°C)	17.2
流入量 (m ³ h ⁻¹)	4,920
流入COD _{Cr} 濃度 (mg L ⁻¹)	100、200、300、400
流入TN濃度 (mg L ⁻¹)	25、35、45、55
MLVSS (mg L ⁻¹)	1,900

アンモニア酸化細菌による硝化および脱窒反応



従属栄養細菌による脱窒反応



→ 硝化 → 脱窒

図 5 - 6 シミュレーションモデルにおける N₂O 生成に関連する生物反応経路

第3節 結果

5-3-1 流入 NH₄⁺負荷の変動傾向

図5-7に2020年10月29日から11月24日にかけて計測した3系無終端水路反応槽への流入量平均値、NH₄⁺濃度平均値、この2つを乗じて算出したNH₄⁺負荷平均値を示す。なお、流入NH₄⁺濃度は1時間ごとの平均値（n=6）である。

これより、流入量は朝方の5時頃に低く、午後は概ね高い傾向となった。NH₄⁺濃度は深夜から朝方（0時から9時頃）に低い傾向を示し、13時頃が最も高い傾向を示した。NH₄⁺負荷はこの両者の変動を反映し、4時から7時に低く、午後は比較的高い傾向にあった。なお、第4章の図4-10に示した通り、有機物指標としてのBOD、COD_{Mn}の濃度変動傾向は5時および9時に低く、13時が高い傾向であった。データ採取間隔は異なるが、この傾向は流入NH₄⁺濃度と概ね同様であるため、有機物負荷と窒素負荷の時間変動傾向は同様であると推定された。

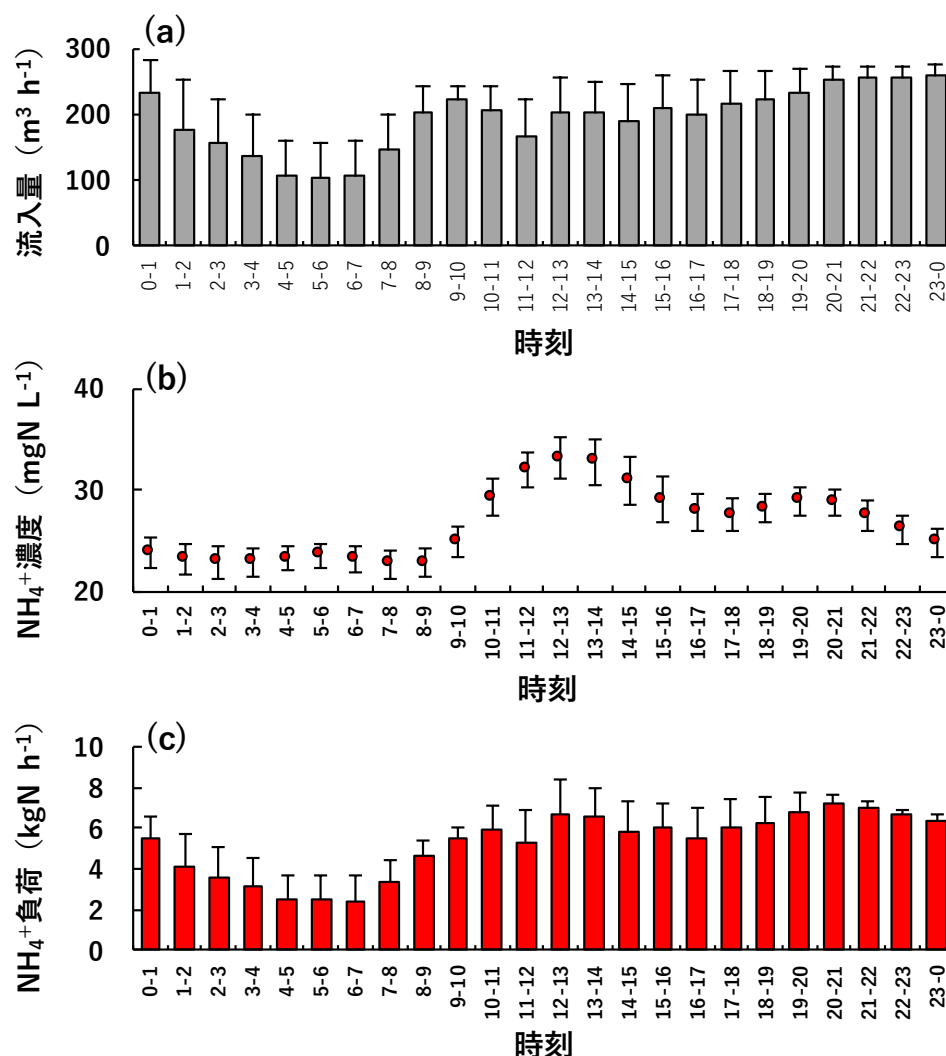


図5-7 2020年10月29日から11月24日における3系反応槽への (a) 流入量 (b) 流入NH₄⁺濃度 (c) 流入NH₄⁺負荷の経時変動傾向 (エラーバーは標準偏差を示す)

5-3-2 各攪拌方法における DN₂O 濃度の経時変化

図5-8に2020年調査における各攪拌方法の代表的な DN₂O 濃度経時変化として、2台稼働（高速+低速）：10月16日、1台稼働（通常運転）：11月1日、2台稼働（高速+高速）：11月4日のデータを示す。

2台稼働（高速+低速）では（図5-8（a））、全調査日において DO 濃度は攪拌とともに増加し、2号攪拌機の高速回転時の最大値は 0.86 mg L⁻¹、1号攪拌機の高速回転時の最大値は 0.16 mg L⁻¹であった。一方で、15分間の超低速回転時および30分間の停止時は、ほぼ 0 mg L⁻¹であった。DN₂O 濃度は攪拌機の高速回転時に増加し、超低速回転に切替わった直後は、第4章の2019年調査でもみられたような、傾きが大きい濃度増減がみられた。この DN₂O 濃度の経時変化は、同条件の運転期間中において概ね再現性がみられた。なお、2台稼働（高速+低速）期間中においては、6:45 から 7:30 の超低速回転もしくは攪拌機停止中に日最大 DN₂O 濃度を計測し、最大値は 10月21日に観測された 0.93 mgN L⁻¹であった。

1台稼働（通常運転）では（図5-8（b））、DO 濃度は2号攪拌機が稼働している場合に2台稼働（高速+低速）と同程度の値を計測し、2号攪拌機が停止している場合の DO 濃度は全て 0 mg L⁻¹を計測した。DN₂O 濃度は、1号攪拌機稼働時の主に午前中に増加し、停止直後は2台稼働（高速+低速）と同様に、傾きの大きい濃度増減がみられた。一方で、2号攪拌機が稼働している場合は、図5-8（b）の 9:15 頃のようなわずかな増加を除き、DN₂O 濃度の増加は確認されなかった。なお、1台稼働（通常運転）では、7時台の攪拌機停止中に日最大 DN₂O 濃度を計測する場合はほとんどで、期間中の最大値は 10月27日に観測された 0.44 mgN L⁻¹と、2台稼働（高速+低速）よりも低い値であった。

2台稼働（高速+高速）では（図5-8（c））、DO 濃度は 6:00 から 8:00 の2台同時高速回転時に急激な増加がみられ、最大で 3.89 mg L⁻¹を計測した。2台同時の高速回転のため、反応槽全エリアの DO が高濃度であったと考えられる。その後、8:00 から 8:30 の1台稼働、8:30 から 9:00 の稼働停止にともない DO 濃度は低下したものの、9:00 から 11:30 の1号攪拌機のみ稼働時は、通常の1号稼働時よりも高く、0.11 mg L⁻¹から 0.85 mg L⁻¹であった。DN₂O 濃度は、6:00 から 8:00 の2台同時高速回転時において DO 濃度の変移にともない増減し、6:00 から 6:55 の DO 濃度が 0 mg L⁻¹から 1.53 mg L⁻¹の時間帯では DN₂O 濃度が増加した。一方で、1.53 mg L⁻¹以上の DO 濃度では、減少へと傾きを転じた。8:00 に1台稼働に切替わった後は、再び濃度増加へ傾きが転じ、稼働停止に切替わった直後はさらに急激に増加した。8:51 から 9:06 および 11:10 から 14:16 は検出上限の 2.00 mgN L⁻¹を上回った。

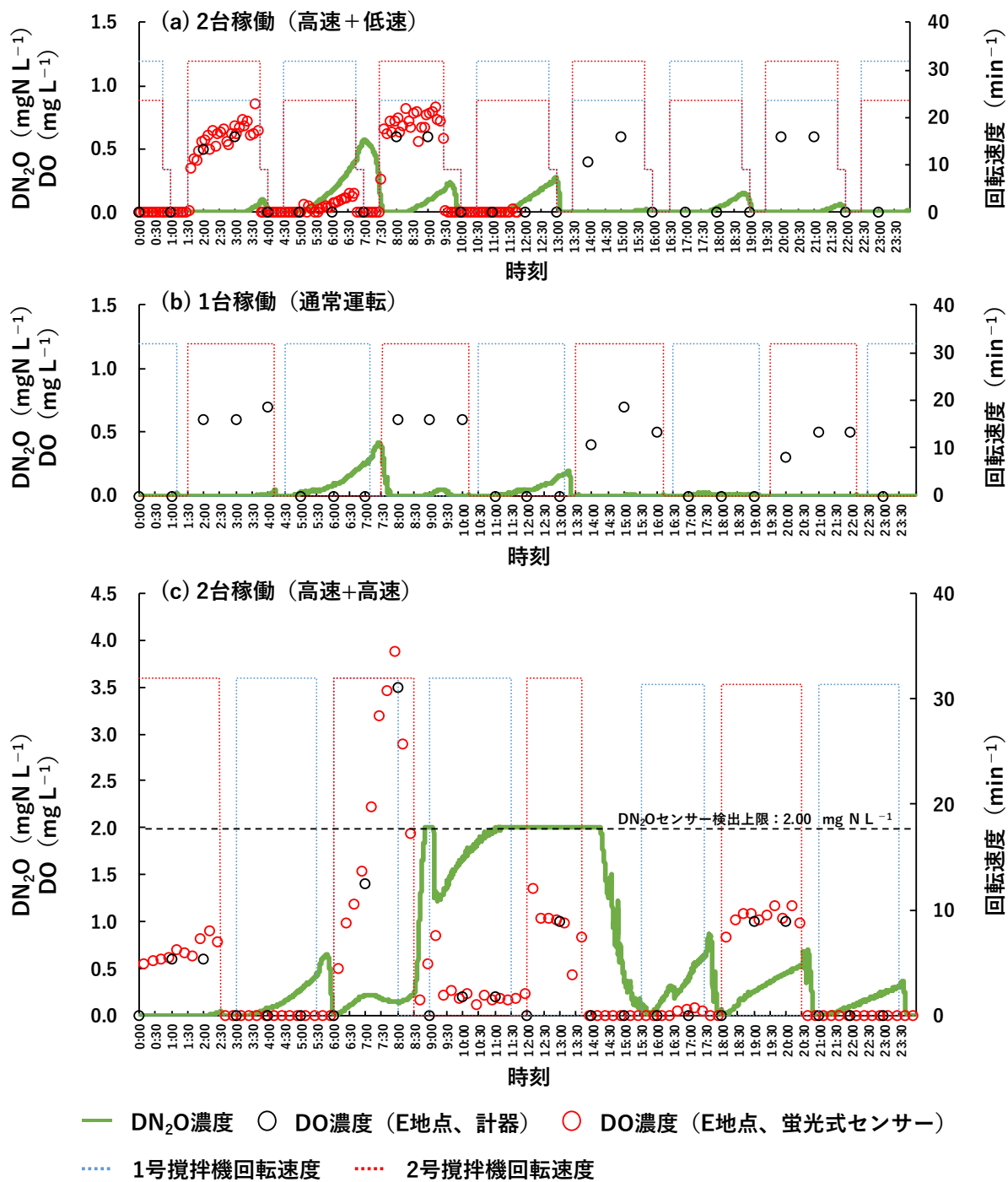


図5-8 2020年調査時の (a) 2台稼働 (高速+低速) : 10月16日 (b) 1台稼働 (通常運転) : 11月1日 (c) 2台稼働 (高速+高速) : 11月4日における DN₂O 濃度、DO 濃度の経時変化
 (地点 E は図5-1 参照のこと)

5-3-3 短期 N₂O 生成動態試験の結果

図5-9に、短期 N₂O 生成動態試験における各計測データの経時変化を示す。なお、試験終了時の NH₄⁺濃度は、NH₄Cl 試薬を添加しなかった H-0.0系を除いて 18.0 mgN L⁻¹ 以上であり、NO₃⁻濃度は全ての系で 0.11 mgN L⁻¹ 以下の低濃度であったことから、NH₄⁺から NO₃⁻までの完全硝化¹⁸⁾は時間内にほとんど進行しなかったと考えられる。また、H-0.0系における10分、21分付近の DN₂O濃度の急激な増減は、生物学的な反応速度の変化である可能性もあるが、試験途中で外的な水質変化を施していないことから、現時点では振動の影響によるセンサー値の乱れであると推察した。

攪拌機稼働時を想定した N系は、無酸素の N-0.0系を除いて、GN₂O濃度、DN₂O濃度、NO₂⁻濃度が増加した。この際、最終的な NO₂⁻濃度は N-1.5系がわずかに高かったものの、GN₂O濃度に大きな違いはみられなかった。また、NO₂⁻濃度と DN₂O濃度に有意な正の相関関係 (R² = 0.85、p < 0.01) がみられた (図5-10)。

攪拌機停止時の無酸素状態を想定した H-0.0系は、NO₂⁻濃度が開始直後から減少し始め、最終的に 0.34 mgN L⁻¹ の低濃度となった。DN₂O濃度は20分付近でピークを迎えた後、NO₂⁻濃度の減少に遅れる形で減少し始め、最終的に 0.01 mgN L⁻¹ 以下の低濃度を計測した。

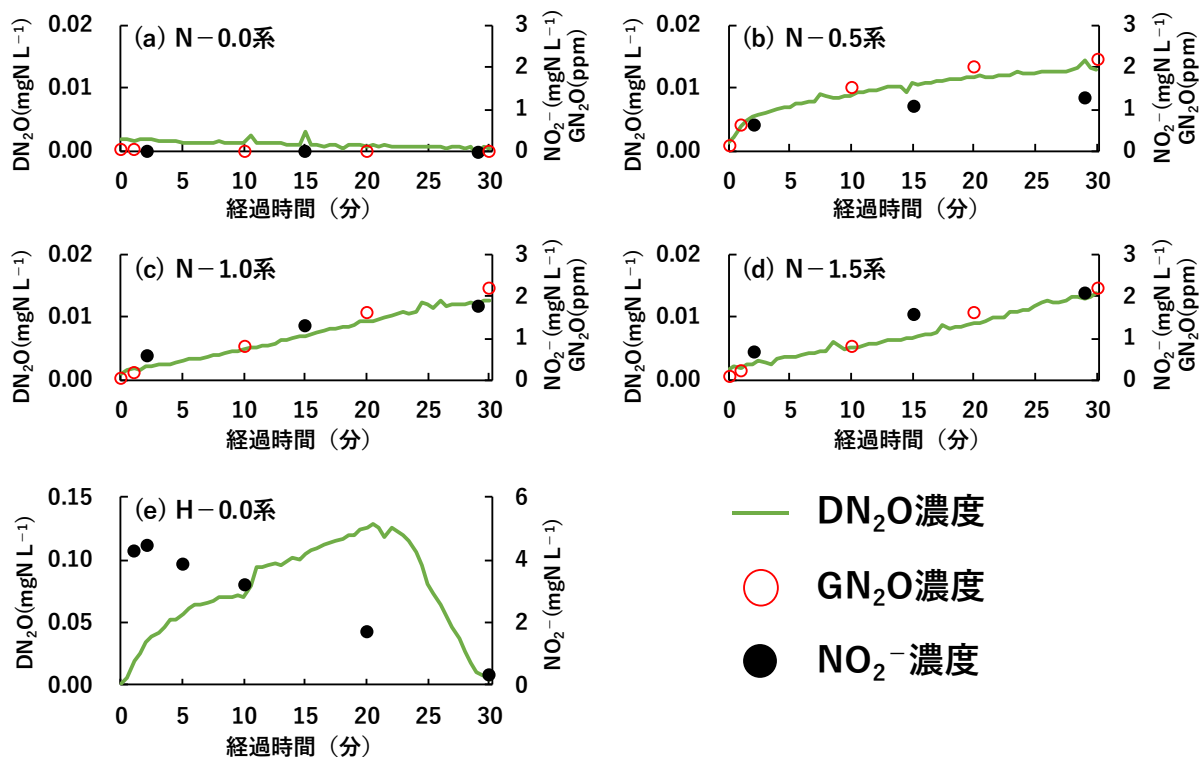


図5-9 短期 N₂O 生成動態試験における (a) N-0.0系 (b) N-0.5系 (c) N-1.0系 (d) N-1.5系 (e) H-0.0系における DN₂O濃度、GN₂O濃度、NO₂⁻濃度の経時変化 ((e) H-0.0系は非曝気のため GN₂O濃度を分析していない)

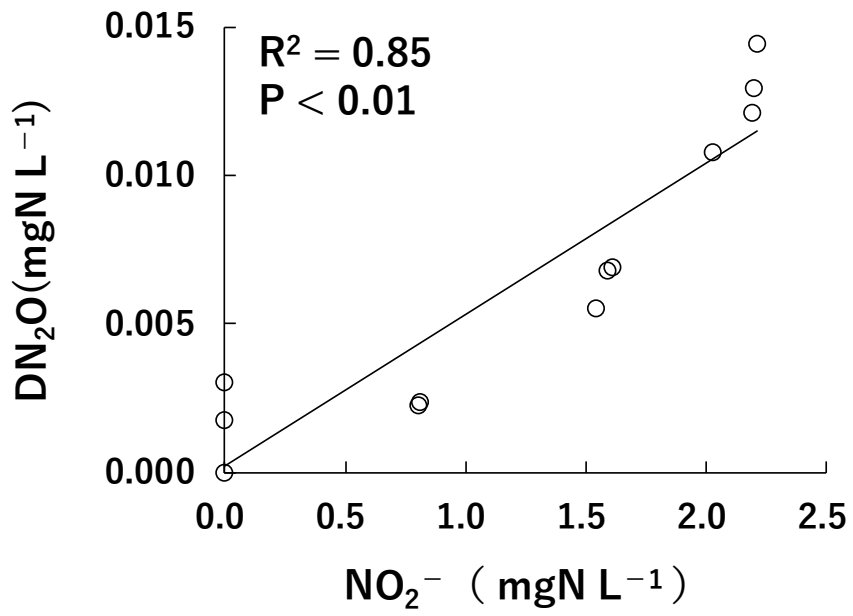


図5-10 短期 N_2O 生成動態試験における N 系 (N-0.0 系、N-0.5 系、N-1.0 系、N-1.5 系) の NO_2^- 濃度と DN_2O 濃度の関係

5-3-4 シミュレーションによる N₂O 排出傾向の解析結果

図5-11に大曲処理センター3系無終端水路反応槽を想定したシミュレーション解析結果の一覧を示す。この図において、黄色のセルは5-2-4項に記載したとおり、N₂O 排出抑制および窒素除去の観点で、DO 設定が最適化されていることを示す ($E_{T/\Delta TN} < 1.6\%$ かつ TN 除去率 $> 70\%$)。青色のセルは、低 DO 濃度により硝化が進行しないことで窒素除去が促進されず、N₂O も生成されなかったことを示す ($E_{T/\Delta TN} < 1.6\%$ かつ TN 除去率 $< 70\%$)。橙色のセルは、高 DO 濃度により硝化が進行することで窒素除去が促進しつつも、その過程で N₂O が生成および蓄積されたことを示す ($E_{T/\Delta TN} > 1.6\%$ かつ TN 除去率 $> 70\%$)。灰色のセルは、流入負荷に対して DO 濃度が非常に高く、硝化の促進により NO₂⁻および NO₃⁻が蓄積されて窒素除去が促進せず、その過程で N₂O が生成および蓄積されたことを示す ($E_{T/\Delta TN} > 1.6\%$ かつ TN 除去率 $< 70\%$)。なお、本シミュレーションでは、反応速度論定数、化学量論係数、変換係数についてデフォルト値を使用したため、大曲処理センター3系無終端水路形状における、標準的な活性汚泥を用いた場合の結果であると考えられる。

これより、いずれの DO 濃度パラメータにおいても、COD_{Cr} 濃度が増加、TN 濃度が減少するにつれて $E_{T/\Delta TN}$ が低くなった。また、DO 濃度の最適値（黄色のセル）は、いずれの攪拌機稼働時においても TN 濃度パラメータよりも COD_{Cr} 濃度パラメータの増減にともなって変動する傾向となった。

1号攪拌機を稼働させた場合と2号攪拌機を稼働させた場合の N₂O 排出係数： $E_{T/\Delta TN}$ を比較したところ、DO 濃度の最適値（黄色のセル）は2号攪拌機稼働時の方が多かった。また、2号攪拌機の黄色セルにおける $E_{T/\Delta TN}$ を、同パラメータ条件の1号攪拌機稼働時と比較した所、いずれも2号攪拌機稼働時の方が低く、平均値で1号攪拌機：1.27%、2号攪拌機：0.79%であった ($n = 12$)。

		COD _{Cr} (mg L ⁻¹)															
		100				200				300				400			
		TN (mg L ⁻¹)															
		25	35	45	55	25	35	45	55	25	35	45	55	25	35	45	55
1号 攪拌機稼働時	0.2	2.87	4.06	5.48	7.11	0.43	0.71	1.18	1.60	0.03	0.03	0.03	0.03	0.01	0.01	0.01	0.01
	0.4	3.00	3.60	4.32	5.11	2.17	2.87	3.74	4.85	0.66	1.02	1.59	2.15	0.06	0.07	0.07	0.07
	DO (mg L ⁻¹) 0.6	3.56	4.03	4.52	5.09	2.43	2.86	3.37	4.00	1.97	2.71	3.56	4.70	0.77	1.19	1.66	2.06
	0.8	4.09	4.61	5.05	5.46	2.71	3.10	3.49	3.93	2.37	2.81	3.30	3.92	1.85	2.66	3.10	4.98
2号 攪拌機稼働時	0.2	2.83	3.93	5.29	6.85	0.34	0.54	0.90	1.33	0.02	0.02	0.02	0.02	0.01	0.01	0.01	0.01
	0.4	2.90	3.47	4.15	4.91	0.46	2.73	3.55	4.59	0.48	0.68	1.08	1.63	0.04	0.04	0.04	0.04
	DO (mg L ⁻¹) 0.6	3.44	3.88	4.34	4.88	2.32	2.73	3.20	3.79	1.61	2.26	3.34	4.35	0.50	0.74	1.01	1.33
	0.8	3.96	4.44	4.84	5.24	2.60	2.97	3.33	3.74	2.23	2.67	3.13	3.71	1.43	2.19	2.65	2.98

数値はN₂O排出係数：E_{T/ΔTN} (%) を示す

- E_{T/ΔTN} < 1.6 % TN除去率 > 70 % ■ E_{T/ΔTN} > 1.6 % TN除去率 > 70 %
- E_{T/ΔTN} < 1.6 % TN除去率 < 70 % ■ E_{T/ΔTN} > 1.6 % TN除去率 < 70 %

図 5 - 1 1 大曲処理センター3 系無終端水路反応槽を想定したシミュレーション解析結果の一覧

第4節 考察

5-4-1 攪拌方法の違いが N₂O 動態に与える影響

実処理場の1台稼働（通常運転）は、1号攪拌機稼働時に DN₂O 濃度の増加がみられた一方で、2号攪拌機稼働時は DN₂O 濃度の増加がほぼみられなかった（図5-8（b））。これは2019年の連続モニタリング調査時ではみられなかった傾向である（図4-9）。その要因としては、1号攪拌機稼働時における据付け計器の DO 濃度平均値が2019年調査時：0.9 mg L⁻¹、2020年調査時：0.5 mg L⁻¹と、2019年の方が高 DO の雰囲気であったことが推察された。DO 濃度に関しては、第3章で考察した通り、高 DO 濃度が従属栄養細菌の N₂O も含めた脱窒反応を停滞させるため、2019年の DO 濃度は N₂O 抑制の観点では適していなかったと考えられる。なお、2019年調査時と2020年調査時の攪拌機回転速度（酸素供給能力）はいずれも同じ数値であったが、2020年は活性汚泥の沈降性を示す汚泥容量指標が高く（2019年調査平均値：189 mL g⁻¹、2020年調査平均値：408 mL g⁻¹）、糸状性バルキングや粘性バルキングが生じていたと推察された¹³⁶⁾。既往研究では、いずれのバルキング状態においても酸素の移動速度が減少することが報告されており¹³⁷⁾、DO 濃度に影響を与えたと推察された。

ここで、短期 N₂O 生成動態試験における各 N 系は、無酸素エリアをとまなう DO 濃度勾配が生じた、1台稼働（通常運転）を想定した系である。その中で、好気エリアを想定した N-0.5系、N-1.0系、N-1.5系は、いずれも時間経過とともに GN₂O 濃度、DN₂O 濃度、NO₂⁻濃度が増加したことから（図5-9（b）、（c）、（d））、実反応槽の好気エリアでも、NO₂⁻の蓄積に関連した N₂O 生成が生じていたと考えられた。なお、N系における NO₂⁻濃度と DN₂O 濃度に有意な正の相関関係（R² = 0.85、p < 0.01）がみられたことから（図5-10）、大曲処理センターでは、第4章に記載した長期的な NO₂⁻との関連に加えて（図4-6（b））、短期的な変動とも関連があることが確認された。そのため、大曲処理センターにおける N₂O 排出の指標として、NO₂⁻を使用することが可能であると考えられた。

実処理場の2台稼働（高速+低速）においては、いずれの攪拌条件でも DN₂O 濃度の増加がみられた（図5-8（a））。これは、低速回転側でも DO が存在するため、いずれの攪拌条件でも酸素の存在で脱窒反応が抑制されていたと考えられる。さらに、DN₂O 濃度の最大値は1台稼働（通常運転）よりも高い傾向にあったが、これは、好気エリアが拡大したことで硝化菌脱窒由来の N₂O 生成量が増加したためと推察された。

全面的な好気エリアを形成した2台稼働（高速+高速）においては、DO 濃度が 1.53 mg L⁻¹ 以上で DN₂O 濃度の減少がみられた（図5-8（c）の 6:55 頃）。既往研究では、硝化菌脱窒は DO 濃度が 1.0 mg L⁻¹ 付近³⁶⁾、0.5-1.0 mg L⁻¹³⁷⁾、0.05-0.2 mg L⁻¹³⁸⁾で N₂O 生成速度が最大、もしくは、1.0 mg L⁻¹ を超えると N₂O 生成速度が高止まりする³⁵⁾と報告されている。また、フルスケールの処理場において、高 DO 濃度ではヒドロキシルアミン酸化経路の寄与が多いと推察されている¹⁷⁾。これより、2台同時稼働（高速+高速）時は、DO 濃度の増加とともに生成経路が硝化菌脱窒からヒドロキシルアミン酸化経路に推移し、大曲処理センターでは N₂O 生成速度が減少していったと考えられる。これは、フルスケール回分反応槽において、反応槽全体の DO 濃度を増加させることで N₂O 排出量が抑制された事例¹²⁸⁾と同様な現象であったと考えられる。

最後に、全運転時に共通する攪拌機停止時においては、反応槽全面に無酸素エリアが形成されるため、第4章においても記載した通り、従属栄養細菌脱窒が促進し、DN₂O 濃度増減の傾きが大きくなったと考えられた。なお、N₂O は従属栄養細菌脱窒において NO₂⁻や NO₃⁻を起源とした中間生成物である¹⁸⁾ (図1-3)。そのため、DN₂O 濃度は攪拌機停止直後にピークを迎えた後、短期 N₂O 生成動態試験の H-0.0 系のように、NO₂⁻減少に遅れる形で減少していったものと考えられる (図5-9 (e))。この際、実処理場のほとんどの場合に DN₂O 濃度が検出限界以下まで低下したことから、従属栄養細菌脱窒は、N₂O の生成能力よりも還元能力の方が高いという既往の報告¹⁸⁾に合致するものと考えられる。一方で、2台稼働 (高速+高速) (図5-8 (c)) の 8:30 頃のように、攪拌機停止時に DN₂O 濃度が大きく増加し、高濃度を維持する場合もみられた。これは、攪拌機停止直前の攪拌中に NH₄⁺酸化が促進し、NO₂⁻が蓄積されたことに起因するものと推察された。

5-4-2 N₂O 抑制および窒素除去促進のための攪拌方法に関する検討

表 5 - 4 に各攪拌条件における総 N₂O 排出量：E_T、N₂O 排出係数：E_{T/ΔDIN}、DIN 除去率を示す。なお、2 台稼働（高速+高速）では、DN₂O 検出上限値を超過した場合（図 5 - 8 (c)）に 2.00 mgN L⁻¹として扱うとともに、窒素成分のデータが取得できなかったため、E_Tのみで評価を行った。

これより、1 台稼働（通常運転）の E_T は、DN₂O 濃度変動が反映する形で 2 台稼働（高速+低速）および 2 台稼働（高速+高速）よりも低く、E_{T/ΔDIN} は 2 台稼働（高速+低速）よりも低かった。これは、攪拌機の 2 台同時稼働が N₂O 排出抑制には適さないことを示す結果と考えられる。一方で、DIN 除去率を比較すると 1 台稼働（通常運転）よりも 2 台稼働（高速+低速）の方が高い値であった。これは、前項で述べた通り、好気エリアが拡大したことで NH₄⁺酸化が進んだためと考えられた。ただし、1 台稼働（通常運転）の DIN 除去率に関しても、直近 5 年間の DIN 除去率（54 %から 82 %）（表 3 - 1 より算出）と比較して低い値ではなかったため、N₂O 抑制および窒素除去促進の観点では、基本的に 1 台稼働（通常運転）が有用であると考えられる。

さらに、N₂O 抑制に有用である 1 台稼働（通常運転）において、稼働攪拌機別の N₂O 排出量を比較すると、DN₂O 濃度変動（図 5 - 8 (b)）が反映する形で、有意に 2 号攪拌機稼働時の方が低かった（p < 0.01）（図 5 - 1 2）。なお、実処理場における攪拌条件の比較には、環境条件の違いが影響していた可能性も含まれているが、それらの条件が統一されたシミュレーション解析においても、同様に 2 号攪拌機稼働時の N₂O 抑制効果が示された（図 5 - 1 1）。これより、Sun らの⁵⁶⁾、流入と攪拌の位置関係の適性化が N₂O 排出を抑制するというパイロットスケール無終端水路での研究内容が、フルスケール無終端水路でも適応可能であることが示された。

ここで、1 台稼働（通常運転）を想定したシミュレーション結果において、DO 濃度の最適値（黄色のセル）は、いずれの攪拌機稼働時でも TN 濃度パラメータよりも COD_{Cr} 濃度パラメータの増減にともなって変動する傾向となった（図 5 - 1 1）。これは、無終端水路反応槽の N₂O 排出に影響を与えるパラメータとしては、有機物の方が重要性が高いことを示唆する。この要因としては、本シミュレーションを行った多くのパラメータ条件において、反応槽内の NH₄⁺濃度がアンモニア酸化細菌の NH₄⁺に対する半飽和定数：0.7 mgN L⁻¹を大きく上回り、流入 TN 濃度の増減が N₂O 生成および窒素除去に与える影響が小さくなったためと考えられる。なお、反応槽内に NH₄⁺がある程度蓄積される雰囲気は、アンモニア酸化細菌量が従属栄養生物量に比べて少ないことに加えて、比最大増殖速度も従属栄養生物：4.0 d⁻¹に比べてアンモニア酸化細菌：0.9 d⁻¹と小さく設定されているためである。実際の大曲処理センターでは、3 系反応槽と最終沈殿池流出水で NH₄⁺濃度に大きな差がないことを確認しており、それをふまえて年報データを確認すると（表 3 - 1）、本シミュレーション結果と同様に反応槽内に NH₄⁺がある程度蓄積する雰囲気であると考えられる。

以上より、Sun らの提唱する、流入地点を低 DO 濃度とすることで脱窒を促進させる攪拌方法⁵⁶⁾は、フルスケール無終端水路反応槽である大曲処理センターにおいても N₂O 抑制に有用であり、攪拌機を 2 台同時に稼働する方法は、基本的には推奨されないと考えられた。さらに、流入有機物負荷に対して適切に DO 濃度を調整することで、Sun らの方法⁵⁶⁾がより効果的になることも示唆された。大曲処理センターでは朝方（3 時から 9 時頃）に流入有機

物負荷が低下する傾向にあることから、この時間帯の攪拌機の回転速度、すなわち酸素供給能力を低下させることが有用と考えられた。

表 5 - 4 2020 年調査時の各攪拌条件における総 N_2O 排出量： E_T 、 N_2O 排出係数： $E_{T/\Delta DIN}$ 、DIN 除去率

攪拌条件	N_2O 排出量： E_T	N_2O 排出係数： $E_{T/\Delta DIN}$	DIN除去率 平均値
	kgN d ⁻¹	%	%
1台稼働（通常運転）	平均値：3.2	平均値：4.4	74
	中央値：3.5	中央値：4.8	
2台稼働（高速+低速）	平均値：16.2	平均値：17.3	87
	中央値：16.0	中央値：17.1	
2台稼働（高速+高速）	平均値：> 91.6 ^a	—	—
	中央値：> 91.6 ^a	—	—

^a DN_2O 濃度の検出上限を超過した場合は2.00 mgN L⁻¹ として計算

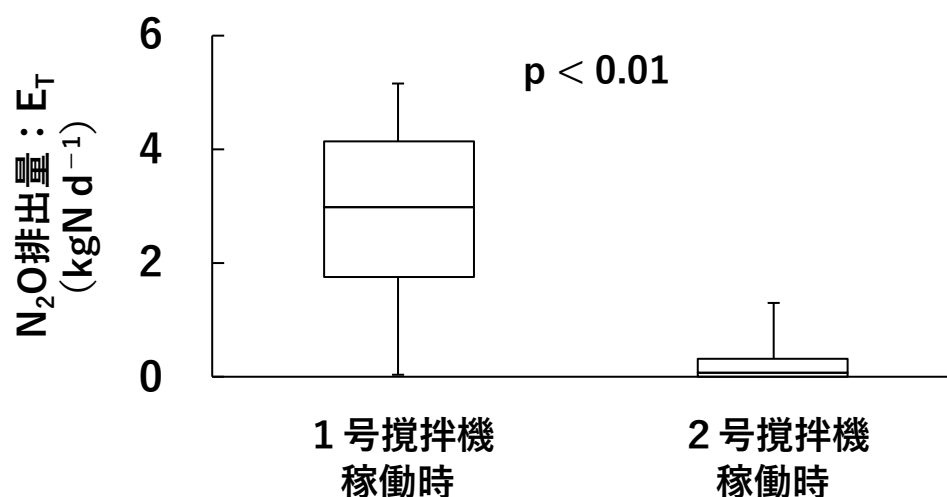


図 5 - 1 2 2020 年調査の 1 台稼働（通常運転）時における稼働攪拌機別の総 N_2O 排出量： E_T （箱ひげ図の上端と下端は最大値と最小値を示す）

5-4-3 反応槽流入地点が好気エリアである場合の攪拌方法に関する検討

前項より、2号攪拌機のみ稼働しつつ、流入有機物負荷に対して適切な回転速度に調整することが、N₂O抑制に有用であることが示された。ただし、大曲処理センターでは攪拌機のメンテナンスのため、1号攪拌機も稼働させる必要がある。本項では、1号攪拌機を稼働する適切な方法について考察を行った。

まず、1台稼働（通常運転）の1号攪拌機稼働時における流入量および流入BOD負荷推定値（n=83）とDN₂O生成速度の回帰分析を行った（n=83）（**図5-13 (a) (b)**）。この際、計器の流入量の計測が正時であるため、それに合わせて各正時間の1時間での計測値を使用した。そのため、各正時間における1号攪拌機の稼働時間が1時間未満の時間帯は、解析対象から除外した。具体的には、0:00から1:00、5:00から6:00、6:00から7:00、11:00から12:00、12:00から13:00、17:00から18:00、18:00から19:00、23:00から24:00を対象時間とした。なお、対象時間内のDN₂O濃度変動は一様に増加、もしくは横ばいであったことから、DN₂O生成速度は、最大値と最小値の差を計測時間（1時間）で除した値とした。また、流入BOD負荷推定値は第4章と同様の方法で、通日試験データ（**図4-10**）を利用した。

その結果、両者ともに有意な負の相関関係がみられた（流入量： $R^2=0.43$ 、 $p<0.01$ 、流入BOD負荷推定値： $R^2=0.42$ 、 $p<0.01$ ）（**図5-13 (a) (b)**）。有機物負荷の増加は、好気エリアにおいても従属栄養細菌の完全脱窒を促進するため^{103), 138)}、両者に負の相関がみられたと考えられる。したがって、1号攪拌機の稼働は、流入有機物負荷が高い傾向にある夜間帯が適切であると考えられた。

次に、NH₄⁺負荷量とDN₂O生成速度の回帰分析を、上述した流入量および流入BOD負荷推定値と同様に行った（n=35）（**図5-13 (c)**）。その結果、NH₄⁺負荷量も有意な負の相関関係がみられた（ $R^2=0.56$ 、 $p<0.01$ ）。一般的には、生物反応槽におけるN₂O排出は窒素負荷の増加にともなって増加するが¹⁴⁾、本研究では異なる傾向となった。これは、本処理場では、NH₄⁺負荷の変動が上述した有機物負荷変動と同じ傾向であるとともに、前項のシミュレーション結果の考察より、N₂O排出が窒素負荷変動よりも有機物負荷変動に大きく影響を受けるため、見かけ上は負の相関関係になったと考えられる。

以上より、大曲処理センターにおけるN₂O抑制のためには、2号攪拌機の稼働時間を増やしつつも、メンテナンスの観点から1号攪拌機も稼働させる必要があり、その時間帯は流入有機物負荷の高い傾向にある夜間帯が適切と考えられた。

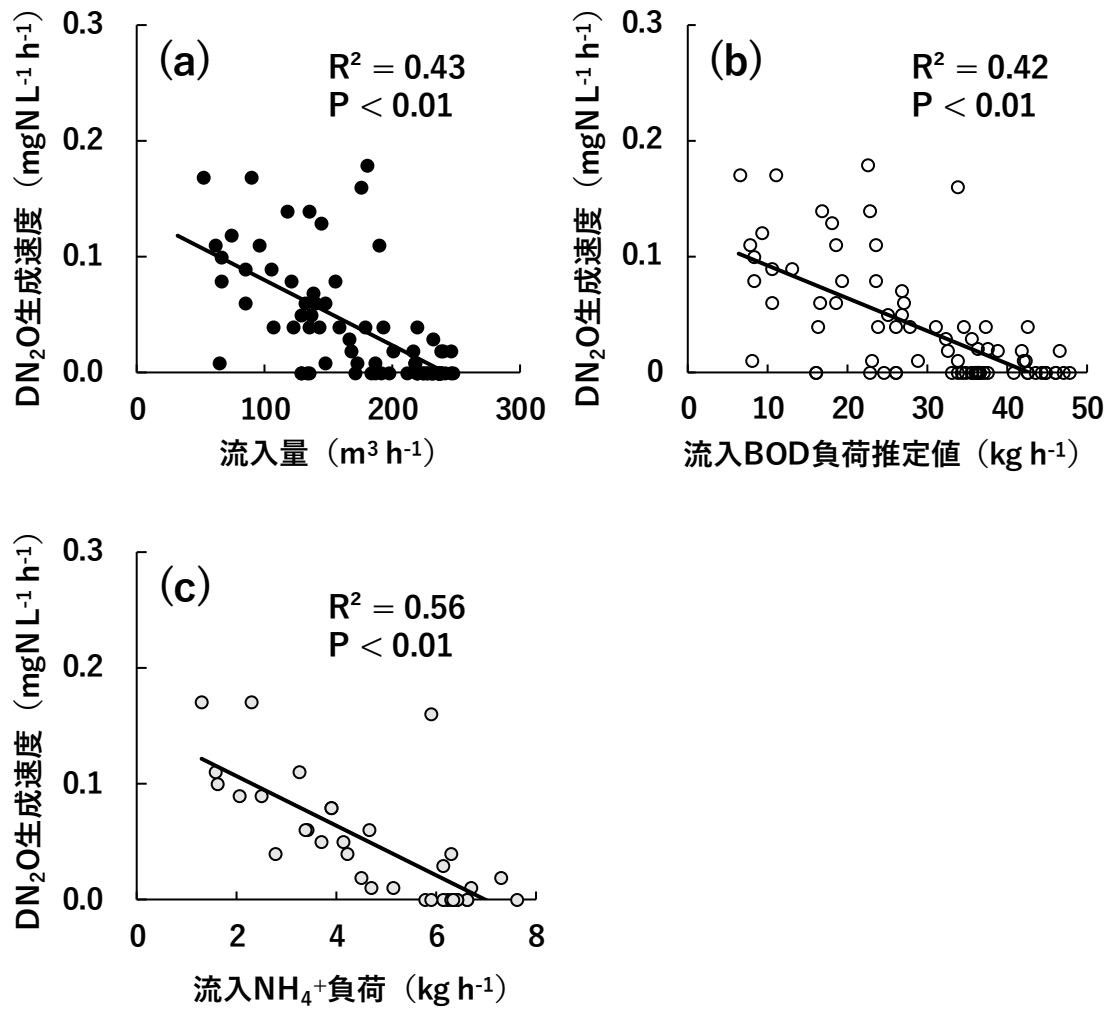


図5-13 2020年調査における1号攪拌機のみ稼働した時間帯の(a)流入量 (b)流入BOD負荷推定値 (c)流入 NH_4^+ 負荷と DN_2O 生成速度との関係

第5節 まとめ

本章では、フルスケール無終端水路反応槽における N_2O 抑制と窒素除去促進の観点から最適な攪拌方法を提案するため、2020年10月から11月に3つ攪拌方法を実施する中で DN_2O 濃度の連続測定を行った。また、活性汚泥を用いた室内試験を行い、実処理場の水処理条件を想定した短期的な DN_2O 濃度と NO_2^- との関係性を解析した。さらに、無終端水路反応槽への適用実績がある活性汚泥モデルに大曲処理センターの反応槽構造を組み込み、流入窒素量、流入有機物量、攪拌条件 (DO 濃度分布) をパラメータとした N_2O 排出のシミュレーション解析を行った。

その結果、実処理場の3つの攪拌方法は、いずれも異なる DN_2O 濃度変動傾向を示し、攪拌機を2台同時に高速稼働した場合は、過度な DN_2O 濃度の増加が確認された。室内試験結果と合わせて解析すると、実処理場の DN_2O 濃度と NO_2^- 濃度と関係は、好気エリアでは NO_2^- 濃度増加とともに DN_2O 濃度が増加し、無酸素エリアでは従属栄養細菌脱窒による NO_2^- 濃度の減少に少し遅れて DN_2O 濃度が減少することが示された。

各攪拌方法の N_2O 排出量は、 DN_2O 濃度が反映する形で違いがみられ、 N_2O 抑制と窒素除去促進の観点からは、攪拌機を1台稼働する通常の運転方法が有用であることが確認された。特に、流入地点の反対側の2号攪拌機を稼働した場合は、1号攪拌機稼働時よりも有意に N_2O 排出量が低下したことから、2号攪拌機の稼働時間を増やすことで N_2O 排出を抑制できる可能性が示された。一方で、攪拌機を2台同時に稼働する方法は、過剰な N_2O 排出を誘発する可能性が示された。

シミュレーションの結果、実処理場の傾向と同様に、2号攪拌機稼働時に N_2O 排出係数が低い値となった。また、流入有機物負荷に対して適切な DO 濃度を調整することで、さらなる N_2O 排出の抑制が可能であることが示された。

一方で、実処理場の解析結果より、1号攪拌機が稼働している場合でも、流入有機物負荷が高ければ、 DN_2O 濃度の上昇を抑制できることが示された。

上記の結果を総括し、大曲処理センターの3系無終端水路反応槽では、1台ずつ稼働する通常の運転方法を基軸とし、2号攪拌機の稼働時間を増やすこと、流入有機物負荷の低い朝方の回転速度を下げることで、1号攪拌機を稼働する場合は流入有機物負荷の高い夜間にする、以上の攪拌方法が N_2O の排出抑制に向けて提案された。

第6章 無終端水路反応槽のN₂O抑制を目的とした運転方法の実証試験

第1節 はじめに

大曲処理センター3系無終端水路反応を対象とした2017年からの研究の結果（第3章、第4章、第5章）より、NH₄⁺酸化の促進時にN₂O生成が促進されるが、2号攪拌機の稼働時、すなわち反応槽流入地点が低DO濃度となる攪拌条件で、DN₂Oの蓄積を抑制できることが示された。これは、流入有機物を利用した脱窒の促進によるものと考えられる。また、DN₂O濃度は、主に流入有機物負荷が低い時間帯にN₂O還元活性の低下により増加する傾向が示され、逆に流入有機物負荷が高ければ、1号攪拌機の稼働時でもDN₂O濃度の増加を抑制できることも示された。ただし、これらの傾向は攪拌機回転速度を固定している場合の関係性であり、流入有機物負荷変動に対して回転速度を調整し、適切なDO濃度分布を形成することで、流入有機物負荷が低い時間帯でもDN₂O濃度の増加を抑制することも可能と考えられた。

以上より、対象の無終端水路反応槽では、2号攪拌機の稼働割合を多く設定するとともに、流入負荷変動に対応した攪拌機回転数を設定することでDN₂O濃度の増加が抑制され、ひいてはGN₂O排出量とDN₂O排出量の抑制につながると考えられた。

本章は大曲処理センター3系無終端水路反応を対象としたN₂O抑制に関する最終章である。上記したN₂O排出を抑制する方法の実証試験を行い、その効果について定量的な評価を行った。最後に、本研究で提案したN₂O排出の抑制方法について、他の無終端水路反応槽への適応の可能性を言及した。

第2節 方法

6-2-1 調査方法および運転方法

本章における調査は、第3章から第5章と同様に大曲処理センター3系を対象とし（**図6-1**）、2022年5月19日から2022年8月20日にわたって行った。第5章における2020年調査と同様に、調査期間中はDN₂O測定用コントローラー（N₂O Wastewater Controller、Unisense Environment社）に接続したDN₂Oセンサー（N₂O Wastewater Sensor、Unisense Environment社）を反応槽E地点に約30cm浸漬させ、水温とともに60秒間隔で計測を行った。なお、第4章および第5章では測定間隔が10秒だったが、60秒としても増減傾向を把握可能であると判断し、設定を変更した。また、蛍光式DOセンサー（HQ2200、Hach社）を使用し、調査期間中は反応槽B地点とE地点に検出部を約30cm浸漬させ、5分間隔で計測を行った。さらに、調査期間中は各コントローラーおよびセンサーの状態を定期的に確認し、付着物の除去を行った。

本調査期間における5月19日から7月2日は、大曲処理センターの通常運転方法にて計測を行った。この際、停電により計測が中断した日を除いた実質測定日数は44日である。この期間は、水温上昇にともなう酸素消費速度の増加により^{95), 96)}、反応槽のDO不足が懸念されたため、基本的に2台同時停止期間を設けない連続運転を行っていた。さらに、第4章および第5章の結果からDO濃度は流入量が低い朝方に増加する傾向にあったため、3時

から9時の回転速度を若干低くする方法を採用していた。7月5日から8月20日は、N₂O抑制運転を実施し、その効果の検証を行った。この際の実質測定日数は通常運転時と同様に44日である。なお、N₂O抑制運転の方針と実際の運転方法の詳細は6-3-2項に記載する

6-2-2 N₂O 排出量と排出係数の算出方法

反応槽における1日のN₂O排出量と排出係数は、第4章で考察を行ったK_La法を採用した上で、(4-4)式、(4-5)式、(4-6)式、(4-7)式、(4-8)式、(4-9)式、(4-10)式を使用して算出した。なお、N₂O排出係数に使用するDIN除去量は、大曲処理場管理データにおける各週の平均値を使用した。

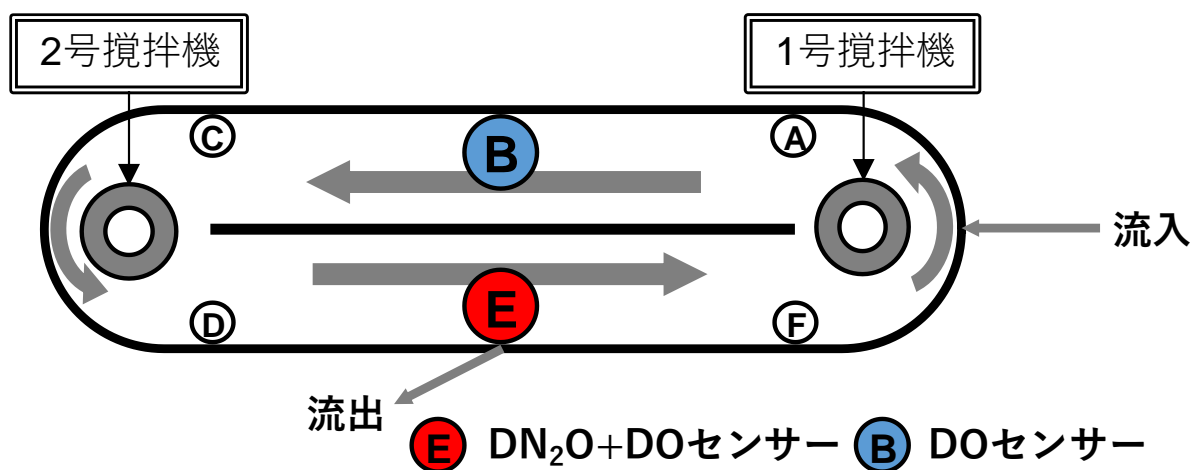


図6-1 2022年連続モニタリング調査時の各種センサー設置地点

第3節 結果と考察

6-3-1 通常運転時の N₂O 排出傾向

図6-2に2022年通常運転時の代表的な DN₂O 濃度経時変化として、調査期間における N₂O 排出係数： $E_{T/\Delta DIN}$ 中央値付近（6月13日）のデータを示す。2022年調査では、第4章の2019年調査と同様に、流入量の低い朝方に DO 濃度が高くなる傾向にあり、その時間帯を中心に DN₂O 濃度の増加がみられる傾向にあった。なお、2022年6月13日の9:00から12:00にかけての DN₂O 濃度の増減は（図6-2（a））、その前の6:00から9:00の高 DO 濃度時に NO₂⁻が蓄積し、DO が低濃度に遷移することで NO₂⁻を起源とした従属栄養細菌脱窒が促進したものと推察された。

図6-3に通常運転時の GN₂O 排出量： E_G と DN₂O 排出量： E_D を合算した総 N₂O 排出量： E_T をはじめとした各取得データの経日変化を示す。なお、6月3日は停電により正確な DN₂O 濃度を取得できなかったため、 E_T および $E_{T/\Delta DIN}$ は計上しなかった。これより、第4章の2019年調査および既往研究^{9), 46), 114)}と同様に、日単位での大きな E_T の変化がみられた（図6-3（a））。また、 $E_{T/\Delta DIN}$ の増減は DIN 除去率が安定して高い数値であったことから、概ね N₂O 排出量と同様な傾向を示し（図6-3（a））、中央値は5.1%で与えられた。なお、第4章で有意な相関関係がみられた処理水量、流入 COD_{Mn} 濃度、SRT、MLVSSと E_T は、本連続モニタリング調査期間では有意な関係性がみられず、既往研究と同様に E_T の変動を説明できるパラメータではなかった¹²⁶⁾（表6-1）。この要因としては、降雨日付近の6月3日の E_T データ、5月28日、5月29日、6月4日、6月5日などの SRT、MLVSS のデータが取得できず、それ以外では上記パラメータが比較的安定していたことに起因する。

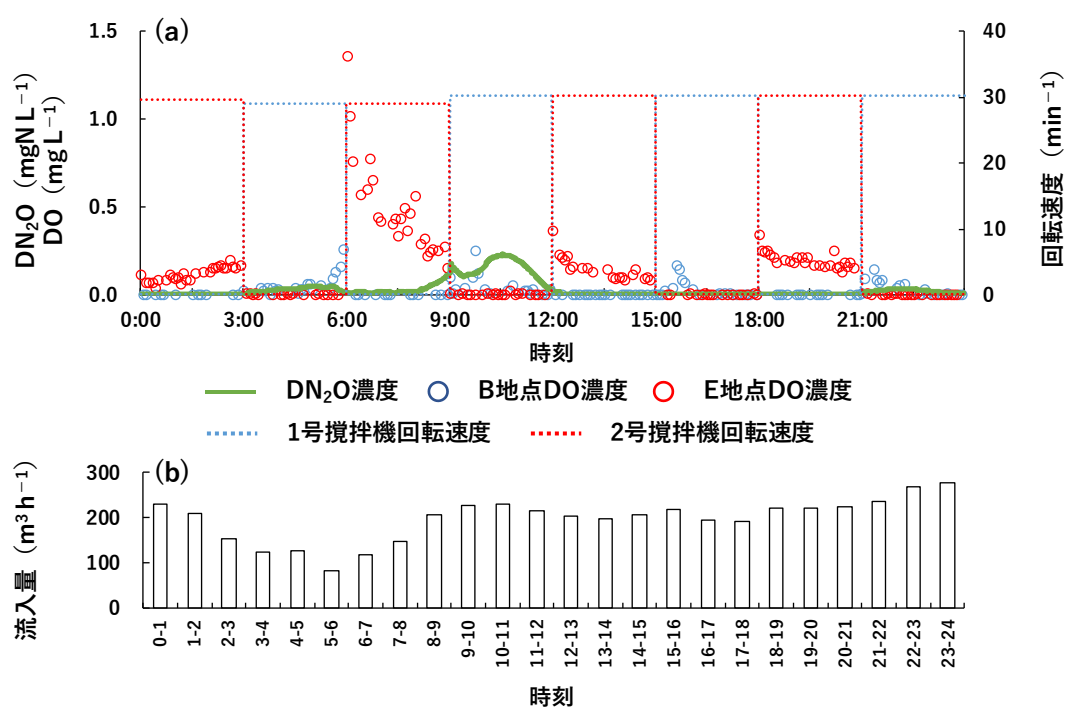


図6-2 2022年連続モニタリング調査における通常運転時（6月13日）の
 (a) DN₂O 濃度および DO 濃度の経時変化 (b) 流入量の経時変化
 (地点 B、E は図6-1 参照のこと)

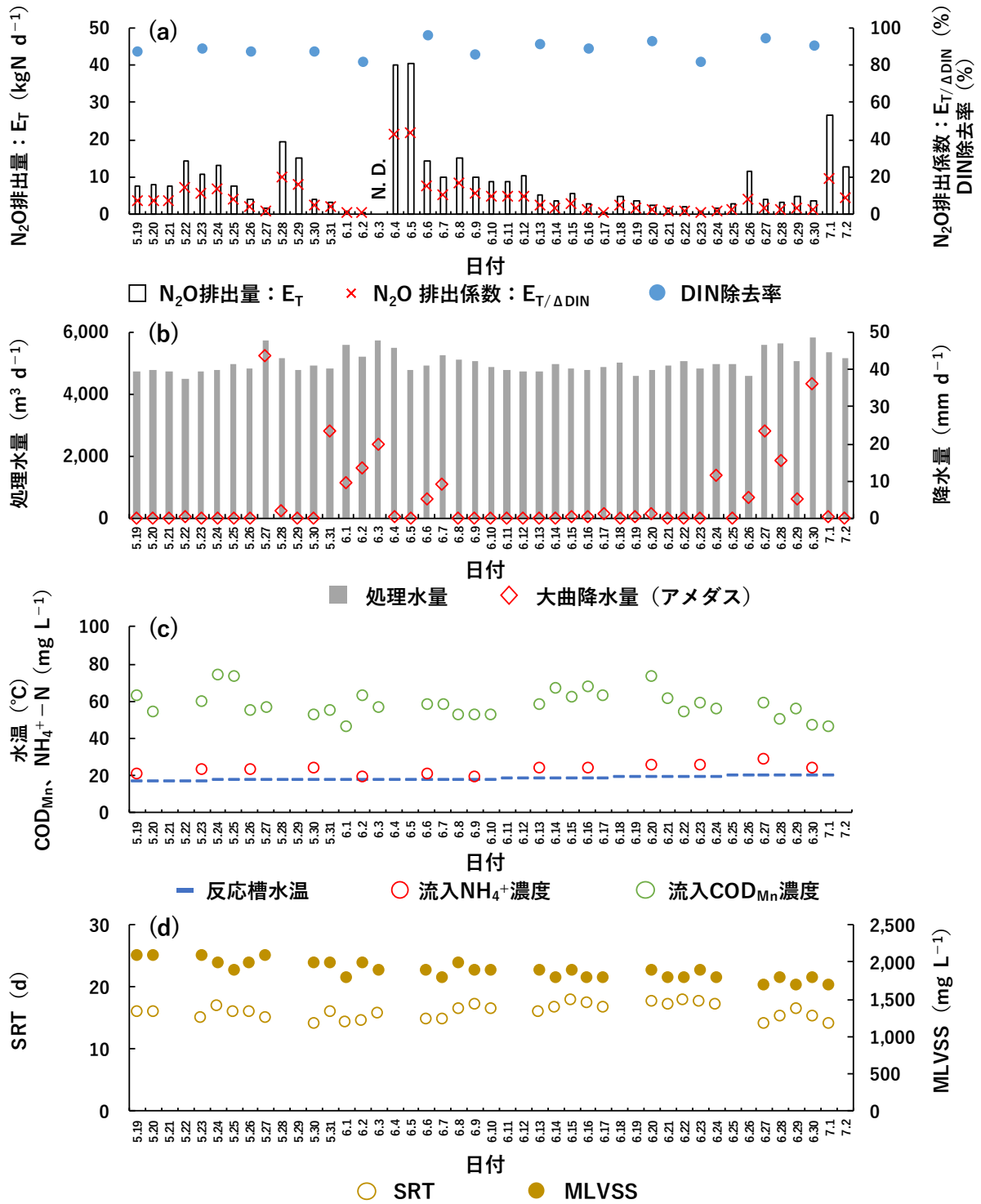


図6-3 2022年連続モニタリング調査の通常運転期間における3系無終端水路反応槽の(a) N₂O排出量 : E_T、N₂O排出係数 : E_T/ΔDIN、DIN除去率 (b) 処理水量、大曲降水量 (c) 水温、流入NH₄⁺濃度、流入COD_{Mn}濃度 (d) SRT、MLVSSの経日変動 (6月3日のE_TおよびE_T/ΔDINは停電によりDN₂O濃度を取得できなかったため欠損)

表 6 - 1 2022 年連続モニタリング調査の通常運転期間における 3 系無終端水路反応槽の総 N₂O 排出量：E_T と、降水量（大曲）、処理水量、水温、流入 NH₄⁺濃度、流入 COD_{Mn}濃度、SRT、MLVSS との回帰分析結果

		降水量	処理水量	水温	流入 NH ₄	流入 COD _{Mn}	SRT	MLVSS
		mm	m ³ d ⁻¹	°C	mgN L ⁻¹	mg L ⁻¹	d	mg L ⁻¹
N ₂ O排出量： E _T (kgN d ⁻¹)	R	-0.27	< 0.01	-0.30	-0.41	-0.16	-0.28	0.03
	R ²	0.07	< 0.01	0.09	0.16	0.03	0.08	< 0.01
	n	44	44	44	13	31	31	31
	p	0.08	0.99	0.04	0.17	0.39	0.13	0.86

6-3-2 N₂O 抑制運転の方針

本章第1節でも述べた通り、第3章、第4章、第5章の結果より、大曲処理センター3系無終端水路では、2号攪拌機のみ稼働がDN₂O濃度の抑制に有用であること、流入負荷により最適なDO濃度が変化すること、1号攪拌機の稼働時でも流入有機物負荷が高ければDN₂O濃度の抑制が可能であること、以上3点の重要なDN₂O動態が確認された。

上記の結果を統括し、N₂O抑制運転として、**図6-4**に示す攪拌機の運転方法を設定した。回転速度は、リアルタイムでの変更ができないため、**図5-7(a)**の流入量変動傾向を目安とした設定にするとともに、N₂O抑制運転開始時は極端な回転速度の増減は行わず、DO濃度やNH₄⁺除去率を指標として定期的に調整することとした。また、第4章の2019年調査および本章の2022年調査結果より、朝方の流入量減少に起因したDN₂O濃度の増加(**図4-9**、**図6-2**)が総N₂O排出量：E_Tに影響したため、朝方の時間帯を中心とした時間帯に2号攪拌機を稼働することとした。なお、理想的には通日で2号攪拌機のみを稼働させることが有用と考えられるが、攪拌機の定期メンテナンス時には、もう一方の攪拌機を必ず稼働させなければいけないため、1号攪拌機の稼働時間を流入有機物負荷の高い夜間に設け、正常に稼働することを確認した。さらに、本章での実証試験期間において水温が上昇する可能性があり、活性汚泥の呼吸活性の増加^{95),96)}にともなう低DO濃度雰囲気やNH₄⁺酸化を停滞させる懸念があったため、攪拌機の2台停止時間を2019年の通常運転時よりも短い10分に設定した。

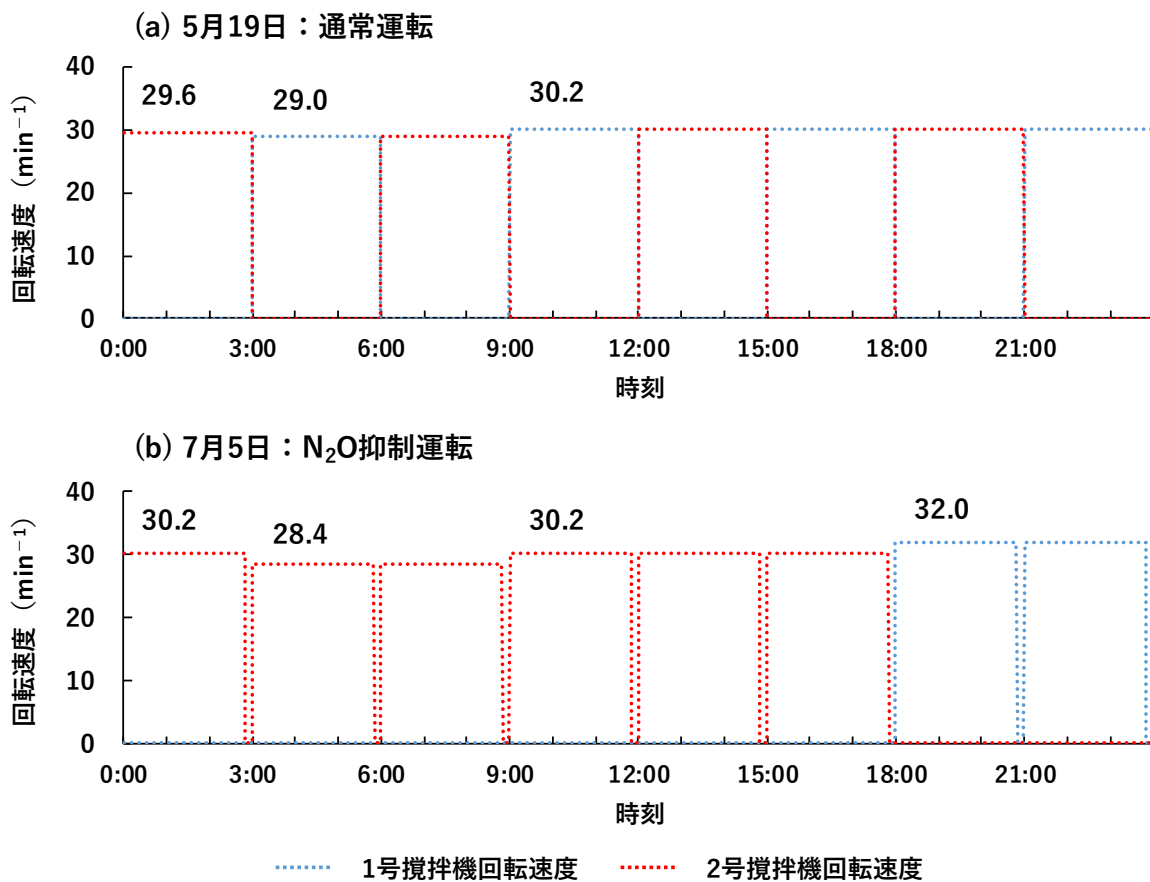


図6-4 2022年調査における (a) 調査開始時の攪拌機運転方法
(b) N₂O抑制運転開始時の攪拌機運転方法

6-3-3 N₂O 抑制運転時の N₂O 排出傾向

図6-5に2022年N₂O抑制運転時の代表的な経時変化として、調査期間におけるN₂O排出係数： $E_{T/\Delta DIN}$ 中央値付近日（7月26日）のデータを示す。これより、朝方にDO濃度の増加がみられたものの、通常運転時にみられた過度な増加（図6-2（a））は抑制される傾向となった。また、DN₂O濃度は1号機稼働中に増加する場合があったが、2号機稼働中は概ね検出限界以下の値が計測された。これは、メンテナンスを考慮せずに2号攪拌機のみを稼働させた場合、N₂Oの排出を完全に抑制できることを示唆する結果と考えられる。

図6-6にN₂O抑制運転時の総N₂O排出量： E_T をはじめとした各取得データの経日変化を示す。なお、7月7日、8月15日、8月16日は停電により正確なDN₂O濃度を取得できなかったため、 E_T および $E_{T/\Delta DIN}$ は計上しなかった。これより、多くの調査日において、 $E_{T/\Delta DIN}$ は通常運転時の中央値：5.1%よりも低い値が計測された。一方で、7月20日や8月13日のような突発的な E_T および $E_{T/\Delta DIN}$ の増加もみられ、統計的な解析では、 E_T と降水量に有意な正の相関関係がみられた（ $R^2=0.19$ 、 $p<0.01$ ）（表6-2）。降雨に関連した E_T の増加が生じたのは、2019年連続モニタリング調査時と同様であり、 E_T は処理水量、流入COD_{Mn}濃度、SRT、MLVSSと有意な相関関係であった（いずれも $p<0.01$ ）（表6-3）。なお、7月20日、8月13日は降雨の影響で処理水量が増加し（7,422 m³ d⁻¹、7,944 m³ d⁻¹）、 E_T も高い値となった（54.4 kg d⁻¹、39.4 kg d⁻¹）。これは、2019年連続モニタリング調査時の最大値（処理水量：5,778 m³ d⁻¹、 E_T ：36.7 kg d⁻¹）よりもいずれも高い値であり、より降雨の影響が強かったと考えられた。また、流入NH₄⁺濃度とも有意な負の相関関係がみられたが、第5章で考察した通り、見かけ上の関係性であると考えられる。

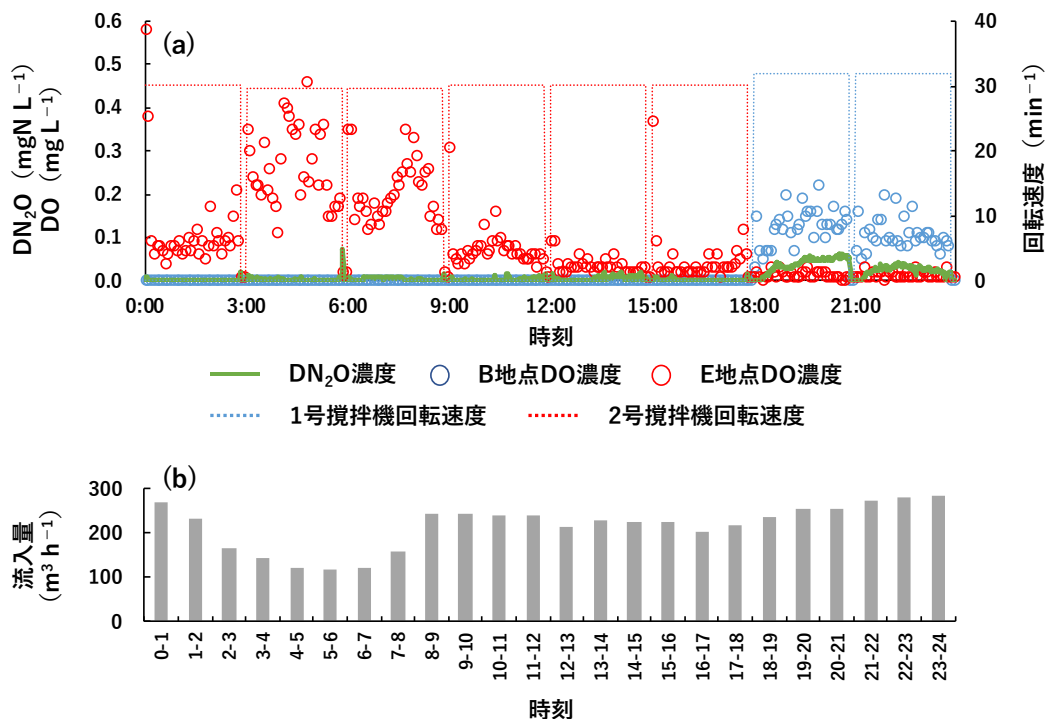


図6-5 2022年連続モニタリング調査におけるN₂O抑制運転時（7月26日）の（a）DN₂O濃度およびDO濃度経時変化（b）流入量の経時変化（地点B、Eは図6-1参照のこと）

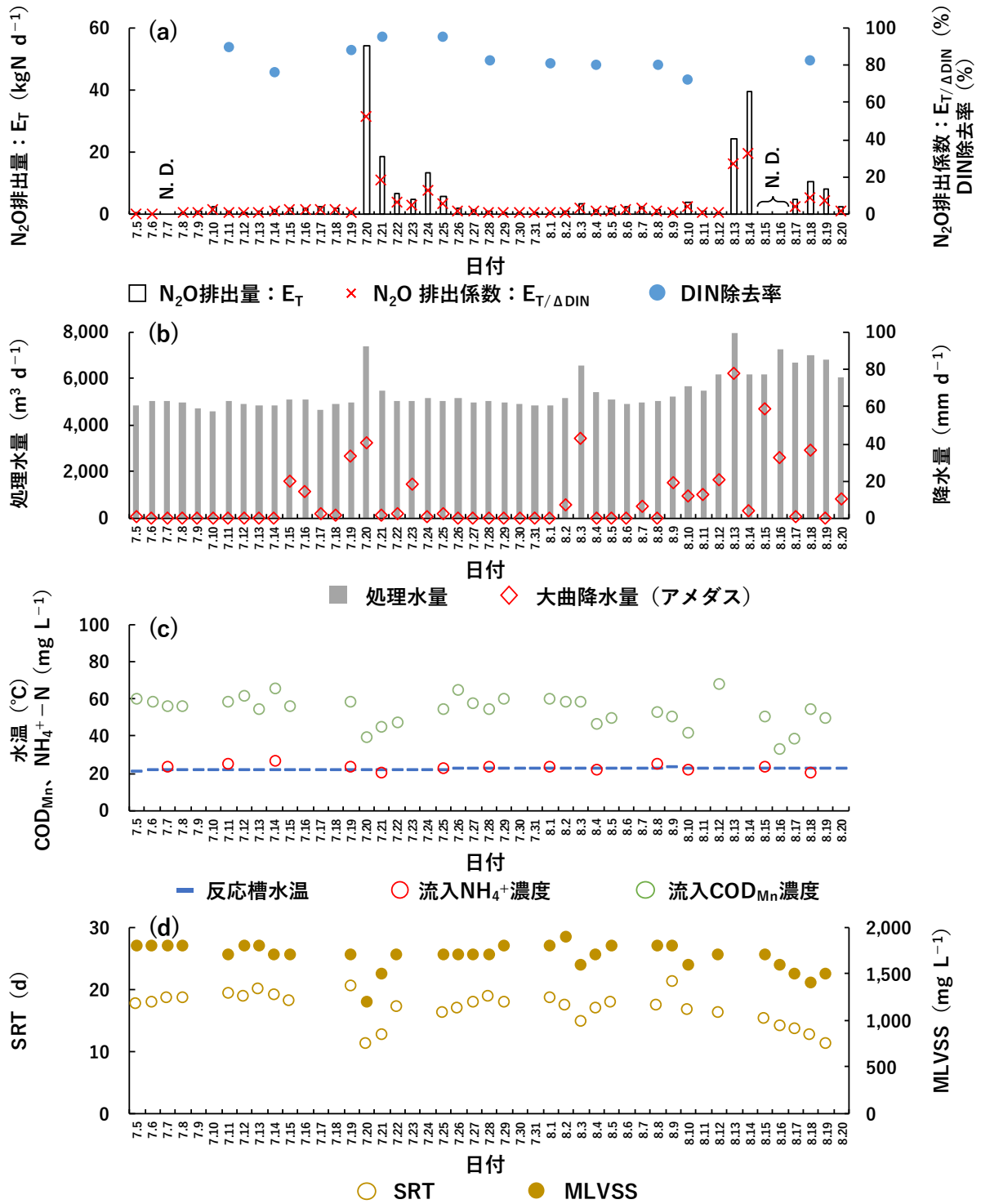


図6-6 2022年連続モニタリング調査の N_2O 抑制運転期間における3系無終端水路反応槽の(a)総 N_2O 排出量: E_T 、 N_2O 排出係数: $E_T/\Delta\text{DIN}$ 、DIN除去率(b)処理水量、大曲降水量(c)水温、流入 NH_4^+ 濃度、流入 COD_{Mn} 濃度(d)SRT、MLVSSの経日変動(7月7日、8月15日、8月16日の E_T および $E_T/\Delta\text{DIN}$ は停電により DN_2O 濃度を取得できなかったため欠損)

表 6 - 3 2022 年連続モニタリング調査の N₂O 抑制運転期間における 3 系無終端水路反応槽の総 N₂O 排出量：E_T と、降水量（大曲）、処理水量、水温、流入 NH₄⁺ 濃度、流入 COD_{Mn} 濃度、SRT、MLVSS との回帰分析結果

		降水量	処理水量	水温	流入 NH ₄	流入 COD _{Mn}	SRT	MLVSS
		mm	m ³ d ⁻¹	°C	mgN L ⁻¹	mg L ⁻¹	d	mg L ⁻¹
N ₂ O 排出量： E _T (kgN d ⁻¹)	R	0.43	0.63	0.02	-0.68	-0.53	-0.65	-0.81
	R ²	0.19	0.40	< 0.01	0.46	0.28	0.43	0.65
	n	44	44	44	11	29	29	29
	p	< 0.01	< 0.01	0.91	0.02	< 0.01	< 0.01	< 0.01

6-3-4 N₂O 抑制運転の評価

図6-7に、第4章における2019年の通常運転時（実質測定日数：38日）、本章における2022年の通常運転時（実質測定日数：44日）、N₂O抑制運転時（実質測定日数：44日）、以上3つの調査期間における総N₂O排出量： E_T およびN₂O排出係数： $E_{T/\Delta DIN}$ を示す。また、表6-4に上記の調査期間における各種データを示す。

これより、2019年と2022年の通常運転時を比較した場合、 E_T および $E_{T/\Delta DIN}$ はいずれも2022年の方が低い傾向にあった（ $p=0.21$ 、 $p=0.11$ ）（図6-7）。これは、2022年は2019年の結果を受けて、攪拌機の回転速度を低く設定し、かつ朝方の攪拌機回転速度をさらに低く設定していたためと考えられる（図6-2（a）、図6-4（a））。さらに、既往研究では、水温の低下にともなってN₂O還元活性が低下すると言及されている²⁵⁾。2019年と2022年の通常運転時における水温の違いはわずかであったものの、水温の低かった2019年の方がDN₂Oが蓄積されやすい条件であったと考えられる。

2022年N₂O抑制運転時の E_T および $E_{T/\Delta DIN}$ は、降雨の影響とみられる突発的な増加により（図6-6）、最大値は高くなったものの（図6-7、表6-4）、2019年の通常運転時の E_T および $E_{T/\Delta DIN}$ よりも有意に低く（ $p<0.01$ 、 $p<0.01$ ）、2022年の通常運転時よりも低い傾向が示された（ $p=0.13$ 、 $p=0.12$ ）。中央値で E_T を比較すると、2019年通常運転時：8.4 kg d⁻¹から2022年N₂O抑制運転時：1.8 kg d⁻¹へ79%の削減効果がみられ、 $E_{T/\Delta DIN}$ も9.0%から1.8%へと大きく減少した。さらに、DIN除去率はN₂O抑制運転時にわずかに低い数値であったものの、直近5年間のDIN除去率（54%から82%）（表3-1より算出）よりも高い数値であり、高い窒素除去性能を維持していたことが確認された。なお、これらの調査期間においては、下水道法¹³⁹⁾に基づく放流水質基準（SS：40 mg L⁻¹、BOD：15 mg L⁻¹）を遵守していることも確認されており、総じて水処理状態は良好であった。これより、本研究の最終目的であるフルスケール無終端水路反応槽におけるN₂O抑制と良好な窒素除去の同時達成が実現され、その効果を定量的に評価することができた。

最後に、既往の連続モニタリング調査（前段に押し出し流れ式反応槽を備えた無終端水路⁴⁷⁾、並列した無終端水路への間欠流入形式⁵⁴⁾）におけるN₂O排出係数の比較のため、反応槽からのGN₂O排出量を流入窒素量で除した排出係数： $E_{G/In.TN}$ を算出した。また、 $E_{G/In.TN}$ は、降雨の影響とみられる突発的な数値の増加の影響を極力排除するため、平均値とともに中央値も算出した（表6-5）。その結果、本研究の中央値は既往研究と同レベルに低い値であることが確認された。さらに、様々な処理形式における統計解析より算出されたIPCCのデフォルト値は、 $E_{G/In.TN}=1.6\%$ であり³²⁾、本研究の数値はこれを下回った。これより、無終端水路反応槽は、本研究のような対策を構築することでN₂O抑制の観点から優れた反応槽形式となり得ることが示された。

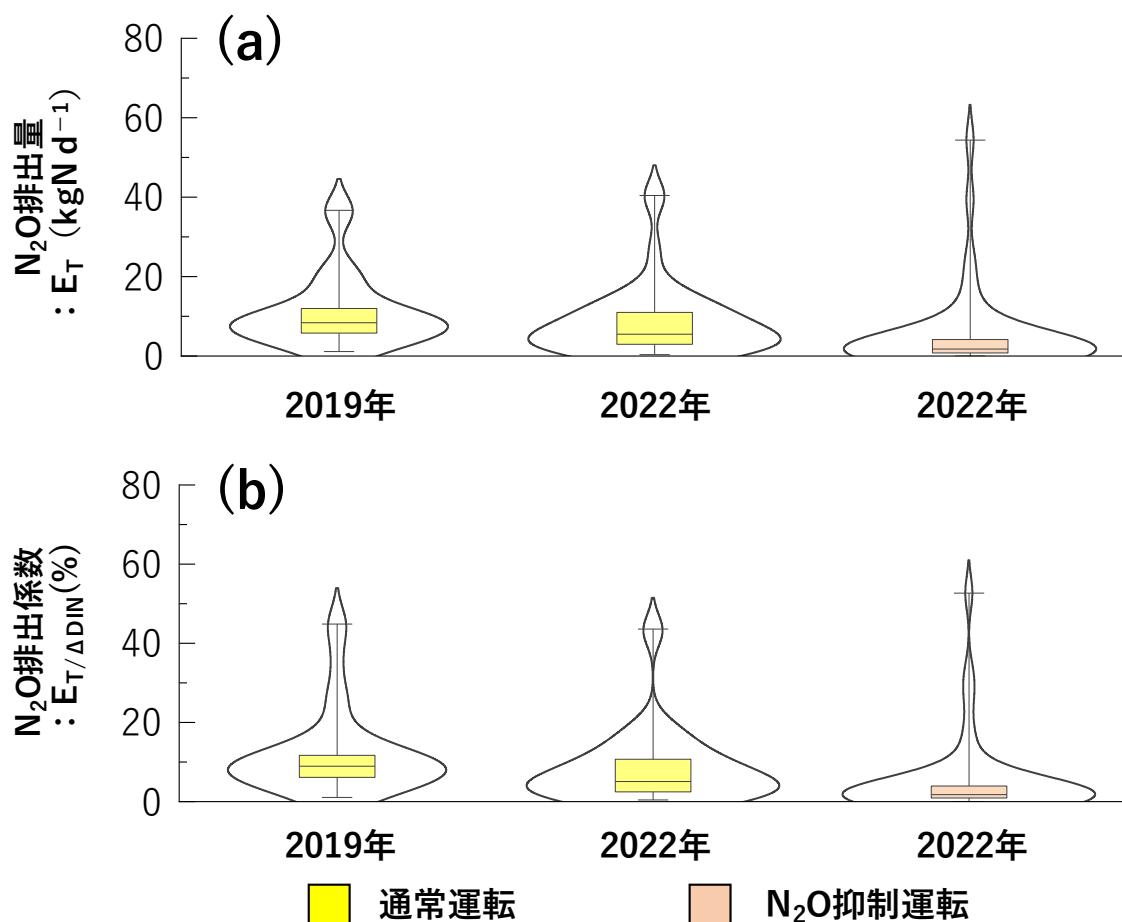


図6-7 2019年と2022年の各調査期間における (a) 総 N_2O 排出量： E_T
 (b) N_2O 排出係数： $E_{T/\Delta\text{DIN}}$
 (箱ひげ図の上端と下端は最大値と最小値を、アウトラインはカーネル密度推定を示す)

表6-4 2019年と2022年の各調査期間における実質測定日数、水温平均値、MLVSS平均値、DIN除去率平均値、 N_2O 排出量： E_T の最大値および中央値、 N_2O 排出係数： $E_{T/\Delta\text{DIN}}$ の最大値および中央値

			2019年	2022年	
運転条件			通常運転	通常運転	抑制運転
実質測定日数	日		38	44	44
水温	°C	平均値	17.8	18.4	21.7
MLVSS	mg L ⁻¹	平均値	1,800	1,900	1,700
DIN除去率	%	平均値	86	90	84
N_2O 排出量： E_T (GN ₂ O+DN ₂ O)	kgN d ⁻¹	最大値	36.7	40.5	54.4
		中央値	8.4	5.5	1.8
N_2O 排出係数： $E_{T/\Delta\text{DIN}}$	%	最大値	44.9	43.6	52.7
		中央値	9.0	5.1	1.8

表 6 - 5 既往研究の連続モニタリング調査と本研究の N₂O 抑制運転時連続モニタリング調査における無終端水路反応槽の N₂O 排出係数：E_{G/In.TN} の比較

構成	N ₂ O排出係数：E _{G/In.TN} %	参考文献		
前段に押し出し流れ式反応槽を備えた無終端水路反応槽	2.8	Daelman et al.	2015	47)
並列した無終端水路反応槽への交互流入形式	1.05	Chen et al.	2019	54)
楕円形無終端水路反応槽	平均値：2.9 ^a 中央値：1.0 ^a	本研究（2022年N ₂ O抑制運転）		

^a 推定TN濃度による算出

6-3-5 N₂O 抑制運転の水平展開

本研究で提案された N₂O 抑制運転は、対象とした大曲処理センターの無終端水路反応槽における調査データをもとに構築された方法である。一方で、無終端水路反応槽はわが国最多の処理形式であるとともに、秋田県の流域下水道および単独下水道のいずれにおいても最多の処理形式である²⁴⁾。そのため、下水道分野全体の N₂O 排出量を抑制するためには、本研究における運転方法を他の処理場に水平展開することが肝要であり、その検証を行っていくことが必要と考えられる。

本 N₂O 抑制運転は、既往のパイロットスケール無終端水路の研究⁵⁶⁾にて言及された、攪拌と流入の位置関係の最適化を基軸としている。具体的には、流入地点を低 DO 濃度、その他のエリアを好気にするすることで、窒素除去促進と N₂O 抑制が可能となる。この際、注意することは DO 濃度の調整である。DO 濃度が低いと NH₄⁺酸化の停滞により窒素除去が促進されない。逆に DO 濃度が高いと、N₂O 還元が抑制されて N₂O 排出が増加する可能性がある。適切な DO 濃度値としては、DO 濃度の計測地点や処理場の形状によって異なるため、初期段階では検証が必要である。検証方法としては、本研究の第 4 章から第 6 章までで使用した DN₂O センサーが有用であるが、装置の導入およびランニングコストを鑑みると、第 3 章で行った非連続のモニタリング調査や、NO₂⁻濃度を指標とした検証も一定の有用性があると考えられる。また、海外の下水処理場における研究では、DO、pH、酸化還元電位などを指標とすることで DN₂O 濃度を予測した事例も報告されており¹⁴⁰⁾、これらの計器が設置されている場合は、NO₂⁻濃度と同様に N₂O 排出における指標値としての役割が期待される。なお、DO 濃度の調整には攪拌機の回転速度や曝気量がパラメータとなるが、これらは反応槽に流入する BOD 負荷、水温、SRT、MLVSS に影響を受けるため、定期的な調整が必要と考えられる。

その他には、降雨が処理水量へ影響を与える場合は、N₂O 排出への影響も無視できないと考えられる。合流式の下水道は当然のことながら、分流式の下水道においても施設の老朽化により、降雨による処理水量増加の事例が全国的に増えている¹⁴¹⁾。大曲処理センターの場合、稼働していない系列の反応槽に一時的に流入水を貯蔵するといった対策を講じており、降雨の影響がある程度緩和されているものの、2022 年 N₂O 抑制運転時に発生した多量の降雨事象では、処理水量が大きく増加し N₂O 排出量が増加した。具体的な対策については今後の課題であるが、現時点では、反応槽中の活性汚泥流出の防止と、有機物濃度低下にあわせた適切な DO 濃度を制御するため、攪拌機回転速度と稼働時間を可能な範囲で抑えることが有用と考えられる。なお、短時間に多量の雨が降るケースは日本で年々増加しているため¹⁴²⁾、基本的な水処理性能を維持する観点からも各処理場における対策の必要性は高いと考えられる。

第4節 まとめ

本章では、第3章から第5章の無終端水路における N_2O 生成機構解析および動態解析結果を基に、 N_2O 抑制の運転方法を構築し、その実証試験を行った。具体的な運転方法としては、 DN_2O 濃度の増加を抑制する2号攪拌機のみを運転時間を増やし、さらに流入有機物負荷量が低下する朝方の回転速度（酸素供給能力）を低下させた。また、メンテナンスのために1号攪拌機も稼働させる必要があったため、流入有機物負荷が高い夜間帯に設定した。

その結果、 N_2O 抑制運転時の N_2O 排出量は、降雨の影響で高くなった日もみられたが、中央値で 1.8 kgN d^{-1} であり、2019年の通常運転時： 8.4 kgN d^{-1} 、2022年の通常運転時： 5.5 kgN d^{-1} と比較して小さい値となった。なお、2019年と比較すると削減効果は79%であった。また、 N_2O 排出係数の中央値は、2019年通常運転時：9.0%、2022年通常運転時：5.1%、2022年 N_2O 抑制運転時：1.8%であり、排出量と同様に数値が大きく減少した。さらに、DIN除去率は70%以上の高い値で安定し、通常運転時と同程度に窒素除去が促進されていたことが確認された。これより、本 N_2O 抑制運転の有用性が実証された。なお、本 N_2O 抑制運転の基軸となったのは、DO濃度分布の最適化であり、他の無終端水路反応においてもDO濃度を適切に管理することで、 N_2O 排出を抑制することが可能になると考察された。

第7章 総括および展望

第1節 総合考察

生活排水を処理する下水処理場の生物反応槽では、窒素化合物の生物学的除去過程で N_2O が生成される。 N_2O は二酸化炭素の約 300 倍の温室効果を有し、オゾン層破壊物質でもあるため、このような N_2O 排出を抑制する技術の構築が重要な課題である。一般的な押し流れ方式や回分方式の生物反応槽では、フルスケールプラントを対象として N_2O 抑制技術の研究が行われているが、わが国で最も採用数が多い無終端水路反応槽は、 N_2O 排出の実態は不明で、その抑制技術も構築されていない。そこで本研究では、無終端水路反応槽における N_2O 動態を明らかにし、 N_2O 抑制を可能とする運転条件を確立することを目的とした。初めに中規模の生活排水処理施設での現地調査によって、処理施設からの N_2O 排出の評価方法を確立した。次に、フルスケールの無終端水路反応槽を対象として、 N_2O の生成機構と排出動態を調査解析した。最終的に、無終端水路反応槽を対象とする N_2O 抑制運転の実証試験を行った。

第2章では、下水処理場の N_2O 排出管理において、温室効果ガスインベントリの対象となっていない DN_2O 成分の評価を目的とし、中規模処理場（処理水量：10,000 $\text{m}^3 \text{d}^{-1}$ から 50,000 $\text{m}^3 \text{d}^{-1}$ ）に該当し⁵⁷⁾、疑似嫌気好気法で窒素除去を行う T 浄化センターとその放流河川において現場調査を行った。

その結果、処理場において N_2O 生成が比較的促進された場合に、インベントリの対象外である DN_2O に関連した排出量が全 N_2O 排出量の 15% を占め、その内の 59%（全排出量の 9%）は放流過程でガス化していたと推察された。これより、下水処理や放流過程において DN_2O は無視できない項目であり、 GN_2O とともに計上して把握する必要性が示された。

第3章からは、対象を無終端水路反応槽で窒素除去を行う大曲処理センターとした。第3章では、 N_2O 排出を抑制するための基礎研究として、 N_2O 生成機構の解析を試みた。具体的には、2017年7月20日と同年11月29日に、 DN_2O を含めた窒素化合物などの水質解析、硝化および脱窒に関わる活性汚泥細菌叢の機能遺伝子転写量解析を行った。さらに、無終端水路内の菌叢の偏りを確認するため、2022年に活性汚泥細菌の 16S rRNA 遺伝子のアンプリコン解析を行った。

その結果、DO 濃度が比較的高かった 11 月は反応槽内の NH_4^+ 濃度が低く、 NH_4^+ 酸化が促進していたことが確認された。 NO_2^- 濃度と DN_2O 濃度は 11 月に高い値を示したものの、攪拌機の稼働条件別で比較すると、2号攪拌機稼働時の方が低い値となった。2号攪拌機稼働時は、有機物負荷の高い排水の流入地点付近が低 DO 濃度となる条件であったため、流入有機物を電子供与体とした脱窒反応が促進したと推察された。これより、攪拌条件の最適化により窒素除去と N_2O 抑制を同時に達成できることが示唆された。機能遺伝子転写量は、水処理状況と概ね合致する結果となり、11 月は、アンモニア酸化酵素をコードする *amoA* の mRNA 転写量が多く、11 月の 1号攪拌機稼働時は、従属栄養細菌の亜硝酸還元酵素をコードする *nirS* および *nirK*、 N_2O 還元酵素をコードする *nosZ* (clade II type) の各転写量が低い傾向にあった。さらに、ヒドロキシルアミン酸化酵素をコードする *haoA* mRNA 転写量はいずれの条件においても低い傾向を示したことから、本無終端水路反応槽では、主として硝化

菌脱窒経路で N_2O が生成し、同時に従属栄養脱窒による N_2O 還元が停滞することにより DN_2O が高濃度で検出されたと推察された。

第4章では、無終端水路反応槽での DN_2O 動態を明らかにするため、大曲処理センターにおいて、2017年5月から2019年3月に非連続モニタリング調査を、2019年10月から11月に連続モニタリング調査を実施した。また、連続モニタリング調査時には、センサーを2本使用した平面的な濃度分布も計測した。さらに、活性汚泥の N_2O 生成能力を計測する室内試験を実施し、 N_2O 生成ポテンシャルが実処理場の N_2O 排出量に与える影響についても評価した。

その結果、長期的な非連続モニタリング調査では、排水流入側が高 DO 濃度となる1号攪拌機稼働時に高 DN_2O 濃度となる傾向を示し、 NH_4^+ 濃度とは負の相関関係が ($R^2 = 0.38$, $p < 0.01$)、 NO_2^- 濃度とは正の相関関係が ($R^2 = 0.66$, $p < 0.01$) 示された。ただし、水温、SRT、MLVSSのパラメータは季節的な DN_2O 濃度の変動を十分に説明することができなかった。短期的な DN_2O 濃度の経時変化では、概して流入有機物負荷が低い朝方を中心とした時間帯に DN_2O 濃度が増加する傾向が見られた。有機物負荷の低下は、活性汚泥の DO 消費量を低下させて DO 濃度を増加させるとともに、脱窒に利用する電子供与体が減少するため、従属栄養細菌による N_2O 還元が停滞し、 DN_2O 濃度の増加を引き起こしたと推察された。この際、攪拌機稼働中の DN_2O 濃度は、2本のセンサーの測定値がほぼ同じであり、反応槽内が概ね均一化されていたと考えられた。

以上より、長期的な DN_2O 濃度は、1号攪拌機稼働時に大きな変動がみられ、 NO_2^- 濃度と正の相関関係が示された。また、短期的な DN_2O 濃度の経時変化は、主に流入有機物負荷と DO 濃度に関連して変動することが示された。さらに、 DN_2O 濃度と K_{La} を利用して算出した、全 N_2O 排出量ならびに溶存態無機窒素除去量で除した N_2O 排出係数は、日単位で大きく変動することも明らかになった。なお、有機物負荷や DO 濃度の変動には、降雨の混入による処理水量の増加が影響していた一方で、本調査期間における N_2O 生成ポテンシャルの変化と実処理場の N_2O 排出には関連はみられなかった。

第5章では、第3章および第4章と同様に大曲処理センター無終端水路反応槽を対象とし、 DN_2O 生成抑制と窒素除去の観点から最適な攪拌方法を導出することを目的に、2020年10月から11月に現地で種々の攪拌条件を試行した。また、活性汚泥を使用した室内試験を試行し、 N_2O 生成と水質との関係性についても解析を行った。さらに、無終端水路反応槽への適用実績がある活性汚泥モデルに大曲処理センターの反応槽構造を組み込み、流入窒素量、流入有機物量、攪拌条件 (DO 濃度分布) をパラメータとした DN_2O 生成のシミュレーション解析を行った。

その結果、現場での攪拌条件の試行により、攪拌機を1台稼働させる通常の攪拌方法と2台同時に稼働する方法では、 DN_2O 濃度の経時変動が異なり、 N_2O 抑制の観点では、通常の1台のみ稼働する方法が有用であることが確認された。また、実処理場を想定した室内試験の結果、 N_2O 生成には、実質的な前駆体である NO_2^- が関与するも、DO 濃度によってその関係性が異なることが示された。さらに、攪拌機を1台のみ稼働する方法の N_2O 排出量を、稼働攪拌機別に比較したところ、2号攪拌機稼働時に DN_2O 生成量が有意に減少し、総 N_2O 排出量を抑制できた。この結果はシミュレーション解析でも同様な傾向を示し、 N_2O 排出係数の平均値は2号攪拌機稼働時の方が低い値を示した(1号稼働:1.27%、2号稼働:0.79%)。

これより、流入地点を無酸素にして脱窒を促進させる攪拌条件の有効性が確認された。一方で、現場データより、1号攪拌機を稼働した場合でも、流入有機物負荷が高ければ、DN₂O濃度の上昇を抑制できることが示された。大曲処理センターはメンテナンスの観点から、どちらの攪拌機も稼働する必要があるため、1号攪拌機を稼働させる場合は有機物負荷が高い傾向にある夜間帯が適切であると考えられた。

第6章では、第5章までの研究結果を総括し、大曲処理センターの無終端水路反応におけるN₂O抑制に向けた最適な攪拌方法を提案し、2022年5月から8月に実証試験を行った。具体的には、2台の攪拌機を稼働させるが、2号攪拌機の稼働時間を増やし、さらに流入有機物負荷量が低下する朝方の回転速度(酸素供給能力)を低下させた。また、1号攪拌機は、流入有機物負荷が高い夜間帯に稼働させることとした。

その結果、1号攪拌機稼働時にDN₂O濃度がわずかに増加する場合もみられたが、2号攪拌機稼働時は概ね濃度増加が抑制されていた。GN₂O排出とDN₂O排出を合算した総N₂O排出量を2019年連続モニタリング時と比較すると、降雨の影響により最大値は高くなったものの、中央値で比較すると、8.4 kg d⁻¹から1.8 kg d⁻¹へ79%の有意な削減効果がみられ(p < 0.01)、N₂O排出係数も9.0%から1.8%へと大きく減少した。さらに、無機態窒素除去率は平均84%となり、通常運転時と同程度の高い窒素除去性能を維持していたことが確認された。これより、本研究で策定したN₂O抑制運転の有効性が示された。

以上より、本研究では、下水処理場のN₂O排出管理におけるDN₂O排出量評価の重要性を示した上で、フルスケール無終端水路反応槽におけるN₂O生成機構とN₂O排出動態を明らかにした。さらに、N₂O抑制を可能とする運転条件を提案し、その効果を実証試験により定量的に評価した。その結果、提案したN₂O抑制運転が優れた方法であることが明らかとなり、他の処理場へも適応されることで、下水道分野におけるN₂O排出抑制への貢献が期待された。

第2節 課題と今後の展望

本研究では、生活排水を処理するフルスケール生物反応槽由来の N_2O 排出に着目し、わが国で最も採用数が多いものの、 N_2O 排出実態が不明で、抑制技術も構築されていない無終端水路反応槽を対象とした研究を行った。その結果、無終端水路反応槽の N_2O 排出動態を明らかにし、対象とした反応槽での N_2O 抑制方法を提案するとともに、その実証試験において有用性も確認することができた。本研究で提案した N_2O 抑制方法は、流入と攪拌の位置関係および流入負荷変動に対する DO 濃度調整を基軸とした方法であり、それらに注意することで、他の無終端水路反応槽においても、適用が可能になると考えられる。他の無終端水路反応槽への適応性の評価は今後の課題であるが、複数の無終端水路反応槽において N_2O 排出が抑制されることで、下水道分野の温室効果ガス削減に寄与することが期待される。

また、わが国の下水処理場由来の温室効果ガスインベントリ³³⁾について、 N_2O 排出は処理形式によって異なる排出係数が使用されている。ただし、この係数は非連続モニタリング調査によって導出された数値⁵⁸⁾であるため、排出量を過小評価している可能性がある¹⁶⁾。 N_2O 排出量を正確に把握することは、 N_2O 抑制に向けた重要なステップであるため¹⁶⁾、連続モニタリングによるデータの蓄積が必要と考えられる。日本では、連続モニタリング調査の報告が少ないため、今後、複数のプロセスで連続モニタリング調査を遂行し、データを蓄積していくことが課題となる。その中で、本研究の成果は、全国最多の無終端水路反応槽の N_2O 排出実態を正確に捕捉したデータであると考えられるため、排出係数を見直す際の一助になると考えられる。

最後に、本研究では、既存の設備を使用した N_2O 排出の抑制を試みたが、海外の処理場では、フルスケールプラントにおける様々なパラメータの監視および制御を行う Supervisory control and data acquisition : SCADA システムの導入により、 N_2O 排出を解析した研究事例が複数報告されている^{9), 17), 54)}。ただし、日本では大曲処理センターも含めて SCADA システムのような監視体制が整備されていない施設が多く、定期的を取得される非連続モニタリングデータから抑制方法を構築することになる。利用可能なデータが限られている場合は本研究でも流入有機物負荷に予測値を使用したように、解析に誤差が生じる可能性もある。将来、SCADA システムのようなリアルタイムでモニタリングする環境が整い、精密なデータが利用可能となることで、さらなる N_2O 排出抑制が予想される。その際、本研究データが、基礎的な知見として活用されることを期待する。

謝辞

本研究の遂行と博士学位論文の執筆に当たり、多くの方々のご指導、ご協力、ご支援をいただきました。ここに感謝の意を表します。

秋田県立大学生物資源科学部、宮田直幸教授には、博士後期課程への入学以前から今日に至るまで、終始懇切丁寧なご指導をいただきました。宮田先生とのディスカッションを重ねる中で、この研究がブラッシュアップされていき、学位論文という一つの成果として発表できたことは無上の喜びです。今後も、研究活動を継続していく所存ですので、ご指導、ご鞭撻いただければ幸いです。

秋田県立大学、木口倫教授、岡野邦宏准教授、高階史章准教授、渡邊美穂助教、小島久弥博士、菅原巧太郎博士には、博士論文の審査、研究内容のご助言、分析機器の技術的なご指導をいただきました。その中で、岡野邦宏准教授、高階史章准教授には、学術論文における共同研究者としてのご助言を、菅原巧太郎博士には、生態工学研究室の細かな取り決めや博士課程の制度などを、入学以前の2016年から長きにわたってご指導いただきました。

秋田工業高等専門学校創造システム工学科、増田周平准教授には、私が技術職員として秋田高専に就労して以来、10年以上にわたって研究のご指導をいただきました。当初は博士学位のことは全く想像できませんでしたが、増田先生のご指導のおかげで一つの成果を出すことができたのは万感の思いです。本研究の発展と秋田高専の発展のために、今後も精進を重ねていく所存です。

秋田工業高等専門学校、金主鉉教授、伊藤浩之教授、榊秀次郎教授、葛西誠准教授、石塚眞治准教授、野池基義准教授、佐藤彰彦講師、ティラビイビフ講師には、分析機器の技術的なご指導、データの解析に関するご指導、本研究に関する英語発表のご指導をいただきました。

東北大学、西村修教授、李玉友教授、丸尾知佳子技術職員、東京農工大学、寺田昭彦教授には、様々な分析のご協力や学術論文の共同研究者としてのご助言をいただきました。その中で、西村修教授、丸尾知佳子技術職員には、私が下水処理場における亜酸化窒素の研究を開始した2012年から懇切丁寧なご指導をいただきました。

岩手大学、伊藤歩教授には、年度末のお忙しい中、博士論文の学外審査員をお引き受けいただいたとともに、学部時代には実験実習のご指導をいただきました。学部時代の研究をご指導いただきました、中澤廣教授、晴山渉助教とともに相当のご迷惑をおかけしたことをお詫びし、今回の博士学位取得をご報告させていただきます。

本研究の対象とした下水処理場を管理する、秋田県および宮城県の皆様には、実処理場における研究活動を快く承諾いただきました。特に、秋田県大曲処理センターの研究では、攪拌という排水処理に大きく影響する運転の設定に関して、研究の観点でご理解いただきましたことを感謝申し上げます。秋田県大仙市（旧大曲市）で生まれ育った私が、微力ながら地元の環境問題に携われたことを光栄に感じております。

県南環境保全センターの山田良直所長、西鳥羽一也職員、柴田悟職員をはじめとする職員の皆様には、大曲処理センターにおける実務としての維持管理業務がある中で、研究活動のご協力をお引き受けいただきました。長期の計測を行う本研究において、皆様のご協力がなければ、ここまでの発展にはなりません。

秋田工業高等専門学校技術教育支援センターの皆様には、調査器具の製作、プログラミングの設定、分析のご指導など、あらゆる面でご支援いただきました。また、博士後期課程への入学を快く承諾していただきましたことを感謝申し上げます。

秋田工業高等専門学校増田研究室のスタッフ、卒業生、在校生の皆様には、現場調査、分析、解析、機器管理などのあらゆる面でご協力をいただきました。高専の技術職員である私が研究活動を継続して行うことができたのは、皆様のおかげです。

また、ここに記しきれない多くの先生、職員、学生の方々にも研究活動のご協力、ご支援をいただきました。

最後に、本研究ならびに博士課程の活動を支えてくれた、妻と二人の娘には格別の感謝を申し上げます。

本研究に関する成果発表

1. 大友 渉平, 増田 周平, 千種 将史, 丸尾 知佳子, 西村 修: 下水処理場の水処理工程および放流河川における亜酸化窒素発生量の一体的評価. *下水道協会誌*, 54(657), 114–123, 2017. (本稿第 2 章の一部に相当)
2. Shohei Otomo, Akihiko Terada, Yu-You Li, Kazuya Nishitoba, Fumiaki Takakai, Kunihiro Okano, Naoyuki Miyata, Shuhei Masuda: Long-term assessment of N₂O emission factor in full-scale oxidation ditch reactor considering spatiotemporal distribution. *Journal of Water and Environment Technology*, 19(3), 139–152, 2021. (本稿第 3 章および第 4 章の一部に相当)
3. 大友 渉平, 柴田 悟, 李 玉友, 高階 史章, 宮田 直幸, 増田 周平: 攪拌方法の最適化による無終端水路反応槽における N₂O 排出抑制戦略-実処理場での連続測定と実証試験-. *土木学会論文集 G (環境)*, 77(7), III_71–III_82, 2021. (本稿第 4 章および 5 章の一部に相当)

参考文献

- 1) WMO: Greenhouse Gas Bulletin. 18, 2022.
- 2) IPCC: Summary for policymakers. In: Climate change 2022: Impacts, adaptation, and vulnerability. Contribution of working group II to the sixth assessment report of the intergovernmental panel on climate change, 2022.
- 3) 環境省地球環境局国際地球温暖化対策担当参事官室: COP26 の結果概要について, 2021. URL: https://ondankataisaku.env.go.jp/carbon_neutral/topics/20211224-topic-18.html
- 4) IPCC: Climate change 2007: The physical science basis. Contribution of working group I to the fourth assessment report of the intergovernmental panel on climate change, 2007.
- 5) IPCC: Climate change 2013: The physical science basis. Contribution of working group I to the fifth assessment report of the intergovernmental panel on climate change, 2013.
- 6) IPCC: The earth's energy budget, climate feedbacks, and climate sensitivity. In: climate change 2021: The physical science basis. Contribution of working group I to the sixth assessment report of the intergovernmental panel on climate change, 2021.
- 7) Ravishankara AR, Daniel JS, Portmann RW: Nitrous oxide (N₂O): The dominant ozone-depleting substance emitted in the 21st century. *Science*, 326(5949), 123–125, 2009.
- 8) IPCC: Global carbon and other biogeochemical cycles and feedbacks. In: Climate change 2021: The Physical science basis. Contribution of working group I to the sixth assessment report of the intergovernmental panel on climate change, 2021.
- 9) Gruber W, von Känel L, Vogt L, Luck M, Biolley L, Feller K, Moosmann A, Krähenbühl N, Kipf M, Loosli R, Vogel M, Morgenroth E, Braun D, Joss A: Estimation of countrywide N₂O emissions from wastewater treatment in Switzerland using long-term monitoring data. *Water Res. X*, 13, 100122, 2021.
- 10) Cadwallader A, VanBriesen JM: Incorporating uncertainty into future estimates of nitrous oxide emissions from wastewater treatment. *J. Environ. Eng.*, 143(8), 04017029, 2017.
- 11) Ramírez-Melgarejo M, Reyes-Figueroa AD, Gassó-Domingo S, Güereca Leonor P: Analysis of empirical methods for the quantification of N₂O emissions in wastewater treatment plants: Comparison of emission results obtained from the IPCC Tier 1 methodology and the methodologies that integrate operational data. *Sci. Total Environ.*, 747, 141288, 2020.
- 12) Maktabifard M, Zaborowska E, Makinia J: Energy neutrality versus carbon footprint minimization in municipal wastewater treatment plants. *Bioresour. Technol.*, 300, 122647, 2020.
- 13) Delre A, ten Hoeve M, Scheutz C: Site-specific carbon footprints of Scandinavian wastewater treatment plants, using the life cycle assessment approach. *J. Clean. Prod.*, 211, 1001–1014, 2019.
- 14) Massara TM, Malamis S, Guisasola A, Baeza JA, Noutsopoulos C, Katsou E: A review on nitrous oxide (N₂O) emissions during biological nutrient removal from municipal wastewater and sludge reject water. *Sci. Total Environ.*, 596–597, 106–123, 2017.
- 15) Masuda S, Sano I, Hojo T, Li YY, Nishimura O: The comparison of greenhouse gas emissions in sewage treatment plants with different treatment processes, *Chemosphere*, 193, 581–590, 2018.

- 16) Vasilaki V, Massara TM, Stanchev P, Fatone F, Katsou E: A decade of nitrous oxide (N₂O) monitoring in full-scale wastewater treatment processes: A critical review. *Water Res.*, 161, 392–412, 2019.
- 17) Duan H, van den Akker B, Thwaites BJ, Peng L, Herman C, Pan Y, Ni BJ, Watt S, Yuan Z, Ye L: Mitigating nitrous oxide emissions at a full-scale wastewater treatment plant. *Water Res.*, 185, 116196, 2020.
- 18) Chen H, Zeng L, Wang D, Zhou Y, Yang X: Recent advances in nitrous oxide production and mitigation in wastewater treatment. *Water Res.*, 184, 116–168, 2020.
- 19) Kumar A, Thanki A, Padhiyar H, Singh NK, Pandey S, Yadav M, Yu ZG: Greenhouse gases emission control in WWTS via potential operational strategies: A critical review. *Chemosphere.*, 273, 129694, 2021.
- 20) 環境省・国土交通省: 下水道における地球温暖化対策マニュアル. 2016.
- 21) 公益社団法人日本下水道協会: 下水道施設計画・設計指針と解説. 2019.
- 22) 公益社団法人日本下水道協会: 平成30年度版下水道統計 (CD-ROM版). 2020.
- 23) 村上 忠弘: オキシデーション・ディッチの計画・設計—近江八幡市沖島浄化センターの事例を中心として—. *環境技術*, 12(2), 121–125, 1983.
- 24) 秋田県建設部下水道マネジメント推進課: 美の国あきたネット (あきたの下水道資料編). URL: <https://www.pref.akita.lg.jp/pages/archive/665>
- 25) Lee YJ, Lin BL, Lei Z: Nitrous oxide emission mitigation from biological wastewater treatment—A review. *Bioresour. Technol.*, 362, 127747, 2022.
- 26) 国土交通省 水管理・国土保全局 下水道部: 既存施設を活用した段階的高度処理の普及ガイドライン (案). 2015.
- 27) Ye L, Ni BJ, Law Y, Byers C, Yuan Z: A novel methodology to quantify nitrous oxide emissions from full-scale wastewater treatment systems with surface aerators. *Water Res.*, 48, 257–268, 2014.
- 28) Weiss RF, Price BA: Nitrous oxide solubility in water and seawater. *Mar. Chem.*, 8(4), 347–359, 1980.
- 29) Toyoda S, Iwai H, Koba K, Naohiro Y: Isotopomeric analysis of N₂O dissolved in a river in the Tokyo metropolitan area. *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, 23(6), 809–821, 2009.
- 30) Masuda S, Sato T, Mishima I, Maruo C, Yamazaki H, Nishimura O: Impact of nitrogen compound variability of sewage treated water on N₂O production in riverbeds. *J. Environ. Manage.*, 290, 112621, 2021.
- 31) Reay DS, Smith KA, Edwards AC: Nitrous oxide emission from agricultural drainage waters. *Glob. Change Biol.*, 9(2), 195–203, 2003.
- 32) IPCC: 2019 Refinement to the 2006 IPCC guidelines for national greenhouse gas inventories, 2019.
- 33) 国立環境研究所地球システム領域地球環境研究センター, 温室効果ガスインベントリオフィス (編), 環境省地球環境局総務課脱炭素社会移行推進室 (監修): 日本国温室効果ガスインベントリ報告書 2022年. 2022.
- 34) IPCC: IPCC guidelines for national greenhouse gas inventories, 2006.

- 35) Peng L, Ni BJ, Erler D, Ye L, Yuan Z: The effect of dissolved oxygen on N₂O production by ammonia-oxidizing bacteria in an enriched nitrifying sludge. *Water Res.*, 66, 12–21, 2014.
- 36) Tallec G, Garnier J, Billen G, Gossiaux M: Nitrous oxide emissions from secondary activated sludge in nitrifying conditions of urban wastewater treatment plants: Effect of oxygenation level. *Water Res.*, 40(15), 2972–2980, 2006.
- 37) Zheng M, Tian Y, Liu T, Ma T, Li L, Li C, Ahmad M, Chen Q, Ni J: Minimization of nitrous oxide emission in a pilot-scale oxidation ditch: Generation, spatial variation and microbial interpretation. *Bioresour. Technol.*, 179, 510–517, 2015.
- 38) Zhou N, Dang C, Zhao Z, He S, Zheng M, Liu W, Wang X: Role of sludge retention time in mitigation of nitrous oxide emission from a pilot-scale oxidation ditch. *Bioresour. Technol.*, 292, 121961, 2019.
- 39) Conthe M, Lycus P, Arntzen MØ, Ramos da Silva A, Frostegård Å, Bakken LR, Kleerebezem R, van Loosdrecht MCM: Denitrification as an N₂O sink. *Water Res.*, 151, 381–387, 2019.
- 40) Zheng M, Zhou N, He S, Chang F, Zhong J, Xu S, Wang Z, Liu T: Nitrous oxide (N₂O) emissions from a pilot-scale oxidation ditch under different COD/N ratios, aeration rates and two shock-load conditions. *J. Environ. Manage.*, 280, 111657, 2021.
- 41) Kampschreur MJ, Temmink H, Kleerebezem R, Jetten MSM, van Loosdrecht MCM: Nitrous oxide emission during wastewater treatment. *Water Res.*, 43(17), 4093–4103, 2009.
- 42) Wu L, Peng L, Wei W, Wang D, Ni BJ: Nitrous oxide production from wastewater treatment: The potential as energy resource rather than potent greenhouse gas. *J. Hazard. Mater.*, 387, 121694, 2020.
- 43) 公益社団法人日本下水道協会: 下水道維持管理指針. 2014.
- 44) Vasilaki V, Volcke EIP, Nandi AK, van Loosdrecht MCM, Katsou E: Relating N₂O emissions during biological nitrogen removal with operating conditions using multivariate statistical techniques. *Water Res.*, 140, 387–402, 2018.
- 45) Jia S, Chen X, Suenaga T, Terada A, Ishikawa S, Nishimura F, Ding S, Fujiwara T: Spatial and daily variations of nitrous oxide emissions from biological reactors in a full-scale activated sludge anoxic/oxic process. *J. Biosci. Bioeng.*, 127(3), 333–339, 2019.
- 46) Kosonen H, Heinonen M, Mikola A, Haimi H, Mulas M, Corona F, Vahala R: Nitrous oxide production at a fully covered wastewater treatment plant: Results of a long-term online monitoring campaign. *Environ. Sci. Technol.*, 50(11), 5547–5554, 2016.
- 47) Daelman MRJ, van Voorthuizen EM, van Dongen UGJM, Volcke EIP, van Loosdrecht MCM: Seasonal and diurnal variability of N₂O emissions from a full-scale municipal wastewater treatment plant. *Sci. Total Environ.*, 536, 1–11, 2015.
- 48) Aboobakar A, Cartmell E, Stephenson T, Jones M, Vale P, Dotro G: Nitrous oxide emissions and dissolved oxygen profiling in a full-scale nitrifying activated sludge treatment plant. *Water Res.*, 47(2), 524–534, 2013.
- 49) Spinelli M, Eusebi AL, Vasilaki V, Katsou E, Frison N, Cingolani D, Fatone F: Critical analyses of nitrous oxide emissions in a full scale activated sludge system treating low carbon-to-nitrogen ratio wastewater. *J. Clean. Prod.*, 190, 517–524, 2018.

- 50) Wen J, LeChevallier MW, Tao W, Liu Y: Nitrous oxide emission and microbial community of full-scale anoxic/aerobic membrane bioreactors at low dissolved oxygen setpoints. *J. Water Process. Eng.*, 38, 101654, 2020.
- 51) Dias DFC, Marques R, Martins C, Martins A, Oehmen A: The impact of a seasonal change in loading rate on the nitrous oxide emissions at the WWTP of a tourist region. *Sci. Total Environ.*, 804, 149987, 2022.
- 52) Stenström F, Tjus K, la Cour Jansen J: Oxygen-induced dynamics of nitrous oxide in water and off-gas during the treatment of digester supernatant. *Water Sci. Technol.*, 69(1), 84–91, 2014.
- 53) Rodriguez-Caballero A, Aymerich I, Marques R, Poch M, Pijuan M: Minimizing N₂O emissions and carbon footprint on a full-scale activated sludge sequencing batch reactor. *Water Res.*, 71, 1–10, 2015.
- 54) Chen X, Mielczarek AT, Habicht K, Andersen MH, Thornberg D, Sin G: Assessment of full-scale N₂O emission characteristics and testing of control concepts in an activated sludge wastewater treatment plant with alternating aerobic and anoxic phases. *Environ. Sci. Technol.*, 53(21), 12485–12494, 2019.
- 55) Tian Z, Zhou N, You W, He D, Chang F, Zheng M: Mitigating NO and N₂O emissions from a pilot-scale oxidation ditch using bioaugmentation of immobilized aerobic denitrifying bacteria. *Bioresour. Technol.*, 340, 125704, 2021.
- 56) Sun S, Bao Z, Sun D: Study on emission characteristics and reduction strategy of nitrous oxide during wastewater treatment by different processes. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 22(6), 4222–4229, 2015.
- 57) 国土交通省, 国土技術政策総合研究所: 下水道革新的技術実証事業 (B-DASH プロジェクト) 技術情報資料.
- 58) 道中 敦子: 下水処理場における N₂O 排出係数の見直し. *水環境学会誌*, 38(9), 340–344, 2015.
- 59) 増田 周平, 佐野 慈, 李 玉友, 西村 修: 下水処理水に含まれるメタンおよび亜酸化窒素の排出量に占める溶存態成分の割合. *用水と廃水*, 55(3), 227–234, 2013.
- 60) Beaulieu JJ, Shuster WD, Rebholz JA: Nitrous oxide emissions from a large, impounded river: the Ohio River. *Environ. Sci. Technol.*, 44(19), 7527–7533, 2010.
- 61) 増田 周平, 鈴木 俊輔, 李 玉友, 西村 修: 下水処理場の水処理プロセスにおけるメタン発生量の定量化手法に関する検討. *下水道協会誌*, 48(588), 119–126, 2011.
- 62) 増田 周平, 鈴木 俊輔, 李 玉友, 西村 修: 下水処理場における温室効果ガスの発生源解析と発生係数の季節変動. *下水道協会誌*, 49(594), 97–103, 2012.
- 63) 増田 周平, 京野 貴文, 李 玉友, 西村 修: 嫌気好気活性汚泥法を行なう下水処理場における冬季の CH₄・N₂O の発生特性. *用水と廃水*, 52(11), 903–911, 2010.
- 64) 増田 周平, 西村 修: 水処理工程における N₂O の発生特性. *用水と廃水*, 52(3), 213–226, 2010.
- 65) 稲森 悠平, 富永 和樹, 木持 謙, 水落 元之, 戎野 棟一, 松村 正利: 生物学的排水処理における硝化活性および N₂O 生成速度に及ぼす水温および窒素負荷の影響. *水環境学会誌*, 24(2), 97–102, 2001.

- 66) Adouani N, Limousy L, Lendormi T, Sire O: N₂O and NO emissions during wastewater denitrification step: Influence of temperature on the biological process. *C. R. Chim.*, 18(1), 15–22, 2015.
- 67) Hanaki K, Wantawin C, Ohgaki S: Nitrification at low levels of dissolved oxygen with and without organic loading in a suspended-growth reactor. *Water Res.*, 24(3), 297–302, 1990.
- 68) Jia W, Liang S, Zhang J, Ngo HH, Guo W, Yan Y, Zou Y: Nitrous oxide emission in low-oxygen simultaneous nitrification and denitrification process: Sources and mechanisms. *Bioresour. Technol.*, 136, 444–451, 2013.
- 69) Wunderlin P, Mohn J, Joss A, Emmenegger L, Siegrist H: Mechanisms of N₂O production in biological wastewater treatment under nitrifying and denitrifying conditions. *Water Res.*, 46(4), 1027–1037, 2012.
- 70) Foley Je, de Haas D, Yuan Z, Lant P: Nitrous oxide generation in full-scale biological nutrient removal wastewater treatment plants. *Water Res.*, 44(3), 831–844, 2010.
- 71) 日本下水道協会: 下水試験法. 2012.
- 72) 増田 周平: 下水処理における N₂O 排出特性に関する研究の動向. *水環境学会誌*, 38(9), 328–333, 2015.
- 73) Zhou Y, Toyoda R, Suenaga T, Aoyagi T, Hori T, Terada A: Low nitrous oxide concentration and spatial microbial community transition across an urban river affected by treated sewage. *Water Res.*, 216, 118276, 2022.
- 74) Wang R, Zhang H, Zhang W, Zheng X, Butterbach-Bahl K, Li S, Han S: An urban polluted river as a significant hotspot for water-atmosphere exchange of CH₄ and N₂O. *Environ. Pollut.*, 264, 114770, 2020.
- 75) Beaulieu JJ, Tank JL, Hamilton SK, Wollheim WM, Hall RO, Mulholland PJ, Peterson BJ, Ashkenas LR, Cooper LW, Dahm CN, Dodds WK, Grimm NB, Johnson SL, McDowell WH, Poole GC, Valett HM, Arango CP, Bernot MJ, Burgin AJ, Crenshaw CL, Helton AM, Johnson LT, O'Brien JM, Potter JD, Sheibley RW, Sobota DJ, Thomas SM: Nitrous oxide emission from denitrification in stream and river networks. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 108(1), 214–219, 2011.
- 76) Short MD, Daikeler A, Peters GM, Mann K, Ashbolt NJ, Stuetz RM, Peirson WL: Municipal gravity sewers: An unrecognised source of nitrous oxide. *Sci. Total Environ.*, 468–469, 211–218, 2014.
- 77) Song K, Suenaga T, Harper WF, Hori T, Riya S, Hosomi M, Terada A: Effects of aeration and internal recycle flow on nitrous oxide emissions from a modified Ludzak-Ettinger process fed with glycerol. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.*, 22(24), 19562–19570, 2015.
- 78) Song K, Suenaga T, Hamamoto A, Satou K, Riya S, Hosomi M, Terada A: Abundance, transcription levels and phylogeny of bacteria capable of nitrous oxide reduction in a municipal wastewater treatment plant. *J. Biosci. Bioeng.*, 118(3), 289–297, 2014.
- 79) 藤田 晶一, 佐藤 和明, 黒田 秀男, 森 正治, 大塚 宏平: OD 法から標準法への水処理方式の移行に関する検討調査. 1993 年度下水道新技術研究所年報, 75–85, 1993.
- 80) 木持 謙, 田中 仁志, 徐 開欽, 稲森 隆平, 稲森 悠平: 迅速な溶存態ガス採取法を用い

- た湖沼等の N₂O, CH₄ 生成・放出ポテンシャルの評価. *日本水処理生物学会誌*, 50(3), 121–131, 2014.
- 81) Rotthauwe J H, Witzel KP, Liesack W: The ammonia monooxygenase structural gene *amoA* as a functional marker: molecular fine-scale analysis of natural ammonia-oxidizing populations. *Appl. Environ. Microbiol.*, 63(12), 4704–4712, 1997.
 - 82) Yu R, Kampschreur MJ, van Loosdrecht MCM, Chandran K: Mechanisms and specific directionality of autotrophic nitrous oxide and nitric oxide generation during transient anoxia. *Environ. Sci. Technol.*, 44(4), 1313–1319, 2010.
 - 83) Throbäck IN, Enwall K, Jarvis Å, Hallin S: Reassessing PCR primers targeting *nirS*, *nirK* and *nosZ* genes for community surveys of denitrifying bacteria with DGGE. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 49(3), 401–417, 2004.
 - 84) Henry LA, Kenchington ELR: Ecological and genetic evidence for impaired sexual reproduction and induced clonality in the hydroid *Sertularia cupressina* (Cnidaria: Hydrozoa) on commercial scallop grounds in Atlantic Canada. *Mar. Biol.*, 145(6) 1107–1118, 2004.
 - 85) Henry S, Bru D, Stres B, Hallet S, Philippot L: Quantitative detection of the *nosZ* gene, encoding nitrous oxide reductase, and comparison of the abundances of 16S rRNA, *narG*, *nirK*, and *nosZ* genes in soils. *Appl. Environ. Microbiol.*, 72(8), 5181–5189, 2006.
 - 86) Jones CM, Graf DRH, Bru D, Philippot L, Hallin S: The unaccounted yet abundant nitrous oxide-reducing microbial community: a potential nitrous oxide sink. *ISME J.*, 7(2) 417–426, 2013.
 - 87) Hao L, Okano K, Zhang C, Zhang Z, Lei Z, Feng C, Utsumi M, Ihara I, Maseda H, Shimizu K: Effects of levofloxacin exposure on sequencing batch reactor (SBR) behavior and microbial community changes. *Sci. Total Environ.*, 672, 227–238, 2019.
 - 88) Caporaso JG, Lauber CL, Walters WA, Berg-Lyons D, Lozupone CA, Turnbaugh PJ, Fierer N, Knight R: Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 108(Supplement_1), 4516–4522, 2011.
 - 89) Masuda S, Takakai F, Okano K, Takeda S, Pham DD, Miyata N, Watanabe T: Evaluation of dissolved greenhouse gas profiles in paddy fields irrigated with treated sewage effluent. *J. Water Environ. Technol.*, 20(2), 59–69, 2022.
 - 90) Ito T, Aoi T, Miyazato N, Hatamoto M, Fuchigami S, Yamaguchi T, Watanabe Y: Diversity and abundance of denitrifying bacteria in a simultaneously nitrifying and denitrifying rotating biological contactor treating real wastewater at low temperatures. *H2Open J.*, 2(1) 58–70, 2019.
 - 91) Guo J, Ni BJ, Han X, Chen X, Bond P, Peng Y, Yuan Z: Unraveling microbial structure and diversity of activated sludge in a full-scale simultaneous nitrogen and phosphorus removal plant using metagenomic sequencing. *Enzyme Microb. Technol.*, 102, 16–25, 2017.
 - 92) Pishgar R, Dominic JA, Sheng Z, Tay JH: Denitrification performance and microbial versatility in response to different selection pressures, *Bioresour. Technol.*, 281, 72–83, 2019.
 - 93) Gerardi MH: Wastewater bacteria. *Wily*, 2006.
 - 94) Dixon P: VEGAN, a package of R functions for community ecology. *J. Veg. Sci.*, 14(6), 927–930, 2003.

- 95) 井出 哲夫: 水処理工学-理論と応用- (第2版) . 技報堂出版株式会社, 1990.
- 96) Lacy RE, Loeb S: Industrial processing with membranes. *Wily*, 1972.
- 97) Henze M, Gujer W, Mino T, van Loosdrecht M: Activated sludge models ASM1, ASM2, ASM2D, ASM3. *IWA Publishing*, 2000.
- 98) Park HD, Noguera DR: Evaluating the effect of dissolved oxygen on ammonia-oxidizing bacterial communities in activated sludge. *Water Res.*, 38(14-15), 3275-3286, 2004.
- 100) Liu Y, Shi H, Xia L, Shi H, Shen T, Wang Z, Wang G, Wang Y: Study of operational conditions of simultaneous nitrification and denitrification in a Carrousel oxidation ditch for domestic wastewater treatment. *Bioresour. Technol.*, 101(3), 901-906, 2010.
- 101) Morley N, Baggs EM, Dörsch P, Bakken L: Production of NO, N₂O and N₂ by extracted soil bacteria, regulation by NO₂⁻ and O₂ concentrations. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 65(1), 102-112, 2008.
- 102) Otte S, Grobben NG, Robertson LA, Jetten MS, Kuenen JG: Nitrous oxide production by *Alcaligenes faecalis* under transient and dynamic aerobic and anaerobic conditions. *Appl. Environ. Microbiol.*, 62(7), 2421-2426, 1996.
- 103) Pan Y, Ni BJ, Bond PL, Ye L, Yuan Z: Electron competition among nitrogen oxides reduction during methanol-utilizing denitrification in wastewater treatment. *Water Res.*, 47(10), 3263-3281, 2013.
- 104) Bergaust L, van Spanning RJM, Frostegård Å, Bakken LR: Expression of nitrous oxide reductase in *Paracoccus denitrificans* is regulated by oxygen and nitric oxide through FnrP and NNR. *Microbiology*, 158(3), 826-834, 2012.
- 105) Arai H: Regulation and function of versatile aerobic and anaerobic respiratory metabolism in *Pseudomonas aeruginosa*. *Front. Microbiol.*, 2(103), 103, 2011.
- 106) Baek SH, Hartsock A, Shapleigh JP: *Agrobacterium tumefaciens* C58 uses ActR and FnrN to control *nirK* and *nor* expression. *J. Bacteriol.*, 190(1), 78-86, 2008.
- 107) Lee YY, Shearer N, Spiro S: Transcription factor NNR from *Paracoccus denitrificans* is a sensor of both nitric oxide and oxygen: isolation of *nnr** alleles encoding effector-independent proteins and evidence for a haem-based sensing mechanism. *Microbiology*, 152(5), 1461-1470, 2006.
- 108) Hong P, Wu X, Shu Y, Wang C, Tian C, Gong S, Cai P, Donde OO, Xiao B: Denitrification characterization of dissolved oxygen microprofiles in lake surface sediment through analyzing abundance, expression, community composition and enzymatic activities of denitrifier functional genes. *AMB Express*, 9(1), 129-129, 2019.
- 109) Suenaga T, Riya S, Hosomi M, Terada A: Biokinetic characterization and activities of N₂O-reducing bacteria in response to various oxygen levels. *Front. Microbiol.*, 9, 697, 2018.
- 110) 久保田 健吾, 佐藤 幹子, 加藤 裕之, 李 玉友: 日本各地の下水処理活性汚泥の微生物群集構造とコア微生物群. *下水道協会誌*, 59(717), 132-140, 2022.
- 111) Wang X, Ye C, Zhang Z, Guo Y, Yang R, Chen S: Effects of temperature shock on N₂O emissions from denitrifying activated sludge and associated active bacteria. *Bioresour. Technol.*, 249, 605-611, 2018.
- 112) Chao A, Yang MCK: Stopping rules and estimation for recapture debugging with unequal failure

- rates. *Biometrika*, 80(1) 193–201, 1993.
- 113) Simpson EH: Measurement of diversity. *Nature*, 163, 688, 1949.
- 114) Gruber W, Villez K, Kipf M, Wunderlin P, Siegrist H, Vogt L, Joss A: N₂O emission in full-scale wastewater treatment: Proposing a refined monitoring strategy. *Sci. Total Environ.*, 699, 134157, 2020.
- 115) Abulimiti A, Wang X, Kang J, Li L, Wu D, Li Z, Piao Y, Ren N: The trade-off between N₂O emission and energy saving through aeration control based on dynamic simulation of full-scale WWTP. *Water Res.*, 223, 118961, 2022.
- 116) Lewis WK, Whitman WG: Principles of gas absorption. *Ind. Eng. Chem.*, 16(12), 1215–1220, 1924.
- 117) 見島 伊織, 吉田 征史, 藤田 昌史: 実下水処理施設における硝化プロセスの N₂O 生成ポテンシャルの解析. *水環境学会誌*, 37(6), 219–227, 2014.
- 118) Baeten JE, van Loosdrecht MCM, Volcke EIP: When and why do gradients of the gas phase composition and pressure affect liquid-gas transfer?. *Water Res.*, 178, 115844, 2020.
- 119) Amaral A, Gillot S, Garrido-Baserba M, Filali A, Karpinska AM, Plósz BG, De Groot C, Bellandi G, Nopens I, Takács I, Lizarralde I, Jimenez JA, Fiat J, Rieger L, Arnell M, Andersen M, Jeppsson U, Rehman U, Fayolle Y, Amerlinck Y, Rosso D: Modelling gas-liquid mass transfer in wastewater treatment: when current knowledge needs to encounter engineering practice and vice versa. *Water Sci. Technol.*, 80(4), 607–619, 2019.
- 120) Masuda S, Suzuki S, Sano I, Li YY, Nishimura O: The seasonal variation of emission of greenhouse gases from a full-scale sewage treatment plant. *Chemosphere*, 140, 167–173, 2015.
- 121) Wanninkhof R: Relationship between wind speed and gas exchange over the ocean. *J. Geophys. Res.*, 97(C5), 7373–7382, 1992.
- 122) Myers S, Mikola A, Blomberg K, Kuokkanen A, Rosso D: Comparison of methods for nitrous oxide emission estimation in full-scale activated sludge. *Water Sci. Technol.*, 83(3), 641–651, 2021.
- 123) 中村 豊: 総括酸素移動容量係数の測定と酸素移動速度. *環境技術*, 11(10), 739–745, 1982.
- 124) CRC hand book of chemistry and physics, 86th edition. *CRC Press*, 2006.
- 125) Sabba F, Picioreanu C, Boltz JP, Nerenberg R: Predicting N₂O emissions from nitrifying and denitrifying biofilms: a modeling study. *Water Sci. Technol.*, 75(3) 530–538, 2016.
- 126) Gruber W, Niederdorfer R, Ringwald J, Morgenroth E, Bürgmann H, Joss A: Linking seasonal N₂O emissions and nitrification failures to microbial dynamics in a SBR wastewater treatment plant. *Water Res. X*, 11, 100098, 2021.
- 127) 金澤 伸治, 漆川 芳國: 下水処理過程における亜硝酸酸化細菌と硝化脱窒機構の関係. *用水と廃水*, 46(11), 54–60, 2004.
- 128) Sun S, Cheng X, Sun D: Emission of N₂O from a full-scale sequencing batch reactor wastewater treatment plant: Characteristics and influencing factors. *Int. Biodeterior. Biodegradation*, 85 545–549, 2013.
- 129) Tao C, Hamouda MA: Steady-state modeling and evaluation of partial nitrification-anammox

- (PNA) for moving bed biofilm reactor and integrated fixed-film activated sludge processes treating municipal wastewater. *J. Water Process. Eng.*, 31, 100854, 2019.
- 130) Maktabifard M, Blomberg K, Zaborowska E, Mikola A, Mąkinia J: Model-based identification of the dominant N₂O emission pathway in a full-scale activated sludge system. *J. Clean. Prod.*, 336, 130347, 2022.
- 131) Beier M, Feldkämper I, Freyschmidt A: Model assisted identification of N₂O mitigation strategies for full-scale reject water treatment plants. *Water Sci. Technol.*, 84(2), 349–363, 2021.
- 132) Ni BJ, Ye L, Law Y, Byers C, Yuan Z: Mathematical modeling of nitrous oxide (N₂O) emissions from full-scale wastewater treatment plants. *Environ. Sci. Technol.*, 47(14), 7795–7803, 2013.
- 133) Hiatt WC, Grady CPL: Application of the activated sludge model for nitrogen to elevated nitrogen conditions. *Water Environ. Res.*, 80(11), 2134–2144, 2008.
- 134) Pocquet M, Wu Z, Queinnec I, Spérandio M: A two pathway model for N₂O emissions by ammonium oxidizing bacteria supported by the NO/N₂O variation. *Water Res.*, 88, 948–959, 2016.
- 135) 味埜 俊: 活性汚泥モデル ASM1, ASM2, ASM2d, ASM3. 株式会社環境新聞社, 2005.
- 136) Wanner J 著, 河野 哲郎, 柴田 雅秀, 深瀬 哲朗, 安井 英斉 訳: 活性汚泥のバルキングと生物発泡の制御. 技報堂出版株式会社, 2000.
- 137) Campbell K, Wang J: New insights into the effect of surfactants on oxygen mass transfer in activated sludge process. *J. Environ. Chem. Eng.*, 8(5), 104409, 2020.
- 138) Yang R, Yuan LJ, Wang R, He ZX, Chen X: New insight on the regulation of N₂O production in aerobic condition: An N₂O metabolic perspective based on enzymatic analysis of nitrous oxide reductase. *J. Water Process. Eng.*, 41, 102090, 2021.
- 139) 下水道法.
URL: https://www.mlit.go.jp/mizukokudo/sewerage/mizukokudo_sewerage_tk_000470.html
- 140) Vasilaki V, Conca V, Frison N, Eusebi AL, Fatone F, Katsou E: A knowledge discovery framework to predict the N₂O emissions in the wastewater sector. *Water Res.*, 178, 115799, 2020.
- 141) 国土交通省水管理・国土保全局下水道部: 雨天時浸入水対策ガイドライン (案). 2020.
- 142) 気象庁: 大雨や猛暑日など (極端現象) のこれまでの変化. URL: https://www.data.jma.go.jp/cpdinfo/extreme/extreme_p.html