

Environment Research and Technology Development Fund

環境研究総合推進費 終了研究成果報告書

課題番号 2-1902

課題名 環境中に放流された排水由来GHGs排出メカニズムの解明と
排出量算定方法の検討

(体系的番号 JPMEERF20192002)

令和元年度～令和3年度

英文課題名

Development of an Estimation Methodology Based on Clarification of the Mechanism of
Greenhouse Gas Emission from Treated/Untreated Wastewater Discharged into Water Environment

<研究代表機関>

東洋大学

<研究分担機関>

国立研究開発法人国立環境研究所

秋田工業高等専門学校

東京農工大学

令和4年5月

目次

I. 成果の概要	・・・・・・・・・・	1
1. はじめに（研究背景等）		
2. 研究開発目的		
3. 研究目標		
4. 研究開発内容		
5. 研究成果		
5-1. 成果の概要		
5-2. 環境政策等への貢献		
5-3. 研究目標の達成状況		
6. 研究成果の発表状況		
6-1. 査読付き論文		
6-2. 知的財産権		
6-3. その他発表件数		
7. 国際共同研究等の状況		
8. 研究者略歴		
II. 成果の詳細		
II-1 環境中に放流される有機性排水を起源とするGHGs 排出量算定方法の開発と 排出削減方策の研究	・・・・・・・・・・	18
（東洋大学・国立研究開発法人国立環境研究所）		
要旨		
1. 研究開発目的		
2. 研究目標		
3. 研究開発内容		
4. 結果及び考察		
5. 研究目標の達成状況		
6. 引用文献		
II-2 下水処理プロセスからの溶存態GHGsの流出機構解明	・・・・・・・・・・	34
（秋田工業高等専門学校）		
要旨		
1. 研究開発目的		
2. 研究目標		
3. 研究開発内容		
4. 結果及び考察		
5. 研究目標の達成状況		
6. 引用文献		

II-3 安定同位体を用いたN ₂ O生成ポテンシャル評価と機構解明 (東京農工大学)	48
要旨	
1. 研究開発目的	
2. 研究目標	
3. 研究開発内容	
4. 結果及び考察	
5. 研究目標の達成状況	
6. 引用文献	
III. 研究成果の発表状況の詳細	63
IV. 英文Abstract	67

I. 成果の概要

課題名 2-1902 環境中に放流された排水由来GHGs排出メカニズムの解明と排出量算定方法の検討

課題代表者名 山崎 宏史 (東洋大学 理工学部 都市環境デザイン学科 教授)

重点課題 主: 【重点課題⑧】 地球温暖化現象の解明・予測・対策評価
副: ー

行政要請研究テーマ (行政ニーズ) (2-2) 河川等に放流された有機性汚濁負荷を起源とするCH₄・N₂O発生メカニズムの解明及び排出削減方策の研究

研究実施期間 令和元年度～令和3年度

研究経費 95,382千円 (合計額)

(各年度の内訳: 令和元年度: 35,488千円、令和2年度: 33,035千円、令和3年度: 26,859千円)

研究体制

(サブテーマ1) 環境中に放流される有機性排水を起源とするGHGs排出量算定方法の開発と排出削減方策の研究 (東洋大学・国立研究開発法人国立環境研究所)

(サブテーマ2) 下水処理プロセスからの溶存態GHGsの流出機構解明 (秋田工業高等専門学校)

(サブテーマ3) 安定同位体を用いたN₂O生成ポテンシャル評価と機構解明 (東京農工大学)

研究協力機関 研究協力機関はない。

本研究のキーワード 温室効果ガス (GHGs)、一酸化二窒素 (N₂O)、メタン (CH₄)、処理後排水、未処理排水、GHGs排出量算定方法、GHGs排出削減方策、GHGs排出機構解明、安定同位体

1. はじめに (研究背景等)

2016年11月に発効されたパリ協定の下、温室効果ガス (GHGs) 排出量削減を適切に進める上では、GHGsがどの分野でどの程度排出されているかを正確に把握することが重要である。

我が国では、下水道終末処理場、浄化槽等の生活排水処理施設から排出されるCH₄、N₂Oについては、国内における調査研究の成果を元に日本独自の排出係数を開発済みであり、我が国の実態を反映した精緻な排出量計算ができてきている状況である。しかし、未処理排水もしくは処理後の放流水に由来する水環境中でのCH₄、N₂O排出係数については、国内での調査研究事例がほとんど無いため、IPCCガイドラインで示されたデフォルト値 (世界共通) を使用せざるを得ない状況にある。ここで、ガイドラインのデフォルト値を我が国に適用することについて、2つの大きな課題がある。1つは、このデフォルト値が農業分野の排出係数 (農地からの窒素肥料の溶脱が対象) の転用であるため、硝酸態窒素からのN₂O生成を想定していることである。未処理の生活排水および処理後の放流水には硝酸態窒素だけでなくアンモニア態窒素や有機態窒素が含まれており、放流時の窒素形態は、N₂O排出に大きな影響を及ぼすと考えられる。もう1つは、放流先の環境条件として、我が国における河川の特徴や気候帯を反映していないことである。日本の河川は、世界の代表的な河川と比べて長さが短く、流れが速いことが指摘されている。すなわち、大陸をゆっくり流れるライン川 (欧州) やメコン川 (アジア) 等と比べて、放流先である河川の溶存酸素や攪拌状態、底泥等の状態が異なり、CH₄、N₂O排出係数が異なる可能性がある。そのため、これ

らを考慮に入れた N_2O 生成・消費の科学的なメカニズム解明と排出係数の開発が急務である。

以上の背景に鑑み、本研究では、我が国の優れた排水処理技術や整備状況を反映しうる独自の排出係数・算定方法の開発とその削減方策の検討を行う必要がある。

2. 研究開発目的

上記、1. 背景で述べた通り、下水道終末処理場、浄化槽等の生活排水処理分野から排出されるGHGs (CH_4 、 N_2O) は、処理施設から排出される直接発生と処理後排水あるいは未処理排水が河川等水環境中に放流された後排出される間接発生とに分けることができる。

直接発生として示される処理施設から排出されるGHGsは、下水処理プロセス中の反応槽が発生源であることが分かっている。反応槽では、曝気のための攪拌や送風にともなうガス化により、GHGsが大気に放出される。日本の処理施設から排出されるGHGs排出量の算定方法はこうしたメカニズムに基づき、主に反応槽におけるガス化に伴うGHGsの排出を対象とした排出係数が適用されている。一方、反応槽の混合溶液中には、ガス化に先立って水中に溶存態 (D-) GHGsが存在する。これらは、それに続く最終沈殿池や消毒プロセスなどを経て、下水道処理後排水中に残存する可能性が指摘されている。特に N_2O に関しては溶解性が高く、下水処理プロセスのGHGs算定におけるミッシング・ソースとなっている可能性が高い。しかし、こうした下水道処理後排水中のD-GHGsはこれまであまり注目されておらず、その挙動に関する情報は極めて限定的であり、D-GHGsの排出量を推定する排出係数も存在していない。そこで下水道処理後排水に溶解し、残存しているD-GHGs量を間接発生の一部とし、それらを算定するための排出係数の開発を研究開発目的①とし、サブテーマ2で主に対応する。また、浄化槽処理後排水にも同様に、処理後排水にはD-GHGsが残存している可能性があるため、それをサブテーマ1で対応する。

処理後排水あるいは未処理排水が河川等水環境中に放流された後、生成・排出されるGHGsを明らかにするためには、未処理排水と処理後排水の水質の違いや処理施設の処理方式等による放流水中の有機物・窒素の濃度や化学形態、構成割合が大きく異なることに着目する必要がある。さらに処理後排水が放流される河川の四季による水温変化、溶存酸素濃度や流速変化といった水環境の影響を受ける可能性がある。これらのGHGs排出ポテンシャルの評価や現地調査を踏まえ、我が国の優れた排水処理技術や整備状況を反映しうる独自の排出係数を開発するとともに、サブテーマ1, 2でそれぞれ開発した排出係数を元にしたGHGs排出量の算定方法を我が国に適した形に改良・提案することを研究開発目的②とし、サブテーマ1で対応する。さらに、処理施設由来（直接発生）と放流水由来（間接発生）を併せた排水管理全体のGHGs排出モデルを構築し、トレードオフを含めたライフサイクル全体でのGHGs排出削減方策について提案することを研究開発目的③とし、サブテーマ1で対応する。

上記、サブテーマ1, 2で対応する処理施設由来（直接発生）と放流水由来（間接発生）の N_2O 生成量や算定する N_2O の排出係数開発に関して、学術的な根拠を提供する必要がある。 N_2O は生物・化学的な硝化・脱窒反応の副生成物および中間生成物であるとともに、脱窒反応の最終段階である N_2 への還元反応の初発物質である。したがって、 N_2O 生成のみならず消費活性も把握しておく必要がある。そこで、河川底質が有する N_2O 生成と消費の真の活性を追跡可能な ^{15}N トレーサー法を確立し、これを河川底質の活性評価に適用し、 N_2O 生成メカニズムの解明を目指した。さらに、 N_2O 生成と消費を担う微生物を同定し、 N_2O 生成メカニズムに洞察を加えることを研究開発目的④とし、サブテーマ3で対応する。

3. 研究目標

全体目標	未処理排水と処理後排水における水質の違い、及び処理施設の規模や処理方式等による放流水中の有機物・窒素の濃度や化学形態、構成割合の違いを明らかにすると共に、GHGs排出ポテンシャル評価や現地調査を踏まえ、未処理排水、処理後排水由来で、公共用水域から排出されるGHGsについて、我が国独自の排出係数を開発する。また、これまで見落とされていた処理施設からの放流水に
------	---

	<p>含まれる溶存態GHGsの排出係数を開発する。これらの排出係数開発に当たり、水環境中の$\text{CH}_4 \cdot \text{N}_2\text{O}$の挙動について、化学的・生物学的なメカニズムを併せて解明することで、学術的知見の集積と排出係数の妥当性評価に活用する。</p> <p>上記にて開発した、排出係数を踏まえたGHGs排出量の算定方法を我が国に適した形に改良・提案する。さらに、これらの算定を元に、処理施設由来と放流水由来のGHGsを併せた排水管理全体のGHGs排出モデルを構築し、ライフサイクル全体での排出削減方策について提案する。</p>
サブテーマ 1	環境中に放流される有機性排水を起源とするGHGs排出量算定方法の開発と排出削減方策の研究
サブテマリーダー/所属機関	山崎 宏史/東洋大学 蛭江 美孝/国立環境研究所
目標	<p>下水処理場放流水が流入する河川等の調査を通じ、GHGs排出に影響を及ぼす主要なパラメータの抽出を行う。また、この抽出した主要なパラメータを用いた室内モデル試験を実施することで、有機性排水由来のGHGs排出ポテンシャルの評価を行う。併せて、下水処理場、浄化槽における放流水の調査を行い、水質バランス（有機物・窒素の形態、構成割合等）や環境条件を考慮したGHGs排出ポテンシャル評価を行う。</p> <p>上記と並行して、関係機関とも連携しつつ、複数の排出係数を用いた方法論を検討するとともに、排水管理全体（污水处理施設+放流河川からのGHGs）に係るGHGs排出源を整理し、新たな方法論を作成する。また、作成した方法論に基づき、有機性排水由来GHGsに関する我が国独自の排出係数および排出量算定方法を提案する。さらに、排水管理全体のGHGs排出モデルから総合的なGHGs排出量最小化のシナリオを提案する。</p>
サブテーマ 2	下水処理プロセスからの溶存態GHGsの流出機構解明
サブテマリーダー/所属機関	増田 周平/秋田工業高等専門学校
目標	<p>下水処理水に含まれる溶存態GHGsの量を推定する排出係数を開発する。そのために、複数の異なるプロセス構成の下水処理場において、反応タンクおよび最終沈殿池以降のプロセスにおける溶存態GHGsの実態を把握する。その上で、生物処理、塩素処理やオゾン処理などのプロセスにおけるGHGs生成に影響する主要な環境因子を明らかにし、それらをふまえGHGs生成量を最小化する条件について検討する。検討の結果は、下水処理水に含まれる溶存態GHGs発生量の推定、およびその削減可能性に対する定量的な評価を可能とすることで、サブ1における排出量算定方法、GHGs排出量最小化シナリオの提案および本テーマ全体に貢献する。</p>
サブテーマ 3	安定同位体を用いた N_2O 生成ポテンシャル評価と機構解明
サブテマリーダー/所属機関	寺田 昭彦/東京農工大学
目標	<p>都市河川に点在する生活排水処理施設の上流・下流を含めた複数箇所の底質中に生息する微生物群集の網羅的解析を行い、底質におけるN_2O生成とN_2O消費を担う微生物群の同定と定量を行う。また、河川底質や活性汚泥などに生息す</p>

る微生物群が有する N_2O 生成・消費ポテンシャルの正確定量を目指し、新規 ^{15}N トレーサー法を開発する。脱窒細菌の純粋菌株数種を用いた嫌気条件における回分試験を実施し、 N_2O 生成および N_2O 消費速度の定量を行う。さらに、 ^{15}N トレーサー法を用い、河川底質の N_2O の生成量や生成経路、蓄積、消費速度を明らかにする。

サブ1、2の河川底質サンプルなどに ^{15}N トレーサー法を適用し、 N_2O 生成と N_2O 消費に関する定量的知見をサポートする。さらには、本テーマで提案する排出係数の学術的根拠となるデータを蓄積する。

4. 研究開発内容

上記で述べた通り、現在、日本における生活排水処理分野、処理後排水や未処理排水を起源に水環境中から排出されるGHGs排出量は、日本での調査研究が少ないため、IPCCガイドラインに示されているデフォルトの排出係数を適用している状況である。

研究開発目的①で示した通り、下水道終末処理場内反応槽の混合溶液中には、溶存態(D-) GHGsが存在するが、これらのD-GHGsは、それに続く最終沈殿池や消毒プロセスなど経て、処理後排水中に残存する可能性が指摘されているが、現在のデフォルト値では、処理後排水中に残存するD-GHGsは考慮されていない。そこでサブテーマ2では、下水処理プロセスの種類に着目し、複数の下水道終末処理場での実測調査を通じ、下水道処理後排水に残存しているD-GHGsに影響を及ぼす環境因子について検討を行った。また、現在、下水道処理施設からのGHGs排出量の算定では、下水道終末処理場の処理方式を4種に区分し算定がなされているが、処理後排水からのGHGs排出量の算定に関しても、これら各処理方式の原理に基づいた開発が必要と考えられる。そのため、複数の現場調査による実測結果を元に、現在の処理施設からの各処理方式ごとのGHGs排出量算定方法を考慮に入れながら、下水道処理後排水に残存するD-GHGsを算定するための排出係数の開発を行った。

研究開発目的②で示した通り、処理後排水や未処理排水が河川等水環境中に放流された後排出されるGHGsを明らかにするためには、未処理排水と処理後排水の水質の違いや処理施設の処理方式等による放流水中の有機物・窒素の濃度や化学形態、構成割合が大きく異なることに着目する必要がある。さらにその水環境中からのGHGs排出には、上記で示した通り、処理後排水に残存するD-GHGsおよび処理後排水が放流される河川の水環境の影響を受ける可能性がある。そこで、サブテーマ1では、複数の下水道終末処理場および浄化槽の処理後排水が放流され、流域負荷の影響が少ないと考えられる河川や水路を対象に、GHGs生成に関する年間を通じた実測調査を行なった。その際、処理後排水や未処理排水に残存するD-GHGsの影響、河川の環境条件を考慮することにより、処理後排水や未処理排水に含まれる窒素負荷、有機物負荷を起源に自然界での分解に伴い生成されるGHGs算定方法の開発を行った。さらに、研究開発目的③で示した通り、処理施設由来(直接発生)と上記サブテーマ1、2で開発したGHGs算定方法を元にした放流水由来(間接発生)を併せた排水管理全体のGHGs排出モデルを下水道分野と浄化槽分野に分けて構築し、トレードオフを含めたライフサイクル全体での排出削減方策について提案を行った。

上記、研究開発目的④で示した通り、サブテーマ1、2で開発される N_2O 排出係数に対しては、学術的なエビデンスを提供することが必要である。そのために、生物・化学的な N_2O 生成機構の解明および N_2O 生成・消費の真の速度の算定が重要となる。そのため、サブテーマ3では、これら河川での硝化・脱窒反応に伴う N_2O 生成・消費の速度を明らかにするために、 ^{15}N トレーサー法を用いた真の N_2O 生成と N_2O 消費速度の評価方法を確立し、河川底質の精緻な N_2O 生成・消費に関わる活性評価を可能とした。大規模およびサブテーマ1と連携した小規模河川において下水道終末処理場放流口の上流・下流の河川底質の微生物叢および生理活性を評価し、河川水の硝酸イオン濃度と嫌気条件下での N_2O 消費に関する関係を明らかとした。サブテーマ1と連携した現場調査において、本研究で開発した硝化試験・脱窒試験の結果を踏まえ、サブテーマ1調査河川における N_2O 排出メカニズムを明らかとした。

5. 研究成果

5-1. 成果の概要

【サブテーマ1：環境中に放流される有機性排水を起源とするGHGs排出量算定方法の開発と排出削減方策の研究】（東洋大学・国立研究開発法人国立環境研究所）

サブテーマ1の目的は、下水道終末処理場および浄化槽の処理後排水や未処理排水が放流される河川や水路における実測調査を行い、処理後排水や未処理排水を起源に自然界での分解に伴い生成されるGHGs算定方法を開発することである。これらの処理後排水や未処理排水が河川等水環境中に放流された後排出されるGHGsを明らかにするためには、処理後排水や未処理排水中の有機物・窒素の濃度や化学形態、構成割合に着目する必要があると共に、処理後排水や未処理排水が放流される河川の環境条件を考慮する必要がある。また、処理後排水には処理場内で生成された N_2O が残存しているため、処理後排水に含まれる窒素成分のみを起源とし、河川等水環境で生成される N_2O を正確に把握するためには、処理後排水に残存する溶存態(D-) N_2O を考慮する必要がある。さらに、これら開発したGHGs算定方法を元に、処理施設由来（直接発生）と放流水由来（間接発生）を併せた排水管理全体のGHGs排出モデルを構築し、トレードオフを含めたライフサイクル全体での排出削減方策について提案を行った。本項では、下水道分野での検討結果を主に示す。

1.1 河川環境基準類型別溶存態GHGs存在量の把握

まず初めに、河川環境基準類型別D-GHGsの存在量を把握するために、埼玉県内20地点、環境基準類型AA～Cに該当する環境基準点において、調査を実施し、現場測定項目、水質分析項目とD-GHGsとの関係を解析した。その結果、図1.6に示すとおり、環境基準類型がAAからCに低下するに従いDO濃度が低下し、それに伴いD- N_2O 濃度が増加する傾向が見られた。特に環境基準類型Cの河川において、DO濃度が約8 mg/L以下に低下した際にD- N_2O 濃度が急激に高くなる傾向が見られた。

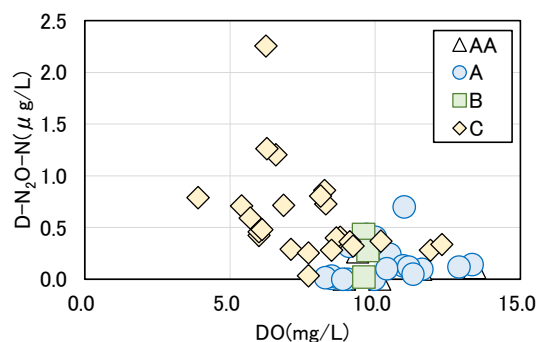


図1.6 河川環境基準類型別DO濃度とD- N_2O -N濃度の関係

1.2 下水道処理後排水を起源とした河川でのGHGs生成状況

次に、埼玉県内の下水道終末処理場A～Cの処理後排水が放流される河川 α ～ γ を対象に詳細な調査を行った。調査地点の特徴を表1.1に示す。河川 β における河川流下方向に対する窒素量の挙動を図1.9に示す。この結果から、本対象河川の調査範囲では、河川流下方向に対し、 NO_3 -NやT-N濃度の大きな減少は認められず、また、河川 α ではDOが過飽和で存在していたことから、本研究対象河川である河川 α では脱窒反応はほとんど進行せず、生成されたD- N_2O は主に硝化反応に由来するものと考えられた。一方、この処理後排水には処理場内で生成したD- N_2O が過飽和状態で残存していた。そのため、放流先河川において処理後排水に含まれる NH_4 -N等窒素成分から生成された N_2O 量を正確に把握するには、処理後排水に残存しているD- N_2O 量を差し引く必要があると考えられた。そこで、室内脱気試験により、過飽和濃度のD- N_2O を含む処理後排水を対象

表1.1 下水道処理後排水および河川の流量と特徴

	放流量 (m^3/h)	河川水 量(m^3/h)	処理方式	環境基準 類型指定
下水道終末処理場A	706	—	OD法	—
下水道終末処理場B	1144	—	標準活性汚泥法	—
下水道終末処理場C	1020	—	標準活性汚泥法	—
河川 α	—	1,465	—	B
河川 β	—	1420	—	A
河川 γ	—	589	—	C

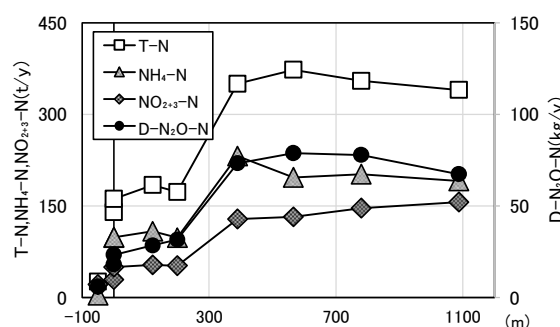


図1.9 河川 β 流下方向における各態窒素量とD- N_2O -N量の変化

に、流速を変化させることにより、N₂Oが大気中へ脱気する速度を算出した。結果は、図1.10に示す通り、処理後排水に含まれるD-N₂Oは、河川へ放流された後、D-N₂O濃度と流速に比例し脱気速度が変化し、ガス態N₂Oとして大気中に放出されると考えられた。この結果から初期D-N₂O-N当たりの脱気速度(1)式を得た。

$$\frac{V}{C_0} = 0.0207X + 0.0034 \quad \dots \text{式(1)}$$

ここで、V : 初期脱気速度 (μg/L・min)、Co : 初期D-N₂O-N濃度 (μg/L)、X : 流速 (m/s) である。

上記の結果を元に、河川流下方向に対する実測D-N₂O-N量に、上記式(1)を元に算定した脱気D-N₂O-N量を加算した結果を図1.13に示す。また、この実測+脱気D-N₂O-N量から、0m地点として示した河川水+処理後排水に残存していたD-N₂O-N量を差し引いたD-N₂O-N量を河川の硝化反応で生成したD-N₂O-N量とした。この結果をもとに、処理後排水に含まれるNH₄-Nを起源に、環境基準類型B, Aの河川α, βでの硝化由来D-N₂O-N排出係数を式(2)より算出した。本実験における硝化由来のD-N₂O-N排出係数は、河川α, β平均で0.0020 (kg-D-N₂O-N/kg-NH₄-N)と試算された。

$$\text{河川での硝化由来 D-N}_2\text{O-N排出係数 (kg-N}_2\text{O-N/kg-NH}_4\text{-N)} = \frac{\text{河川の硝化反応で生成した D-N}_2\text{O-N量 (kg-N}_2\text{O-N/年)}}{\text{処理後排水に含まれる NH}_4\text{-N量 (kg-NH}_4\text{-N/年)}} \quad \dots \text{式(2)}$$

本研究で調査した河川α~γにおけるDO濃度とD-N₂O-N濃度の関係を図1.16に示す。この結果から図1.6と同様、河川環境基準類型C、DO濃度が約8 mg/L以下になった場合に、D-N₂O-N濃度が急激に増加している現象が認められた。図1.17, 1.18は調査河川におけるNO₂-N濃度、NH₄-N濃度とD-N₂O-N濃度の関係を示す。NO₂-N濃度に対してD-N₂O-N濃度は、正の相関があり、一定の割合でN₂O生成がなされており、その一部は非生物学的な反応でN₂Oが生成されるという報告もなされている。一方、NH₄-N濃度に対しては、それぞれ正の相関が見られたものの、NH₄-Nに対するD-N₂O-Nの割合は一定ではない。既往研究からDO濃度が低濃度であるとNO₂⁻酸化反応が停滞し、NO₂⁻が蓄積しN₂Oが生成される結果が報告されている。すなわち、河川におけるNH₄-Nを起源とした硝化反応において、河川DO濃度の低下により硝化反応が阻害されることに伴いNO₂-Nが生成され、それに伴い、

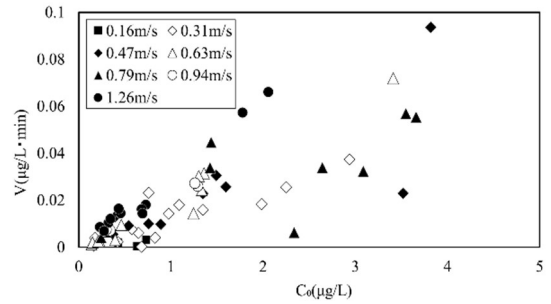


図1.10 初期D-N₂O-N濃度 C₀ と初期脱気速度Vの関係

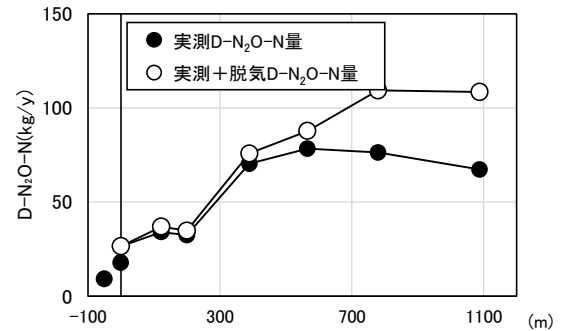


図1.13 河川βにおける実測D-N₂O-N量と実測+脱気D-N₂O-N量

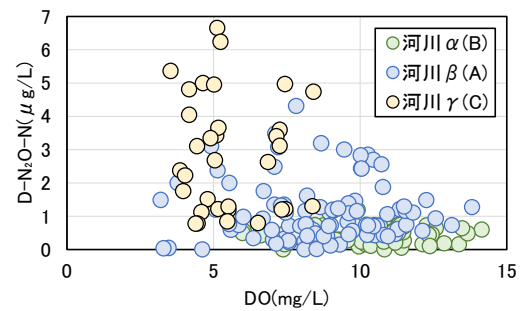


図1.16 調査各地点におけるDOとD-N₂O-Nの関係

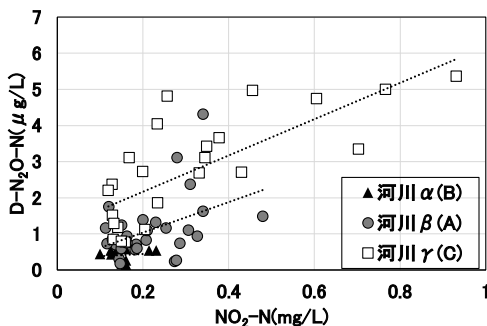


図1.17 調査各地点におけるNO₂-NとD-N₂O-Nの関係

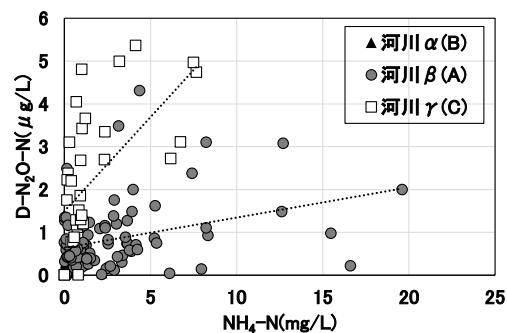


図1.18 調査各地点におけるNH₄-NとD-N₂O-Nの関係

N₂Oの生成が増大したと考えられた。この結果をもとに河川環境基準類型Cの河川γを対象に、処理後排水に含まれるNH₄-Nを起源に河川での硝化由来D-N₂O-N排出係数は、0.0040(kg-D-N₂O-N/kg-NH₄-N)と試算され、環境基準類型Cの河川γにおける硝化由来の排出係数は河川αと比較し約2倍高い値となった。

本実験では、処理後排水および河川に残存するD-N₂O量を差し引くと共に、河川環境を考慮し、下水道処理後排水を起源とした河川での硝化由来D-N₂O排出係数を開発した。そのため、処理後排水を起源に自然界での分解に伴い生成されるGHGs排出量の算定には、サブテーマ2で対象とした処理後排水に残存するD-N₂O量および処理後排水に残存するNO₂₊₃-Nおよび河川での硝化反応に伴い生成されるNO₂₊₃-Nを起源に、河川下流での脱窒反応に伴い生成されるN₂O量を別途算定し加算する必要がある。

1.3 下水道処理後排水を起源としたGHGs排出量算定方法の開発

上記で示した下水道処理後排水を起源とした自然界の分解に伴うN₂O排出量の算定方法を表1.4の通り整理した。なお、黄色枠で示した箇所が本研究で開発した算定方法である。

表1.4 下水道処理後排水を起源としたN₂O算定方法

	排水処理方式	処理施設N ₂ O排出		処理後排水残存N ₂ O		河川環境	処理後排水由来N ₂ O	
		EF0	活動量	EF1	活動量		EF2+3	活動量
IPCC G.L. Default (2006)				考慮されていない		IPCC G.L. Default (2006)	考慮されていない 硝化由来 5 g-N ₂ O-N/kg-N (脱窒由来)	排水処理量 × 放流T-N濃度
IPCC G.L. Default (2019)				考慮されていない		IPCC G.L. Default (2019)	清澄な河川 5 g-N ₂ O-N/kg-N	排水処理量 × 放流T-N濃度
	標準活性汚泥法	0.090	排水処理量 (m ³)	EF0 × 0.48	排水処理量 (m ³)	富栄養化河川	19 g-N ₂ O-N/kg-N	排水処理量 × 放流T-N濃度
	嫌気好気活性汚泥法	0.019					2 g-N ₂ O-N/kg-NH ₄ -N (硝化由来)	排水処理量 × 放流NH ₄ -N濃度
	嫌気無酸素好気法・循環式硝化脱窒法	0.007					5 g-N ₂ O-N/kg-N (脱窒由来) IPCC(2006)準拠	排水処理量 × 放流T-N濃度
	循環式硝化脱窒型膜分離活性汚泥法	0.0003					4 g-N ₂ O-N/kg-NH ₄ -N (硝化由来)	排水処理量 × 放流NH ₄ -N濃度
							5 g-N ₂ O-N/kg-N (脱窒由来) IPCC(2006)準拠	排水処理量 × 放流T-N濃度

1.4 処理施設由来と処理後排水由来GHGsを併せた排水管理全体のGHGs排出モデルの構築と削減方策

下水道処理施設由来(直接発生)と本研究で開発した算定方法を元にした処理後排水由来(間接発生)を併せ、単位汚水処理量当たりのGHGs排出量に換算することで、排水管理全体でのGHGs排出モデルを構築した。現在、下水道の直接発生に適用されている4種の処理方式に区分し、それぞれGHGs排出量を算出し、積算した結果を図1.31に示す。GHGs排出量が最も大きかったのは③嫌気無酸素好気法及び循環式硝化脱窒法であり、これは最も小さかった②嫌気好気活性汚泥法に比べて約1.3倍となった。これらの結果は、高度処理により窒素除去を行う処理方式では、処理場内直接発生のCH₄、N₂O排出量が抑えられるのに対し、その減少量を上回る電力由来CO₂が排出されることで、下水道システム全体のGHGs排出量が大きくなることを示している。一方、電力由来のCO₂排出量の差が少ない①標準活性汚泥法と②嫌気好気活性汚泥法、③嫌気無酸素好気法及び循環式硝化脱窒法と④循環式硝化脱窒型膜分離活性汚泥法をそれぞれ比べると、下水道システム全体からのGHGs排出量は高度処理である②嫌気好気活性汚泥法、④循環式硝化脱窒型膜分離活性汚泥法の方が小さいことが明らかとなった。これらの結果は、高度処理において、電力由来のCO₂を除いた場合、直接発生・間接発生共に下水道システム全体からのGHGs排出量が少ないことを示している。現在、日本のGHGs削減目標である2050年カーボンニュートラルの考え方に則り、エネルギー起源CO₂排出量を実質ゼロと仮定し、非エネルギー起源GHGs排出量のみを比較した場合には、直接発生・

間接発生共に、高度処理化により、非エネルギー起源GHGs排出量は減少することになる。そのため、その場合の処理方式別GHGs排出量は、④循環式硝化脱窒型膜分離活性汚泥法<③嫌気無酸素好気及び循環式硝化脱窒法<②嫌気好気活性汚泥法<①標準活性汚泥法となる。

GHGs排出量の算定は排出係数に活動量を乗じて求められる。すなわち、下水処理後排水を起源とし、河川から排出されるGHGs排出量を削減する方法は、排出係数を小さくする方法と活動量を小さくする方法に分けることができる。環境基準点による調査(図1.6)においても、河川 α ~ γ での調査(図1.16)においても、環境基準類型C以下、河川DO濃度が約8 mg/L以下において、 N_2O 生成の増大が確認されている。すなわち、環境基準類型B以上の

河川環境では、処理後排水に含まれる NH_4-N を起源とした硝化反応が速やかに進行し、 N_2O 生成が抑制される。一方、環境基準類型C以下の場合、DO濃度が低濃度となる場合が多く、 NH_4-N の硝化反応が滞り、副生成物である N_2O が生成され易い環境となる。すなわち、排出係数を小さくするには、河川を清澄に保つことでDOの消費を抑制し、河川水中のDO濃度を高濃度に維持することで、 N_2O の生成を抑制することである。そのためには、高度処理化による下水道処理施設から河川への汚濁負荷低減の他、河川維持管理作業による定期的な河床の清掃、水生植物等によるDO供給などにより、河川のDO濃度を高濃度に維持するとともに、河川環境基準をB以上のカテゴリーへ移動することが重要となる。2017年には、下水道終末処理場の高度処理化等の推進により、東京都内から河川環境基準類型Eが無くなり、AA、Aが増加した事例がある。一方、活動量を小さくするには、下水道終末処理場の高度処理化により処理後排水に含まれるBOD等有機物の他、 NH_4-N 量、T-N量の削減が求められる。すなわち、下水道終末処理場の高度処理化は、下水処理過程からの直接発生、処理後排水を起源とした河川での間接発生からのGHGs排出量を同時に削減できることになり、50%以上の削減が期待される。下水道終末処理場の高度処理化は、直接発生・間接発生からのGHGs排出量削減に相乗効果をもたらすと考えられる。

【サブテーマ2：下水処理プロセスからの溶存態GHGsの流出機構解明】(秋田工業高等専門学校)

サブテーマ2の目的は、下水処理プロセスから処理水の形で系外に流出するD-GHGの動態を明らかにするとともにその生成機構を解明し、これまで算定対象とされていなかった処理水由来のD-GHG排出量を算定する手法を開発することである。目的達成のため、異なるシステム構成の下水処理プロセスを対象に現地調査を実施し、反応槽から放流に至るD-GHGの時空間分布を明らかにした。さらに、生物反応槽および消毒プロセスにおけるD-GHGの生成機構の解明に取り組み、D-GHGの生成に寄与するプロセスと環境因子を明らかにした。得られた知見を統合し、D-GHGの排出量を算定する排出係数を開発した。さらに実処理場において、GHGs排出量を削減するための検討を行い、実際の下水処理プロセスにおける高度窒素除去とGHGs排出量の削減を可能にするモデルケースを示した。

2.1 GHGsの実態調査

D-GHGの動態を把握するため、ユニット構成が異なる5カ所の下水処理場において現地調査を実施した。現地調査においては、D-GHGに加え、G-GHGおよび水質に関する調査も行った。特にGHGsの生成に

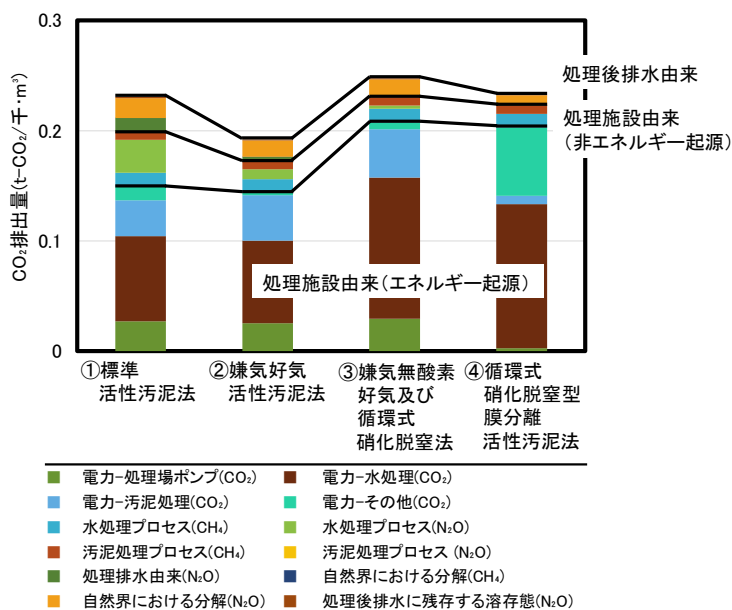


図 1.31 各下水処理方式における GHGs 排出量 (汚水量当たり, CO_2 換算)

寄与が大きいと考えられる反応槽においては、D-N₂OおよびG-GHG_s (G-CH₄、G-N₂O) の連続モニタリングを行うことで重点的に評価した。

各処理場におけるN₂O濃度の日平均値の月内変動を図2.2に示す。また日変動として、1ヵ月のデータについて同時刻の平均値を計算し、あわせて標準誤差をエラーバーとして示した結果を図2.3に示す。これより、N₂Oの濃度域や変動特性は処理場によって異なるものの、日変動については比較的高い再現性が確認された。これらの変動特性はシステム構成、流入負荷変動、無機態窒素の存在形態、DO濃度などの影響を受けていると考えられた。また、処理場固有の日変動を把握することで、現地調査における採水時間や頻度の最適化が可能になることが示された。

2.2 GHGs生成メカニズムの解明

図2.9に示すガストリップ型活性試験により、実処理場の活性汚泥を用いてN₂Oの生成活性試験を行った。図2.10に典型的な試験結果を示す。これより、曝気環境下においては、DOが1 mg/LかつNH₄⁺とNO₂⁻の共存下(Run C)の条件で最もN₂Oの生成が促進された。NH₄⁺とNO₂⁻の共存下においてDOが上昇した場合(Run B)、N₂Oの生成は抑制された。NO₂⁻が存在しない条件下(Run A)では、N₂Oの生成はさらに低下した。また、無酸素条件かつNO₂⁻と電子供与体添加条件(Run D)においては、開始直後にN₂O濃度の上昇が見られ、比較的短時間で減少した。

N₂Oの生成活性を単位生物量 (MLVSS) かつ1時間あたりのN₂O生成量と定義した。3ヵ所の下水処理場の活性汚泥のN₂O生成活性を比較した結果を図2.12に示す。これより、A処理場とC処理場では、Run Dの生

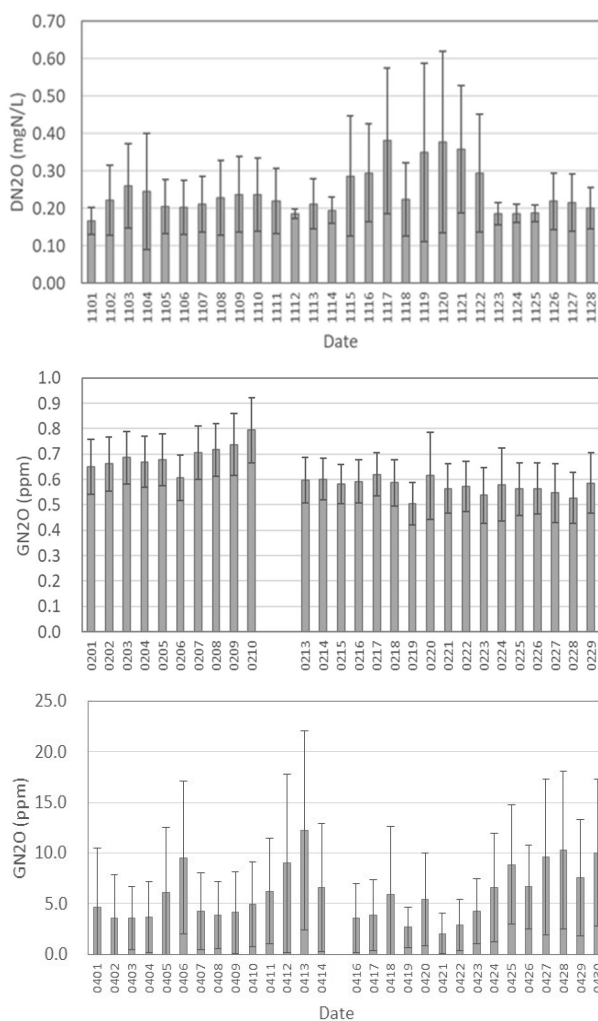


図2.2 各処理場における月内変動（上：A処理場、中央：B処理場、下：C処理場）

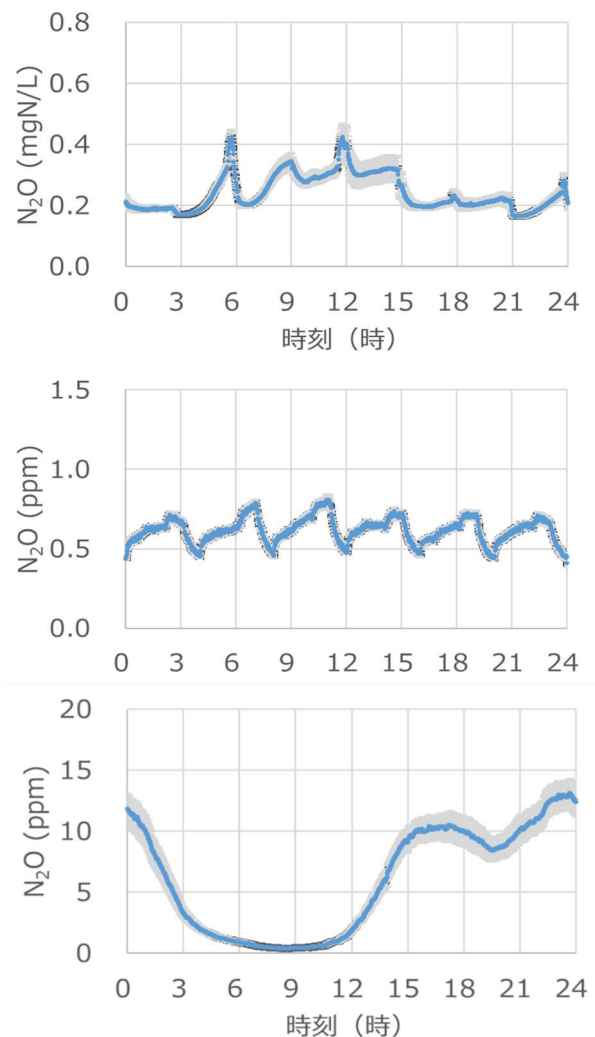


図2.3 各処理場における日内変動（上：A処理場、中央：B処理場、下：C処理場、灰色は標準誤差）

実験の基本デザイン

- ✓ 汚泥洗浄(蒸留水置換)
- ✓ BOD希釈水置換, pH調整(7.0)
- ✓ 温度一定(20°C), 基質投入
- ✓ 曝気ガスを定時サンプリング
- ✓ N₂O分析(GC-ECD)

系	基質	酸素条件	想定経路
A	NH ₄ ⁺	DO>8.0 mg/L	硝化
B	NH ₄ ⁺ + NO ₂ ⁻	DO>8.0 mg/L	硝化(NO ₂ あり)
C	同上	DO=1.0 mg/L	低DO硝化脱窒
D	NO ₂ ⁻ + 酢酸	無酸素	従属栄養脱窒

図2.9 生物活性試験の基本デザイン

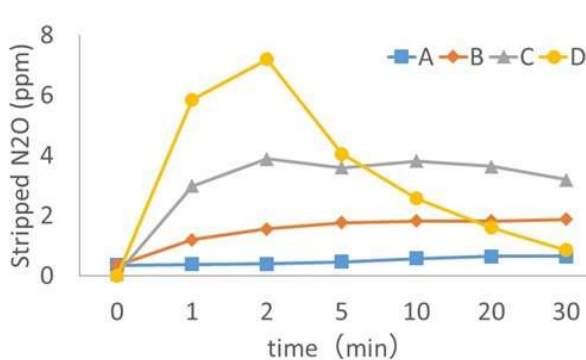


図2.10 活性試験における典型的な濃度プロファイル

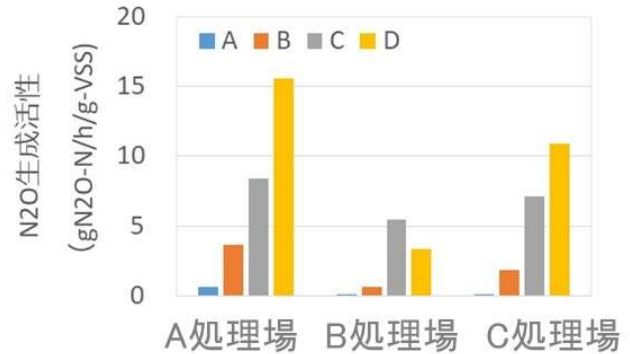


図2.12 異なる処理場におけるN₂O生成活性

成活性が若干A処理場で高いものの、Run A-D間の量的関係性は類似していた。一方B処理場についてはRun Dの生成活性がRun Cよりも低かった。その要因として、A処理場とC処理場はいずれも処理水に低濃度のNH₄⁺に加えてNO₃⁻も残存しており、それにより当該処理場の活性汚泥には相対的に高い脱窒活性が備わっていたと考えられる。一方で、B処理場は窒素の高度処理を行っている処理場であり、処理水にはNH₄⁺やNO₃⁻の残存もほとんど見られないことから、活性汚泥が有している脱窒活性が低く、それがRun Dにおいて低いN₂O生成活性が得られた要因と考えられる。B処理場は実際のN₂O発生量も低い処理場であったことから、N₂O生成量の低い下水処理場の活性汚泥は、N₂Oの生成活性の中でもとりわけ脱窒に関するN₂O生成活性が低いことが分かった。

なお現地調査およびラボ試験の結果、消毒プロセスにおいては塩素消毒におけるN₂O生成が認められたものの、その生成量は反応槽と比較して少量であった。また、紫外線およびオゾン処理に由来するGHGs生成は確認されなかった。

2.3 D-GHG排出係数の開発

現地調査の結果より、反応槽以降のD-GHGの濃度変化に関しては、N₂Oは反応槽と同程度が処理水に残存するのに対して、CH₄はほとんどが消失しており、処理水には残存していなかった。既往の見も含め、下水処理水中のD-GHG濃度分布を解析したところ、図2.19のようになった。中央値を基に各GHGsのCO₂当量を算出したところ、D-N₂OはD-CH₄の約83倍となり、N₂Oの寄与が大きいことが示された。

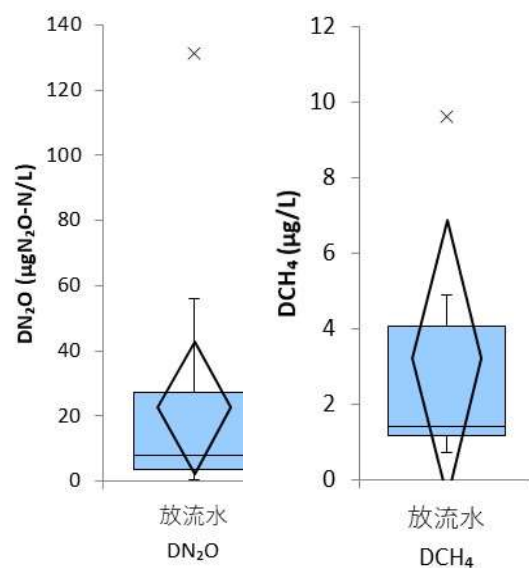


図2.19 下水処理水中のD-N₂OおよびD-CH₄分布

以上をふまえ、下水処理水由来のD-GHG_sとしてD-CH₄は算定対象から除外してD-N₂Oのみを対象とすることとし、排出係数：EF1は、反応槽におけるG-N₂O排出量に対する処理水中のD-N₂O排出量の比として定義した。既往の知見を含め、D-N₂OとG-N₂Oのフラックスの比率を図2.22に示す。ばらつきをふまえ中央値の値を採用すると、EF1は0.48となった。これはG-N₂O排出量に対するD-N₂O排出量の比率が0.48であることを意味すると同時に、全N₂O排出量に占めるD-N₂O排出量の割合が約32%に上ることを示している。

開発したEF1は、現在運用されているわが国のG-GHG_sの排出係数：EF0と連動して容易に実装が可能である。現在のEF0は流入量にEF0を乗じることでガス化量を算出している。そのため、ガス化量にEF1を乗じることで下水処理水を經由したD-N₂Oの排出量を算出することが可能になる。さらに、EF0の削減、すなわち反応槽でのGN₂Oの削減はそのままD-N₂Oの削減に直結する点も合理的であると考えられる。

2.4 GHG_s排出量の削減方策の提案

現地調査の対象としたA処理場において、特にN₂Oの排出量の削減を目的とした検討を行った。その結果、攪拌方法の違いにより、N₂O濃度を時空間的に制御できることを明らかにした。特に、無酸素エリアと適切なD₀濃度の好気エリアを同時に形成する攪拌方法では、74%の無機態窒素除去率と、0.31%の低いN₂O転換率を達成した。また、N₂Oの生成機構は流入下水水量の変動、およびD₀や有機物濃度の影響を特に強く受け、N₂Oの抑制には適切な無酸素エリアの形成と、流入下水中に含まれる有機物の有効利用によるN₂O還元促進の促進が重要と考えられた。得られた知見を基に、A処理場における高度窒素除去とN₂O抑制を可能にする運転方法を提案することで、実処理場におけるGHG_s削減のモデルケースを示した。

【サブテーマ3：安定同位体を用いたN₂O生成ポテンシャル評価と機構解明】

サブテーマ3の目標は、サブテーマ1および2で評価される排水処理施設および処理水放流後の河川から排出されるN₂O生成量や算定するN₂Oの排出係数に関して、学術的な根拠を提供することである。具体的には、排水処理施設の処理水がどのように河川底質の微生物叢に影響を及ぼしているかを理解し、N₂O生成メカニズムを提案することを目指した。そのため、サブテーマ3では、嫌気条件下において精緻にN₂O生成・N₂O消費速度を検出するための手法確立を行った。次に、大規模都市河川（多摩川）および小規模河川（サブテーマ1の河川α）を選定し、生活排水処理施設からの放流水が河川底質のN₂Oの生成・消費に関わる活性や微生物叢に及ぼす影響を評価した。

3.1 ¹⁵Nトレーサー法による脱窒条件下での真のN₂O生成とN₂O消費活性の手法開発

従来の¹⁵Nトレーサー法を応用し、脱窒反応における真のN₂O生成・消費速度の同時定量を行える手法の開発を行った。純粋培養系の3種類の脱窒細菌*Azospira* sp. strain I13、*Alicyclicophilus denitrificans* strain I51、*A. oryzae* strain PSをそれぞれ封入したバイアル瓶に¹⁵Nの安定同位体で標識した硝酸イオン（¹⁵NO₃⁻）と分子量44のN₂Oを脱窒細菌に供給し、窒素化合物の動態を追跡した（図3.1）。ヘッドスペース中のN₂およびN₂Oの同位体（²⁹N₂、³⁰N₂、⁴⁴N₂O、⁴⁵N₂O、⁴⁶N₂O）濃度を経時的に測定し、図3.1に示す式より、真のN₂O生成速度と真のN₂O消費速度を査定した。分子量の異なるN₂OとN₂濃度を追跡した結果、真のN₂O生成・消費速度の定量に成功した（図3.7）。また、同じ遺伝子型の脱窒細菌でも、真のN₂O生成速度と真のN₂O消費速度の絶対値やこれらの速度比が大きく異なることが観察され、種類によってN₂O生成が優先する種、N₂O消費が優先する種が存在することを明らかにした。

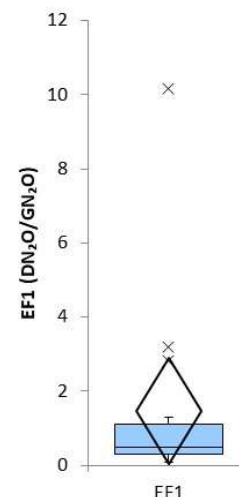


図2.22 EF1の箱ひげ図

サンプル数=15、平均値=

1.46、最小値=0.09、中央値=

0.48、最大値=10.2、外れ値：

10.2、3.19、2.83

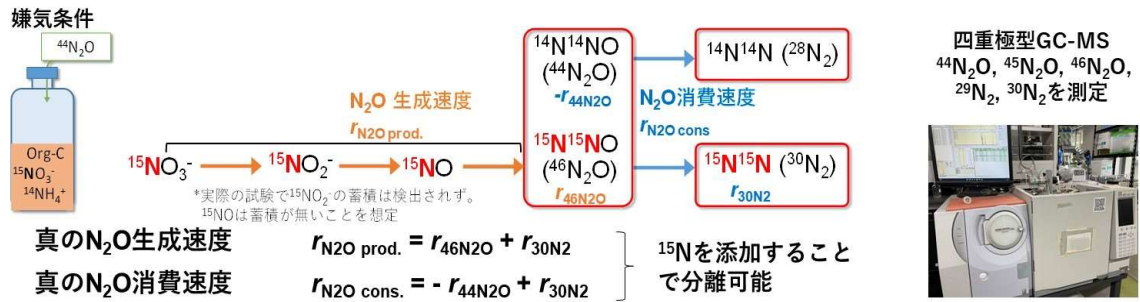


図3.1 新規 ^{15}N トレーサー法を用いた真の N_2O 生成と N_2O 消費の速度定量の概念図

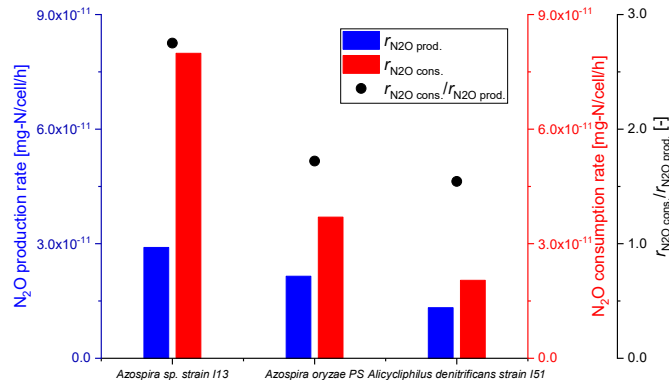


図3.7 新規 ^{15}N トレーサー法の適用による各脱窒細菌の真の N_2O 生成・消費速度の比較

3.2 バイアル試験による大規模河川底質の N_2O 消費活性評価

中流域に複数の生活排水処理施設が存在する大規模都市河川である多摩川をサンプリングサイトとして、河川底質の N_2O 生成や消費に関する試験を行った。大規模都市河川中流の排水処理施設の上部・下部を含めた9地点から、河川底質を採取した。採取した河川底質を用いた N_2O 消費活性試験、および16S rRNA遺伝子のアンプリコンシーケンスに基づく微生物叢解析、硝化・脱窒に関連する機能遺伝子の定量PCRによる硝化細菌・脱窒細菌の定量を行った。

河川底質の潜在的な N_2O 消費に関する活性評価とサンプリングサイトの水質との関連性を評価したところ、河川水中の硝酸イオン濃度の増大に伴い、 N_2O 消費活性が併せて増大し、強い正の相関が得られた(図3.9a)。一方、サンプリングサイトのアンモニア濃度は硝酸イオン濃度ほどの明確な相関関係が得られなかった(図3.9b)。構造方程式モデリングの結果、排水処理施設の処理水中に含まれる硝酸イオン濃度と河川水中の溶存 N_2O 濃度と N_2O 生成速度に強い相関が現れた(図3.14)。この結果より、大規模河川に合流する生活排水処理施設の処理水中の硝酸イオンが N_2O 生成の主要因になる可能性を示した。一方で、実環境では溶存酸素濃度が飽和に近く、硝酸イオンの脱窒による N_2O 生成・ N_2O 消費の活性は低く、脱窒による生活排水処理施設下流での N_2O 生成は極めて低いことが示唆された。

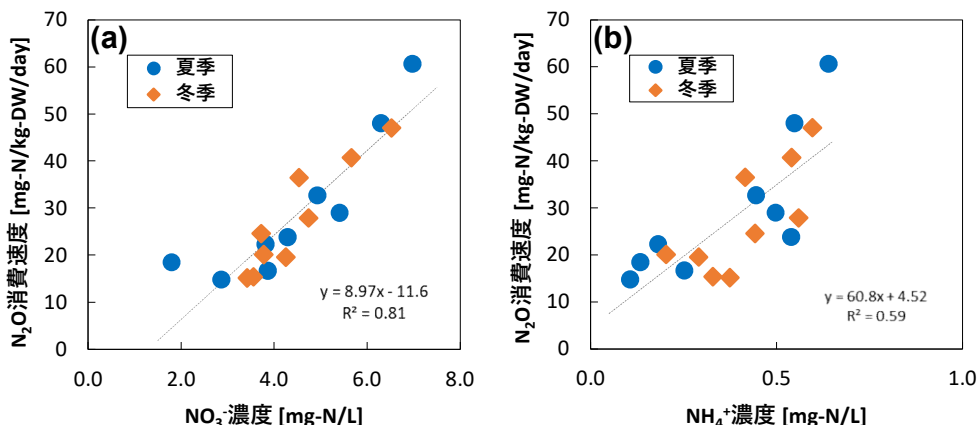


図3.9 大規模河川環境の(a) NO_3^- 濃度および(b) NH_4^+ 濃度と河川底質の N_2O 消費速度の相関性

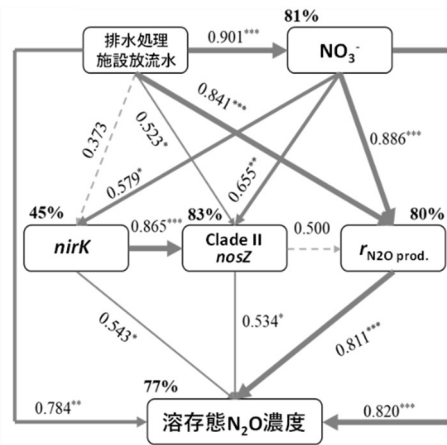


図3.14 構造方程式モデリングによる排水処理施設の放流水と大規模河川の溶存態 N_2O との関連性 (Zhou *et al.* の論文¹⁰⁾ の図を改変して転載)

3.3 河川底質の微生物叢解析による N_2O 生成・消費に関与する微生物群の同定・定量

アンモニア酸化細菌・古細菌の有するアンモニア酸化酵素をコードする機能遺伝子 *amoA*, *amoB* の定量に基づく結果、従来のアンモニア酸化細菌よりも完全アンモニア酸化細菌の機能遺伝子のコピー数が高くなった。これらの細菌群が N_2O 生成に関与している可能性を示唆した。また、16S rRNA遺伝子に基づく微生物叢と機能解析の結果(図3.13)、 N_2O 生成・消費に関する微生物群を(1) N_2O 生成のみに関与する微生物；(2)脱窒反応に関与する全ての機能を保有し、 N_2O 生成・消費の双方に機能しうる微生物；(3)亜硝酸還元もしくは一酸化窒素(NO)還元能が欠損しており、 N_2O 消費に関与する微生物、の3つに分類し、それぞれのグループの主な細菌群の同定に成功した。

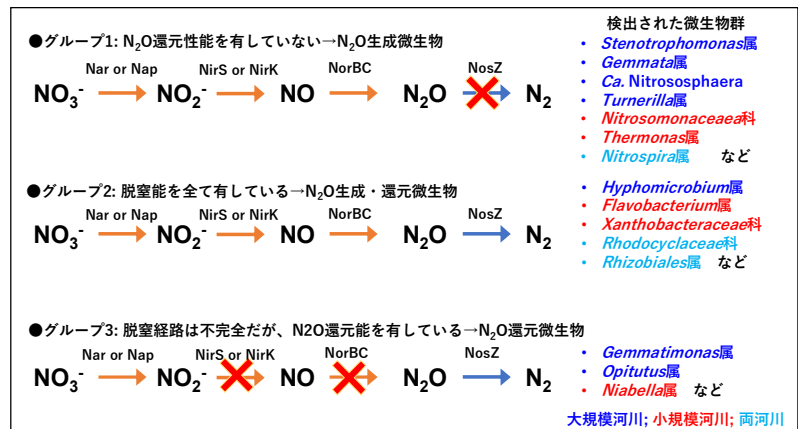


図3.13 河川底質で検出された N_2O 生成・還元微生物群の分類と同定された微生物群

3.4 バイアル試験による小規模河川底質の N_2O 生成・消費活性評価

小規模河川(サブテーマ1の河川 α)を対象に、流域に存在する生活排水処理施設の放流口の上流・下流の底質の N_2O 生成および N_2O 消費活性と、微生物叢の解析を行った。処理水放流口の下流では、 N_2O 生成活性および N_2O 消費活性の双方が高くなることを確認した。この結果より、生活排水処理施設の処理水が河川へ流入することにより、潜在的な脱窒活性が高くなる可能性を示唆した。また、下流に向かうにつれて嫌気条件での N_2O 生成速度が増加することも明らかになった(図3.15)。

次に、各サンプリングサイトの底質の潜在的な硝化活性と、その副生成物として検出される累積 N_2O 排出ポテンシャルを排出係数として定量した。約2週間の回分試験を通して、生活排水処理施設の放流口出口で最も高い硝化ポテンシャルを有することが明らかになった(図3.16)。アンモニア酸化による N_2O 排出係数が最も高くなったのは、⑧合流6であった。また、河川上流ではアンモニアから変換される硝酸イオン濃度が最も低く、河川上流の底質が有するアンモニア酸化活性は低いことが示唆された。以上より、河川底質の潜在的なアンモニア酸化反応の進行による N_2O 生成は、排水処理施設の処理水放流口の下流で起こることを示唆した。サブテーマ1の実地データと照らし合わせると、河川底質の N_2O 生成・消費能力は潜在的に高いものの、実環境ではアンモニア濃度が低く、溶存酸素が高いことにより、硝化からの N_2O 生成が限定されていることが示された。また、河川での脱窒由来の N_2O 生成は、潜在的な能力を発揮する嫌気条件が河川底質の深部に限定されていることから、実際の N_2O 生成は少なくなることを示した。

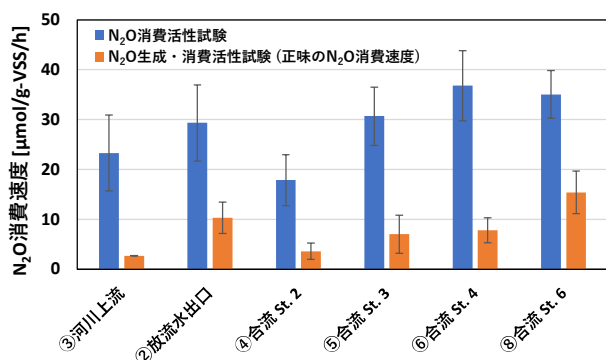


図3.15 小規模河川の底質サンプルを用いた
N₂O生成・消費速度：真と正味のN₂O消費活性

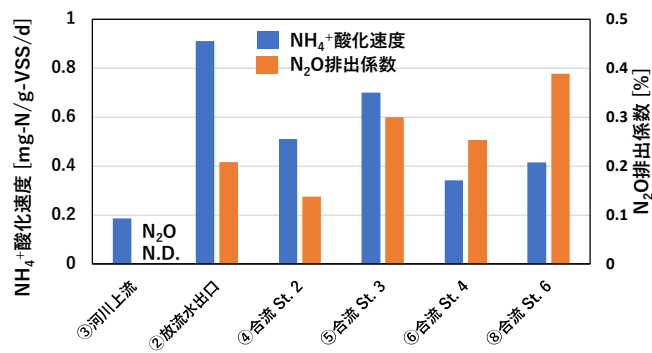


図3.16 小規模河川の底質が有する
NH₄⁺酸化速度とN₂O排出係数

3.5 小規模河川の底質の微生物叢解析によるN₂O生成・還元微生物の同定・定量

硝化微生物の存在量を示す遺伝子コピー数に着目した結果、最も高いコピー数を示したのは完全アンモニア酸化細菌の遺伝子 *amoB* であった。また、従来のアンモニア酸化細菌の機能遺伝子 *amoA* (Bacterial *amoA*) およびアンモニア酸化古細菌の遺伝子 *amoA* (Archaeal *amoA*) の存在量は同等であった。また、*amoB* は放流水合流地点やその下流で高いコピー数が得られた。Bacterial *amoA* は、合流地点で最も高いコピー数が得られた。これらの機能遺伝子の転写遺伝子数は機能遺伝子の存在量と類似する結果となった。

また、16S rRNA 遺伝子の微生物叢解析を行った結果、N₂O 生成に関与する微生物群として、アンモニア酸化古細菌として知られる *Ca. Nitrosphaera* 属や、完全アンモニア酸化細菌および亜硝酸酸化細菌として知られる *Nitrospira* 属が検出された。これらの微生物群はDNAおよびcDNAの双方で検出されたため、規模に拘わらず河川に生息して、アンモニア酸化に関与するとともに、副生成物としてN₂O生成を行っている可能性が裏付けられた。さらに、大規模都市河川および小規模河川の微生物叢解析を統合した結果、N₂O生成のみに寄与する共通する細菌の分類群として *Nitrospira* 属、N₂O生成・N₂O消費の双方に関連する共通の細菌の分類群として、*Rhodocyclaceae* 科、*Rhizobiales* 属を同定した。一方、N₂O消費のみに寄与する細菌の分類群として *Niabella* 属を同定した。N₂O消費のみを専属的に行う種に関しては、河川環境に影響を受けて河川ごとに異なる可能性を示唆した。

5-2. 環境政策等への貢献

本研究では、科学的検証を踏まえた独自の排出係数を開発するために、下水処理過程および下水道処理後排水からのGHGs排出調査（サブ2）および下水道終末処理場、浄化槽からの処理後排水が放流される河川、水路等からのGHGs排出調査を通じ（サブ1）、GHGs排出に影響を及ぼす項目について抽出を行った。下水処理方式の違いに着目した下水道処理後排水に残存する溶存態（D-）GHGs、下水道処理後排水の水質バランスおよび放流河川の環境条件に着目した河川で生成するGHGs等から精緻な排出係数を開発し提案した。また、安定同位体と遺伝子解析を組み合わせた手法により、N₂Oの生成速度と消費速度を加味した真の速度の評価から、河川でのGHGs排出メカニズムを排出係数の妥当性評価を行った（サブ3）。

これらの結果を元に、日本国温室効果ガスインベントリへの早期反映を目指し、我が国の実態を反映した温室効果ガス排出係数および排出量算定の方法論を提案してきている。これまでに、環境省温室効果ガス排出量算定方法検討会廃棄物分科会に参加し、また本研究の成果を資料として提出し、議論を進めてきた。

また、エネルギー起源を含む処理施設で排出されるGHGs（直接発生）と本研究で開発した処理後排水由来のGHGs（間接発生）を合わせた排水管理全体のモデルを構築し、トレードオフを考慮した排水管理全体におけるGHGs排出削減に関する提案を行い、削減方策の方向性を併せて示した。

<行政等が既に活用した成果>

本研究成果である処理後排水由来GHGsの温室効果ガス排出量算定方法に関して、日本国温室効果ガスインベントリへの早期反映を目指し、研究実施期間中より、以下の環境省温室効果ガス排出量方法検討会廃棄物分科会に参加し、研究進捗として資料提供と共に内容を報告し、事前理解を頂いてきた。

- 2019年11月12日 環境省令和元年度温室効果ガス排出量算定方法検討会第1回廃棄物分科会
- 2020年11月25日 環境省令和2年度温室効果ガス排出量算定方法検討会第1回廃棄物分科会
- 2021年11月 5日 環境省令和3年度温室効果ガス排出量算定方法検討会第1回廃棄物分科会
- 2022年 1月17日 環境省令和3年度温室効果ガス排出量算定方法検討会第2回廃棄物分科会

<行政等が活用することが見込まれる成果>

下水道分野、浄化槽分野に分け、エネルギー起源を含む処理施設で排出されるGHGs（直接発生）と処理後排水由来のGHGs（間接発生）を合わせた排水管理全体のモデルを構築し、トレードオフを考慮した排水管理全体におけるGHGs排出削減に関する提案を行い、本研究で開発した処理後排水由来のGHGs排出量算定方法が日本温室効果ガスインベントリに反映された場合においても、下水道、浄化槽の各分野におけるGHGs排出量削減のための方策を併せて示した。

5-3. 研究目標の達成状況

本研究では、処理後排水や未処理排水における水質の違い、処理施設の処理方式等による放流水中の有機物・窒素の濃度や化学形態、構成割合の違いを明らかにすると共に、GHGs排出ポテンシャル評価や現地調査を踏まえ、未処理排水、処理後排水由来で、公共用水域から排出されるGHGsについて、我が国独自の排出係数を開発する、という研究目標に対し、サブテーマ1では、下水処理場排水が放流される河川等の調査を通じ、GHGs排出に影響を及ぼす主要なパラメータとして、下水道処理後排水を構成する成分である $\text{NH}_4\text{-N}$ が影響を及ぼすこと、処理後排水に残存するD-GHG_sや脱気量を考慮することにより河川で生成されるGHGsを正確に定量すること、および下水道処理後排水が放流される河川の環境条件として、河川環境基準類型C以下の河川において、DO濃度約 8 mg/L以下で N_2O 生成量が增大することを明らかにし、排出係数の開発に繋げた。上記にて開発した排出係数を踏まえたGHGs排出量の算定方法を我が国に適した形に改良・提案し、これらの算定方法を元に、処理施設由来と放流水由来を併せた排水管理全体のGHGs排出モデルを構築し、ライフサイクル全体での排出削減方策について提案するという研究目標に対し、下水道、浄化槽における排水管理全体（汚水処理施設+放流河川からのGHGs）に係るGHGs排出源を整理し、我が国独自の排出係数および排出量算定方法を提案すると共に、排水管理全体のGHGs排出モデルを構築し、総合的なGHGs排出量削減方策を提案した。以上の達成状況から、サブテーマ1の研究目標に対し、目標通りの成果をあげたと考えている。

また、これまで見落とされていた処理施設からの下水道処理後排水に残存する溶存態（D-）GHGsの排出係数を開発するという研究目標に対し、サブテーマ2では、複数の実処理場でのGHGsの動態を明らかにするとともに、下水処理プロセス内におけるGHGsの生成機構に関する検討を行い、反応槽および消毒プロセスにおけるGHGsの生成機構を明らかにした。また得られた知見を基に、下水道処理後排水に残存するD-GHG_sの排出量を算定する排出係数を開発した。さらに実処理場におけるGHGs削減に関する取り組みを行い、GHGs排出量削減のモデルケースを示した。以上の達成状況から、サブテーマ2の研究目標に対し、目標を上回る成果をあげたと考えている。

さらに、上記、排出係数開発に当たり、水環境中の $\text{CH}_4 \cdot \text{N}_2\text{O}$ の挙動について、化学的・生物学的なメカニズムを併せて解明することで、学術的知見の集積と排出係数の妥当性評価に活用するという研究目標に対し、サブテーマ3では、 ^{15}N トレーサー法を用いた脱窒工程での真の N_2O の生成・消費速度の算定方法を確立し、小規模排水処理施設の処理水が放流される河川の上流・下流の底質サンプルから、河川底質の保有する N_2O 生成・消費の活性を定量することに成功した。さらに、 N_2O 生成と消費を担う微生物を同定した。特に、2015年に発見された完全アンモニア酸化細菌が河川底泥で検出された。また、 N_2O 生成のみに関与する脱窒細菌、 N_2O 生成・消費双方に関与する脱窒細菌、 N_2O 消費のみに関与する非

脱窒細菌など、 N_2O 生成・消費に関わる細菌群の同定に成功した。これらの化学的・生物学的な知見を元に、サブテーマ1の現場調査結果と照会した結果、実際の河川では、溶存酸素濃度は飽和濃度に近いため、これらの消費活性が十分に行われず、不十分な硝酸イオンの還元やアンモニアの酸化による N_2O 排出があることを示した。以上の達成状況から、サブテーマ3の研究目標に対し、目標通りの成果をあげたと考えている。

以上の達成状況から、全体研究目標に対し、目標どおりの成果をあげたと考えている。

6. 研究成果の発表状況

6-1. 査読付き論文

<件数>

7件

<主な査読付き論文>

- 1) 柿島隼徒、塩原拓実、蛭江美孝、山崎宏史：浄化槽放流水および放流先水路における温室効果ガス CH_4 ・ N_2O の排出特性，日本水処理生物学会誌【投稿中】
- 2) Hiroshi Yamazaki, Ayaka Kagamu, Kenta Kezuka, Akito Murano, Yoshitaka Ebie : Development of emission factors for N_2O derived from nitrification in sewage-treated water in rivers, Water Science and Technology【投稿中】
- 3) K. Oba, T. Suenaga, M. Kuroiwa, S. Riya, A. Terada: Exploring the functions of efficient canonical denitrifying bacteria as N_2O sinks: Implications from ^{15}N tracer and transcriptome analyses, Environmental Science and Technology【投稿中】
- 4) 大友 渉平, 柴田 悟, 李 玉友, 高階 史章, 宮田 直幸, 増田 周平：土木学会論文集G（環境）77（7）：71-82, 攪拌方法の最適化による 無終端水路反応槽における N_2O 排出抑制戦略 —実処理場での連続測定と実証試験—
- 5) S. Masuda, T. Sato, I. Mishima, C. Maruo, H. Yamazaki, O. Nishimura: Journal of Environmental Management, 112621 (2021) Impact of Nitrogen Compound Variability of Sewage Treated Water on N_2O Production in Riverbeds. (IF:6.789)
- 6) Y. ZHOU, R. TOYODA, T. SUENAGA, T. AOYAGI, T. HORI, A. TERADA: Water Res. 216, 118276 (2022) Low nitrous oxide concentration and spatial microbial community transition across an urban river affected by treated sewage. (IF:11.236)
- 7) Shohei Otomo, Akihiko Terada, Yu-You Li, Kazuya Nishitoba, Fumiaki Takakai, Kunihiro, Okano, Naoyuki Miyata, Shuhei Masuda : Journal of Water and Environment Technology, 19(3):139-152(2021) Long-term assessment of N_2O emission factor in full-scale oxidation ditch reactor considering spatiotemporal distribution. (CiteScore:1.6)

6-2. 知的財産権

特に記載すべき事項はない。

6-3. その他発表件数

査読付き論文に準ずる成果発表	0 件
その他誌上発表（査読なし）	2 件
口頭発表（学会等）	25 件
「国民との科学・技術対話」の実施	6 件
マスコミ等への公表・報道等	3 件
本研究に関連する受賞	2 件

7. 国際共同研究等の状況

特に記載すべき事項はない。

8. 研究者略歴

研究代表者

山崎 宏史

東北大学大学院工学研究科土木工学専攻博士課程後期修了、博士（工学）、アムズ株式会社、財団法人茨城県薬剤師会公衆衛生検査センター、現在、東洋大学理工学部都市環境デザイン学科 教授

研究分担者

1) 村野 昭人

大阪大学大学院工学研究科環境工学専攻修了、博士（工学）、現在、東洋大学理工学部都市環境デザイン学科 教授

2) 青木 宗之

東洋大学大学院工学研究科環境・デザイン専攻博士後期課程修了、博士（工学）、現在、東洋大学理工学部都市環境デザイン学科 准教授

3) 蛭江 美孝

筑波大学農学研究科修了、博士（農学）、現在、国立環境研究所資源循環領域 主幹研究員

4) 小野寺 崇

長岡技術科学大学大学院工学研究科修了、博士（工学）、日本学術振興会特別研究員、現在、国立環境研究所地域環境保全領域 主任研究員

5) 増田 周平

東北大学大学院工学研究科修了、博士（工学）、仙台市役所、東北大学GC0Eフェロー、現在、秋田工業高等専門学校創造システム工学科土木・建築系 准教授

6) 寺田 昭彦

早稲田大学大学院理工学研究院修了、博士（工学）、デンマーク工科大学環境工学科博士研究員、現在、東京農工大学大学院工学研究院 教授

II. 成果の詳細

II-1 環境中に放流される有機性排水を起源とするGHGs 排出量算定方法の開発と排出削減方策の研究

サブテーマリーダー	東洋大学工学部都市環境デザイン学科	山崎 宏史
研究分担者	東洋大学工学部都市環境デザイン学科	村野 昭人
研究分担者	東洋大学工学部都市環境デザイン学科	青木 宗之
研究分担者	国立研究開発法人国立環境研究所資源循環領域	蛭江 美孝
研究分担者	国立研究開発法人国立環境研究所地域環境保全領域	小野寺 崇

[要旨]

現在、日本における生活排水処理分野から排出されるGHGs排出量は、IPCCガイドラインに準じ、排出係数に活動量を乗じて算定されている。下水道終末処理場および浄化槽から排出されるGHGs排出量は国内調査により算定方法が確立されているが、生活排水処理施設から河川等に放流される処理後排水を起源に自然界の分解に伴うGHGs排出量に関しては、国内調査事例が少なく、精緻なGHGs排出量算定方法開発に至っていない。そこで本研究では、生活排水処理施設の処理後排水あるいは未処理排水が放流され、流域負荷の影響が少ない河川・水路を対象に、GHGs生成に関する年間を通じた実測調査を行ない、処理後排水や未処理排水を起源に自然界での分解に伴い生成されるGHGs排出量算定方法の開発を目的とした。

その結果、処理後排水に含まれる窒素成分を起源に河川で生成した N_2O 量を正確に把握するには、処理場内で生成し処理後排水に残存する溶存態 N_2O 量を差し引く必要があること、 N_2O 生成量は放流先の河川環境として、環境基準類型C、DO濃度約 8 mg/L以下で増大すること等を明らかとした。また、これらの結果を元に、処理後排水に含まれる窒素成分を起源に河川の硝化反応に伴う排出係数を開発し、河川環境を踏まえた複数のGHGs排出量算定方法を開発した。また、検討したGHGs排出量算定方法を元に、下水道分野、浄化槽分野における排水管理全体（処理施設由来+放流水由来）に係るGHGs排出源を整理すると共に、排水管理全体のGHGs排出モデルを構築し、GHGs排出量削減方策を提案した。

1. 研究開発目的

処理後排水あるいは未処理排水が河川等水環境中に放流された後排出されるGHGsを明らかにするためには、未処理排水や処理方式等による処理後排水の有機物・窒素等の濃度や化学形態、構成割合の相違およびこれらの排水が放流される河川の四季による水温変化、溶存酸素濃度や流速変化といった環境条件の相違に着目する必要がある。そのため、生活排水処理施設の処理後排水が放流され、流域負荷の影響が少ないと考えられる環境基準類型別河川や水路を対象に、GHGs生成に関する年間を通じた実測調査を行なう必要がある。それにより、我が国の優れた排水処理技術や整備状況を反映しうる独自の排出係数を開発するとともに、GHGs排出量の算定方法を我が国に適した形に改良・提案する。さらに、処理施設由来と放流水由来を併せた排水管理全体のGHGs排出モデルを構築し、トレードオフを含めたライフサイクル全体での排出削減方策についても提案する。

2. 研究目標

下水処理場放流水が流入する河川等の調査を通じ、GHGs排出に影響を及ぼす主要なパラメータの抽出を行う。また、この抽出した主要なパラメータを用いた室内モデル試験を実施することで、有機性排水由来のGHGs排出ポテンシャルの評価を行う。併せて、下水処理場、浄化槽における放流水の調査を行い、水質バランス（有機物・窒素の形態、構成割合等）や環境条件を考慮したGHGs排出ポテンシャル評価を行う。上記と並行して、関係機関とも連携しつつ、複数の排出係数を用いた方法論を検討するとともに、排水管理全体（汚水処理施設+放流河川からのGHGs）に係るGHGs排出源を整理し、新たな方法論を作成する。また、作成した方法論に基づき、有機性排水由来GHGsに関する我が国独自の排出係数および排出量算定方法を提案する。さらに、排水管理全体のGHGs排出モデルから総合的なGHGs排出量最小化のシナリオを提案する。

3. 研究開発内容

現在、日本における生活排水処理分野から排出されるGHGs排出量は、IPCCガイドライン¹⁾に準じ、排出係数に活動量を乗じて算定されている。日本では生活排水処理施設から発生するGHGs排出量算定のため、下水道では処理施設を4種の処理方式に区分し、浄化槽では単独処理浄化槽、合併処理浄化槽に区分し、それぞれ独自の調査に基づいた排出係数を設定し、適用している。一方、生活排水処理施設からの処理後排水や未処理排水を起源とし、河川等水環境中へ放流された後、自然界における分解に伴い排出されるGHGs排出量に関しては、日本での調査研究事例が少ないため、IPCCガイドラインに示されているデフォルトの排出係数を適用している²⁾。しかし、このデフォルトの排出係数は、元々硝酸態窒素 ($\text{NO}_3\text{-N}$) が主体の農業排水を起源に河川から排出される N_2O 排出係数からの転用であるため、 $\text{NO}_3\text{-N}$ を起源とした脱窒反応に伴う N_2O 生成のみを反映していると考えられる。しかし、処理後排水および未処理排水にはアンモニア態窒素 ($\text{NH}_4\text{-N}$) も残存しているため、放流先河川では、 $\text{NH}_4\text{-N}$ を起源とした硝化反応に伴う N_2O 生成も行われていると考えられる。また、デフォルトの排出係数は、処理後排水および未処理排水の放流先である河川環境として、日本における河川の特徴や四季等の気候帯を反映していないため、日本の清澄で急峻な河川を対象に、年間を通じた調査が必要であると考えられる。また、既往研究では、下水道終末処理場放流口から河川調査地点までの距離が長く³⁾、流域からの窒素負荷、有機物負荷の影響を受ける可能性があり、処理後排水負荷のみならず流域負荷を起源としたGHGs生成を合わせて測定している可能性がある^{4, 5)}。そのため、処理後排水のみを起源に、河川で生成されるGHGs生成を把握するには、流域からの負荷が少ない河川を対象に調査を行う必要がある。さらに、処理後排水には処理場内で生成された溶存態 (D-) N_2O が残存しており、河川でのGHGs測定のみでは、処理後排水に含まれる窒素負荷、有機物負荷のみを起源に、河川において生成されるGHGsの正確な把握ができないと考えられる。

そこでサブテーマ1では、下水道終末処理場および浄化槽の処理後排水が放流され、流域負荷の影響が少ない河川や水路を対象に、GHGs生成に関する年間を通じた実測調査を行なった。さらに処理後排水や河川に残存するD-GHGsを差し引くと共に河川環境を考慮に入れた処理後排水に含まれる窒素負荷、有機物負荷を起源に自然界での分解に伴い生成されるGHGs算定方法の開発を目的とした。また、処理施設由来 (直接発生) と上記で開発したGHGs算定方法を元にした放流水由来 (間接発生) を併せた排水管理全体のGHGs排出モデルを下水道分野と浄化槽分野に分けて構築し、トレードオフを含めたライフサイクル全体での排出削減方策について提案を行った。

3. 1 河川環境基準類型別溶存態GHGs存在量の把握

まず初めに、河川環境基準類型別D-GHGsの存在量を把握するために、埼玉県内20地点、環境基準類型AA~Cに該当する環境基準点において、2020年度、2021年度の夏季 (7月~9月) と冬季 (12月~2月) に調査を実施した。現場調査項目として、DO, pH, ORP, 水温, 流量の測定を行う共に、採取したサンプルは直ちに実験室に持ち帰り、水質分析項目として、BOD, SS, T-N, $\text{NH}_4\text{-N}$, $\text{NO}_2\text{-N}$, $\text{NO}_3\text{-N}$ の分析をJISK0102に準拠し行った。またD-GHGs分析は、木持らの方法に従い⁶⁾、採取したサンプルに、現地にて生物活性阻害剤 (ヒビテン・グルコネート液20%) を添加することで生物反応を停止させ、実験室に持ち帰った後、ヘッドスペース法によりGHGsを気液平衡状態とし、そのガス部を採取し、それぞれGC-FID、GC-ECDにて CH_4 , N_2O 分析に供した。これら現場測定項目、水質分析項目とD-GHGsとの関係を解析した。

3. 2 下水道処理後排水を起源とした河川でのGHGs生成状況

(1) 下水道処理後排水が放流される河川でのGHGs調査

次に、埼玉県内の下水道終末処理場A, Bの処理後排水が放流される河川 α , β を対象に詳細な調査を行った。これら2カ所の調査期間中の水量および水質の平均値を表1.1, 1.2に示す。調査地点の特徴は次の通りである。下水道終末処理場Aはオキシデーションディッチ法で、窒素、有機物を対象とした高度処理が行われているため、処理後排水の $\text{NH}_4\text{-N}$, $\text{NO}_{2+3}\text{-N}$ 等各窒素成分およびBOD等有機物の濃度は低い。また放流河川 α は河川環境基準類型B (BOD 3 mg/L以下、DO 5 mg/L以上) である。下水道終末処理場Bは標準活性汚泥法で、処理後排水の各窒素成分は、下水道終末処理場Aと比較して、全窒素濃度で6.7倍、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 濃度で13.6倍それぞれ高い。また、放流河川 β は河川環境基準類型A (BOD 2 mg/L以下、DO 7.5 mg/L以

上)と清澄な河川であり、途中、支流(環境基準類型A)と合流しているが、支流においても、窒素負荷、有機物負荷が極めて小さいことを確認している。また図1.1, 1.2に河川 α , β における調査地点を示す。調査は、2019年~2021年度(新型コロナウイルスの影響により一時中断)において、月1~2回程度継続して実施した。現場各地点において、上記3.1と同様な現場調査項目、水質分析項目およびD-GHG_sの測定を行い、それらの関係を解析した。

(2) 下水道処理後排水に残存する溶存態GHG_sの室内脱気試験

上記(1)で調査対象とした2カ所とも処理後排水にはD-N₂Oが過飽和状態で残存していたが、D-CH₄の残存はほとんど無かった。そのため、放流先河川の調査で処理後排水に含まれるNH₄-N, NO₂₊₃-N等窒素成分から生成されるN₂O量を正確に把握するには、処理後排水に残存しているD-N₂O量を差し引く必要があると考えられた。そこで、室内脱気試験において、様々な過飽和と濃度のD-N₂Oを含む処理後排水を対象に、その流速を変化させることにより、D-N₂Oの脱気速度を算出した。実験は、図1.4に示す回転数可変型のリアクター内に生物活性阻害剤を添加した処理後排水を投入し、回転速度を50~400 rpmに設定することで、そのリアクター半径の1/2地点の流速を0.16~1.26 m/sに設定した。5分間隔で採水を行い0~30分までのD-N₂O-N濃度の減少量から初期脱気速度を求めた。なお、リアクター実験の水温は、今回、調査対象とした河川 α , β の年間平均水温を参考に20℃に設定した。

(3) 河川的环境条件を考慮に入れた下水道処理後排水を起源とした河川でのGHG_s生成状況

下水道処理後排水の水質バランスおよび放流先河川的环境条件がGHG_s生成に及ぼす影響を評価するために、上記(1)で示した調査地点の他に、表1.1, 1.2および図1.3に併せて示した下水道終末処理場Cおよび河川 γ を調査対象に追加した。下水道終末処理場Cは標準活性汚泥法で、処理後排水には、窒素成分および有機物が下水道終末処理場Bと同様に多く残存している。また、放流河川 γ は河川環境基準類型C(BOD 5 mg/L以下、DO 5 mg/L以上)と比較的汚濁の進んだ河川である。調査は2021年5月~2022年3月の期間において月1~2回程度、実施した。

表1.1 下水道処理後排水および河川の流量と特徴

	放流量 (m ³ /h)	河川水 量(m ³ /h)	処理方式	環境基準 類型指定
下水道終末処理場A	706	—	OD法	—
下水道終末処理場B	1144	—	標準活性汚泥法	—
下水道終末処理場C	1020	—	標準活性汚泥法	—
河川 α	—	1,465	—	B
河川 β	—	1420	—	A
河川 γ	—	589	—	C

表1.2 下水道処理後排水および河川の水質

	BOD (mg/L)	SS (mg/L)	T-N (mg/L)	NH ₄ -N (mg/L)	NO ₂ -N (mg/L)	NO ₃ -N (mg/L)
下水道終末処理場A	1.7	2.1	2.1	0.70	0.012	0.57
下水道終末処理場B	2.9	1.3	14	9.5	0.26	2.7
下水道終末処理場C	1.9	6.9	12	4.8	0.99	3.9
河川 α	1.9	4.3	2.7	0.49	0.022	1.4
河川 β	1.2	1.7	1.5	0.21	0.012	1.2
河川 γ	3.0	25	3.8	1.2	0.065	1.9

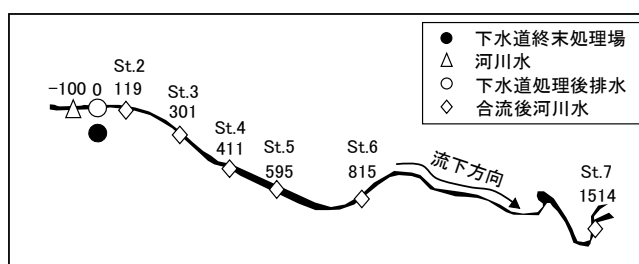


図1.1 下水処理場Aと河川 α における調査地点

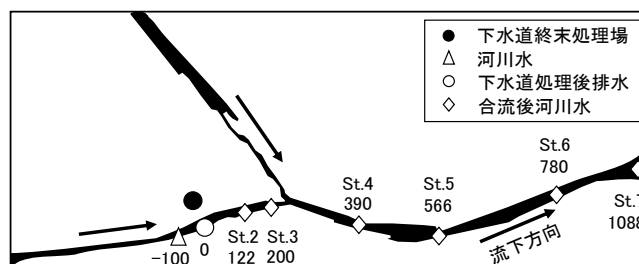


図1.2 下水処理場Bと河川 β における調査地点

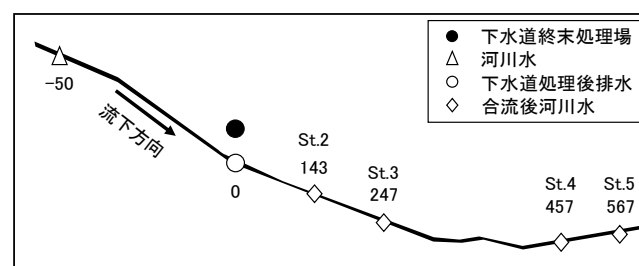


図1.3 下水処理場Cと河川 γ における調査地点

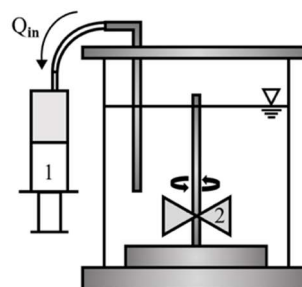


図1.4 脱気試験に用いた回転数可変型リアクター
1: ガラス製シリンジ 2: 回転数可変型攪拌翼

(4) 降雨時における合流式下水道越流水を起源とした河川でのGHGs生成の影響

合流式下水道では、降雨時に、合流式下水道越流水（CSO）が発生するため、CSOによる河川でのGHGs生成に及ぼす影響について、調査を行った。調査は下水道の一部が合流式下水道である茨城県内のA市にて実施した。サンプルの採取は、A市の河川（川幅：約80m）におけるCSO流入地点の上流側（約600m）および下流側（約130m）の橋から、それぞれ右岸、左岸、中央の合計6カ所で行った。なおCSOは河川の左岸から放流されている。調査日は、降雨のあった2021年5月27日、7月1日～2日、9月30日～10月2日とした。各調査地点では、上記3.1で示した現場調査項目、水質分析項目およびD-GHGの測定を行い、それらの関係を解析した。その他、CSOを判断するための大腸菌分析は酵素基質培地法で行い、降雨量および河川水位は、国土交通省川の防災情報のウェブサイト<<https://www.river.go.jp/index>>から取得した。

3. 3 浄化槽処理後排水を起源としたGHGs生成状況

(1) 浄化槽処理後排水に残存するGHGs調査

埼玉県内に設置された単独処理浄化槽、合併処理浄化槽をそれぞれ20現場ずつ選定し、2020年度、2021年度、夏季(7月～9月)、冬季(12月～2月)に調査を実施した。それぞれの調査において、各浄化槽消毒後の処理後排水および未処理生活雑排水を採取し、上記、3.1で示した現場調査項目、水質分析項目およびD-GHGの測定を行い、それらの関係を解析した。なお、生活雑排水は、雑排水枡から採取した。雑排水枡中には、おおよそ1～2 L程度の生活雑排水が常に滞留しており、枡底部には汚泥も堆積していた。

(2) 浄化槽処理後排水が放流される水路におけるGHGs調査

埼玉県内の浄化槽処理後排水および未処理生活雑排水が放流される水路を対象に調査を行った。図1.5に示すように、水路Aは、単独処理浄化槽が中心に設置されている地域(20軒程度)の処理後排水、未処理排水が放流される水路である。一方、水路Bは、合併処理浄化槽が中心に設置されている地域(20軒程度)の処理後排水、未処理排水が放流される水路である。これら放流先水路A、Bは100m程度離れた並行かつ流下方向が同一の水路であるため、天候や気温等の差異は極めて少ないと考えられた。それぞれの水路の水深は40～50cm、底部にはさらに底泥が40～50cm堆積していた。また、通常、水路には自然水が流入しないことから、水路内の流速は緩やかで、滞留時間は極めて長い。浄化槽処理後排水が放流される水路における調査は、2020年度、2021年度の季節ごと(春季5月、夏季8月・9月、秋季10月・11月、冬季2月・12月)に行い、水路A、Bの①地点～⑥地点において、上記、3.1で示した現場調査項目、水質分析項目およびD-GHGの測定を行い、それらの関係を解析した。

3. 4 処理施設由来と処理後排水由来GHGsを併せた排水管理全体のGHGs排出モデルの構築と削減方策

下水道分野では、下水道処理施設由来と処理後排水由来を併せることにより排水管理全体でのGHGs排出モデルを構築した。下水道処理施設由来のGHGs排出量(直接発生)は、現在のインベントリに従い、下水処理施設の処理方式を①標準活性汚泥法、②嫌気好気活性汚泥法、③嫌気無酸素好気及び循環式硝化脱窒法、④循環式硝化脱窒型膜分離活性汚泥法の4種に区分し、平成28年度下水道統計⁷⁾を元に、それぞれの各項目における排出係数に活動量を乗じることにより、各施設、各項目におけるGHGs排出量を算定し、それを汚水処理量当たりのGHGs排出量に換算した。直接発生の算出に用いた項目は、下水道終末処理場における電力由来CO₂、排水処理プロセス由来GHGsおよび汚泥処理プロセス由来GHGsである。一方、間接発生の算出に用いた項目は、上記3.2の方法を元に開発したGHGs排出量算定方法を用い、処理後排水に残存するD-GHGおよび処理後排水を起源とした自然界の分解に伴うGHGsである。これら汚水量当たりのGHGs排出量の積算により、下水道分野における処理方式別GHGs排出量の比較を行った。

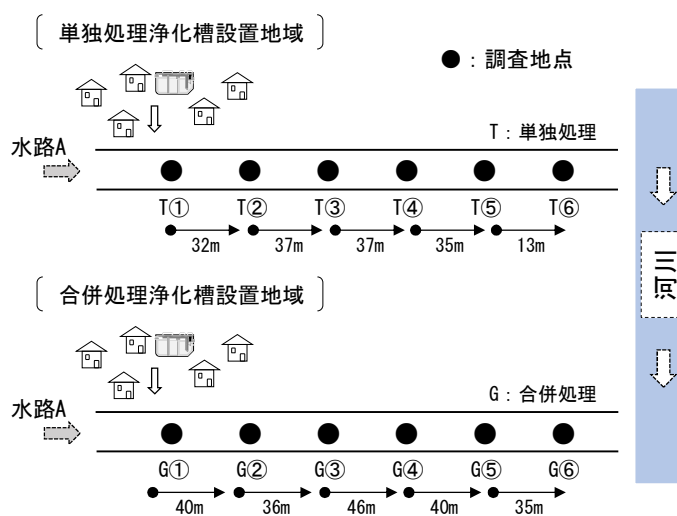


図1.5 浄化槽処理後排水が放流される水路における調査

一方、浄化槽分野では、浄化槽の製造段階から使用段階におけるLCCO₂において、間接発生のGHGs排出量も考慮し、浄化槽1基当たりのGHGs排出量として試算した。浄化槽のLCCO₂はサブテーマ1研究代表者山崎、研究分担者蛭江が参画した「令和3年度次世代浄化槽システムに関する調査検討業務報告書3. 浄化槽システムの脱炭素化に向けた検討」（一社）浄化槽システム協会⁸⁾で検討した内容を参考に、考慮されていなかった間接発生のGHGs排出量を、本研究で開発したGHGs排出量算定方法を用いて算出した。単独処理浄化槽の他、各年代で製造された合併処理浄化槽のLCCO₂を算定し比較を行った。

4. 結果及び考察

4. 1 河川環境基準類型別溶存態GHGs存在量の把握

まず初めに、河川環境基準類型AA～Cにおける環境基準点20地点にて調査を行った。環境基準点におけるDO濃度とD-N₂O-N濃度の関係を図1.6に示す。この図から、環境基準類型がAAからCに低下するに従い、DO濃度が低下し、それに伴いD-N₂O-N濃度が増加する傾向が見られた。特に環境基準類型Cの河川において、DO濃度が約8 mg/L以下にまで低下した際にD-N₂O-N濃度が急激に高くなる傾向が見られた。下水道終末処理場の反応槽（活性汚泥法）において、DO濃度が0.1～0.3mg/Lにまで低下すると、N₂O生成が促進されるという報告がある⁹⁾。また、反応槽のDO濃度が低下することでアンモニア酸化細菌はNO₂⁻を最終電子受容体として硝化脱窒反応を起こし、NH₄-N減少量およびNO₃-N生成量が低くなるため¹⁰⁾、N₂Oが生成され易くなる。それと比較して、本調査によるN₂O生成が促進されるDO濃度は高いが、本調査結果は河川中層によるものであり、生物膜が存在する河川底床部のDO濃度はさらに低いことが推察される。そのため、DO濃度が約8 mg/L以下となる河川ではN₂O生成が促進される環境であると考えられる。

環境基準点における各態窒素濃度（NH₄-N, NO₂-N, NO₃-N）とD-N₂O-N濃度の関係を図1.7に示す。いずれの各態窒素濃度とD-N₂O-N濃度には相関関係が見られ、相関係数はNH₄-N(r=0.705), NO₂-N(r=0.628), NO₃-N(r=0.626)であった。NO₃-Nと比較するとNH₄-N, NO₂-Nは低濃度であったにも関わらず、D-N₂O-N濃度が高いことが分かった。このことから、河川環境中にNH₄-N, NO₂-Nが存在する場合には、D-N₂O-N生成に及ぼす影響が大きいと考えられた。

4. 2 下水道処理後排水を起源とした河川でのGHGs生成状況

(1) 下水道処理後排水が放流される河川でのGHGs調査

次に、下水道終末処理場A, Bの処理後排水が放流される河川α, βを対象に詳細な調査を行った。河川α, βの各調査地点における平均NH₄-N, NO₂₊₃-N等各態窒素濃度およびD-N₂O-N濃度に河川流量を乗じることで、各態窒素量とD-N₂O-N量の河川流下方向に対する年間の変化を示した。河川α, βにおける河川流下方向に対する窒素量の挙動を図1.8, 1.9にそれぞれ示す。これらの図では、河川水と処理後排水が合流する地点(St. 1)を基準点0mとし、処理後排水が放流される前の河川水を-50mに示した。本研究対象河川の調査範囲では、河川流下方向に対し、NO₃-NやT-Nの大きな減少は認められず、表1.3に示す通り、河川α, βではDOが過飽和で存在していた

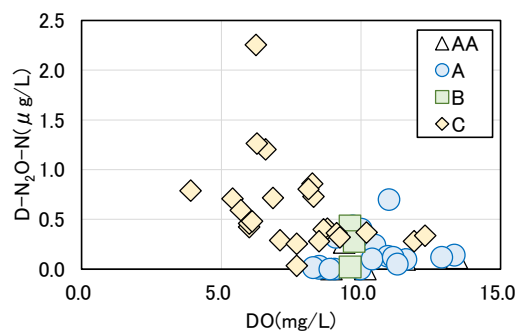


図1.6 河川環境基準類型別
DO濃度とD-N₂O-N濃度の関係

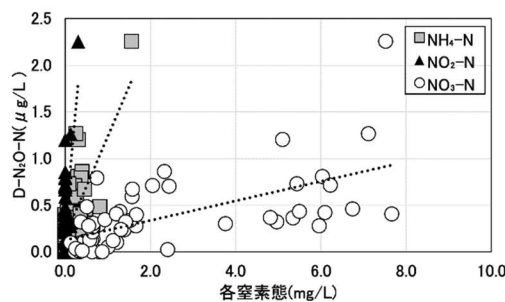


図1.7 河川環境基準点調査における
各態窒素とD-N₂O-N濃度の関係

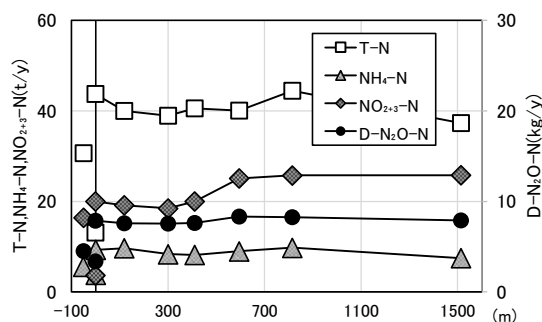


図1.8 河川α流下方向における
各態窒素量とD-N₂O-N量の変化

ことから、本研究対象河川である河川α、βの調査範囲では脱窒反応はほとんど進行せず、生成されたD-N₂Oは主に硝化反応に由来するものと考えられた。筆者らは、処理後排水を起源に河川底床部によるN₂O生成を確認しており、それが硝化反応であることを示している¹¹⁾。

(2) 下水道処理後排水に残存する溶存態GHGsの室内脱気試験

サブテーマ2で示した内容と同様に、サブテーマ1で調査対象とした上記(1)で示した2カ所の処理後排水には下水道終末処理場内で生成したD-N₂Oが過飽和状態で残存していた。そのため、放流先河川において処理後排水に含まれる窒素成分から生成されたN₂O量を正確に把握するには、河川に残存していたD-N₂O量と処理後排水に残存していたD-N₂O量を差し引く必要があると考えられた。そこで、図1.4に示す回転数可変型のリアクターを用い、様々な過飽和濃度のD-N₂Oを含む処理後排水を対象に、その流速を変化させることにより、D-N₂Oの脱気速度を算出した。

その結果、D-N₂O-N濃度は試験開始初期の0~30分間、概ね直線的に減少したことから初期D-N₂O-N濃度の単位時間当たりの減少量から初期脱気速度を求めた。初期D-N₂O-N濃度C₀と初期脱気速度Vの関係を図1.10に示す。また、これら2つの因子の関係性を図1.11に示し、初期D-N₂O-N濃度当たりの脱気速度式(1)を得た。この結果から、処理後排水に残存するD-N₂Oは、河川へ放流された後、D-N₂O-N濃度と河川流速に比例し脱気速度が変化し、ガス態N₂Oとして大気中に放出されていると考えられた。

$$\frac{V}{C_0} = 0.0207X + 0.0034 \quad \dots \text{式(1)}$$

ここで、V : 初期脱気速度 (μg/L・min)、C₀ : 初期D-N₂O-N濃度 (μg/L)、X : 流速 (m/s) である。

(3) 下水道処理後排水のNH₄-Nを起源とした河川からのN₂O生成

上記の結果を元に、河川流下方向に対する実測D-N₂O-N量に、上記式(1)を元に算定した脱気D-N₂O-N量を加算した結果を図1.12、1.13にそれぞれ示す。また、この実測+脱気D-N₂O-N量から、基準点 0 mで示した河川水+処理後排水に残存していたD-N₂O-N量を差し引いたD-N₂O-N量を河川の硝化反応で生成したD-N₂O-N量とした。

ここまで得られた結果を元に、処理後排水に含まれるNH₄-Nを起源に、環境基準類型B、Aの河川α、βでの硝化由来D-N₂O-N排出係数を式(2)より算出した。本実験におけるD-N₂O-N排出係数は、それぞれ河川α : 0.0019(kg-D-N₂O-

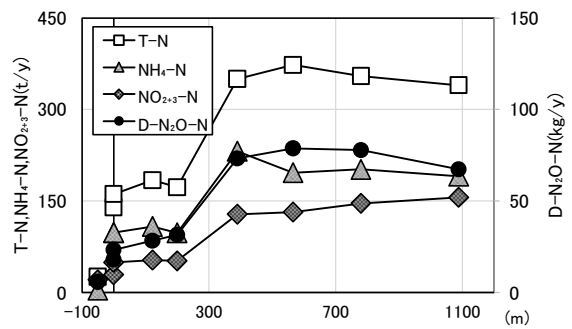


図1.9 河川β流下方向における各態窒素量とD-N₂O-N量の変化

表1-3 各河川におけるDO, pH, ORPの平均値

	DO (mg/L)	pH	ORP (mV)
河川α	13	7.9	+160
河川β	10	7.7	+211

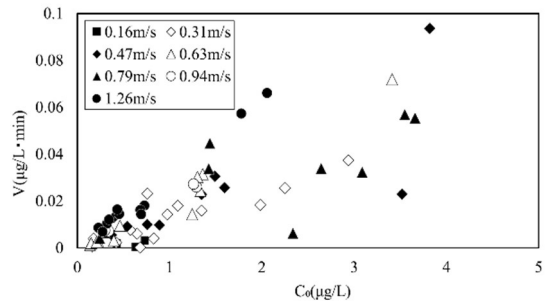


図1.10 初期D-N₂O-N濃度 C₀ と初期脱気速度Vの関係

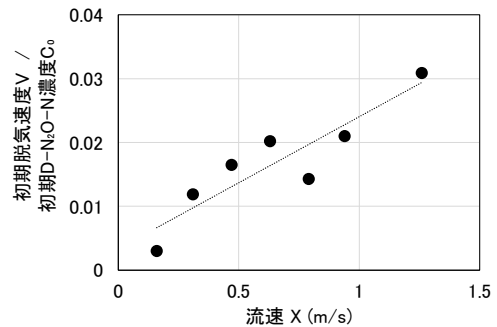


図1.11 初期D-N₂O-N当たりの脱気速度に対する流速の影響

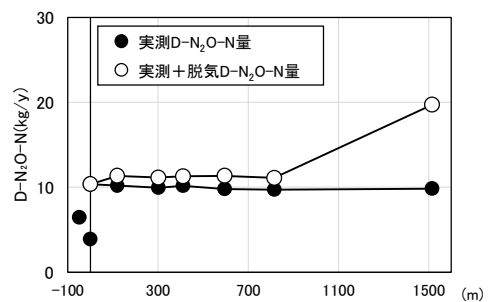


図1.12 河川αにおける実測D-N₂O-N量と実測+脱気D-N₂O-N量

$$\text{河川での硝化由来 D-N}_2\text{O-N排出係数 (kg-N}_2\text{O-N/kg-NH}_4\text{-N)} = \frac{\text{河川の硝化反応で生成した D-N}_2\text{O-N量 (kg-N}_2\text{O-N/年)}}{\text{処理後排水に含まれる NH}_4\text{-N量 (kg-NH}_4\text{-N/年)}} \dots \text{式(2)}$$

N/kg-NH₄-N)、河川 β : 0.0020 (kg-D-N₂O-N/kg-NH₄-N) となり、2カ所での調査結果に顕著な差は認められなかった。また本実験における2カ所の河川での硝化由来N₂O排出係数の平均値は、0.0020 (kg-D-N₂O-N/kg-NH₄-N) と試算された。

一方、D-CH₄に関しては、処理後排水には、ほとんど残存していないことを確認できた。そのため、N₂Oの様に処理後排水に残存するD-CH₄量を差し引く必要はなく、放流河川でのBOD濃度とD-CH₄濃度の関係から排出係数を算出することが可能であると考えられた。放流河川でのBOD濃度とD-CH₄濃度の関係を図1.14に示す。この図から、ばらつきはあるものの、本実験におけるD-CH₄排出係数は、それぞれ河川 α : 0.0007 (kg-D-CH₄/kg-BOD)、河川 β : 0.0003 (kg-D-CH₄/kg-BOD) となり、2カ所での調査結果に顕著な差は認められなかった。また本実験における2カ所の河川でのD-CH₄排出係数の平均値は、0.0005 (kg-D-CH₄/kg-BOD) と試算された。

(4) 河川の環境条件を考慮に入れた下水道処理後排水を起源とした河川でのGHGs生成状況

下水道処理後排水の水質バランスおよび放流先河川の環境条件がGHGs生成に及ぼす影響を考慮するために、上記(1)で示した調査地点の他に、標準活性汚泥法を採用した下水道終末処理場Cおよび河川環境基準類型Cの河川γを調査対象に追加し、併せて解析を行った。各下水道終末処理場の処理後排水水質結果から、下水道終末処理場A~Cにおける処理後排水における各態窒素の構成割合を図1.15に示した。各態窒素の構成割合として、処理方式に関わらず処理後排水には、NH₄-Nは一定割合存在し、一方、NO₂-Nは各下水道処理場で異なり、下水道終末処理場Cにおいて最も高い結果であった。既往研究から、NO₂-Nの蓄積はN₂O生成促進に影響を与えるという報告がある¹²⁾。そのため、下水道処理後排水にNO₂-Nが残存している場合、D-N₂Oも多く残存し河川へ放流されている可能性が高いと考えられた。

本実験において調査した河川α~γにおけるDO濃度とD-N₂O-N濃度の関係を図1.16に示す。この結果から河川α, βにおいては十分なDOが認められたこと、河川のBOD濃度も低いことから、硝化反応が速やかに進行する条件は満たしていたと考えられた。一方、河川γにおける平均DO濃度は6.8±2.2 mg/Lであり他河川のDO濃度と比較し低い値であった。特にDO濃度が約8 mg/L以下になった場合に、D-N₂O-N濃度が急激に増加しており、この現象は、河川環境基準点を調査した図1.6と同様な結果となった。

図1.17, 1.18は調査河川におけるNO₂-N濃度、NH₄-N濃度とD-N₂O-N濃度の関係をそれぞれ示す。図1.17に示した通り、NO₂-N濃度に対してD-N₂O-N濃度は、正の相関があり、一定の割合でN₂O生成がなされてお

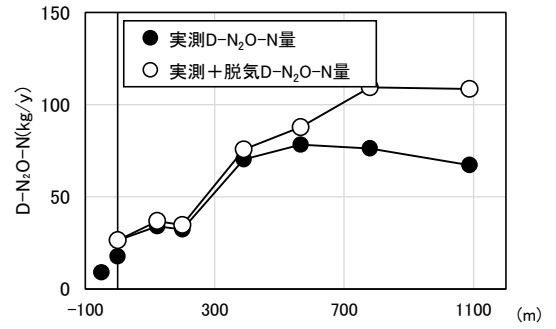


図1.13 河川βにおける
実測D-N₂O-N量と
実測+脱気D-N₂O-N量

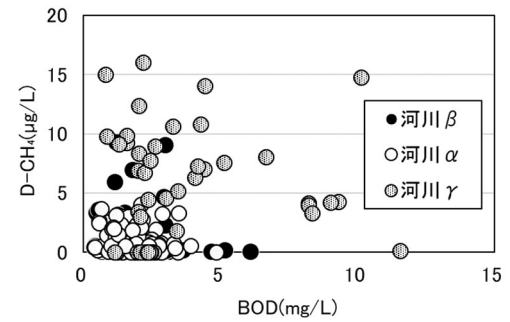


図1.14 各調査地点における
BODとD-CH₄の関係

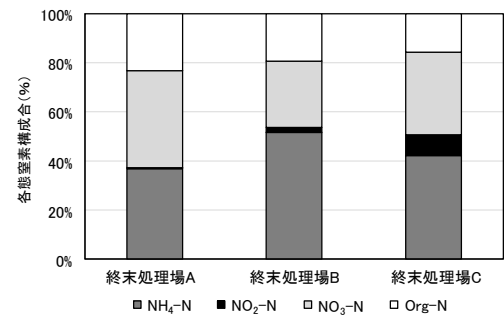


図1.15 下水道処理後排水における
各態窒素の構成割合

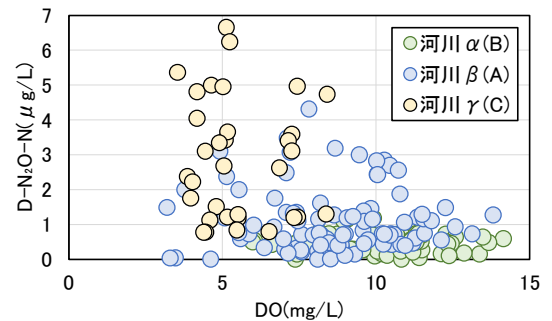


図1.16 調査各地点における
DOとD-N₂O-Nの関係

り、その一部は非生物学的な反応において N_2O が生成される報告もなされている¹³⁾。一方、 NH_4-N 濃度に対して $D-N_2O-N$ 濃度は、それぞれ正の相関が見られたものの、 NH_4-N に対する $D-N_2O-N$ の割合は一定ではない。既往研究から DO 濃度が低濃度であると NO_2^- 酸化反応が停滞し、 NO_2^- が蓄積し N_2O が生成される結果が報告されている¹²⁾。すなわち、河川における NH_4-N を起源とした硝化反応において、河川 DO 濃度の低下により硝化反応が阻害されることに伴い NO_2-N が生成され、それに伴い、 N_2O の生成が増大したと考えられた。得られた結果をもとに、上記(3)と同様、環境基準類型Cの河川 γ を対象に、処理後排水に含まれる NH_4-N を起源に、河川での硝化由来 $D-N_2O-N$ 排出係数を式(2)より算出した。その結果、河川 γ において排出係数0.0040(kg- $D-N_2O-N$ /kg- NH_4-N)と試算され、河川 γ の排出係数は河川 α, β と比較し約2倍高い値となった。本実験では、処理後排水および河川に残存する $D-N_2O$ 量を差し引くと共に、河川環境を考慮し、下水道処理後排水を起源とした河川での硝化由来 $D-N_2O$ 排出係数を開発した。そのため、処理後排水を起源に自然界での分解に伴い生成されるGHGs排出量の算定には、サブテーマ2で対象とした処理後排水に残存する $D-N_2O$ 量および処理後排水に残存する $NO_{2+3}-N$ 、河川での硝化反応に伴い生成される $NO_{2+3}-N$ を起源に、河川下流で脱窒反応に伴い生成される N_2O 量を別途算定し加算する必要がある。

(5) 降雨時における合流式下水道越流水を起源とした河川でのGHGs生成の影響

2021年5月27日、7月1日～2日、9月30日～10月2日の調査における独立降雨量は、それぞれ22 mm、約62 mm、66 mmであった。本項では主に9月30日～10月2日の調査結果を中心に述べる。図1.19は9月30日～10月2日の調査時における降水量のデータを示す。

図1.20は河川水 $D-CH_4$ 濃度の経時変化を示す。この図中、矢印で示したポイントでは、大腸菌(*E-coli*)濃度が顕著に増加したため、CS0の存在を示している。CS0は河川の左岸側から排出され、下流において中央および左岸を流れていたと考えられた。この図からCS0流入前後においても河川の $D-CH_4$ 濃度は同レ

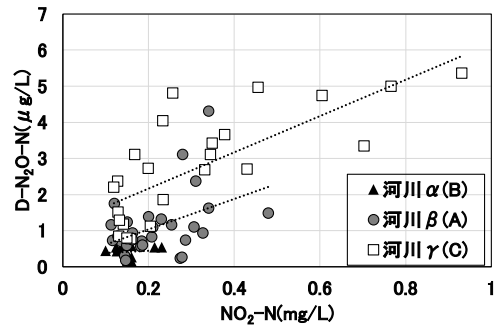


図1.17 調査各地点における NO_2-N と $D-N_2O-N$ の関係

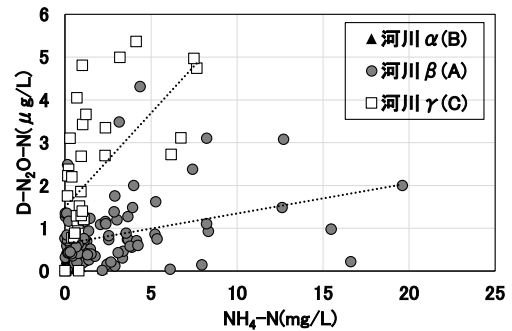


図1.18 調査各地点における NH_4-N と $D-N_2O-N$ の関係

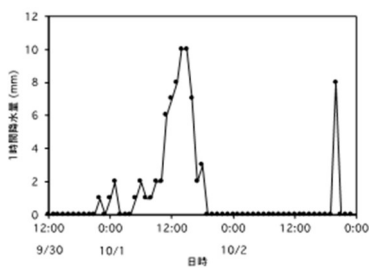


図1.19 降水量の変化

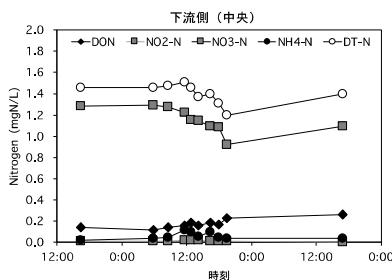
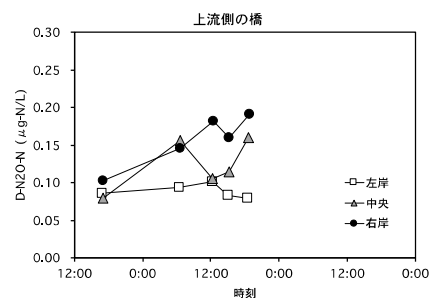
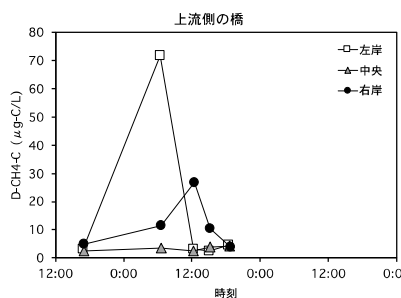


図1.22 降雨時における 窒素濃度の経時変化

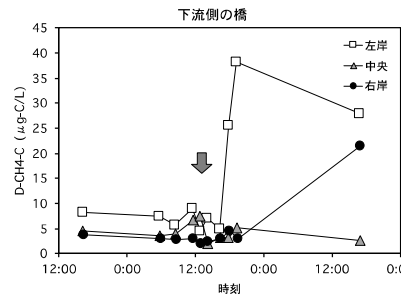


図1.20 降雨時における $D-CH_4$ 濃度の経時変化

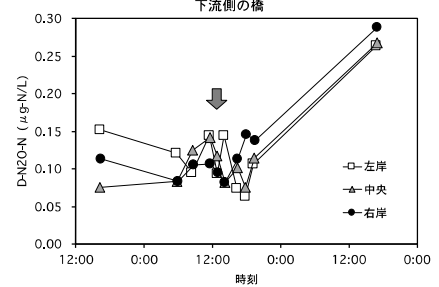


図1.21 降雨時における $D-N_2O$ 濃度の経時変化

ベルで推移しており、このような傾向は5月27日や7月1日～2日の調査においても同様であった。

図1.21は河川水D-N₂O濃度の経時変化を示す。D-CH₄濃度と同様、CSO流入前後においてもD-N₂O濃度は同レベルで推移しており、本調査においては、CSO流入によるD-N₂O濃度の顕著な変化は確認されなかった。一方、7月1日～2日、9月30日～10月2日の調査において、降雨翌日には河川におけるD-N₂O濃度が増加する傾向が確認された。既往研究¹⁴⁾においても降雨後にN₂O濃度が高まる傾向が報告されており、これは土壌から流出する窒素成分に由来するとの報告がなされている。図1.22は河川窒素濃度の変化を示す(下流側、橋中央)。降雨時にはD-TN濃度やNO₂₊₃-N濃度が減少し、NH₄-N濃度が増加する傾向が確認されたが、翌日には窒素濃度は降雨時前の水準に戻っていることが確認された。なお、5月27日の調査では、D-N₂O-N濃度は0.3～1.0 μg-N₂O-N/Lであり、季節的なD-N₂O-N濃度の変動があることも確認された。また、河川のN₂O濃度に関しては、本実験結果の他、霞ヶ浦流域における調査においても河川毎にN₂O濃度が異なることが報告されている¹⁴⁾。このためCSOの流入による突発的な影響は、季節変動や河川環境の違いなどと比較すると相対的に低いと考えられた。

4.3 浄化槽処理後排水を起源としたGHGs生成状況

(1) 浄化槽処理後排水に残存するGHGs調査

浄化槽処理後排水に残存するD-GHG_sおよび水質について、調査を実施した。図1.23は合併処理浄化槽処理後排水、単独処理浄化槽処理後排水、生活雑排水の平均水質を夏季・冬季で示す。合併処理浄化槽処理後排水のBOD濃度は夏季7.8 mg/L、冬季12 mg/L、T-N濃度は夏季9.4 mg/L、冬季15 mg/Lであり、夏季・冬季ともに良好な処理が行われていたと考えられる。一方、単独処理浄化槽は、トイレ排水のBODを中心に処理する浄化槽であり、BOD濃度は夏季8.6 mg/L、冬季23 mg/Lと良好に処理されているものの、T-N濃度は夏季90 mg/L、冬季60 mg/Lと高く、合併処理浄化槽処理後排水と比較して4～6倍高いことが確認された。また、生活雑排水のT-N濃度は4 mg/Lと低いが、BOD濃度は68 mg/Lと高いことも確認された。

浄化槽処理後排水および未処理生活雑排水に残存する平均D-CH₄濃度、D-N₂O-N濃度について、図1.24に示す。この図から、D-CH₄濃度は、夏季・冬季ともに生活雑排水で最も高く、夏季0.086 mg-CH₄/L、冬季0.49 mg-CH₄/Lであり、合併処理浄化槽処理後排水と比べると夏季で約20倍、冬季で約16倍高かった。D-N₂O-N濃度は、夏季・冬季ともに単独処理浄化槽処理後排水で最も高く、夏季0.034 mg-N₂O-N/L、冬季0.028 mg-N₂O-N/Lと、合併処理浄化槽処理後排水と比べ、夏季で約15倍、冬季で約3倍高い結果となり、窒素を処理していない単独処理浄化槽処理後排水にてD-N₂O濃度が多く残存していることが明らかとなった。浄化槽処理後排水および未処理生活雑排水におけるD-GHG_sと水質の関係を明らかにするため、D-N₂O-N濃度とT-N濃度の関係を図1.25に、D-CH₄濃度とBOD濃度の関係を図1.26にそれぞれ示す。なお、日本国温室効果ガスインベントリでは、処理後排水、未処理排水の区分がなされているため、同様な区分を行い、D-GHG_sと水質との関係から浄化槽処理後排水および未処理生活雑排水の排出係数と相関係数を求めた。図1.25で示したとおり、T-N濃度が高い場合にD-N₂O濃度も高くなる傾向が見られた。単独処

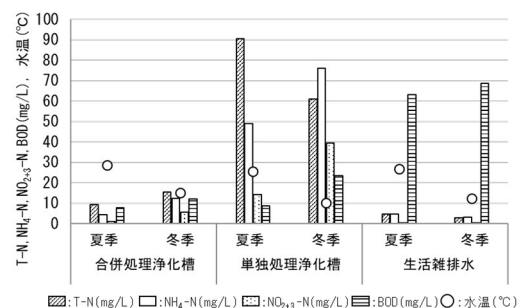


図1.23 夏季・冬季における各浄化槽処理後排水・生活雑排水の平均水質

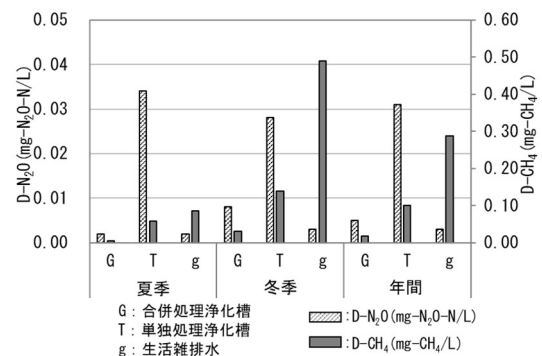


図1.24 夏季・冬季における各浄化槽処理後排水・生活雑排水の平均GHGs

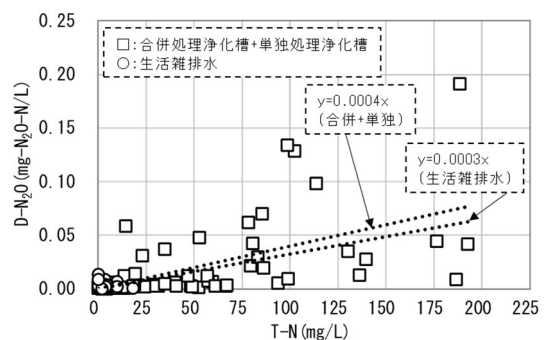


図1.25 各浄化槽処理後排水・生活雑排水におけるT-NとD-N₂Oの関係

理浄化槽処理後排水に含まれるT-N濃度は合併処理浄化槽処理後排水に比べて高く、既往研究¹⁵⁾でも、反応槽内での硝化反応が速やかに進行しない場合、 N_2O 生成が増大することが報告されている。そのため、単独処理浄化槽では硝化反応が速やかに進行せず、 N_2O 生成が増大したと考えられた。この図の結果から、浄化槽処理後排水に残存する $D-N_2O$ 排出係数は $0.0004 \text{ kg-}N_2O-N/\text{kg-T-N}$ ($r=0.70$)、未処理生活雑排水の $D-N_2O$ 排出係数は $0.0003 \text{ kg-}N_2O-N/\text{kg-T-N}$ ($r=0.44$)と試算された。同様に、図1.26で示した様に、ばらつきはあるものの、BOD濃度が高い場合に $D-CH_4$ 濃度も高くなる傾向が見られた。生活雑排水に含まれるBOD濃度は合併処理浄化槽処理後排水と比較して約6~8倍高く、生活雑排水槽中に貯留される生活雑排水と底泥により、 CH_4 が生成されやすい環境であったと推察された。この図の結果から、浄化槽処理後排水に残存する $D-CH_4$ 排出係数は $0.004 \text{ kg-}CH_4/\text{kg-BOD}$ ($r=0.42$)、未処理生活雑排水の $D-CH_4$ 排出係数は $0.003 \text{ kg-}CH_4/\text{kg-BOD}$ ($r=0.46$)と試算された。

(2) 浄化槽処理後排水が放流される水路におけるGHGs調査

次に浄化槽処理後排水が放流される水路を対象に水質およびD-GHGの調査を行った。図1.27には水路A(単独処理浄化槽利用地域)、水路B(合併処理浄化槽利用地域)における季節ごとの NH_4-N 濃度と $D-N_2O$ 濃度の平均値を示す。この図から、 NH_4-N 濃度は夏季および冬季で高くなり、水路Aで最大 4.8 mg/L となり、それに伴い $D-N_2O$ 濃度も夏季および冬季で上昇し、最大 $0.024 \text{ mg-}N_2O-N/L$ となった。図1.26は水路A, Bの各調査地点における季節ごとの $D-CH_4$ とBOD濃度の平均値を示す。この図から、BOD濃度は秋季の水路Aで最大 24 mg/L であるものの、 $D-CH_4$ 濃度は冬季の水路Aで最大 $0.33 \text{ mg-}CH_4/L$ となった。いずれも単独処理浄化槽利用地域の水路Aで高い値を示した。

水路内での流下方向に伴う水質変化が、D-GHG生成に及ぼす影響を明らかにするため、水路毎の流下方向に伴うD-GHGの変化を調査した。図1.29, 1.30は、それぞれ水路A, Bにおける流下方向に伴う水質変化とD-GHG変化を示した。図1.29は、夏季の水路Aにおける流下方向に伴う $D-CH_4$ 濃度とBOD濃度の変化および $D-N_2O$ 濃度と NH_4-N 濃度の変化を示す。この図に示したように、 $D-CH_4$ 濃度は上流で $0.22 \text{ mg-}CH_4/L$ 存在するが、下流では $0.007 \text{ mg-}CH_4/L$ まで低下していることから、水路Aでは水路上流において、 $D-CH_4$ の多くが脱気しており、水路内での $D-CH_4$ 生成は極めて少ないと考えられた。一方、 $D-N_2O$ は、既往研究^{16, 17)}では NH_4-N の存在が N_2O 排出に影響を及ぼすことが知られており、さらにBOD存在下で NH_4-N の硝化反応が速やかに進行しない場合、 N_2O 排出が増大することも報告されている。しかし、本実験では、水路に含まれるBODおよび NH_4-N 濃度の減少も見られているため、水路内での硝化反応は速やかに進行し、 $D-N_2O$ 生成は少なかったと考えられた。また、水路内は流速が緩やかでかつ底泥が堆積していることから、脱窒反応による $D-N_2O$ 生成も考えられたが、本実験では、水路Aでの脱窒反応による $D-N_2O$ 生成は明らかに出来なかった。また図1.29には、上記(1)で示した単独処理浄化槽処理後排水+未処理生活雑排水の夏季、冬季の平均の合計値を参考として記載した。この際、生活雑排水は一般的に単独処理浄化槽処理後排水の3倍の放流量 $D-N_2O$ は $0.039 \text{ mg-}N_2O-N/L$ であったが、水路内の $D-CH_4$ 、 $D-N_2O$ 濃度は、処理後排水+未処理排水に残存する $D-CH_4$ 、 $D-N_2O$ 濃度よりも極めて低い値である。そのため、水路内でのD-GHGが増加する

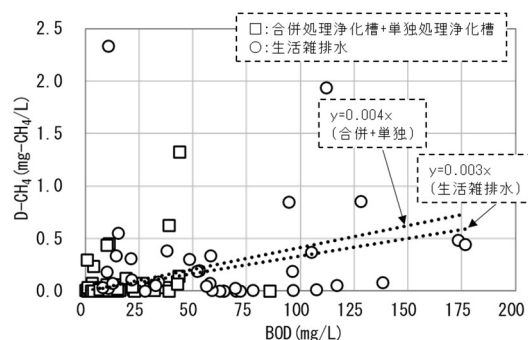


図1.26 各浄化槽処理後排水・生活雑排水におけるBODと $D-CH_4$ の関係

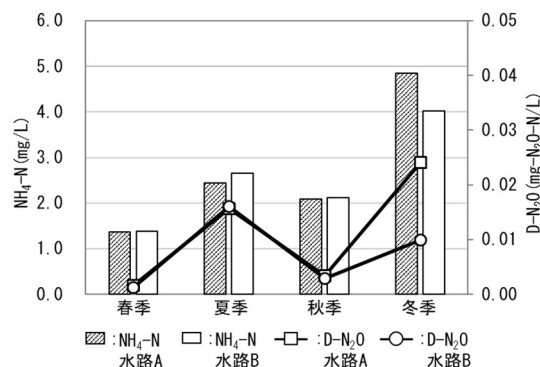


図1.27 各水路におけるT-Nと $D-N_2O$ の関係

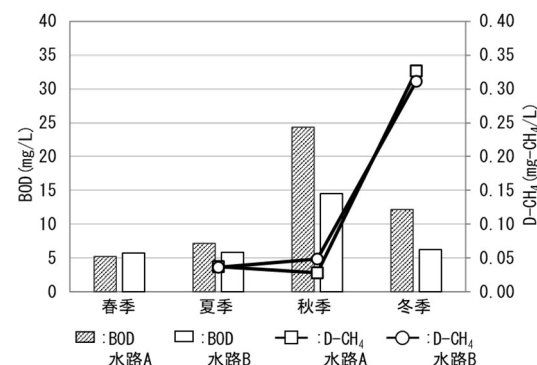


図1.28 各水路におけるBODと $D-CH_4$ の関係

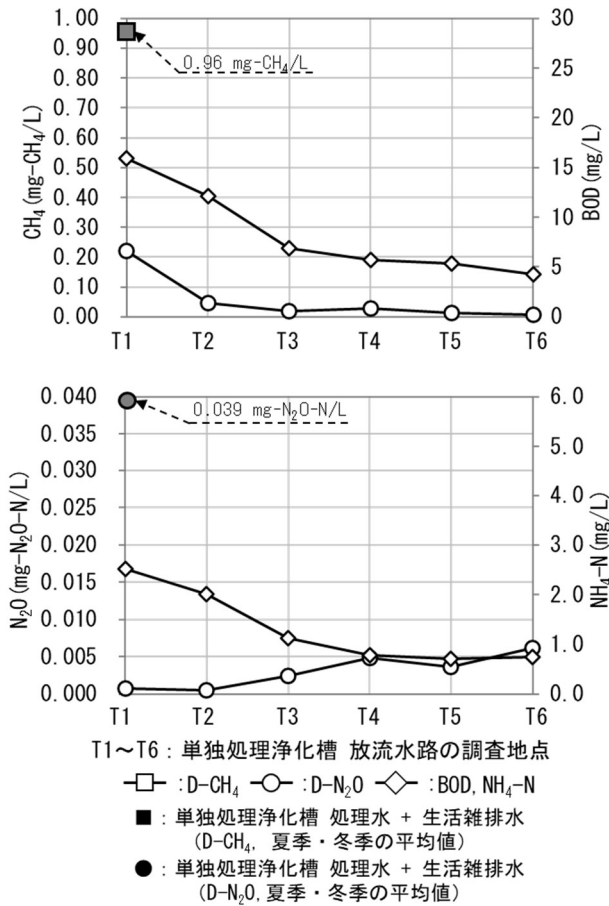


図1.29 水路A流下方向における
BODとD-CH₄の変化（上段）
NH₄-NとD-N₂Oの変化（下段）

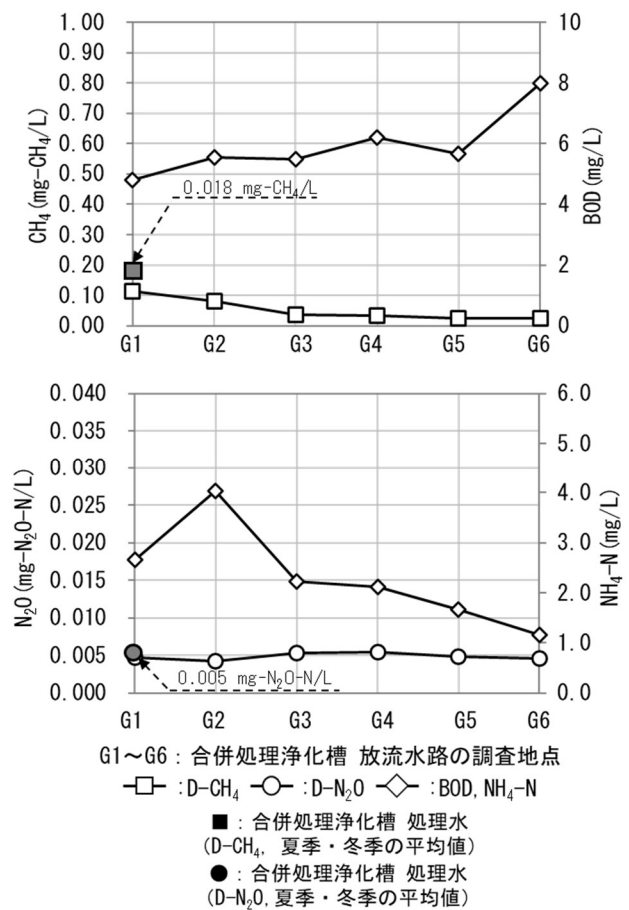


図1.30 水路B流下方向における
BODとD-CH₄の変化（上段）
NH₄-NとD-N₂Oの変化（下段）

BOD減少によるD-CH₄生成や、硝化脱窒反応によるD-N₂O生成は行われているものの、水路AではD-GHGの増加分は極めて小さく、水路AにおけるD-GHGの多くは、単独処理浄化槽処理後排水+未処理生活雑排水に残存していたD-GHGであると考えられた。図1.30は合併処理浄化槽放流水路における夏季の水路Bにおける流下方向に伴うD-CH₄濃度とBOD濃度の変化および、D-N₂O濃度とNH₄-N濃度の変化を示す。この図に示した様に、D-CH₄濃度は上流で0.12 mg-CH₄/L存在するが下流では、0.02 mg-CH₄/Lまで低下していることから、水路Aと同様、水路内でのD-CH₄濃度の増加は極めて小さく、水路上流で脱気により低下していると考えられた。一方、D-N₂O濃度は上流での0.005 mg-N₂O-N/L前後で一定である。水路Aと同様、NH₄-N濃度の減少に伴い、わずかにD-N₂O濃度が上昇しているが、速やかな硝化反応により、D-N₂O濃度は大きくは増加していない。この図に、上記(1)で示した合併処理浄化槽処理後排水の夏季、冬季の平均値を参考として記載した。処理後排水のD-CH₄濃度 0.018 mg-CH₄/L、D-N₂O濃度 0.005 mg-N₂O-N/Lであったが、これは水路内のD-CH₄、D-N₂O濃度と同等であった。水路Aと同様、本実験の水路Bにおいては、水路内でのD-GHG生成は極めて小さく、水路に流下するD-GHGの多くは、合併処理浄化槽処理後排水に残存していたD-GHGであると考えられた。以上のことから、浄化槽放流水路に含まれるD-GHGは各浄化槽処理後排水および生活雑排水に残存していたD-GHGに由来している部分が多いと考えられた。

4.4 処理後排水、未処理排水を起源としたGHGs排出量算定方法の開発

上記、4.2で開発した下水道処理後排水を起源とした自然界の分解に伴う排出係数、4.3で開発した浄化槽処理後排水を起源とした自然界の分解に伴う排出係数およびサブテーマ1、2で開発した処理後排水に残存する排出係数を元に、処理後排水、未処理排水を起源としたGHGs排出量算定方法を表1.4~1.7の通り整理した。なお、黄色枠で示した箇所が本研究で開発した算定方法である。

表1.4 下水道処理後排水を起源としたN₂O算定方法

	排水処理方式	処理施設 N ₂ O排出		処理後排水 残存N ₂ O		河川環境	処理後排水 由来N ₂ O		
		EF0	活動量	EF1	活動量		EF2+3	活動量	
IPCC G.L. Default (2006)				考慮されていない		IPCC G.L. Default (2006)	考慮されていない	硝化由来 考慮されていない 5 g-N ₂ O-N/kg-N (脱窒由来)	排水処理量 × 放流T-N濃度
IPCC G.L. Default (2019)				考慮されていない		IPCC G.L. Default (2019)	清澄な河川	5 g-N ₂ O-N/kg-N	排水処理量 × 放流T-N濃度
	標準 活性汚泥法	0.090 g-N ₂ O -N/m ³	排水処理量 (m ³)	EF0 × 0.48	排水処理量 (m ³)	河川環境基準 (AA~B)	2 g-N ₂ O-N/kg-NH ₄ -N (硝化由来)	排水処理量 × 放流NH ₄ -N濃度	
	嫌気好気 活性汚泥法	0.019 g-N ₂ O -N/m ³						排水処理量 × 放流T-N濃度	
	嫌気無酸素 好気法・ 循環式 硝化脱窒法	0.007 g-N ₂ O -N/m ³						排水処理量 × 放流T-N濃度	
	循環式 硝化脱窒型 膜分離 活性汚泥法	0.0003 g-N ₂ O -N/m ³						排水処理量 × 放流T-N濃度	
								排水処理量 × 放流T-N濃度	
						河川環境基準 (C~E)	4 g-N ₂ O-N/kg-NH ₄ -N (硝化由来)	排水処理量 × 放流NH ₄ -N濃度	
							5 g-N ₂ O-N/kg-N (脱窒由来) IPCC(2006)準拠	排水処理量 × 放流T-N濃度	

表1.5 下水道処理後排水を起源としたCH₄算定方法

	排水処理方式	処理施設 CH ₄ 排出		処理後排水 残存CH ₄		河川環境	処理後排水 由来CH ₄		
		EF0	活動量	EF1	活動量		EF2+3	活動量	
IPCC G.L. Default (2006)				考慮されていない		IPCC G.L. Default (2006)	考慮されていない	60 g-CH ₄ /kg-BOD	排水処理量 × 放流BOD濃度
IPCC G.L. Default (2019)				考慮されていない		IPCC G.L. Default (2019)	2006準拠 流下 停滞	60 g-CH ₄ /kg-BOD 21 g-CH ₄ /kg-BOD 114 g-N ₂ O-N/kg-N	排水処理量 × 放流BOD濃度
	標準 活性汚泥法	0.528 g-CH ₄ /m ³	排水処理量 (m ³)	ほとんど 検出 されない (=0)	排水処理量 (m ³)	2006準拠	0.5 g-CH ₄ /kg-BOD	排水処理量 × 放流BOD濃度	
	嫌気好気 活性汚泥法							排水処理量 × 放流BOD濃度	
	嫌気無酸素 好気法・ 循環式 硝化脱窒法							排水処理量 × 放流BOD濃度	
	循環式 硝化脱窒型 膜分離 活性汚泥法							排水処理量 × 放流BOD濃度	
								排水処理量 × 放流BOD濃度	
						流下	0.5 g-CH ₄ /kg-BOD	排水処理量 × 放流BOD濃度	
							21 g-CH ₄ /kg-BOD IPCC(2006)準拠	排水処理量 × 放流BOD濃度	

表1.6 浄化槽処理後排水・未処理排水を起源としたN₂O算定方法

	排水処理方式	処理施設 N ₂ O排出		処理後排水 残存N ₂ O		河川環境	処理後排水 由来N ₂ O		
		EF0	活動量	EF1	活動量		EF2+3	活動量	
IPCC G.L. Default (2006)				考慮されていない		IPCC G.L. Default (2006)	考慮されていない	硝化由来 考慮されていない 5 g-N ₂ O-N/kg-N (脱窒由来)	排水処理量 × 放流T-N濃度
IPCC G.L. Default (2019)				考慮されていない		IPCC G.L. Default (2019)	清澄な河川	5 g-N ₂ O-N/kg-N	排水処理量 × 放流T-N濃度
	単独処理 浄化槽	39 g-N ₂ O /人・年	人・年	0.4 g-N ₂ O-N /kg-N	排水量× 放流T-N濃度 (128mg/L)	河川環境基準 (AA~B)	2 g-N ₂ O-N/kg-NH ₄ -N (硝化由来)	排水処理量 × 放流NH ₄ -N濃度	
	構造例示型 浄化槽	71.7 g-N ₂ O /人・年						排水処理量 × 放流T-N濃度	
	性能評価型 浄化槽 (汎用)	54.5 g-N ₂ O /人・年						排水処理量 × 放流T-N濃度	
	性能評価型 浄化槽 (高度処理)	39 g-N ₂ O /人・年						排水処理量 × 放流T-N濃度	
	未処理排水	-						0.3 g-N ₂ O-N /kg-N	排水量× 放流T-N濃度 (13.3mg/L)

表1.7 浄化槽処理後排水・未処理排水を起源としたCH₄算定方法

	排水処理方式	処理施設CH ₄ 排出		処理後排水残存CH ₄		河川環境	処理後排水由来CH ₄	
		EF0	活動量	EF1	活動量		EF2+3	活動量
IPCC G.L. Default (2006)				考慮されていない		考慮されていない	60 g-CH ₄ /kg-BOD	排水処理量 × 放流BOD濃度
IPCC G.L. Default (2019)				考慮されていない		2006準拠	60 g-CH ₄ /kg-BOD	排水処理量 × 放流BOD濃度
	単独処理浄化槽	460 g-CH ₄ /人・年	人/年	4 g-CH ₄ /kg-BOD	排水量 × 放流BOD濃度 (90mg/L)	流下	21 g-CH ₄ /kg-BOD	
	構造例示型浄化槽	2,477 g-CH ₄ /人・年			排水量 × 放流BOD濃度 (20mg/L)	停滞	114 g-CH ₄ /kg-BOD	
	性能評価型浄化槽 (汎用)	1,984 g-CH ₄ /人・年			排水量 × 放流BOD濃度 (20mg/L)	2006準拠	0.5 g-CH ₄ /kg-BOD	排水処理量 × 放流BOD濃度
	性能評価型浄化槽 (高度処理)	1,044 g-CH ₄ /人・年			排水量 × 放流BOD濃度 (17.3mg/L)		60 g-CH ₄ /kg-BOD	排水処理量 × 放流BOD濃度
	未処理排水	1,575 g-CH ₄ /人・年			3 g-CH ₄ /kg-BOD	排水量 × 放流BOD濃度 (180mg/L)	流下	0.5 g-CH ₄ /kg-BOD
					21 g-CH ₄ /kg-BOD	排水処理量 × 放流BOD濃度		

4. 5 処理施設由来と処理後排水由来GHGsを併せた排水管理全体のGHGs排出モデルの構築と削減方策

(1) 処理施設由来と処理後排水由来GHGsを併せた排水管理全体のGHGs排出モデルの構築

下水道分野においては、下水道処理施設由来（直接発生）と本研究で開発した処理後排水由来（間接発生）のGHGs排出量を併せ、単位汚水処理量当たりのGHGs排出量に換算することで、排水管理全体でのGHGs排出モデルを構築した。現在、下水道の直接発生に適用されている4種の処理方式におけるGHGs排出量を算出し、積算した結果を図1.31に示す。GHGs排出量が最も大きかったのは③嫌気無酸素好気法及び循環式硝化脱窒法であり、これは最も小さかった②嫌気好気活性汚泥法に比べて約1.3倍となった。これらの結果は、高度処理により窒素除去を行う処理方式では、処理場内直接発生のCH₄、N₂O排出量が抑えられるのに対し、その減少量を上

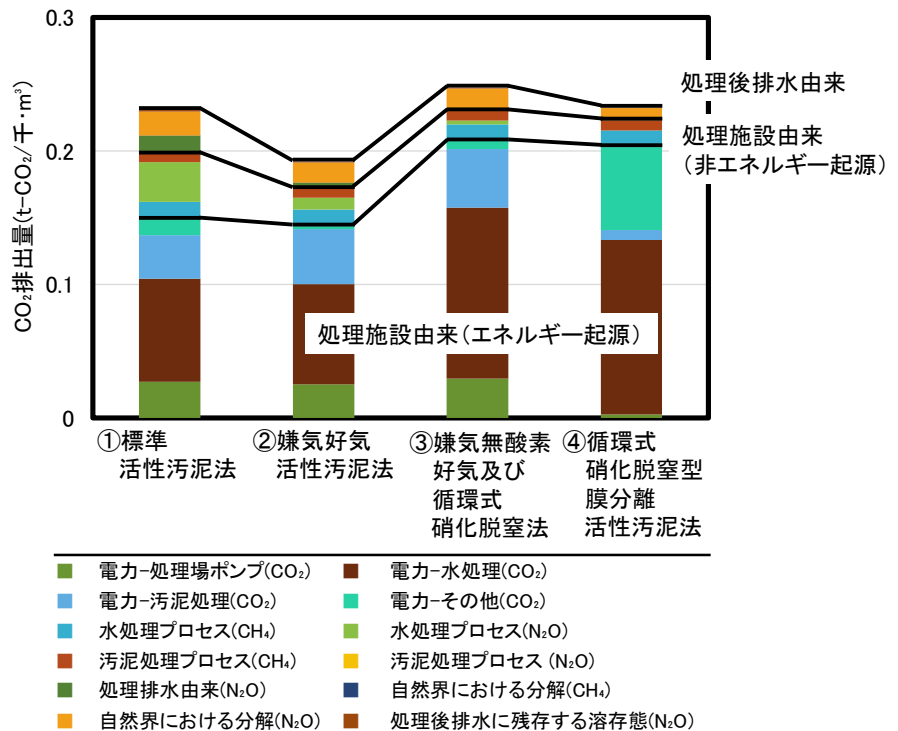


図1.31 各下水処理方式におけるGHGs排出量 (汚水量当たり, CO₂換算)

回る電力由来のCO₂が排出されることで、下水道システム全体のGHGs排出量が大きくなることを示している。一方、電力由来のCO₂排出量が変わらない①標準活性汚泥法と②嫌気好気活性汚泥法、③嫌気無酸素好気及び循環式硝化脱窒法と④循環式硝化脱窒型膜分離活性汚泥法をそれぞれ比べると、全体のGHGs排出量は高度処理である②嫌気好気活性汚泥法、④循環式硝化脱窒型膜分離活性汚泥法の方が小さいことが明らかとなった。これらの結果は、高度処理において、電力由来のCO₂を除いた場合、直接発生・間接発生共に下水道システムからのGHGs排出量が少ないことを示している。現在、日本の

GHGs削減目標である2050年カーボンニュートラルの考え方に則り、エネルギー起源CO₂排出量を実質ゼロと仮定し、非エネルギー起源GHGs排出量のみを比較した場合には、直接発生および間接発生共に、高度処理化により、非エネルギー起源GHGs排出量は減少することになる。その場合の処理方式別GHGs排出量は、④循環式硝化脱窒型膜分離活性汚泥法<③嫌気無酸素好気及び循環式硝化脱窒法<②嫌気好気活性汚泥法<①標準活性汚泥法となる。

一方、浄化槽分野では、浄化槽

の製造段階から使用段階におけるLCCO₂において、処理後排水由来のGHGs排出量も考慮し、浄化槽1基当たりのGHGs排出量として試算した。積算結果を図1.32に示す。非エネルギー起源GHGsに着目すると、浄化槽は余剰汚泥を1年間貯留する構造を有しているため、排水処理に伴うGHGs排出量（直接発生）が大きく、2016年度の合併処理浄化槽では、排水処理に伴うGHGs排出量（直接発生）に対し、本研究における処理後排水由来のGHGs排出量（間接発生）は、7.4%と低いものとなった。

(2) 下水道処理後排水を起源とした河川で生成されるGHGs排出量削減方策

GHGs排出量の算定は排出係数に活動量を乗じて求める。すなわち、下水処理後排水を起源とし、河川で生成されるGHGs排出量を削減する方法は、排出係数を小さくする方法と活動量を小さくする方法に分けることができる。本研究調査対象河川において、4.1で示した河川環境基準類型別GHGs存在量においても（図1.6）、4.2で示した河川 $\alpha \sim \gamma$ においても（図1.16）、環境基準類型C、河川のDO濃度が約8 mg/L以下において、N₂O生成の増大が確認されている。すなわち、河川環境基準類型B以上の清澄で、DO濃度が高濃度で維持される河川環境では、処理後排水に含まれるNH₄-Nを起源とした硝化反応が速やかに進行し、N₂O生成が抑制される。一方、環境基準類型C以下の場合、DO濃度が低濃度となる場合が多く、河川底質でのDO濃度はさらに低いことが推察されることから、NH₄-Nの硝化反応が滞り、副生成物であるN₂Oが生成され易い環境となる。すなわち、排出係数を小さくするには、河川を清澄に保つことでDOの消費を抑制し、河川水中のDO濃度を高濃度に維持することで、N₂Oの生成を抑制することである。そのためには、高度処理化による下水道処理施設から河川への汚濁負荷低減の他、河川維持管理作業による定期的な河床の清掃、水生植物等によるDO供給等により、河川のDO濃度を高濃度に維持するとともに、河川環境基準をB以上のカテゴリーへ移動することが重要となる。2017年には、下水道終末処理場の高度処理化等の推進により、東京都内から河川環境基準類型Eが無くなり、AA、Aが増加した事例もある。一方、活動量を小さくするには、下水道終末処理場の高度処理化により処理後排水に含まれるBOD等有機物のみならず、NH₄-N量、T-N量窒素成分の削減が求められる。既往研究では^{20, 21)}、下水道終末処理場の高度処理化により処理場から発生するN₂O排出量は減少することが報告されている。すなわち、下水道終末処理場の高度処理化は、下水処理過程からの直接発生、処理後排水を起源とした河川での間接発生からのGHGs排出量を同時に削減できることになり、50%以上の削減が期待される。下水道終末処理場の高度処理化は、直接発生・間接発生からのGHGs排出量削減に相乗効果をもたらすと考えられる。

5. 研究目標の達成状況

サブテーマ1では、下水道処理後排水が放流される河川等の調査を通じ、GHGs排出に影響を及ぼす主要なパラメータとして、下水道処理後排水を構成する成分であるNH₄-Nが影響を及ぼすこと、河川

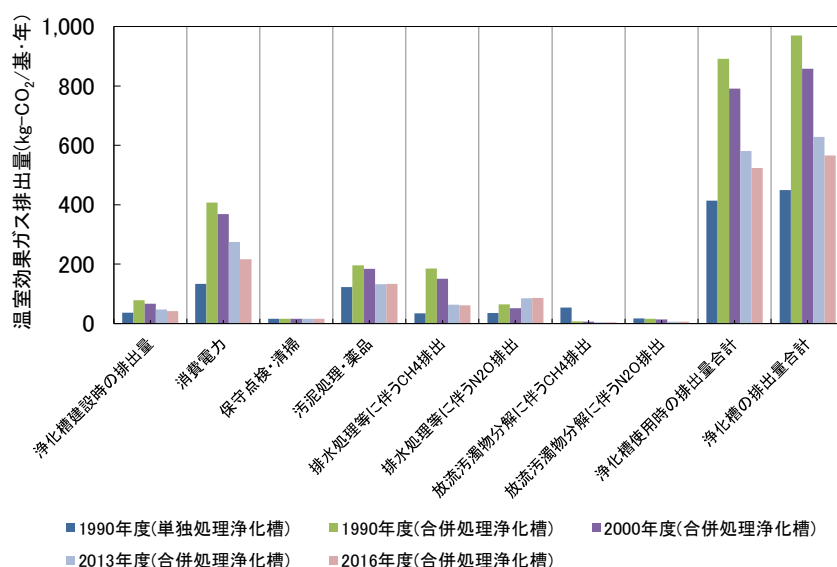


図 1.32 浄化槽製造年代別 GHGs 排出量
(浄化槽1基当たり, CO₂換算)

流下に伴い脱気するD-GHGを加算し、処理後排水および河川に残存するD-GHGを差し引くことにより処理後排水を起源に河川で生成されるGHGを正確に算定すること、および下水道処理後排水が放流される河川の環境条件として、環境基準類型C、DO濃度が約 8 mg/L以下でN₂O生成量が増大すること等を明らかとした。また、室内モデル試験により、処理後排水に残存するD-N₂O-N量の脱気速度を明らかとした。当初、下水道処理後排水や河川環境を模擬した室内モデル試験も計画していたが、アドバイザーリーボード会合等により、インベントリへの反映を目指すためには、現場調査結果が重要であること等の助言により、現場調査箇所を追加することや降雨時の調査を追加することで、より実態に近いGHGs排出量算定方法の開発に繋がった。複数年に渡る現場調査により、下水道終末処理場および浄化槽からの処理後排水の水質バランス、環境条件を踏まえたGHGs排出量算定方法案を開発できた。また、上記と並行して、本研究成果であるGHGs排出量算定方法案を早期に、日本国温室効果ガスインベントリに反映させるために、温室効果ガス排出量算定方法検討会廃棄物分科会に、2回/年程度参加し、その方法論の開発状況を含めた研究進捗を報告し、関係各機関に意見を頂き、研究内容に反映させた。上記で検討した方法論を元に、下水道分野、浄化槽分野における排水管理全体（汚水処理施設+放流河川からのGHGs）に係るGHGs排出源を整理し、我が国独自の排出係数および排出量算定方法を提案すると共に、排水管理全体のGHGs排出モデルを構築し、総合的なGHGs排出量削減方策を提案することができた。以上の達成状況から、サブテーマ1の研究目標に対し、目標通りの成果をあげたと考えている。

6. 引用文献

- 1) IPCC : Wastewater treatment and discharge, IPCC Guidelines for National Greenhouse Gas Inventories, Vol. 5, Institute for Global Environmental Strategies, Hayama, Japan, 1-28.
- 2) 国立研究開発法人 国立環境研究所、温室効果ガスインベントリオフィス(GIO)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, 2021
- 3) Beibei Hu, Dongqi Wang, Jun Zhou, Weiqing Meng, Chongwei Li, Zongbin Sun, Xin Guo, Zhongliang Wang: Greenhouse gases emission from the sewage draining rivers, Science of the Total Environment, 612, 1454-1462, 2018
- 4) M. Burgos, A. Sierra, T. Ortega, J. M. Forja: Anthropogenic effects on greenhouse gas emissions in the Guadalete River Estuary, Science of The Total Environment, 503-504, 179-189, 2015
- 5) 長谷川聖, 花木啓祐: 都市及び農業地域に位置する河川からの亜酸化窒素の生成と放出, 土木学会論文集G, Vol. 62, No. 1, 83-190, 2006
- 6) 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
- 7) 公益社団法人日本下水道協会: 平成 28 年度下水道統計, 2016
- 8) 一般社団法人浄化槽システム協会: 令和3年度次世代浄化槽システムに関する調査検討業務報告書
- 9) Yingyu Law, Liu Ye, Yuting Pan and Zhiguo Yuan: Nitrous oxide emissions from wastewater treatment processes, Phil. Trans. R. Soc. B, 367, 1265-1277, 2012
- 10) Gaelle Tallec, Josette Garnier, Gilles Billen, Michel Gossailles : Nitrous oxide emissions from secondary activated sludge in nitrifying conditions of urban wastewater treatment plants: Effect of oxygenation level, Water Research, 40, 2972-2980, 2006
- 11) Shuhei Masuda, Takemi Sato, Iori Mishima, Chikako Maruo, Hiroshi Yamazaki, Osamu Nishimura: Impact of nitrogen compound variability of sewage treated water on N₂O production in riverbeds, Journal of Environmental Management, 290, 112621, 2021
- 12) Marlies J. Kampschreur, Hardy Temmink, Robbert Kleerebezem, Mike S. M. Jettena, Mark C. M. van Loosdrecht : Nitrous oxide emission during wastewater treatment, Water Research, 43, 20, 4093-4103, 2009
- 13) Fabrizio Sabba, Akihiko Terada, George Wells & Barth F. Smets, Robert Nerenberg : Nitrous

- oxide emissions from biofilm processes for wastewater treatment, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 102, 9815-9829, 2018
- 14) 對馬育夫, 岡本誠一郎: 河川における亜酸化窒素のモニタリングおよび挙動調査, *土木技術資料*, 58-1, 34-37, 2016
 - 15) 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 N_2O 生成ポテンシャルの解析, *水環境学会誌*, Vol. 37, No. 6, 219-227, 2014
 - 16) 山門卓矢, 山野井一郎, 武本剛, 田所秀之: 下水処理硝化工程における一酸化二窒素の生成量評価と抑制方法の検討, *EICA*, 15, 2・3, 2010
 - 17) 山野井一郎, 武本剛, 田所秀之: 下水処理における一酸化二窒素ガスの放出実態調査と放出抑制 制御方式の検討, *EICA*, 18, 2・3, 2013
 - 18) 北尾高嶺: 浄化槽の基礎知識, 203, 日本環境整備教育センター
 - 19) 福嶋俊貴, 宗宮功: 下水処理場の環境負荷削減の関する総合評価, *EICA*, 15, 2・3, 89-97, 2010
 - 20) 佐野慈, 増田周平, 李玉友, 西村修, 原田秀樹: 下水処理場における温室効果ガスの排出係数評価と低減対策, *土木学会論文集 G*, 68, 7, 565-573, 2012
 - 21) 増田周平, 京野貴文, 李玉友, 西村修: 直接発生, 間接発生, 溶存態成分を考慮した下水処理場由来の温室効果ガスの発生量評価, *土木学会論文集 G*, 68, 7, 557-563, 2012

II-2 下水処理プロセスからの溶存態GHGsの流出機構解明

独立行政法人国立高等専門学校機構秋田工業高等専門学校

創造システム工学科土木・建築系

増田 周平

[要旨]

サブテーマ2では、下水処理プロセスからの溶存態GHGs(D-GHG_s)の流出機構を解明し、下水処理水に由来するD-GHG_sの排出量を算定する排出係数を開発した。複数の下水処理場においてGHGsの挙動をモニタリングし、特にN₂Oの寄与がCH₄と比較して高いことを明らかにした。さらに、N₂Oの時空間変動を明らかにするとともに、二次処理プロセス以降のD-GHG_sの濃度分布に及ぼす機構解明に取り組み、反応槽における生物学的硝化脱窒反応の寄与が大きいことを示した。得られた知見を統合し、下水処理水に含まれる溶存態N₂Oの排出量を算定する排出係数(EF1)を開発した。

1. 研究開発目的

下水処理プロセスからは、メタン(CH₄)や亜酸化窒素(N₂O)などの温室効果ガス(GHG_s)が発生することが知られている。これらは強力な温室効果を有し、二酸化炭素と比較して、CH₄は28倍、N₂Oは265倍の温室効果を有する。また、CH₄は有機物の嫌気条件下ユニットでの分解、N₂Oは窒素の生物化学的な除去プロセスにともない発生するため、変動が大きく、またその生成メカニズムも完全に解明されていない。

下水処理プロセス中のCH₄やN₂Oの発生源は主に反応槽由来とされている。反応槽では、曝気のための攪拌や送風にとまなうガス化により、GHGsが大気に放出される。わが国のGHGs排出量の算定方法はこうしたメカニズムに基づき、主に反応槽におけるガス化にとまなうGHGsの排出を対象とした排出係数が適用されている。

一方で、反応槽の混合溶液中には、ガス化に先立って水中に溶存態のGHGs(D-GHG_s)が存在する。これらは、それに続く最終沈殿池や消毒プロセスなど経て、下水処理水中に残存する可能性が指摘されている。特にN₂Oに関しては溶解性が高く、下水処理プロセスのGHGs算定におけるミッシング・ソースとなっている可能性が高い。しかしこうした下水処理水中のD-GHG_sはこれまでにあまり注目されておらず、その挙動に関する情報は極めて限定的であり、D-GHG_sの排出量を推定する排出係数も存在しない。そこで本サブテーマでは、下水処理水に溶解しているD-GHG_s量を算定するための排出係数の開発を研究開発目的とした。

2. 研究目標

下水処理水に含まれる溶存態GHGsの量を推定する排出係数を開発する。そのために、複数の異なるプロセス構成の下水処理場において、反応タンクおよび最終沈殿池以降のプロセスにおける溶存態GHGsの実態を把握する。その上で、生物処理、塩素処理やオゾン処理などのプロセスにおけるGHGs生成に影響する主要な環境因子を明らかにし、それらをふまえGHGs生成量を最小化する条件について検討する。検討の結果は、下水処理水に含まれる溶存態GHGs発生量の推定、およびその削減可能性に対する定量的な評価を可能とすることで、サブ1における排出量算定方法、GHGs排出量最小化シナリオの提案および本テーマ全体に貢献する。

3. 研究開発内容

3.1. GHGsの実態調査

D-GHG_sの動態を把握するために、ユニット構成が異なる5カ所の下水処理場において現地調査を実施した。現地調査においては、D-GHG_sの動態に加え、G-GHG_sおよび各種水質項目に関する調査も行った。特にGHGsの生成に寄与が大きいと考えられる反応槽において、連続モニタリングを行うことで重点的に評価した。対象処理場の概略を表2.1に示す。

調査にあたっては、D-N₂Oの連続モニタリング装置(装置A)、G-GHG_s(G-CH₄、G-N₂O)の連続モニタリ

ング装置（装置B）および無機態窒素の連続モニタリング装置（アンモニア性窒素（ NH_4^+ ）、硝酸性窒素（ NO_3^- ）、装置C）を用いた。表2.2に各機器の設置状況を示した。

3.1.1. 時間変動の実態調査

異なる処理場（A処理場、B処理場、C処理場）においてGHGsの連続モニタリングを行い、日内変動、週内変動、月内変動を評価した。また得られた変動特性に基づき、代表性の高いサンプルを採取するためのサンプル採取方法（時間帯・頻度）について検討した。

3.1.2. 二次処理プロセス以降のD-GHG濃度の実態調査

反応槽以降のユニット構成が異なる処理場（B処理場、C処理場、D処理場）において、二次処理プロセス以降のD-GHGの濃度変化を明らかにするための実態調査を行った。各処理場において反応槽から放流に至るユニットで採水調査を行い、D- CH_4 およびD- N_2O の濃度を定量し、その挙動を解析した。あわせて、消毒方法の違いがD-GHGの挙動に及ぼす影響を評価した。


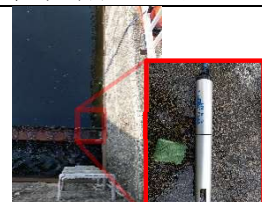


3.2. GHGsの生成メカニズムの解明

現地調査の結果をふまえ、 N_2O を対象として反応槽および消毒プロセスにおける生成メカニズムに着目し、ラボ試験を行った。なお、①研究の進捗の中で自治体との信頼関係の構築により事前に想定していたよりも高頻度で実験用の活性汚泥の提供が可能になったこと、②実際の処理場での N_2O 生成特性が大きく異なり、リアクターによりそれらを網羅的に検討するよりも実処理場の活性汚泥を用いる方が有効と考えられたこと、から、反応槽における生成メカニズムの試験については、実処理場の活性汚泥を用いて活性試験を行った

表2.1 対象処理場諸元

	A処理場	B処理場	C処理場	D処理場	E処理場
処理方式	改造OD法	二段式AO法	疑似AO法 (硝化促進)	疑似AO法 (硝化抑制)	疑似AO法 (硝化抑制)
放流水質 (数字は mgN/L)	NH_4^+ (1~15) NO_3^- (<5)	NH_4^+ (<1) NO_3^- (<5)	NH_4^+ (<5) NO_3^- (<10)	NH_4^+ (<20)	NH_4^+ (<20)
曝気方式	機械攪拌	送風曝気	送風曝気	送風曝気	送風曝気
消毒プロセス	塩素	オゾン	塩素	紫外線	塩素
調査時期	2019年11月	2020年2月	2020年4月	2021年2月	2021年6月

表2.2 測定装置設置状況（C処理場のケース）

D- N_2O (装置A) および水質測定 (装置C)、反応槽	D- N_2O センサー設置、最終沈殿池	G-GHGセンサー (装置B)、地下管廊	チャンバー係留状況、反応槽
			

3.2.1. 生物活性試験によるGHGs生成特性評価

反応槽における N_2O 生成特性を評価するため、ラボ内において N_2O の生成活性を簡易的に評価する手法について検討を行った。特に基質構成とDO条件に注目し、 N_2O の生成活性を評価する条件について検討した。検討をふまえ、現地調査を行った各処理場において N_2O の生成活性を定量し、その傾向について解析

することで N_2O 生成特性を評価した。

3.2.2. 塩素消毒プロセスにおける N_2O 生成特性評価

塩素消毒プロセスにおける N_2O 生成特性を評価するため、ラボ内において二次処理水を用いた塩素添加試験を行った。人工排水およびE処理場の二次処理水を用いて、塩素注入率およびpHをパラメータとし、 N_2O の生成量を評価した。

3.2.3. オゾン消毒プロセスにおける N_2O 生成特性評価

オゾン消毒プロセスにおける N_2O 生成特性を評価するため、ラボ内において二次処理水を用いたオゾン接触試験を行った。人工排水およびE処理場の二次処理水を用いて、オゾン注入率をパラメータとし、 N_2O の生成量を評価した。

3.3. D-GHG_s排出係数の開発

現地調査および生成メカニズムに関する検討で得られた結果を統合し、処理水のD-GHG_sの動態を解析した。解析の視点として、①処理水中のD-GHG_s濃度、②処理場内の二次処理プロセス以降のD-GHG_s濃度変動、③反応槽由来のG-GHG_s排出量と処理水中のD-GHG_s排出量の量的関係性、に着目した。得られた結果を統合し、下水処理水中に含まれるD-GHG_s排出量を算定するための排出係数を開発した。

3.4. GHG_s排出量の削減方策の提案

AD会合における指摘をふまえ、下水処理プロセスからのGHG_s排出量の削減に関する検討を行った。A処理場において N_2O の排出量削減を目的とした様々な運転方法を試行し、 N_2O の削減量を評価した¹⁾。

4. 結果及び考察

4.1. GHG_sの実態調査

4.1.1. GHG_sの時間変動

4.1.2.2で後述するように、現地調査では概してD-CH₄の濃度は低く、D- N_2O 濃度が高かったことをふまえ、特に N_2O の挙動の解析に注力した。A処理場、B処理場、およびC処理場において一ヶ月間の N_2O 濃度の連続モニタリングを行った。全ての測定において測定箇所は反応槽上の一点であり、A処理場は無終端反応槽（OD槽）の一点であるのに対し、それ以外の処理場は全て反応槽終端付近である。なおA処理場では最初沈殿池を有する楕円形OD槽が用いられており、対角に配置された2機の攪拌機が概ね3時間ごとに交互に稼働している。またB処理場の反応槽は覆蓋されており、曝気と非曝気が3時間と1時間で交互に切り替えながら運転されているが、ガスの採取時にその状況は考慮されていない。そのため、B処理場の非曝気時のガス濃度測定結果は、大気濃度で希釈されている可能性がある。

図2.1に、各処理場における N_2O 濃度の一週間にわたる測定結果を示す。まずA処理場においては、D- N_2O 濃度の変動が最も大きく、低濃度のベースラインから急激な濃度上昇によるピークが複数観測された。B処理場においては、G- N_2O 濃度は大気濃度（0.32 ppm）と比較すると高いものの、上昇と下降を繰り返しながら低濃度で推移した。最後にC処理場では深夜から午前中にかけては低濃度で推移した後、午後から濃度が上昇し、夕方から深夜にかけては数ppmから最大で20ppmと、高いG- N_2O 濃度が観測された。

次に、各処理場における N_2O 濃度の日平均値の月内変動を図2.2に示す。これより、A処理場においては11月15日から11月22日にかけて、その前後よりも概ね1.5倍程度の濃度上昇が見られた。ただしそれ以外の時期の濃度はほぼ同程度で推移した。次にB処理場においては、期間を通して急激な濃度の変動は見られなかった。最後にC処理場においては、前半は一定間隔において濃度の増減を繰り返す様子も見受けられ

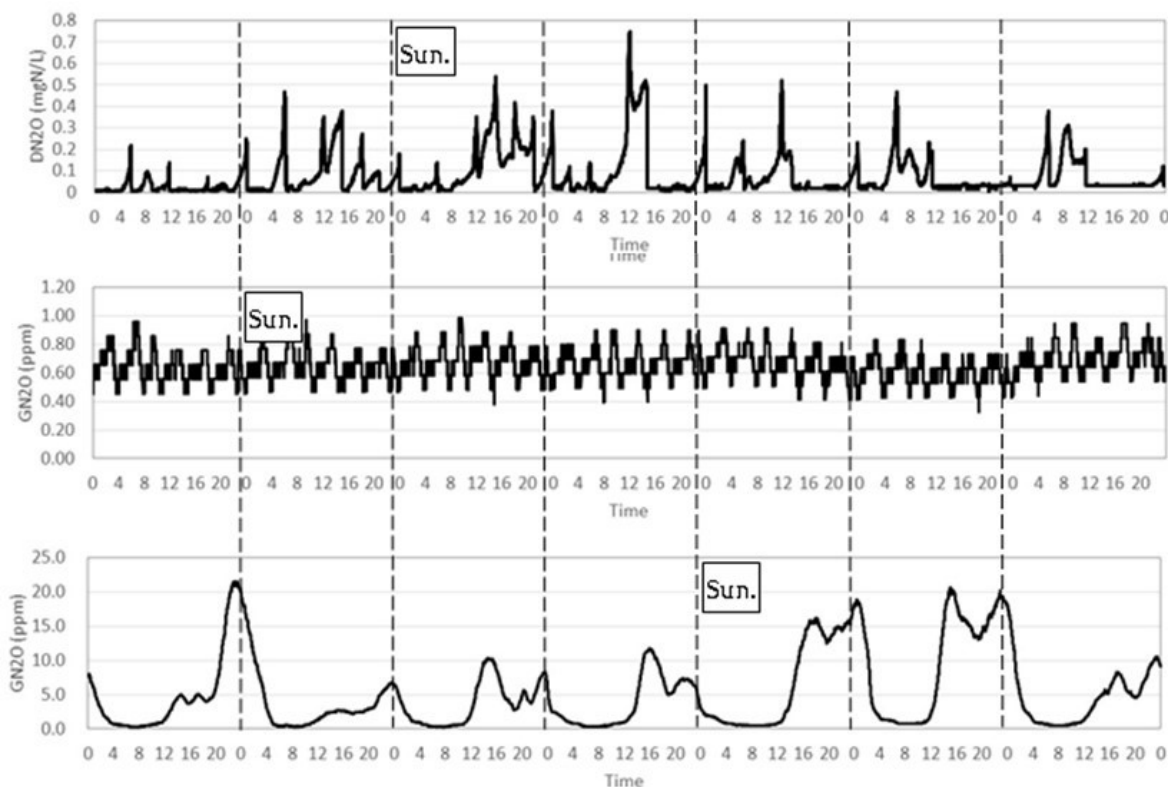


図2.1 各処理場における1週間の測定結果（A処理場：D-N₂O、B・C処理場：G-N₂O）

たが、後半は濃度が増加した後、そのまま高いレベルで推移した。なお測定期間全体の平均値は、A処理場では0.24 mgN/L、B処理場では0.6 ppm、C処理場では6.5 ppmとなった。

次に、N₂Oの日変動を詳細に解析するため、1ヶ月のデータについて同時刻の平均値を計算し、あわせて標準誤差をエラーバーとして示した結果を図2.3に示す。これより、A処理場ではOD槽の特性上、D₀濃度などの水質の変動が大きく、それが急激な濃度変動につながったと考えられる。H処理場では窒素の除去が高度に行われており、無機態窒素濃度が極めて低かったことが、N₂O抑制につながったと考えられる。最後にC処理場においては、GN₂O濃度と反応槽へのNH₄⁺負荷との間に高い相関($r = 0.85$)が見られ、窒素負荷の上昇がN₂O生成の主要因であることが示唆された。なお、当該測定地点ではNH₄⁺とNO₃⁻硝酸性窒素が共存する中で低D₀が維持されており、硝化菌脱窒および従属栄養細菌脱窒を中心としたN₂O生成が促進された可能性が考えられた。

日変動の結果を基に、現場での作業を念頭において最適な採水時刻および採水間隔について検討した。その結果を図2.4に示す。これより、A処理場、C処理場とも、日中3回（10時、14時、16時）の採水により、連続モニタリングに基づく平均値に対してA処理場では111%、C処理場では93%と、誤差を10%程度に抑えながら測定できることが分かった。逆に、いずれの処理場においてもそれ以下の採水頻度、すなわち日中の1回ないし2回の採水では誤差が大きくなり、測定頻度としては不十分であることが分かった。

以上より、下水処理場の反応槽から発生するN₂Oには周期的な日変動が存在し、その傾向に基づき、最適な採水時間・頻度が決定できることが明らかになった。さらに本調査で対象としたA処理場とC処理場は、全く異なるプロセスであるにもかかわらず、同時刻（10時、14時、16時）の採水により比較的高い精度が得られた。ただし、採水時刻と頻度は日変動の傾向によって異なるものであり、下水処理場からのGHGs排出量の定量を目的とした定期調査においては、それに先立ち処理場の日変動を把握することが精度の高いデータを獲得する上で重要と考えられる。

4.1.2. 二次処理プロセス以降のD-GHG濃度の実態調査

図2.5に、C処理場における反応槽末端と最終沈殿池末端にD-N₂O濃度の連続モニタリング装置を設置し、得られたD-N₂O濃度の日平均値と比較した結果を示す。これより、最終沈殿池におけるD-N₂O濃度は反応

槽と比較して4.0~8.7倍高かった。要因として、最終沈殿池の濃縮汚泥において、無酸素条件下の脱窒反応が進行し、 N_2O が生成したことが挙げられる。

図2.6には、C処理場における反応槽以降のD- N_2O とD- CH_4 のグラブサンプリングの結果を示す。ただし、これは最終沈殿池の滞留時間を考慮しておらず、反応槽で測定した水塊と2時間程のずれがあるため、時

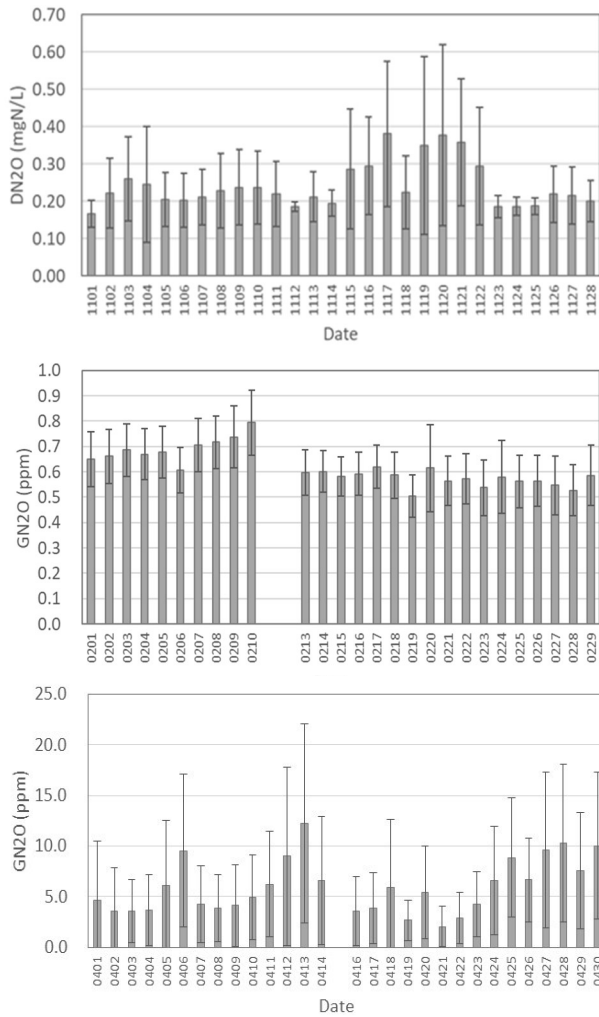


図2.2 各処理場における月内変動（上：A処理場、中央：B処理場、下：C処理場）

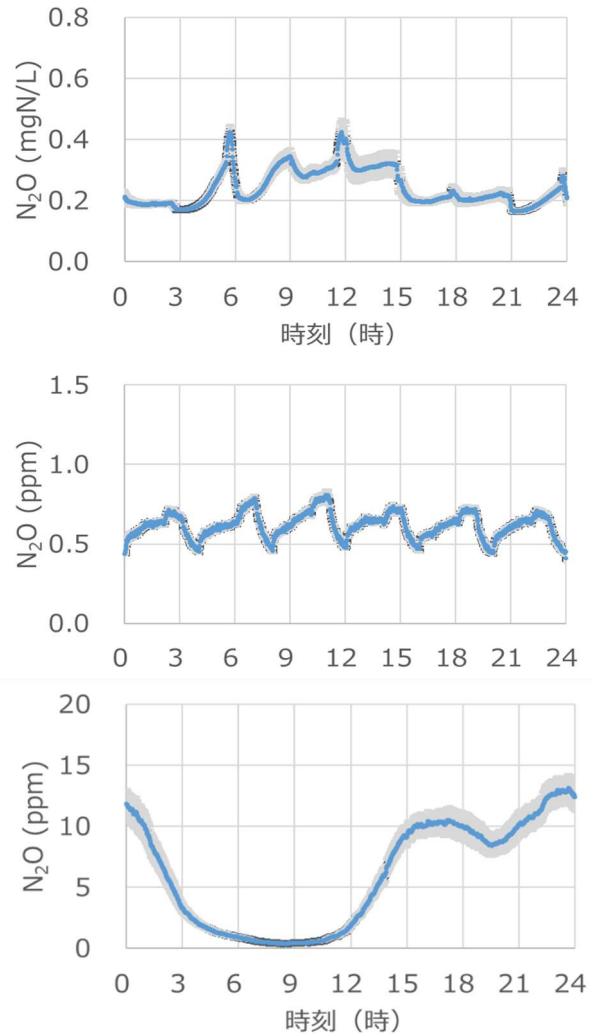


図2.3 各処理場における日内変動（上：A処理場、中央：B処理場、下：C処理場、灰色は標準誤差）

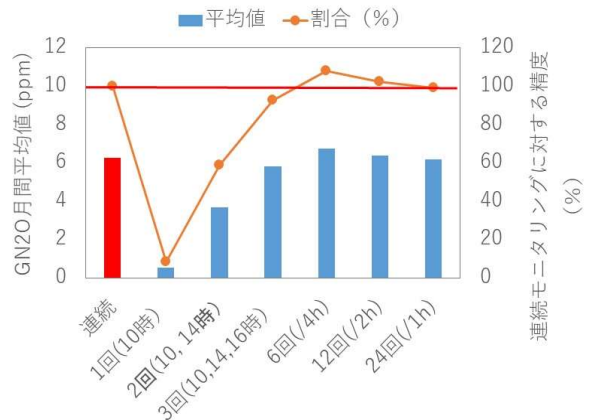
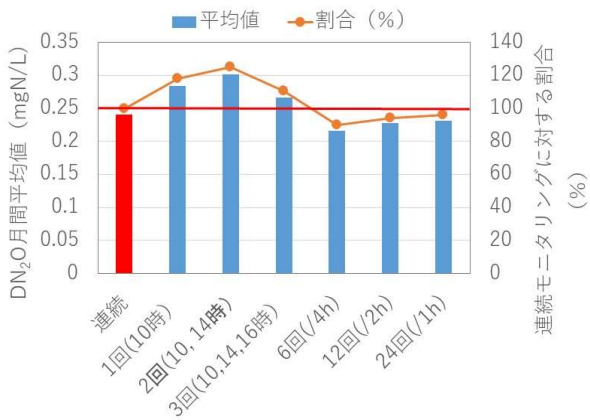


図2.4 測定頻度に関する検討（左：A処理場、右：C処理場）

間変動の影響が含まれる。これより、 CH_4 と N_2O の両者とも最終沈殿池で濃度上昇が見られた。一方で、消毒槽前後において滞留時間の間隔で採水を行った結果、D- CH_4 濃度は変化しなかったのに対し、D- N_2O 濃度は平均で12%上昇した。消毒槽においては次亜塩素酸ナトリウムによる塩素消毒(接触時間20~30分、残留塩素管理値0.4mg/L)が行われており、塩素消毒による N_2O 濃度の上昇を示唆する結果が得られた。

またB処理場において、反応槽以降のユニットにおけるD-GHGを2020年1月8日および2月12日に測定したところ、D- N_2O 濃度は最終沈殿池で増加した後一定濃度が維持されたのに対して、D- CH_4 濃度は最終沈殿池で増加し、その後砂ろ過プロセスで大きく減少し、放流水にはほとんど含まれなかった(後述:図2.20、図2.21)。より詳細な評価のため、各プロセスの滞留時間を考慮し、水塊を追って採水を行った結果を図2.7および図2.8に示す。これより、D- CH_4 は前述の調査と同様に、砂ろ過施設以降では減少することが確認された。一方、D- N_2O 濃度はオゾン処理(接触時間15分、排オゾン制御:0.5 g/Nm³)の前後で、平均1.3~2.4倍増加していた。既往の文献調査の限りにおいて、二次処理水のオゾン処理による N_2O 生成は報告されていないものの、二次処理水中に含まれる窒素成分とオゾンが反応することで、 N_2O が生成している可能性が示唆された。

4.2. GHGs生成メカニズムの解明

4.2.1. 生物活性試験によるGHGs生成特性評価

A処理場、B処理場、およびC処理場より活性汚泥を採取し、ラボ内において N_2O の生成活性試験を行った。活性試験の実施にあたっては、見島ら²⁾の手法を参考にして改良したガストリップング式の試験方法を用いて実施した。改良した手法は曝気環境下でストリップングにより発生するガスを採取・分析可能であるため、サンプル採取頻度の増加、実験系の安定化、および定量性の向上が見込まれる。実験の基本デザインは図2.9の通りであり、汚泥を洗浄し、pHを調整した後、Run A-Dの4系で異なる基質・DO条件を設定し N_2O の生物化学的な生成量の違いを評価した。なお、Run A-Cは空気曝気、Run Dは窒素曝気

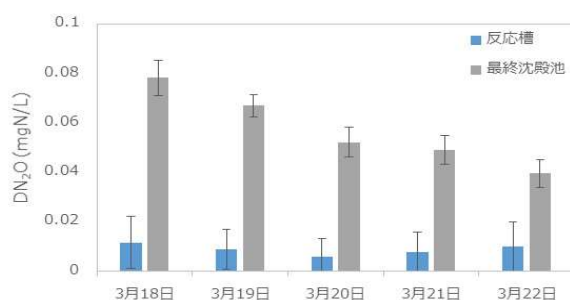


図2.5 C処理場における反応槽終端と最終沈殿池終端におけるD- N_2O 濃度の比較



図2.6 C処理場におけるD-GHGの推移(反応槽、最終沈殿池: n=1、消毒槽前後: n=3、消毒槽では滞留時間を考慮して採水)

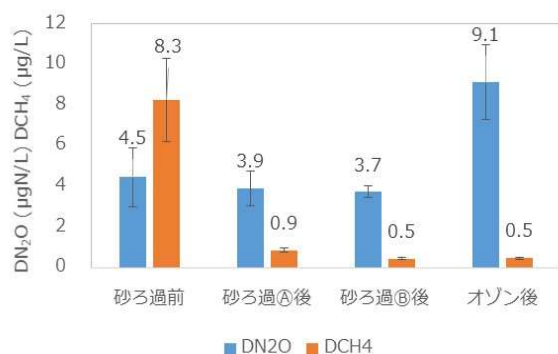


図2.7 三次処理プロセスにおける温室効果ガスの濃度変化(水塊追従、2/12、n=3)

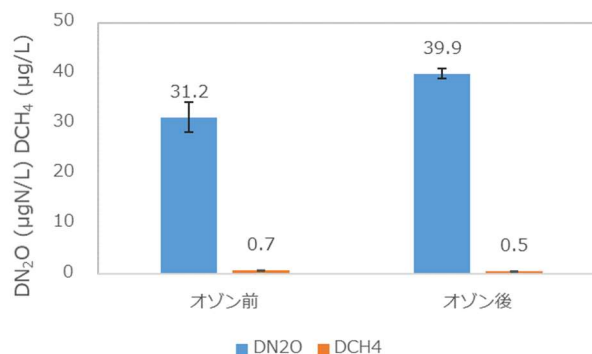


図2.8 オゾン処理前後の溶存態温室効果ガスの濃度変化(水塊追従、3/2、n=3)

である。

図2.10に典型的な測定結果を示す。これより、曝気環境下においては、DOが1mg/Lかつ NH_4^+ と NO_2^- の共存下(Run C)の条件で最も N_2O の生成が促進された。 NH_4^+ と NO_2^- の共存下においてDOが上昇した場合(Run B)、 N_2O の生成は抑制された。さらに、 NO_2^- が存在しない条件下(Run A)では、 N_2O の生成はさらに低下した。これらは、DOが高い条件下では相対的に硝化反応が促進されると同時に NO_2^- の還元反応が抑制されたのに対して、DOが低い条件下では硝化反応が抑制されると同時に NO_2^- の還元反応が促進され、 N_2O が生成されたためと考えられる。また、無酸素条件かつ NO_2^- と電子供与体添加条件(Run D)においては開始直後に N_2O 濃度の上昇が見られ、比較的短時間で減少した。これは従属栄養細菌による脱窒反応により、 N_2O の生成とそれに続く N_2O の還元反応が短時間に起こったものと考えられる。

N_2O の生成活性は、単位生物量 (MLVSS) かつ1時間あたりの N_2O 生成量と定義した。まず、A処理場において比較的短期間で N_2O 生成活性の変動を評価した。その結果を図2.11に示す。これより、1日目、7日目、11日目において N_2O の生成活性の傾向は類似しており、短期間で大きな変動が生じていないことを確認した。

以上をふまえ、A処理場、B処理場およびC処理場において活性汚泥を採取し、 N_2O の生成活性試験を行った。その結果を図2.12に示す。また、あわせてRun Cに対する各Runの比率を図2.13に示した。これより、A処理場とC処理場では、Run Dの生成活性が若干A処理場で高いものの、Run A-D間の量的関係性は類似していた。一方B処理場についてはRun Dの生成活性がRun Cよりも低かった。その要因として、A処理場とC処理場はいずれも処理水には低濃度の NH_4^+ に加えて NO_3^- も残存しており、それにより当該処理場の活性汚泥には相対的に高い脱窒活性が備わっていたと考えられる。一方で、B処理場は窒素の高度処理を行っている処理場であり、処理水には NH_4^+ や NO_3^- の残存もほとんど見られないことから、活性汚泥が有している脱窒活性が低く、それがRun Dにおいて低い N_2O 生成活性が得られた要因と考えられる。

B処理場は、4.1節で述べたように実際の N_2O 発生量も低い処理場である。したがって、本試験ではラボ

実験の基本デザイン

- ✓ 汚泥洗浄(蒸留水置換)
- ✓ BOD希釈水置換, pH調整(7.0)
- ✓ 温度一定(20°C), 基質投入
- ✓ 曝気ガスを定時サンプリング
- ✓ N_2O 分析(GC-ECD)

A B C D			
800 mL-AS NH_4^+ : 20 mgN/L; NO_2^- : 5mgN/L			
系	基質	酸素条件	想定経路
A	NH_4^+	DO>8.0 mg/L	硝化
B	$\text{NH}_4^+ + \text{NO}_2^-$	DO>8.0 mg/L	硝化(NO_2^- あり)
C	同上	DO=1.0 mg/L	低DO硝化脱窒
D	$\text{NO}_2^- +$ 酢酸	無酸素	従属栄養脱窒

図2.9 生物活性試験の基本デザイン

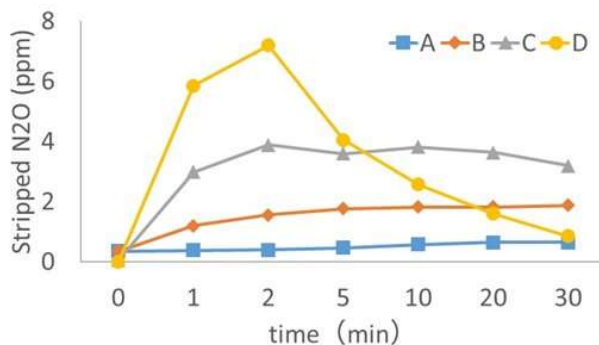


図2.10 活性試験における典型的な濃度プロファイル

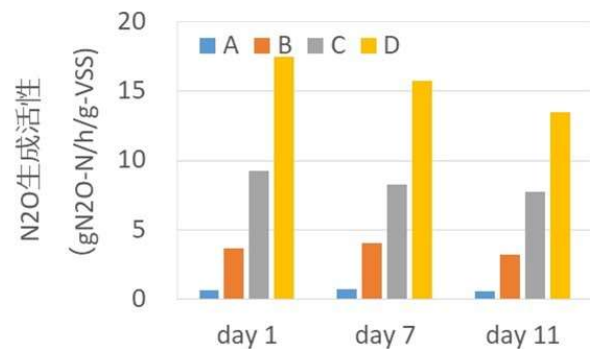


図2.11 A処理場における N_2O 生成活性の短期間変動特性

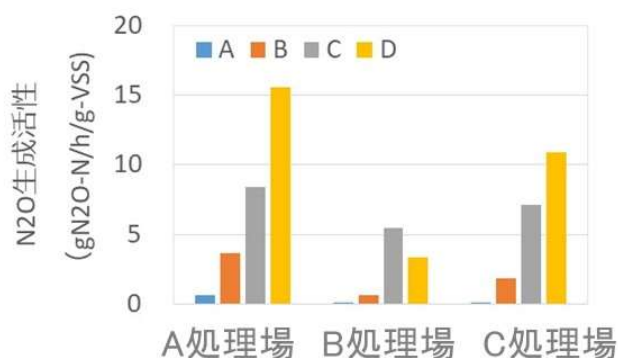
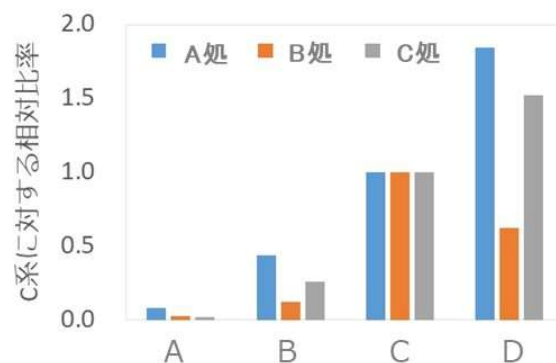
図2.12 異なる処理場におけるN₂O生成活性

図2.13 C系を基準（1.0）とした場合の各系の生成活性の相対比率

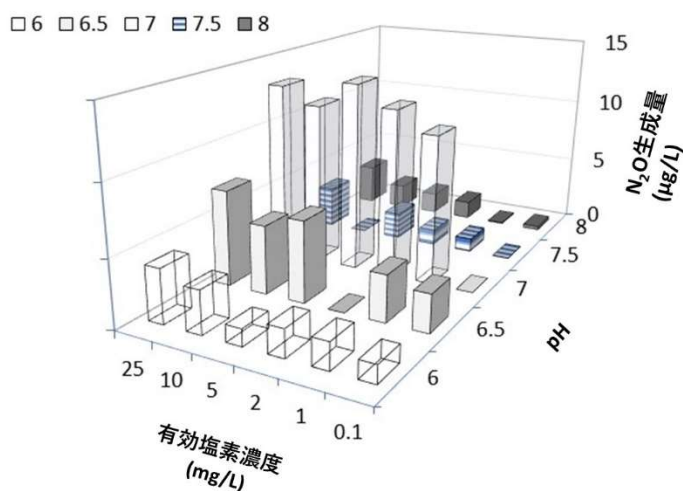
内で人為的に環境条件を設定した環境下においても、実際のN₂O発生量が低い処理場の活性汚泥は、N₂Oの生成活性、とりわけ脱窒に関するN₂O生成活性が低いことが分かった。

4.2.2. 塩素消毒プロセスにおけるN₂O生成特性評価

E処理場の二次処理水（NH₄⁺を5~7 mgN/L含有）を用いて、ラボ内において塩素添加試験を行い、N₂Oの生成特性を評価した。温度を20℃で一定に保ち、pHを6.0、6.5、7.0、7.5、8.0の5段階に設定した。塩素濃度の調整は、次亜塩素酸ナトリウム溶液（有効塩素12%）を、500、200、100、40、20、2 mg/Lとなるように超純水で希釈調製し、その後、二次処理水190 mLにそれぞれの溶液を10 mL添加することにより、実験開始時の濃度が25、10、5、2、1、0.1 mg/Lとなるように調製した。塩素濃度の確認方法として、塩素濃度が高い場合にはチオ硫酸ナトリウムを用いた有効塩素濃度測定法により測定した。塩素濃度の低い場合には、DR890（Hach社）を使用して、DPD法により遊離塩素と全塩素の2項目を測定した。

実験は、二次処理水に希釈した次亜塩素酸ナトリウム溶液を注入した瞬間を実験開始とし、0、5、10、15分に、50mLプラスチックシリンジを用いて溶液25mLを採取し、さらにN₂ガスを25 mL加え1分間攪拌した。その後、20mLプラスチックシリンジでヘッドスペースガスを15 mL採取し、真空引きした10 mLバイアル瓶に封入しガスサンプルとした。また、0分と15分には、0.45 μmメンブレンフィルターでろ過溶液を調整し、0.1 mol/Lのチオ硫酸ナトリウム1mLを添加した60 mLプラスチック容器に採取し、水質サンプルとした。以上の一連の工程を、塩素濃度25、10、5、2、1、0.1 mg/Lおよびブランクの7系列で実験を行った。N₂Oの測定は、ECDガスクロマトグラフ（GC-14B、島津製作所）によって分析し、溶解度係数により溶存態濃度に換算した。また、水サンプルのNH₄⁺-N濃度はイオンクロマトグラフ（850 professional IC、Metorohm社）を用いて分析を行った。

結果を図2.14に示す。なお、いずれの系においても0~15分においてほとんど差は見られなかったため、値は平均値で評価し、各系列からブランクの値を差し引いた値を生成量として示した。図2より、全体的な傾向として、塩素注入率の増加にともないN₂O生成量は増加した。pHの影響については、pHが7.0の場合に最もN₂O生成量が大きかった。また相対的に、酸性条件ではアルカリ性条件に比べてN₂O生成量が多かった。既往の研究³⁾より、N₂Oはジ

図2.14 塩素濃度およびpHとN₂O生成量の関係

クロラミンとOH⁻の反応により生成することが報告されている。pHの低下はHOClの増加によるジクロラミンの生成量増加を、pHの上昇はOH⁻の存在量増加の一方でHOClの減少につながるため、両者の共存が起こる中性条件でN₂O生成が促進されたと考えられる。

NH₄⁺-N濃度に対するD-N₂O-N生成量で転換率を算出したところ、最大値は0.13%、最小値は0.01%以下、平均値は0.04%、中央値は0.03%となった。なお、通常の下水处理場からのN₂O排出は、主に反応槽由来のものが計上されており、IPCCガイドラインのデフォルト値では流入窒素量に対して1.6%の値が報告されている。つまり、消毒由来の転換率は標準的な反応槽の変換率に比較すると、1~3オーダー低く、発生源としての重要性は相対的に低いと考えられた。

4.2.3. オゾン消毒プロセスにおけるN₂O生成特性評価

E処理場で採取した二次処理水を用いて、オゾンとの接触実験を行った。実験に供した二次処理水の水质は全窒素が14.4 mg/L、NH₄⁺が12.6 mgN/L、NO₂⁻が1.6 mgN/L、NO₃⁻が0.1 mgN/Lであり、一連の試験には4℃で冷蔵保存した同じ二次処理水を用いた。

実験は、二次処理水を供試水として、回分試験および連続試験を行った。回分試験にあたっては、100ml（満容量122ml）のバイアル瓶にpHを7.0に調整した二次処理水を61 mL入れた後、蒸留水またはバイアル瓶中のオゾン濃度が10 mgO₃/Lになるように調製したオゾン水を61 mL入れた。攪拌時間を15分設け、初期状態と15分経過後の水サンプルを採取した。オゾン注入率は10 mgO₃/Lとした。連続試験にあたっては、PSAオゾナイザーおよび6.5 Lの反応塔等から構成されるラボスケール装置を用いた。窒素曝気により初期N₂O濃度を低減させた後、反応塔内に6.5 Lの試供水を入れ、オゾン注入率0 mgO₃/Lのサンプル0.5 Lを採取した。その後速やかにPSAオゾナイザーによって生成されたオゾンガスと、反応塔内の二次処理水を連続的に接触させた。オゾンガスの流量は0.2 L/minとし、反応塔内の水はポンプで常時循環させた。サンプルはオゾン注入率が0.0、2.0、4.0、6.0、8.0、10.0 mgO₃/Lに対応する0、5.9、11.8、17.4、22.8、27.9分に反応塔内の溶液を0.5 L採水した。また、同時にHACH900DR（HACH社）を用いて溶存オゾンおよび全窒素濃度を、イオンクロマトグラフ（850 professional IC、Metrohm社）により無機態窒素濃度を測定した。D-N₂Oの分析方法は4.2.2と同様である。

回分試験の様子と得られた結果をそれぞれ図2.15および図2.16に示す。これより、オゾン注入率0 mg/Lの系では初期濃度および15分経過後ともにN₂O濃度は0.27 μgN/Lであった。それに対し、オゾン注入率10 mgO₃/Lでは初期濃度ではN₂O濃度は0.23 μgN/Lであり、15分経過後は0.34 μgN/Lになった。ただしこの差は調整したオゾン水に含有するN₂Oの混入に由来するレベルの変動と考えられ、オゾンとの反応によるN₂Oの生成は認められなかった。

また連続試験の様子と得られた結果をそれぞれ図2.17および図2.18に示す。これより、連続試験においてもN₂O濃度は各注入率でほとんど差はなく、N₂Oの生成は確認されなかった。なお、各注入率における溶存オゾン濃度は、オゾン注入率6.0 mgO₃/Lまでは検出限界以下であったものの、注入率8.0 mgO₃/L



図2.15 回分式オゾン反応試験

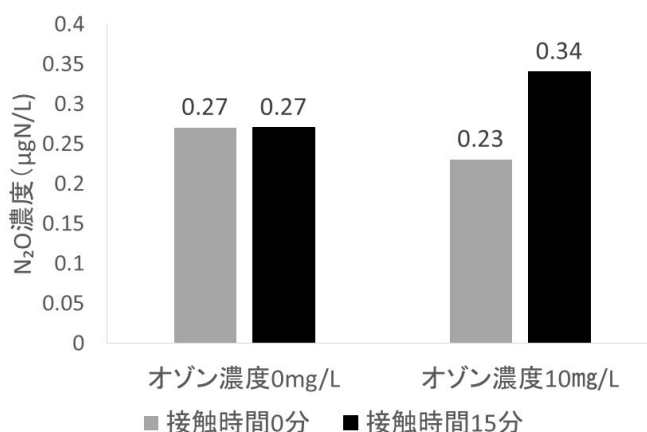


図2.16 オゾン反応試験結果（回分試験）



図2.17 連続オゾン反応試験

では0.06 mgO₃/L、注入率10.0 mgO₃/Lでは0.31 mgO₃/Lとなった。さらに、オゾン注入によりNO₂⁻のNO₃⁻への酸化も見られたことから、オゾンと二次処理水の接触による反応自体は起こっており、実験系の制御は適切であったと考えられる。

ここで、4.1節の図2.8に示したように、B処理場においてはオゾン消毒の前後でN₂O濃度の上昇が観測された。このラボ試験との乖離の要因としては、処理場内における短期間での変動や、実験に用いた二次処理水質の違い（実処理場の調査はB処理場、ラボ試験はE処理場）などが考えられるが、それについては今後精査が必要と考えられる。しかしながら、ラボ試験においてはオゾンと窒素化合物との化学的な反応は観察されなかったことから、オゾン消毒プロセスが主要なN₂Oの生成経路である可能性は低いと考えられる。

4.3. D-GHG_s排出係数の開発

わが国の排水処理プロセスからのGHG_s算出は、CH₄、N₂Oとも、処理プロセス内のガス態排出を流入量ベースの排出係数（以下、EF0）で算定している。したがって、D-GHG_sの排出係数の算定にあたっては、EF0との整合性を念頭におくと同時に、今後のEF0の改訂とも連動性を有する排出係数である必要がある。以上の制約をふまえ、D-GHG_sの排出係数（EF1）の開発に向けた検討を行った。

EF1の検討にあたっては、サブテーマ2で得られた知見に加え、既往の知見を整理し、下水処理水中のD-CH₄およびD-N₂Oの濃度分布の整理、反応槽以降のD-GHG_sの濃度変化を解析し、EF1の考え方を整理した。

まず、表2.3に下水処理水中のD-GHG_s濃度の解析に用いたデータを示す。また、得られた結果を表2.4に示した。これより、D-N₂OおよびD-CH₄濃度の平均値、

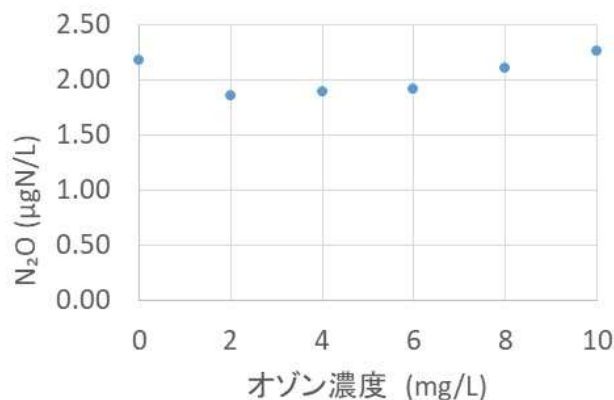


図2.18 オゾン反応試験結果（連続試験）

表2.3 下水処理水中のD-GHG_s濃度

ID	放流水		出典
	DN ₂ O (μgN/L)	DCH ₄ (μg/L)	
B処理場	12.2	0.7	masuda et al. (2018) ⁵⁾
B処理場	19.0	1.2	本推進費
C処理場	56.1	1.2	本推進費
C処理場	1.9	-	大友他(2017) ⁴⁾
C処理場	35.9	-	大友他(2017) ⁴⁾
D処理場	30.0	1.6	masuda et al. (2018) ⁵⁾
E処理場	131.4	-	本推進費
F処理場	3.5	4.9	masuda et al. (2018) ⁵⁾
H処理場	3.9	-	水落他 (1999) ⁶⁾
I処理場	1.3	-	水落他 (1999) ⁶⁾
J処理場	5.4	9.6	masuda et al. (2015) ⁷⁾
K処理場	4.2	-	Toyoda e al. (2009) ⁸⁾
海外A	11	-	McElroy et al.(1978) ⁹⁾
海外B	0.5	-	Garnier et al.(2006) ¹⁰⁾

表2.4 下水処理水中のD-GHG_s濃度まとめ

	DN ₂ O (μgN/L)	DCH ₄ (μg/L)
サンプル数	14	6
平均値	22.6	3.2
不偏分散	1244.3	12.2
標準偏差	35.3	3.5
最小値	0.5	0.7
第1四分位数	3.6	1.2
中央値	8.0	1.4
第3四分位数	27.3	4.1
最大値	131.4	9.6
四分位範囲	23.6	2.9
大気平衡濃度 (20°C)	0.26	0.03
GWP	265	28
CO ₂ 当量 (μgCO ₂ /L)	3327	40

※CO₂当量は中央値ベースで算出。端数処理のため表中の数値に基づく計算値と完全に一致しない。

中央値とも、20℃の大気平衡濃度と比較していずれも1から2オーダー過飽和であった。ばらつきが大きいことをふまえて中央値により評価することとし、温室効果ポテンシャル（GWP）をそれぞれの中央値に乗じたところ、D-N₂OのCO₂当量はD-CH₄の約83倍となり、N₂Oの寄与が大きいことが示された。図2.19には処理水中のD-N₂O濃度およびD-CH₄濃度の箱ひげ図をあわせて示した。

また、図2.20および図2.21には、B処理場、C処理場、およびD処理場における反応槽以降のD-GHGの濃度変化を示す。すでに4.1.2で述べたように、C処理場では反応槽流出時点でN₂Oが高濃度で含有され、それが最終沈殿池で増加後、再び減少するものの、濃度としては反応槽と同程度が残存していた。最終沈殿池における濃度の上昇はB処理場およびE処理場においても観測され、基本的には放流水に至るまでその濃度レベルが維持されていた。つまりD-N₂Oについては、最終沈殿池前後での変動があるものの、反応槽流出時の濃度レベルが放流水に至るまで概ね維持されていると見られた。先述したようにB処理場は処理水の無機態窒素の主要成分はNO₃⁻であり、嫌気環境の形成にともない脱窒が促進され、それがD-N₂Oの生成につながったと考えられる。それに対して、E処理場の無機態窒素の主要成分はNH₄⁺でありNO₃⁻はほとんど存在しないことから、NH₄⁺の酸化に由来するN₂Oの生成が起きていたと考えられ、そうしたメカニズムの差が生成量の違いとなったと推察される。なお、N₂Oは高い溶解度を有するため、その後の二次処理水の移動にともなう物理的攪乱によってもガス化による消失は顕著には起こらず、結果としてD-N₂Oが放流水中に残存したと考えられる。

それに対してD-CH₄は、反応槽流出時の濃度は概して低く、最終沈殿池での生成が見られるもののそれらは消毒前に速やかに消失し、放流水にはほとんど残存しないことが分かった。

以上をふまえて、排出係数の開発に関する論点を整理した。まず、反応槽のD-N₂O濃度は同一地点におけるG-N₂O濃度と正の相関があることが、理論的にも、本調査の現場データからも明らかになっている（データ非掲載）。したがって、処理水中のD-N₂Oと反応槽からのGN₂Oにも、量的な因果関係が認められると考えられる。一方で、処理水中のD-CH₄濃度は大気平衡濃度とほぼ同じレベルであり、低い溶解度ゆえに処理水に残存するリスクも小さく、下水処理水中のD-GHGとして算定する意義は低いと考えられる。また、処理水中のD-N₂Oは放流先の河川においてガス化、または嫌気環境であれば分解による消失が期待さ

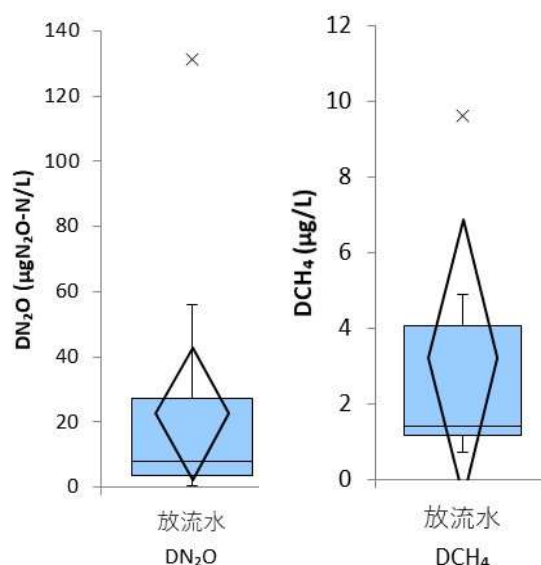


図2.19 下水処理水中のD-N₂OおよびD-CH₄分布

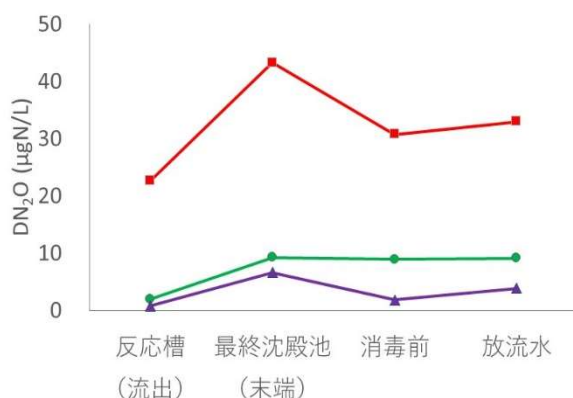


図2.20 反応槽以降のD-N₂O濃度変動
緑：B処理場、赤：C処理場、紫：E処理場

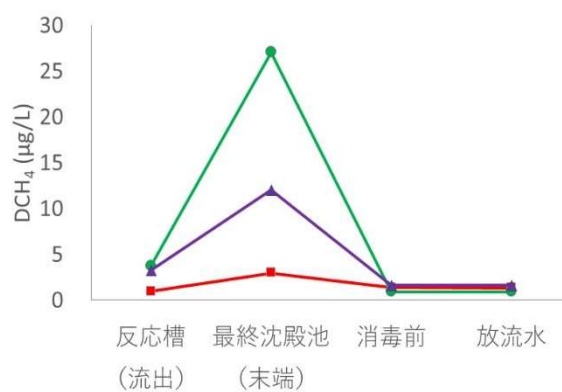


図2.21 反応槽以降のD-CH₄濃度変動
凡例は図2.20と同様

表2.5 ガス態と溶存態の発生比率及びEF

ID	システム	形式	期間 (日数, サンプル数)	測定方法	N除去率	ガス態が占める比率	溶存態が占める比率	EF1	溶存態 測定箇所	出典
A処理場	変形OD	機械曝気	11日連続	連続	74%	0.68	0.32	0.48	反応槽流出	大友他(2021) ¹⁾ , 本推進費
A処理場	変形OD	機械曝気	14ヶ月	グラフ	59%	0.67	0.33	0.48	反応槽流出	Otomo et al. (2021) ¹¹⁾ , 本推進費
B処理場	AOAO	送風曝気	4回/年	グラフ	99%	0.78	0.22	0.29	放流水	masuda et al. (2018) ⁵⁾
B処理場	AOAO	送風曝気	7日間連続	連続	99%	0.26	0.74	2.83	反応槽流出	本推進費
B処理場	AOAO	送風曝気	14日間連続	連続	99%	0.24	0.76	3.19	終沈流出	本推進費
C処理場	疑似AO (硝化促進)	送風曝気	4日連続	連続	76%	0.74	0.26	0.34	反応槽流出	本推進費
C処理場	疑似AO (硝化促進)	送風曝気	4回/1日	グラフ	76%	0.82	0.18	0.21	放流水	大友他(2017) ⁴⁾
C処理場	疑似AO (硝化促進)	送風曝気	4回/1日	グラフ	76%	0.92	0.08	0.09	放流水	大友他(2017) ⁴⁾
D処理場	疑似AO (硝化なし)	送風曝気	4回/年	グラフ	75%	0.84	0.16	0.19	放流水	masuda et al. (2018) ⁵⁾
E処理場	疑似AO (硝化あり, NO2蓄積)	送風曝気	45日間	連続	-	0.57	0.43	0.75	反応槽流出	本推進費
F処理場	OD	機械曝気	4回/年	グラフ	93%	0.44	0.56	1.30	放流水	masuda et al. (2018) ⁵⁾
G処理場	DO制御間欠曝気法	送風曝気	通日/1回, n=24	グラフ	84%	0.77	0.23	0.30	放流水	木持他(1998) ¹²⁾
H処理場	標準法	送風曝気	2回/年, 通日/回(n=8)	グラフ	65%	0.74	0.26	0.35	放流水	水落他(1999) ⁶⁾
I処理場	A2O法	送風曝気	2回/年, 通日/回(n=8)	グラフ	81%	0.52	0.48	0.92	放流水	水落他(1999) ⁶⁾
J処理場	疑似AO (硝化なし)	送風曝気	5回/年	グラフ	26%	0.09	0.91	10.15	放流水	masuda et al. (2015) ⁷⁾

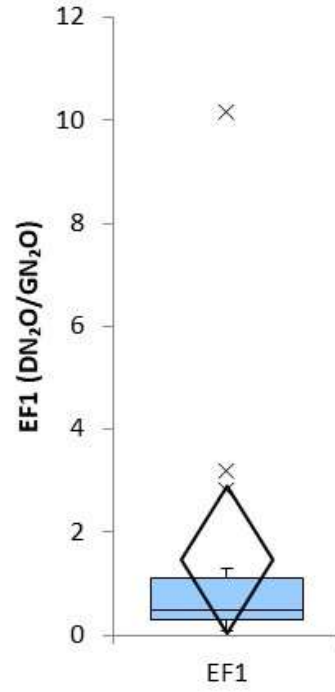


図2.22 EF1の箱ひげ図
 サンプル数=15、平均値=1.46、最小値=0.09、中央値=0.48、最大値=10.2、外れ値：10.2、3.19、2.83

れるが、一般的な河川環境は好气的環境にあり、脱窒に由来する分解の寄与はごくわずかと考えられる。以上をふまえ、下水処理水由来のD-GHG_sとしてD-CH₄は算定対象から除外してD-N₂Oのみを対象とすることとし、排出係数：EF₁は、反応槽におけるG-N₂O排出量に対する処理水中のD-N₂O排出量の比として定義することとした。

サブテーマ2の現地調査で得られたデータだけでは検体数に限りがあったため、既往の知見を解析対象に加えた。ただし、既往の知見では下水処理水中のD-N₂O濃度と反応槽由来のG-N₂O排出の両方を同時に実測した例は限られていたため、放流水中のD-N₂Oに加え、反応槽末端のD-N₂O流出量とG-N₂O排出量の双方が測定されている知見をデータセットに加え、それを表2.5に整理した。さらにそれらの情報を基に作成した、D-N₂OとG-N₂Oのフラックスの比率の箱ひげ図を図2.22に示す。ばらつきをふまえ中央値の値を採用すると、EF₁は0.48となった。これはG-N₂O排出量に対するD-N₂O排出量の比率が0.48であることを意味すると同時に、全N₂O排出量に占めるD-N₂O排出量の割合が約32%に上ることを示している。

開発したEF₁は、現在運用されているEF₀と連動して容易に実装が可能である。現在のEF₀は流入量にEF₀を乗じることでガス化量を算出しているため、そのガス化量にEF₁を乗じることで下水処理水を經由したD-N₂Oの排出量を算出することが可能になる。さらに、EF₀の削減、つまり反応槽でのGN₂Oの削減はそのままD-N₂Oの削減に直結する点も合理的と考えられる。

4.4. GHGs排出量の削減方策の提案¹⁾

現地調査の対象としたA処理場において、特にN₂Oの排出量の削減を目的とした検討を行った。検討にあたっては、現地調査および4.2で検討した生成活性試験の結果より、DOの制御によりN₂Oの生成抑制につながる可能性が考えられたため、その点に注目した。具体的には、攪拌方法の工夫によるDO制御に基づき、高度窒素除去とN₂Oの発生抑制を可能にする運転方法について検討した。

その結果、攪拌方法の違いにより、N₂O濃度を時空間的に制御できることを明らかにした。特に、無酸素エリアと適切なDO濃度の後期エリアを同時に形成する攪拌方法(Phase

2)では、74%の無機態窒素除去率と、0.31%の低いN₂O転換率を達成した。また、N₂Oの生成機構は流入下水水量の変動、およびDOや有機物濃度の影響を特に強く受け、N₂Oの抑制には適切な無酸素エリアの形成と、流入下水中に含まれる有機物の有効利用によるN₂O還元促進の促進が重要と考えられた。得られた知見を基に、A処理場における高度窒素除去とN₂O抑制を可能にする運転方法を提案した。

表2.6 N₂O排出量削減運転の検討結果；文献¹⁾の表を一部改変

Phase	Pattern		gN d ⁻¹			%			DIN 除去率 %
			E _G	E _D	E _T	EF _G	EF _D	EF _T	
Phase 1	B-1	平均値	548	303	851	0.59	0.32	0.91	87
		中央値	560	292	852	0.60	0.31	0.91	
Phase 2	A-1	平均値	154	70	224	0.21	0.10	0.31	74
		中央値	169	76	259	0.23	0.11	0.36	
Phase 3	C	平均値	>4,233 ^a	3,194 ^a	>7,427 ^a	—	—	—	—
		中央値	>4,233 ^a	3,194 ^a	>7,427 ^a	—	—	—	
Phase 4	A-1	平均値	16	9	26	0.04	0.02	0.06	41
		中央値	0	0	0	0.00	0.00	0.00	
Phase 5	A-2	平均値	0	0	0	0.00	0.00	0.00	24
		中央値	0	0	0	0.00	0.00	0.00	
Phase 6	A-3	平均値	0	0	0	0.00	0.00	0.00	26
		中央値	0	0	0	0.00	0.00	0.00	
Phase 7	B-2	平均値	213	158	371	0.61	0.46	1.07	33
		中央値	213	158	371	0.61	0.46	1.07	
	B-2 (発泡現象)	平均値	6,295 ^{a,b}	4,068 ^a	10,363 ^{a,b}	6.91 ^{a,b}	4.47 ^a	11.38 ^{a,b}	81
Phase 8	A-4 (発泡現象)	中央値	6,360 ^{a,b}	4,081 ^a	10,441 ^{a,b}	6.98 ^{a,b}	4.48 ^a	11.46 ^{a,b}	—
		平均値	6,538 ^{a,b}	4,060 ^a	10,598 ^{a,b}	—	—	—	
	A-4 (発泡現象)	中央値	6,538 ^{a,b}	4,060 ^a	10,598 ^{a,b}	—	—	—	—
Phase 8	A-4	平均値	10	6	16	0.02	0.01	0.03	42
		中央値	4	3	7	0.01	0.01	0.01	
Otomo et al. (2021) ^c	A-1	平均値	—	—	—	0.58	0.28	0.86	59
		中央値	—	—	—	0.13	0.06	0.19	

注：E_G:ガス態排出量、E_D:溶存態排出量、E_T:ガス態と溶存態の和、EF_G:ガス態排出係数、EF_D:溶存態排出係数、EF_T:ガス態と溶存態の和の排出係数、EFは無機態窒素除去量あたりの転換率として計算

^a DN₂O-N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

^b ガス化速度の不確実性を含む参考値として記載

^c 約14カ月のグラブサンプリング (n = 49)

5. 研究目標の達成状況

本サブテーマでは、実処理場でのGHGsの動態を明らかにするとともに、下水処理プロセス内におけるGHGsの生成機構に関する検討を行い、反応槽および消毒プロセスにおけるGHGsの生成機構を明らかにした。また得られた知見を基に、最終目標として掲げていた下水処理水に含まれるD-GHGの排出量を算定する排出係数を開発できたことから、当初の研究目標は達成できた。さらにAD会合での指摘をふまえ、実処理場におけるGHGs削減に関する取り組みを行い、GHGs排出量削減のモデルケースを示した。以上より、本サブテーマでは目標を上回る成果を達成できた。

6. 引用文献

- 1) 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 N_2O 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), 71-82, 2021.
- 2) 見島伊織, 吉田征史, 藤田昌史: 実下水処理場における硝化プロセスの N_2O 生成ポテンシャルの解析. 水環境学会誌, 37(6), 219-227, 2014.
- 3) 田中利昭, 増子敦, 尾崎勝, 佐藤親房: クロラミン類生成に関する新たな知見と浄水処理での低減化への適用. 水道協会雑誌, 79(6), 2-12, 2010.
- 4) 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.
- 5) 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. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2017.11.018
- 6) 水落元之, 佐藤和明, 稲森悠平, 松村正利: 地球温暖化ガス CH_4 , N_2O の標準活性汚泥法および嫌気・無酸素・好気法における放出量の比較解析. 日本水処理生物学会誌., 35(2), 109-119, 1999.
- 7) 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. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2014.09.042
- 8) Toyoda S, Iwai H, Koba K, Yoshida N: Isotopomeric analysis of N_2O dissolved in a river in the Tokyo metropolitan area. *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, 23(6), 809-821, 2009. DOI: 10.1002/rcm.3945
- 9) McElroy MB, Elkins JW, Wofsy SC, Kolb CE, Duran AP, Kaplan WA: Production and release of N_2O from the Potomac estuary. *Limnol. Oceanogr.*, 23(6), 1168-1182, 1978.
- 10) Garnier J, Cebon A, Talleg G, Billen G, Sebilo M, Martinez A: Nitrogen behaviour and nitrous oxide emission in the tidal Seine river estuary (France) as influenced by human activities in the upstream watershed. *Biogeochemistry*, 77, 305-326, 2006.
- 11) Otomo S, Terada A, Li Y-Y, Nishitoba K, Takakai F, Okano K, Miyata N, Masuda S: Long-term Assessment of N_2O Emission Factor in Full-scale Oxidation Ditch Reactor Considering Spatiotemporal Distribution. *Journal of Water and Environment Technology*, 19(3), 139-152, 2021. DOI: 10.2965/jwet.20-145
- 12) 木持謙, 稲森悠平, 松村正利: 間欠ばっ気活性汚泥法における流入窒素負荷の N_2O 放出および窒素除去に及ぼす影響. 水環境学会誌, 21(3), 163-169, 1998.

II-3 安定同位体を用いた N_2O 生成ポテンシャル評価と機構解明

国立大学法人東京農工大学

大学院工学研究院 応用化学部門

寺田 昭彦

〔要旨〕

サブテーマ3において、 ^{15}N トレーサー法を利用した微生物反応による N_2O 生成の活性評価手法の確立と、 N_2O 生成機構の解明を目指した。対象とする河川は、生活排水が放流される大規模都市河川（多摩川）と、比較的規模が小さい処理施設（サブテーマ1の下水処理場Aと河川 α ）から放出される郊外の小規模河川とした。これら2つの河川を対象に、底質の微生物叢や機能遺伝子の存在量分布を把握し、河川に排出される排水処理施設の処理水が N_2O 生成および消費を担う細菌群を評価した。

^{15}N トレーサー法を用いた脱窒活性を評価する手法により、 N_2O の生成活性と N_2O の消費活性の差し引きで得られる正味の N_2O 生成活性を真の N_2O 生成活性、 N_2O 消費活性に分けることが可能になった。大規模河川に対する活性試験を行ったところ、下流に行くほど NO_3^- 濃度する環境に暴露されている河川底質の N_2O 消費活性が高くなることを示した。また、アンモニア酸化および脱窒細菌の存在量も大きくなり、都市河川に含まれる排水処理施設由来の硝酸イオン濃度が N_2O 生成に主たる影響を及ぼすことを明らかにした。次にサブテーマ1と連携して小規模河川（河川 α ）での脱窒活性の評価を行ったところ、大規模河川と同様に排水処理施設の処理水放流口の下流方向での NO_3^- 濃度の上昇に伴い N_2O 消費活性の上昇が観察された。また、処理水放流口付近の河川底質は最も高い硝化活性を示した。開発した ^{15}N トレーサー法を適用したところ、河川環境の NO_3^- 濃度の上昇に付随して N_2O 生成活性も上昇した。また、大規模・小規模河川の微生物叢解析を実施し、鍵となる N_2O 生成・消費の細菌群の絞り込みを行った。以上より、 NO_3^- 濃度が潜在的な N_2O 生成に関与する可能性と関与する N_2O 生成・消費の微生物群の選定を行えた。

1. 研究開発目的

日本のような急峻で短い河川の特徴に鑑みた排水処理施設から放流される処理水がもたらす N_2O 排出量の正確な把握は、高い温暖化係数を有する N_2O の削減技術の確立に向けて、極めて重要な課題である。サブテーマ3では、他のサブテーマで評価される処理水放流後の河川から排出される N_2O 生成量や算定する N_2O の排出係数に関して、学術的な根拠を提供することが目的となる。 N_2O は硝化・脱窒の副生成物および中間生成物であるとともに、脱窒の最終段階である N_2O の N_2 への還元反応の初発物質である。したがって、 N_2O 生成の活性評価に加え、 N_2O 消費活性も把握する必要がある。以上の観点より、サブテーマ3では、河川底質が有する N_2O 生成と N_2O 消費の真の活性を評価可能な ^{15}N トレーサー法を確立することを1つの目的とした。これを河川底質の活性評価に適用し、 N_2O 生成メカニズムの解明を目指した。さらに、 N_2O 生成と N_2O 消費を担う微生物を同定し、 N_2O 生成メカニズムに洞察を加えることを目的とした。

2. 研究目標

都市河川に点在する生活排水処理施設の上流・下流を含めた複数箇所の底質中に生息する微生物群集の網羅的解析を行い、底質における N_2O 生成と N_2O 消費を担う微生物群の同定と定量を行う。また、河川底質や活性汚泥などに生息する微生物群が有する N_2O 生成・消費ポテンシャルの正確定量を目指し、新規 ^{15}N トレーサー法を開発する。脱窒細菌の純粋菌株数種を用いた嫌気条件における回分試験を実施し、 N_2O 生成および N_2O 消費速度の定量を行う。さらに、 ^{15}N トレーサー法を用い、河川底質の N_2O の生成量や生成経路、蓄積、消費速度を明らかにする。

サブ1、2の河川底質サンプルなどに ^{15}N トレーサー法を適用し、 N_2O 生成と N_2O 消費に関する定量的知見をサポートする。さらには、本テーマで提案する排出係数の学術的根拠となるデータを蓄積する。

3. 研究開発内容

3. 1. ^{15}N トレーサー法による脱窒条件下での真の N_2O 生成と N_2O 消費活性の手法開発

N_2O 生成経路は非生物学的な経路も含め複数存在する一方、 N_2O 消費経路は生物学的還元反応のみである。 N_2O 排出量の正確な把握のためには、 N_2O 生成・消費速度を精査する必要がある。しかし、 N_2O は脱窒反応の中間生成物であり、 N_2O 生成と消費が同時に起こる。検出される N_2O 濃度は生成と消費速度から差し引かれた正味の値であることに注意を要する。そこで、従来の ^{15}N トレーサー法を応用し、脱窒反応における真の N_2O 生成と N_2O 消費速度を同時に定量可能な手法開発を行った。 ^{15}N でラベルされた安定同位体で標識した硝酸イオンと分子量44の N_2O を脱窒細菌に供給し、窒素化合物の動態を追跡した(図3.1)。これにより、① NO_3^- と N_2O が共存する際の N_2O 消費の親和性、②最大 N_2O 消費速度を評価した。バイアル瓶に ^{15}N でラベルした硝酸イオンを含む培地を入れ、Heガスを8分間供給した後、Heガスと N_2O ガスをヘッドスペースに充填し嫌気条件を保った。バイアル瓶を高圧蒸気にて滅菌し、前培養した脱窒細菌の懸濁液を植種した。実験に用いた脱窒細菌は、高い N_2O 親和性と消費速度を有する*Azospira*属に着目し、研究室で単離された*Azospira* sp. strain I13、*Alicyclophilus denitrificans* strain I51¹⁾と*A. oryzae* strain PSを選出した。四重極型ガスクロマトグラフ質量分析計(GC-MS、島津製作所)を用い、バイアル瓶ヘッドスペース中の N_2 および N_2O の同位体($^{29}\text{N}_2$ 、 $^{30}\text{N}_2$ 、 $^{44}\text{N}_2\text{O}$ 、 $^{45}\text{N}_2\text{O}$ 、 $^{46}\text{N}_2\text{O}$)濃度を経時的に測定した。実験は各3連で行った。また、イオンクロマトグラフィーを用いて溶存態イオン濃度を追跡した。

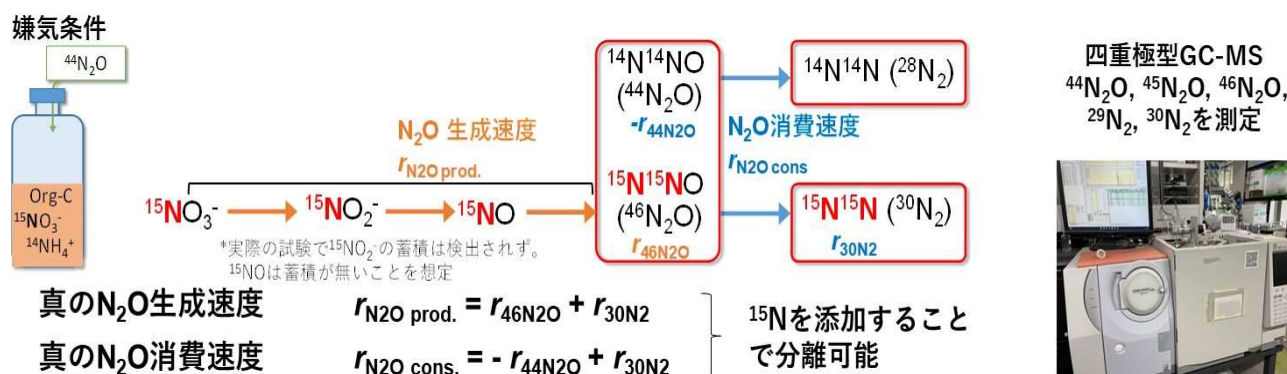


図3.1 新規 ^{15}N トレーサー法を用いた真の N_2O 生成と N_2O 消費の速度定量の概念図

3. 2. バイアル試験による大規模河川底質の N_2O 消費活性評価

中流域に複数の生活排水処理施設が存在する大規模都市河川である多摩川をサンプリングサイトとして、河川底質の N_2O 生成や消費に関する試験を行った。大規模都市河川中流の排水処理施設の上部・下部を含めた9地点から、河川底質を採取した(図3.2)。各地点で水温、pH、溶存酸素濃度を測定した。また、現場において河川水を採取し、生物不活化剤としてクロルヘキシジンを添加した1 mLの混合液を保存し、用意した10 mLバイアルに添加して1時間、20°Cの暗所に静置した。その後、バイアル気相の N_2O 濃度をGC-ECDにて測定し、ブンゼン吸収係数を用いて溶存 N_2O 濃度を算出した¹⁾。採取した河川底質の N_2O 消費速度を調べるため、バイアルを用いた嫌気条件下での回分試験を行った。120 mLバイアルに0.02 × PBSを27 mL、有機物としてYeast Extractを0.1 g/L、底質サンプルを1 g添加し、液相を30 mLとした。ヘリウムガスを供給することによりバイアル内を嫌気状態としたのち、バイアル内のヘッドスペースにヘリウムガス10 mLと、ガス態の N_2O 濃度が500 ppmとなるように N_2O ガスを封入した。四重極型ガスクロマトグラフ質量分析計(GC/MS、島津製作所)によってヘッドスペース中の N_2O 濃度の経時変化を測定し、 N_2O 濃度の減少の傾きと河川底質の添加量から、底質の乾燥重量当たりの N_2O 消費速度を直線的に近似することにより算出した。



図3.2 N₂O消費活性試験に用いた大規模都市河川の底質サンプルの採取箇所
(<https://maps.gsi.go.jp/>(国土地理院)の地図を改訂して掲載)

3. 3. 大規模河川の底質の微生物叢解析によるN₂O生成・還元微生物の同定・定量

河川底質サンプルからDNA抽出を行った。15 mLの遠沈管で底泥及び河川水を採取し、4℃のクーラーボックスに入れて研究室に持ち帰った後、DNA抽出を行うまで-20℃の冷凍庫で保存した。DNA抽出にはこれまで研究チームが行った手法^{2), 3)}を採用した。抽出したサンプルを用いてN₂Oの消費を担う細菌(N₂O還元細菌)が保有するN₂O還元酵素をコードする機能遺伝子*nosZ*を定量PCR法により定量することにより、N₂O還元細菌の定量を行った。また、その他の窒素化合物を変換する酵素をコードした遺伝子(図3.3)を対象に、表3.1に示すプライマーセットを用いて定量を行った。全ての細菌が共通して保有する16S rRNA遺伝子に対する相対割合を算出することで、底質中のN₂O還元細菌の存在割合を明らかにすることを旨とした。

16S rRNA遺伝子のアンプリコンシーケンス解析を行い、どのような微生物群が河川の底質に存在しているのかを評価した。各分類群およびOperational Taxonomic Unit (OTU)レベルの解析を進め、主要な細菌種の絞り込みを行った。これらの方法は過去の研究の手法²⁾を参考にした。さらに、絞り込んだ細菌に近縁なゲノム情報にアクセス(KEGG: <https://www.kegg.jp/kegg/kegg2.html>)⁴⁾し、主要な細菌群がN₂O生成・還元に寄与しているかどうかの遺伝子レベルの推定を行った。

表3.1 本試験で適用した定量PCRのプライマーセット、標的遺伝子と塩基配列。

プライマーセット	標的遺伝子*	塩基配列 (5'-3')**
341f	16S rRNA (全真正細菌)	CCTACGGGAGGCAGCAG
517r		ATTACCGCGGCTGCTGG
amoA-1f	Bacterial <i>amoA</i>	GGGGTTTCTACTGGTGGT
amoA-2r		CCCCTCKGSAAAGCCTTCTTC
Arch-amoA	Archaeal <i>amoA</i>	STAATGGTCTGGCTTAGACG
Arch-amoAR		GCGGCCATCCATCTGTATGT
cmx_amoB 148F	Comammox (clade A) <i>amoB</i>	TGGTAYGAYACNGAATGGG
cmx_amoB 485R		CCCGTGATRCCATCCA
nirS 4QF	<i>nirS</i>	G TSAACGYSAAGGARACSGG
nirS4QR		GASTTCGGRTGSGTCTTSAYGAA
nirK876-F	<i>nirK</i>	ATYGGCGGVCA YGGCGA
nirK1040-R		GCCTCGATCAGRTRRTGGTT
nosZ2F	clade I <i>nosZ</i>	CGCRACGGCAASAAGGTSMSSTG
nosZ2R		CAKRTGCAKSGCRTGGCAGAA
nosZ-II-F	clade II <i>nosZ</i>	CTIGGICCIYTKCAYAC
nosZ-II-R		GCIGARCARAAITCBGTRC

各PCRに関しては既往の研究⁵⁾に記載された条件を用いた。*各機能遺伝子に関する酵素反応は図3.3参照。

**混合塩基: S = C or G, Y = C or T, R = A or G, V = A or C or G, M = A or C, K = G or T, B = G or T or C, N = A or C or G or T, I = イノシン

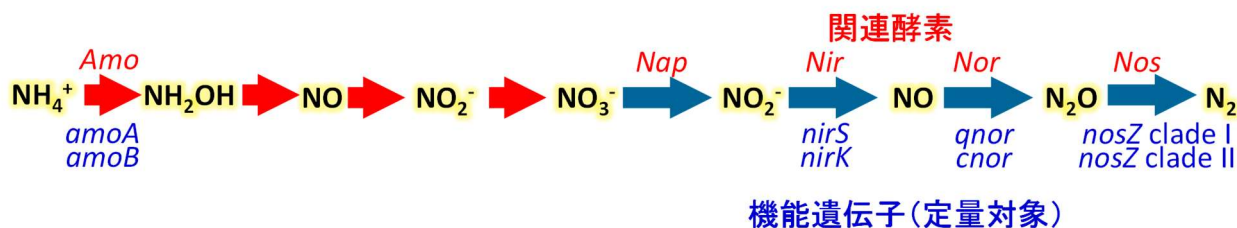


図3.3 定量PCRで測定対象とした窒素変換に関わる酵素をコードした機能遺伝子。amoA遺伝子はアンモニア酸化細菌とアンモニア酸化古細菌をターゲットに別途定量評価を行った。また、amoB遺伝子は完全アンモニア酸化細菌であるComammox *Nitrospira*^{5) 6)}を標的に定量を行った。

3. 4. バイアル試験による小規模河川底質のN₂O生成・消費活性評価

3. 1. と3. 2. で得られた河川底質のN₂O消費活性の傾向が小規模河川環境でも同様で得られるかを明らかにするため、生活排水処理施設の放流水出口の上流・下流を対象に河川底質のN₂O生成・消費活性評価を行った。サブテーマ1のサンプリングに同行し、サブテーマ1の河川αの下水道終末処理場Aによる生活排水処理水1箇所、処理場の放流口の上流1箇所、放流口および下流1 km先までの6箇所、計9箇所からサンプルを採取した(図3.4)。本研究では、図3.4の②、③、④、⑤、⑥、⑧の河川底質および河川水を用い、N₂O生成・消費にかかる活性試験・微生物叢解析を実施した。容積1 Lのポリタンクを用い、河川底質と河川水の懸濁液250 mLと、河川水750 mLを採取した。採取したタンクはクーラーボックスに入れ、使用まで冷蔵庫で保存した。



図3.4 小規模河川のサンプリング地点の概略図。

各番号にある距離は排水処理施設の放流水の出口地点からの距離を示す。

3. 4. 1 嫌気条件でのN₂O生成・N₂O消費に関する活性試験前処理

嫌気条件でのN₂O生成・N₂O消費に関する活性試験、冷蔵保存した図3.4に示す各地点の河川底質懸濁液5 mLと河川水25 mLを混合した懸濁液を容積70 mLのバイアルに移した。予備試験として、暗所で25℃、100 rpmの条件で振盪培養を行った。この予備培養を導入することにより、硝化反応を促進させ、河川水中のNO₂⁻をNO₃⁻やN₂Oに変換させた。この培養後、ゴム栓とアルミキャップでバイアルを完全密閉し、ヘッドスペースをヘリウムガスに置換し、暗所で25℃、100 rpmで振盪培養を行った。この過程によって、バイアル中のNO₃⁻、N₂OをN₂まで脱窒させた。この予備的な嫌気培養の後、バイアル中に河川水の有機物濃度と同等の4 mg-C/Lのグルコースを本試験の開始時に添加した。このような前処理を行った各サンプリング地点の底質サンプルを図3.5および3.4.2, 3.4.3, 3.4.4に示す3つの回分試験に適用した。

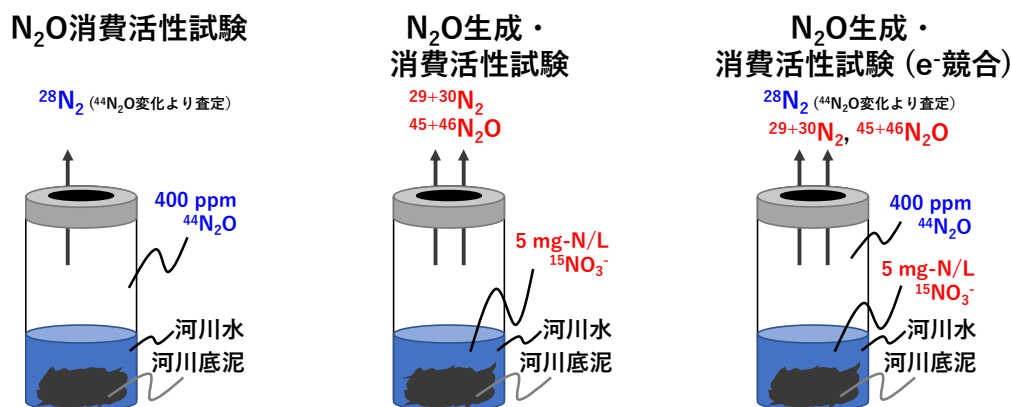


図3.5 河川底質のN₂O生成・消費活性評価試験の概念図

3. 4. 2. N₂Oを唯一の電子受容体として添加した際のN₂O消費活性試験

3. 4. 1に示す前処理を行ったバイアル中の河川底質サンプルに残存する窒素や酸素をヘリウムによってパージし、ヘッドスペース中に400 ppmの⁴⁴N₂Oを添加した。嫌気条件下でのヘッドスペース中のN₂OのN₂への還元をGC/MS (GCMS-QP2010Ultra, 島津製作所, 日本)により時系列的に追跡し、N₂O濃度の減少を線形近似することによりN₂O消費速度を算出した。

3. 4. 3. NO₃⁻を唯一の電子授与体として添加した際のN₂O生成・N₂O消費活性試験

3. 4. 1.の実験が終了した後、バイアル中の懸濁液に再びヘリウムを供給し、¹⁵NO₃⁻が懸濁液中で5 mg-N/Lとなるように添加し、嫌気条件下で回分試験を行った。河川底質に存在する脱窒細菌の働きにより¹⁵NO₃⁻は⁴⁶N₂Oを経て、最終的に³⁰N₂まで還元される。バイアルのヘッドスペースに存在する³⁰N₂および⁴⁶N₂O濃度をGC/MS (GCMS-QP2010Ultra, 島津製作所, 日本)により測定し、この2つの濃度の和を嫌気条件下でのN₂O生成速度として評価した。³⁰N₂および⁴⁶N₂O濃度の測定条件は、既往の研究^{8), 9)}を参考にした。

3. 4. 4. N₂OとNO₃⁻が共存する条件でのN₂O生成・N₂O消費活性試験

3. 4. 2.の実験が終了した後、バイアル中の懸濁液に再びヘリウムを供給し、¹⁵NO₃⁻を懸濁液中で5 mg-N/Lとなるように添加し、ヘッドスペースに⁴⁴N₂Oが400 ppmになるようにN₂Oガスを添加した。ヘッドスペースのガスをGC/MSによって時系列的に測定し、⁴⁴N₂O、⁴⁵N₂O、⁴⁶N₂O、²⁹N₂、³⁰N₂の濃度変化を測定し、図3.1に記載した解析方法を用いて真のN₂O生成とN₂O消費速度を評価した。

3. 4. 5. 好気条件におけるN₂O生成試験

硝化試験は500 mLの三角フラスコを用いて実施した。30 mLの底質懸濁液と70 mLの河川水を混合して三角フラスコに封入した。その後、3. 4. 1と同様の前処理を実施した。その後、2つのガラス管を貫通させたゴム栓(高さ(Φmm)35、下径(Φmm)31、上径(Φmm)36.5、12型番)を三角フラスコに接続した。1つのガラス管は三角フラスコ内の懸濁液まで伸びており、ゴム栓の外側は大気に接している。一方、もう一つのガラス管は三角フラスコ内のヘッドスペースに接続されており、ゴム栓の外側はチューブを介してテドラーバッグ内に接続されている。実験は懸濁液を純空気曝気した後、¹⁵Nでラベルされたアンモニウムイオン(¹⁵NH₄⁺)を終濃度15 mg-N/Lとなるように添加して回分実験を開始した。イオンクロマトグラフィーによりNO₃⁻の増加量から、硝酸イオンの生成速度を算出した。一方、テドラーバッグに溜まったガス中のN₂O濃度を時系列的にGC/MSで測定し、N₂Oの累積量を評価した。

3. 5. 小規模河川の底質の微生物叢解析によるN₂O生成・還元微生物の同定・定量

3. 3.と同様に河川底質サンプルからDNA抽出を行った。抽出にはこれまで研究チームが行った手法^{2), 3)}を採用した。本検討では、抽出DNAの評価に加え、活性の高い微生物叢として遺伝子の転写が頻繁に起こっている機能遺伝子の定量や微生物種を同定するために、RNA抽出を行った。RNAは分解性が高いため、実地でのサンプリングの際、RNAの分解遅延剤であるRNAlater Stabilization Solution (Thermo Fisher Scientific)を12.5 mL入れた15 mLの遠沈管に湿潤状態の底質を約2 mL採取し、4℃に保ったク

ーラーボックスで保管して研究室に持ち帰り、抽出まで4°Cの冷蔵庫で保存した。RNA抽出、相補的DNA作製のための逆転写反応に関しては、既往の研究の方法⁹⁾に準拠して行った。抽出したDNAおよび抽出RNAを逆転写して得られたcDNAは3. 3. で実施した定量PCR (表3. 1) を同様に行った。16S rRNA遺伝子のアンプリコンシーケンス解析を行い、サンプリング場所に生息する細菌群および活性が高い細菌群を系統的に同定した。

4. 結果及び考察

4. 1. ¹⁵Nトレーサー法による脱窒条件下での真のN₂O生成とN₂O消費活性の手法開発

¹⁵NでラベルしたNO₃⁻ (¹⁵NO₃⁻) を非ラベルのN₂O (⁴⁴N₂O) と混合することにより、実験開始時から存在しているN₂Oに対して、脱窒により生成してくるN₂Oを追跡可能となった (図3. 6)。また、¹⁵NO₃⁻からの脱窒反応で生成するN₂Oは⁴⁶N₂O、N₂は分子量30のものであり、⁴⁵N₂O、²⁹N₂はそれぞれ下限値以下であった。¹⁵Nでラベルした硝酸イオン (¹⁵NO₃⁻) と生成した⁴⁶N₂Oおよび³⁰N₂の量の定量が行えた。さらに、実験前に添加した非ラベルのN₂Oの消費量を追跡した。¹⁵Nラベル・非ラベルの窒素化合物の物質収支が取れたことから、本研究で開発した¹⁵Nトレーサー法は嫌気条件下における真のN₂O生成、真のN₂O消費を正確に追跡できることを示した。

この結果をもとに、図3. 6に示す手法に基づき真のN₂O生成・消費速度を定量し、真のN₂O生成 ($I_{N_2O, prod.}$) および真のN₂O消費速度 ($I_{N_2O, cons.}$) をそれぞれ算出することができた (図3. 7)。¹⁵Nトレーサー法の開発において実験に用いた、*Azospira* sp. strain I13、*Az. oryzae* strain PS、*Alicyclophilus denitrificans* strain I51は、ゲノム解析の結果よりNO₃⁻からN₂に変換する脱窒酵素をコードする遺伝子を保有する完全な脱窒細菌であることがわかっている。一方で、N₂O生成、N₂O消費の度合いは細菌種によって異なることを図3. 7の結果は示唆している。特に、N₂O削減に向けて高活性なN₂O消費能力を有すると報告されているClade II *nosZ*に分類される*Azospira*属^{2), 10)}は、NO₃⁻からの脱窒活性が低く、N₂O消費に長けていることが、N₂O生成とN₂O消費に関する相対速度比 $I_{N_2O, prod.}/I_{N_2O, cons.}$ から明らかになった (図3. 7)。一方、Clade I *nosZ*に分類される*Al. denitrificans* strain I51は、NO₃⁻を優先的にN₂Oに還元する能力に長けており、NO₃⁻とN₂Oが共存する条件ではNO₃⁻を優先的にN₂Oに還元することにより、N₂O生成に貢献してしまう可能性を示した。以上の結果は、脱窒細菌の中にも、 $I_{N_2O, prod.}/I_{N_2O, cons.}$ は種類によって大きく異なり、優先的にN₂O消費を行う細菌種が生息することを示唆した。

河川底泥の微生物叢解析より、嫌気環境下においてN₂O生成および消費の双方に寄与する潜在性がある脱窒細菌が多種検出されている (4. 3.)。これらの細菌群の生理活性の状況により河川環境においてN₂Oの生成が促進されてしまう可能性がある。本検討で開発した¹⁵Nトレーサー法を利用することにより、嫌気条件下で生成する正味のN₂O生成量を真のN₂O生成活性と真のN₂O消費活性に分け、どちらの反応が優先的に進むのかを精緻に解析できることが明らかになった。本手法の河川底質への適用結果は4. 5に記載してある。

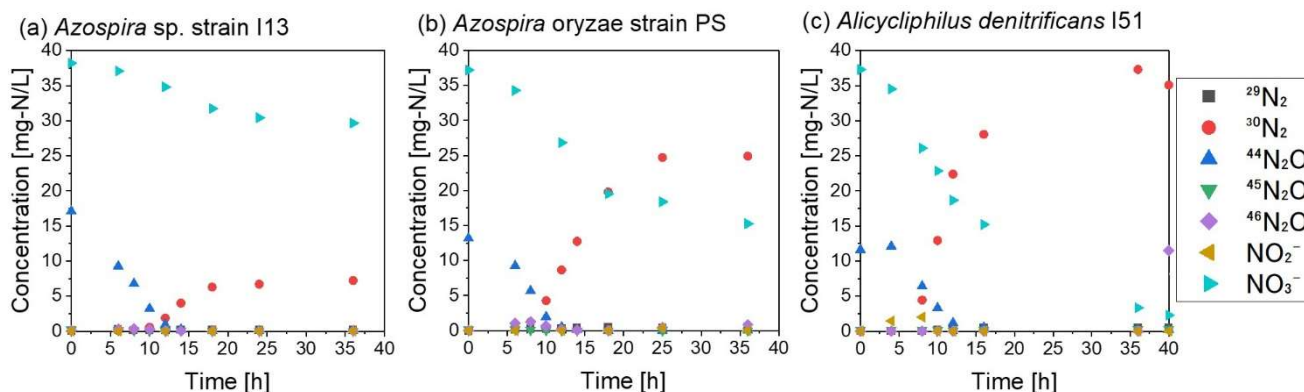


図3. 6 新規¹⁵Nトレーサー法を用いた回分試験における各窒素化合物の経時変化

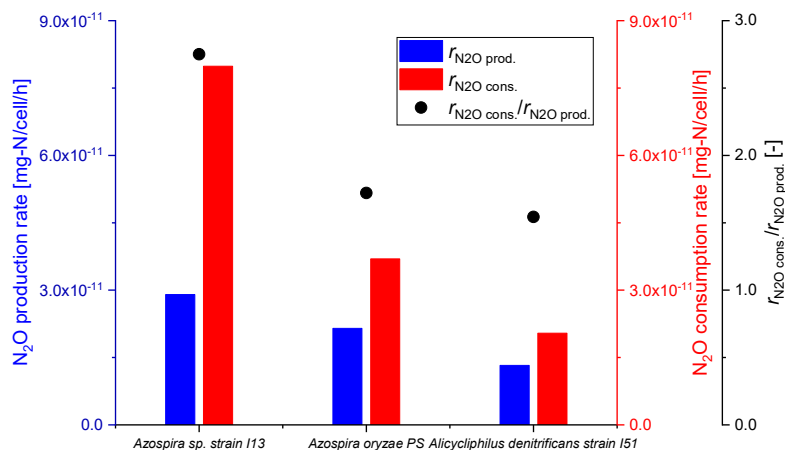


図3.7 新規¹⁵Nトレーサー法の適用による各脱窒細菌の真のN₂O生成・消費速度の比較

4. 2. 河川中のバイアル試験による河川底質のN₂O消費活性評価

各サンプリングサイトから河川底質を採取し、有機物、N₂Oを添加して嫌気条件下でN₂O消費速度を精査した。図3.8に示すとおり、下流に向かうほどN₂O消費速度は増加しており、排水処理施設から排出される窒素化合物の負荷がN₂O消費活性に影響している可能性が示唆された。また、実地の水温の測定結果では、夏季の平均水温は22.79 ± 1.01℃、冬季の平均水温11.4 ± 0.92℃であった。冬季は下記に比べて水温が約10℃低下しており、N₂O消費活性が低下することを予測していたが、夏季・冬季において河川底質が有する潜在的なN₂O消費活性に大きな違いは見られなかった。N₂O還元細菌が含まれる脱窒細菌の活性は、通常25～30℃が最適温度であるとされている。河川底質の微生物叢に大きな変遷が無ければ、試験で用いた温度でN₂O消費が回復した可能性が高い。また、河川底質に有機物を添加しない系ではN₂O消費活性が実験期間内でほとんど確認できなかったことが示されている。この点を考慮して、実際の河川環境においては電子供与体である有機物濃度が極めて低く、N₂O消費活性は有機物濃度に制限されている可能性が示唆された。N₂O消費速度と硝酸イオン濃度の相関性を調べるため、図3.8で得られたN₂O消費速度とサンプリングサイトのNO₃⁻濃度の相関性を評価した(図3.9)。図3.9aより、N₂O消費速度とNO₃⁻濃度の間に正の相関性が示唆された(相関係数R² = 0.81)。一方、N₂O消費速度とサンプリングサイトのNH₄⁺(図3.9b)はある程度の正の相関がみられたものの(相関係数R² = 0.59)、相関性はN₂O消費速度とNO₃⁻濃度のそれに比べて低かった。一方、N₂O消費速度とNO₂⁻には明瞭な相関性が見られなかった。河川環境のNO₃⁻濃度は一連の脱窒反応の先駆物質であり、N₂O消費活性を反映している可能性があることを示した。

本研究のサンプリングサイトにおける溶存N₂O(D-N₂O)濃度も併せて評価した。D-N₂O濃度は下流に向かうほど上昇する傾向が得られた。また、A地点を除く8地点における平均D-N₂O濃度は夏季では0.67 ± 0.21 μg-N/L、冬季では0.82 ± 0.25 μg-N/Lとなり、

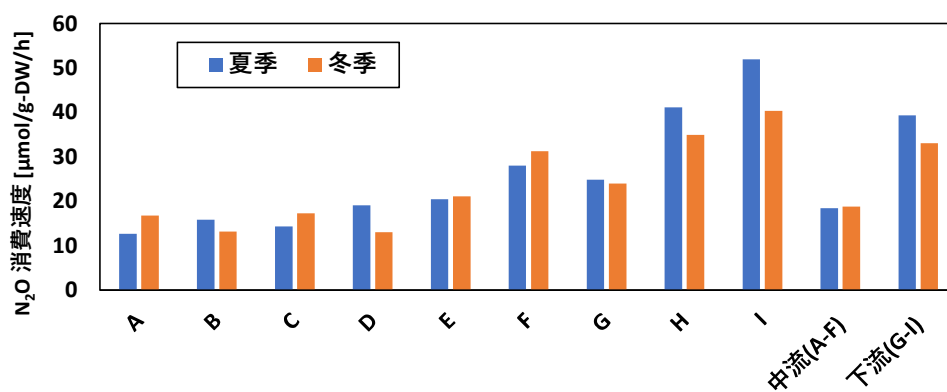


図3.8 各サンプリングサイトにおける底質の潜在的なN₂O消費活性

夏季よりも冬季の方が、高いD-N₂O濃度になることも確認された。冬季に水温が低下することによって硝化反応が律速になること、溶存酸素上昇による脱窒反応が遅れること、また、河川の表層水自体の溶存酸素が飽和濃度に近いため、脱窒反応が起こる条件ではないこと、といった3点がN₂O蓄積の要因である可能性が考えられる。河川底質が潜在的に活性を有するN₂O生成とN₂O消費を含む脱窒活性は、現場では発揮されていないことを示唆するデータである。

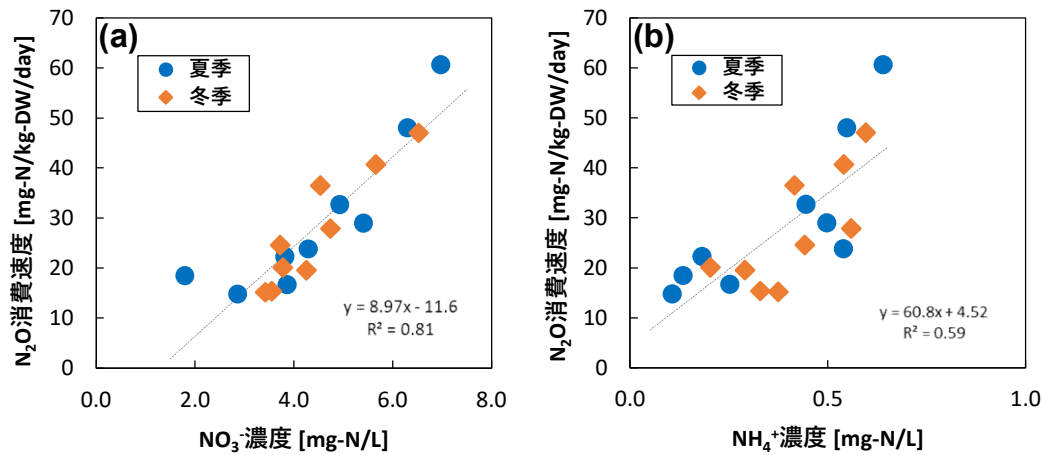


図3.9 大規模河川環境の(a) NO_3^- 濃度および (b) NH_4^+ 濃度と河川底質の N_2O 消費速度の相関性

4. 3. 河川底質の微生物叢解析による N_2O 生成・消費に関する微生物群の同定・定量

16S rRNA遺伝子数(全細菌の標準値)に対する nosZ 遺伝子コピー数の相対値を図3.10に示す。 N_2O 消費を担う細菌群は従来から知られているclade I nosZ と新たに発見されたclade II $\text{nosZ}^{(11,12)}$ に大別される。 N_2O 消費を担うclade I nosZ の細菌群は、大規模都市河川の下流に向かうほど増加していることが示唆された(図3.10a)。一方、clade II nosZ の細菌群は各サンプリングサイトで nosZ 遺伝子の絶対コピー数、16S rRNA遺伝子に対する相対値に大きな違いは見られなかった(図3.10b)。また、夏季から冬季にかけてclade I nosZ の相対コピー数には季節変動に応じた大きな変化が観察されなかったのに対し、clade II nosZ の相対コピー数はB~Fのサイトにおいて減少した。以上の結果から、河川底質の N_2O 消費を担う細菌群は、従来から知られているclade I nosZ の N_2O 還元細菌が寄与している可能性が示唆された。また、アンモニア酸化細菌の有するアンモニア酸化酵素をコードする機能遺伝子 amoA 、 amoB の定量の基づく結果、従来のアンモニア酸化細菌よりも完全アンモニア酸化細菌の機能遺伝子のコピー数が高い値が得られた。一方、サンプリングサイト間や季節における機能遺伝子 amoA 、 amoB の違いは見られなかった。これらのアンモニア酸化細菌の機能遺伝子に加え、アンモニア酸化古細菌のArchaeal amoA も定量した。Archaeal amoA は検出下限値以下であり、存在量が極めて低いことが示唆された。脱窒に関する nirS 、 nirK 、 cnorB 、 qnorB の定量の結果、季節やサンプリングサイトでこれらのコピー数の大きな違いは見られなかった。上記の機能遺伝子は N_2O 生成に関わる酵素に関連する遺伝子であるため、遺伝子の存在量だけでなく転写活性も調べていく必要があることが示された。

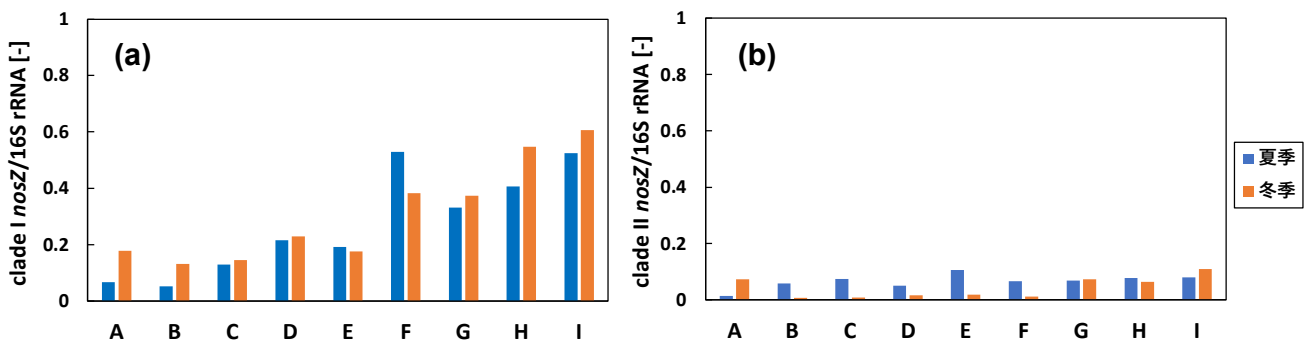


図3.10 定量PCRによる N_2O 消費を担う細菌の全細菌の16S rRNA遺伝子に対する相対割合：
(a) clade I nosZ ; (b) clade II nosZ

各サンプリングサイトから得られた16S rRNA遺伝子のアンプリコンシーケンスの結果に基づく、微生物群集構造の変遷を図3.11に示す。多摩川の中流・下流部位のG、H、I地点においては夏・冬と同じ箇所でも河川底質サンプルを採取して微生物叢を確認したところ、組成に大きな違いは見られなかった。一方、

上流から中流（A～F）までは微生物叢が大きく変遷し、下流域（G～I）は比較的微生物叢が類似することが示唆された（図3.12）。

次に、微生物のOTUレベルでの微生物叢解析で同定された種類に近縁種をデータベースで照合し、窒素化合物の変換に関する機能遺伝子の有無を調査した。図3.13に示すように、窒素酸化物の還元能に関しては、以下の3つに大別できることを示した。

グループ1：N₂O消費を担う能力を有さず、N₂O生成のみに関与する微生物

グループ2：脱窒反応（NO₃⁻ → N₂）に関与する全ての機能を保有し、N₂O生成とN₂O消費の双方に機能しうる微生物

グループ3：亜硝酸還元もしくは一酸化窒素（NO）還元能が欠損しており、N₂O消費に関与する非脱窒性の微生物

N₂O生成に関与する微生物群（グループ1）では、アンモニア酸化古細菌として知られる *Ca. Nitrosphaera* 属や、完全アンモニア酸化細菌および亜硝酸酸化細菌として報告されている *Nitrospira* 属^{6), 7)}などが検出された。脱窒細菌のみならず、硝化に関与する微生物群もN₂O生成に関与することが示唆された。脱窒能を有している微生物群（グループ3）は *Betaproteobacteria* 綱や *Alphaproteobacteria* 綱に属する生活排水処理施設でも検出される脱窒細菌群であり、相対存在率も高く検出された。

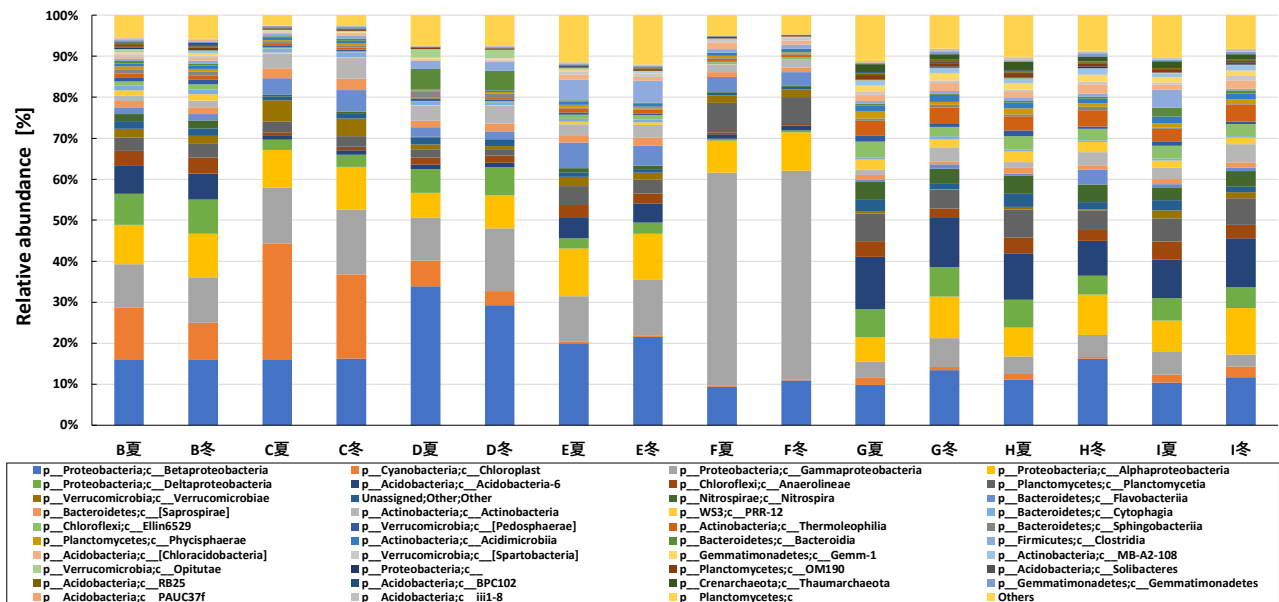


図3.11 16S rRNA遺伝子のアンプリコンシーケンスによる微生物叢の綱レベルでの組成
アルファベットは図3.1のサンプリングサイトを示す

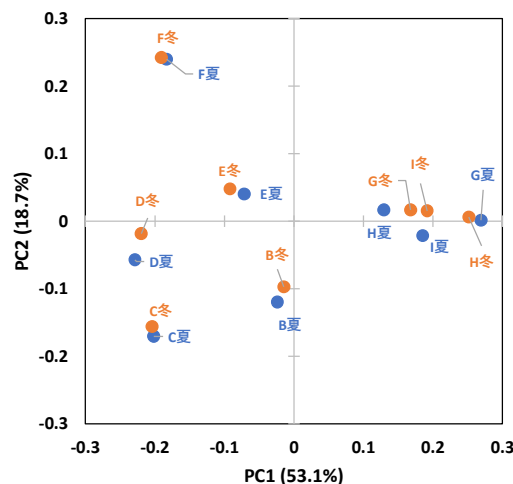


図3.12 各サンプリングサイトの微生物群集の変遷を示すPCoA解析結果。
BからIの順に上流から下流に向かって示す。アルファベットは図3.2に対応

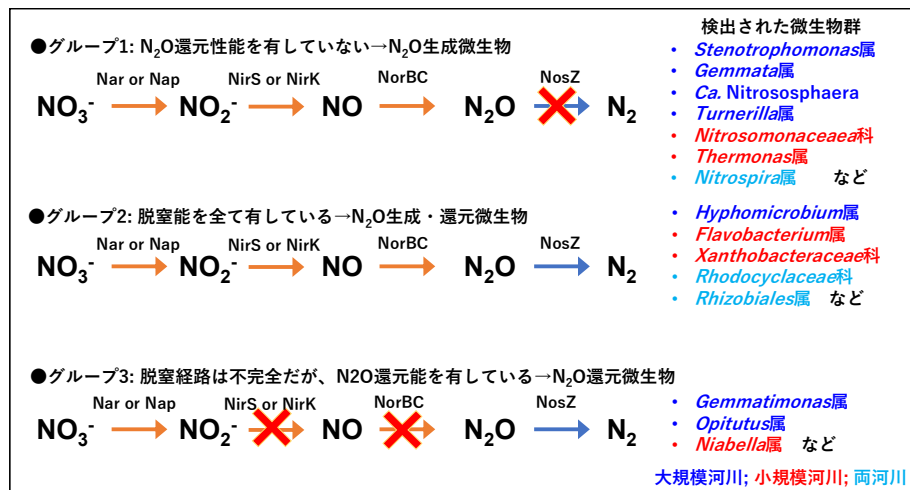


図3.13 河川底質で検出された N_2O 生成・還元微生物群の分類と同定された微生物群

得られた定量PCRの結果および水質データの結果を構造方程式モデリングに当てはめた結果を図3.14に示す。生活排水由来の NO_3^- 濃度と河川底質の潜在的な N_2O 生成速度 ($r_{N_2O \text{ prod.}}$) に高い相関が得られた。また、 NO_3^- 濃度と $r_{N_2O \text{ prod.}}$ は河川の溶存態 N_2O 濃度と高い相関があることが示唆された。以上の解析結果より、大規模都市河川の生活排水処理施設において、硝化により生成し放流される NO_3^- が潜在的な N_2O 生成速度を高め、溶存態 N_2O 濃度の増大に影響をもたらす可能性が示された。

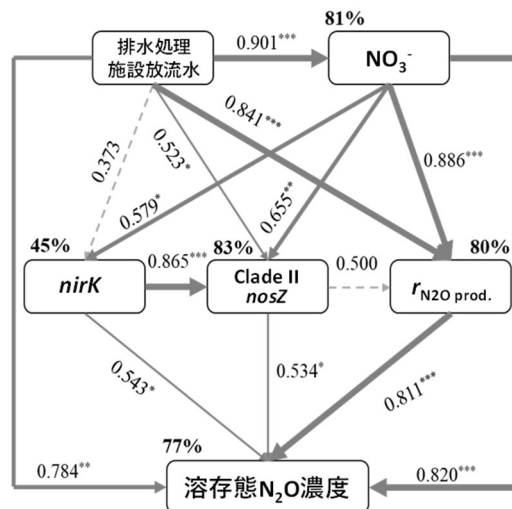


図3.14 構造方程式モデリングによる排水処理施設の放流水と大規模河川の溶存態 N_2O との関連性 (Zhou *et al.* の論文¹⁰⁾ の図を改変して転載)

4. 4. バイアル試験による小規模河川底質の N_2O 生成・消費活性評価

サンプリングサイトの河川水 (サブテーマ1の河川 α に対応) の水質の結果を表3.2に示す。また、図3.5に示す小規模河川の底質による N_2O 生成および N_2O 消費活性の評価結果を図3.15に示す。 N_2O のみを供給した N_2O 消費活性試験では、点Dを除き、放流口および下流地点の底質の脱窒速度は上流より1.3-1.6倍高くなった。 N_2O 生成・消費活性の双方を見た $^{15}NO_3^-$ 添加試験により、脱窒速度は上流地点の底質で最も低く、放流口で最も高い結果が得られた。その結果、正味の N_2O 消費速度が放流口出口で高い結果となった。また、下流に向かうにつれて嫌気条件下での N_2O 生成速度が増加することも明らかになった (図3.15a)。 $^{15}NO_3^-$ と N_2O を供給した電子競合条件下での試験においては、潜在的な N_2O 消費速度を示す $^{44}N_2O$ 消費速度が、 N_2O 消費と NO_3^- 還元の競合状態での N_2O 消費速度を示す $^{30}N_2O$ 生成速度 ($^{15}NO_3^-$ 由来の N_2O 消費活性) を上回る結果を示した。すべての河川底質において、 N_2O 消費 ($N_2O \rightarrow N_2$) 活性は NO_3^- の存在下によって制限されることを示唆する結果であり、 N_2O 生成 ($NO_3^- \rightarrow N_2O$) の方が優先的に進行することが示された。また、水質分析

の結果と比較したところ、 NO_3^- 濃度と N_2O 消費速度とに強い正の相関関係 ($R^2=0.94$) があることが示された。この結果は、大規模の都市河川での結果 (図3.9a) と同様の結果となった。この結果は、河川水に NO_3^- および N_2O が双方含まれている際、嫌気条件において優先的に脱窒により N_2O 生成が起これ、これにより N_2O が放出される可能性を示唆している。その一方、河川中の溶存酸素濃度は飽和濃度付近であるため、脱窒が進む環境は底質の深層部に限定されることが考えられる。以上の結果は、サブテーマ1で導き出された「河川 α では脱窒反応がほとんど進行しない」、という結果に加え、仮に嫌気的な反応が創製され、潜在的な N_2O 消費活性による N_2O 消費が進行しても、脱窒由来の N_2O 生成によりさらに N_2O 生成が起こってしまう可能性を支持するものとなった。

次に、各サンプリングサイトの硝化反応の副生成物として検出される累積 N_2O を定量したところ、約2週間の回分試験によって、アンモニア酸化活性が最も高い底質は、生活排水の終末処理場の放流口出口付近であった。この付近は表3.2に示すように、アンモニア濃度が他のサンプリングサイトと比較して若干ではあるが高くなっており、アンモニアに暴露された環境で硝化細菌の活性が増大した可能性が考えられる。一方、硝化によって最も高い

N_2O 排出係数が得られたのは、⑧合流6であり、生成活性が最も低い箇所は③河川上流であった (N_2O 検出下限値以下、データ示さず)。 N_2O 生成量は以下の順番になった。

⑧合流6 > ⑤合流3 > ⑥合流4 > ②放流口出口 > ④合流2 > ③河川上流

また、 NH_4^+ 酸化速度および NO_3^- の生成量を確認すると、③河川上流が NH_4^+ 酸化活性が低く、河川上流の底質が有するアンモニア酸化活性は低いことが示唆された。以上より、河川底質の潜在的なアンモニア酸

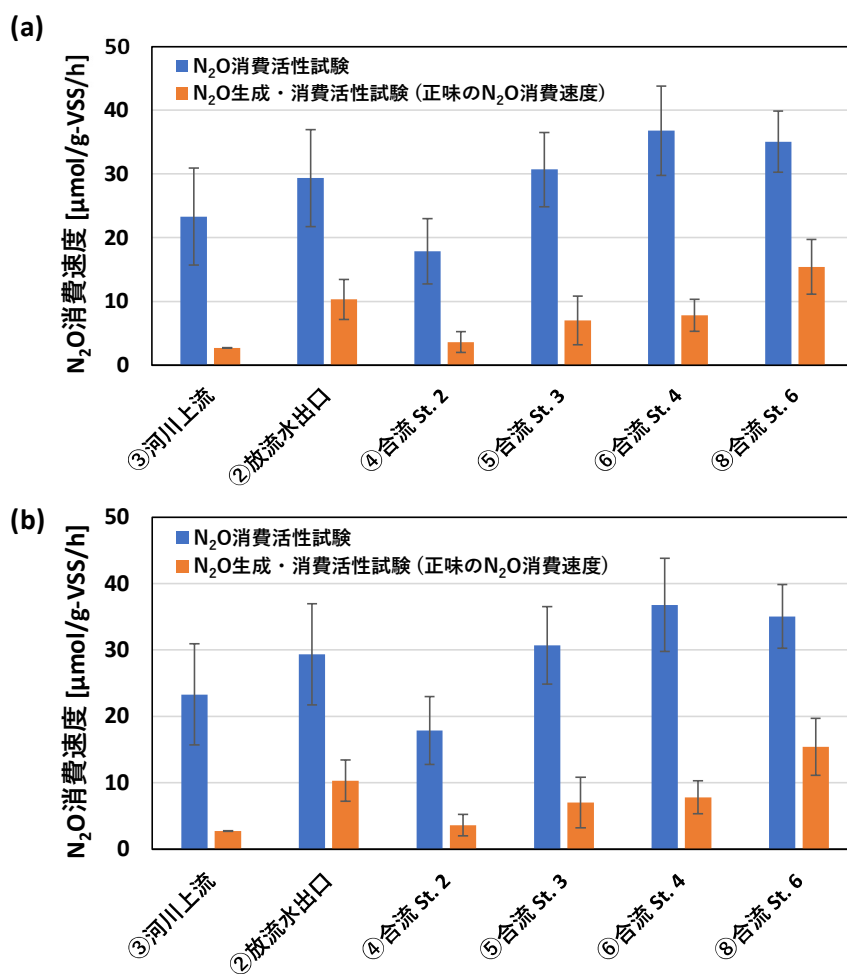


図3.15 小規模河川の底質サンプルを用いた N_2O 生成・消費速度：(a) 真の N_2O 消費活性と正味の N_2O 消費活性；
(b) N_2O および NO_3^- 共存下での N_2O 生成・消費活性

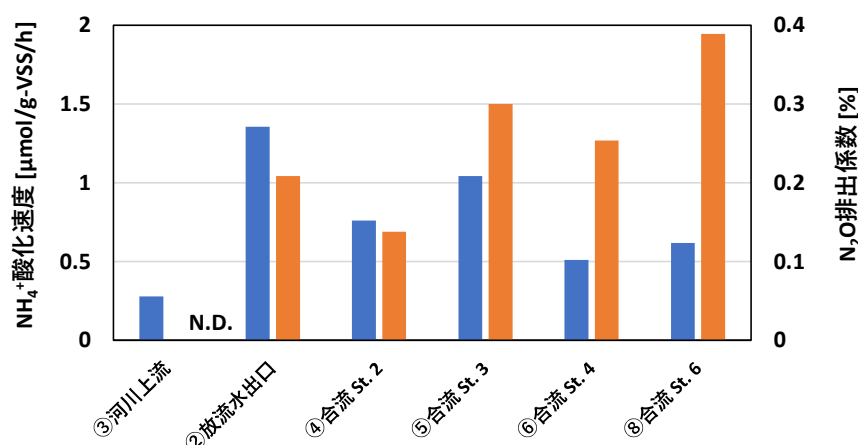


図3.16 小規模河川の底質が有する NH_4^+ 酸化速度と N_2O 排出係数

化反応の進行による N_2O 生成は、排水処理施設の処理水放流口の下流で起こることを示唆した。

サブテーマ1で算出された N_2O 排出係数 (0.2%) と比較すると、硝化試験のそれは同じオーダーの収まった (図3.16)。一方、⑧合流6に関しては、硝化細菌の潜在的な N_2O 生成能力は約2倍程度と高くなった。この違いが生じた理由として、実際の河川環境ではアンモニア濃度が低く、溶存酸素が高いことが挙げられる。実環境では、硝化からの N_2O 生成が限定されることが考えられ、本試験の潜在的な能力は引き出されずに、低い N_2O 排出係数が示された可能性が高い。また、河川での脱窒由来の N_2O 生成は、潜在的な能力を発揮する嫌気条件が河川底質の深部に限定されていることから、実際の河川環境中での脱窒由来の N_2O 生成は低くなることが想定された。本試験で明らかになった N_2O 生成および N_2O 消費の潜在的な能力は、溶存酸素濃度低下や生活排水の処理施設の性能変動による未処理アンモニアの流出などの環境条件が整うと引き出される可能性がある。定期的な実地調査とラボによる潜在的な N_2O 生成および N_2O 消費活性試験の検討が今後行うべき課題である。

表3.2 小規模河川のサンプリングサイトの水質項目のまとめ (N/A: 検出下限値以下)

	pH	溶存酸素 (mg/L)	水温 (°C)	全有機炭素 (mgC/L)	全窒素 (mg-N/L)	NO ₂ -N (mg-N/L)	NO ₃ -N (mg-N/L)	NH ₄ ⁺ -N (mg-N/L)
③河川上流	8.36	14.60	26.1	3.56	1.69	N/A	0.64	0.58
②放流水出口	7.85	6.13	27.7	4.05	1.87	0.10	1.15	0.77
④合流2	8.31	12.27	26.6	3.16	1.48	N/A	1.06	0.69
⑤合流3	8.1	8.74	24.5	3.82	1.62	N/A	0.96	N/A
⑥合流4	8.49	10.83	27.2	3.51	1.36	N/A	0.94	0.61
⑧合流6	8.56	9.00	27.4	3.39	1.40	N/A	1.04	N/A

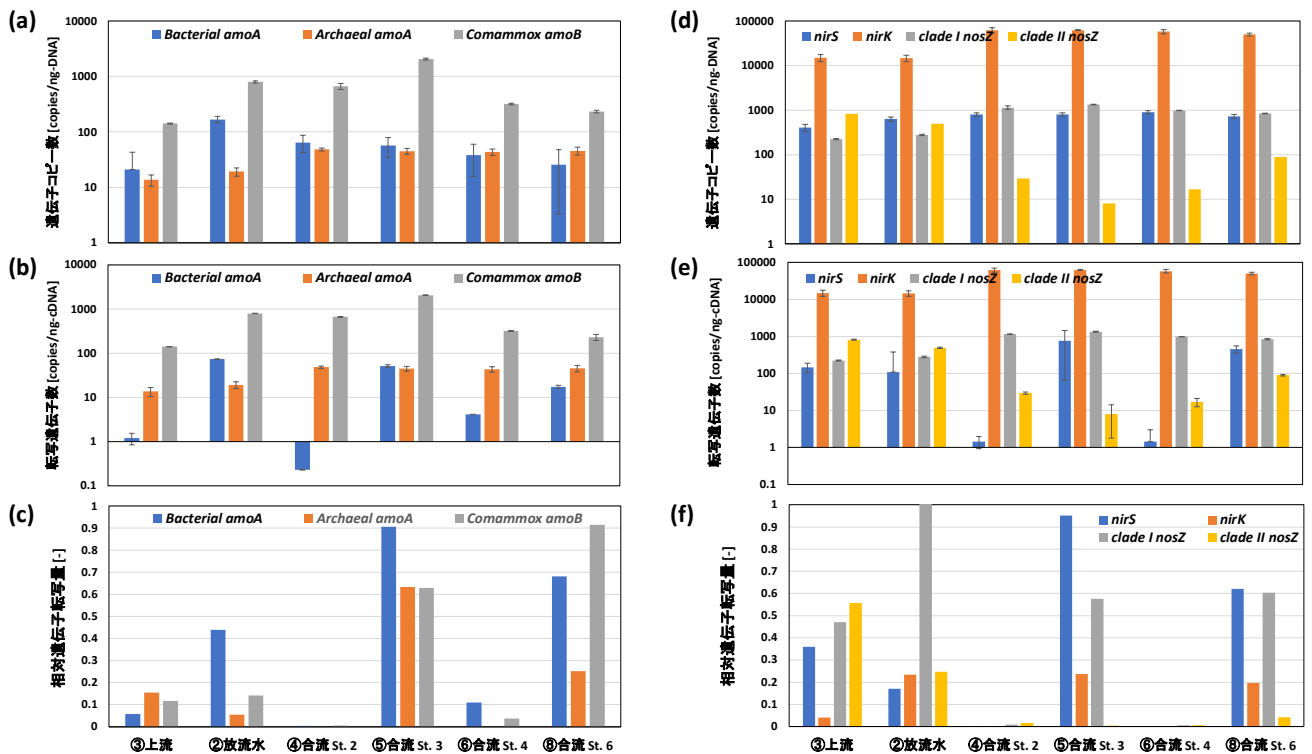


図3.17 小規模河川の底質中の硝化微生物(a-c)および脱窒細菌の機能遺伝子(d-f)の定量結果: (a) (d) 遺伝子コピー数 (DNA); (b) (c) 転写遺伝子コピー数 (cDNA); (c) (f) 相対遺伝子転写量 (cDNA/DNA)

硝化反応をコードする遺伝子のコピー数定量的結果、アンモニア酸化細菌由来のアンモニア酸化酵素の機能遺伝子Bacterial *amoA*は、②の生活排水処理施設の放流水出口付近で最も高くなる傾向が得られた(図3.17a)。この結果は、アンモニア濃度が最も高く(表3.2)、最も高い硝化活性が得られた(図3.16)の結果と一致した。また、この機能遺伝子の転写量(図3.17b)および転写活性(図3.17c)も放流水出口付近は高い値を示し、硝化活性が高い可能性を示唆した。一方、アンモニア酸化古細菌の機能遺伝子Archaeal *amoA*は②の生活排水処理施設の放流水出口付近より下流でコピー数(図3.17a)や転写量(図3.17b)が増える傾向が得られた。一方、完全アンモニア酸化細菌由来の機能遺伝子であるComammox *amoB*はコピー数(図3.17a)や転写量(図3.17b)は*amoA*遺伝子よりコピー数や転写量よりも高い値となっており、完全アンモニア酸化細菌がアンモニア酸化に主要に寄与している可能性を示す結果が得られた。完全アンモニア酸化細菌N₂Oの生成が少ないことが報告されている¹⁴⁾ものの、今回の活性試験の結果ではN₂Oの潜在的な生成量が高い結果も得られており(図3.16)、定量PCRでの遺伝子定量的結果とは整合性あるものではない。今後、更なる検討が必要であることが示唆された。

脱窒反応をコードする遺伝子のコピー数の結果、NO₂⁻をNOに還元する酵素をコードした機能遺伝子*nirS*および*nirK*とN₂O還元酵素をコードした機能遺伝子clade I *nosZ*は、サンプリングサイトの位置に関わらず大きな違いは見られなかった。一方、もう一つのN₂O還元酵素をコードした機能遺伝子clade II *nosZ*は下流に向かうほど低くなる傾向が得られ、N₂O還元細菌の存在量は河川環境の環境変化に依存していることが示された。次に各遺伝子の転写量を評価したところ、*nirS*を除く3つの脱窒に関係する機能遺伝子は遺伝子コピー数の傾向と大きな違いは見られなかった(図3.17e)。脱窒遺伝子の転写遺伝子数を遺伝子コピー数で除した相対遺伝子量(cDNA/DNA)の結果、下流部位において*nirS*およびclade I *nosZ*の相対転写活性が高くなる箇所が処理水の排水口よりも下流に存在することを示した。

次に、16S rRNA遺伝子のアンプリコンシーケンスに基づいた門レベルでの微生物叢解析を図3.18に示す。門レベルでの存在を表すDNAレベルでの結果では、未分類の微生物が大部分を占めていることが確認された。分類体系の階層を細かくしていくと、プロテオバクテリア門に関連する分類群が多く検出されたため、データベースを更新したバイオインフォマティクスのパイプラインを用いた解析等が今後必要になる。その他の主要な種類として、古細菌界に属するその他の種類、アンモニア酸化古細菌を含んだCrenarchaeota門など、古細菌が主要な分類群として検出された。この結果は図3.11で示す大規模河川の微生物叢と異なる傾向が得られた。細菌界では、AC1門、Acidobacteria門、Actinobacteria門、Armatimonadetes門などが優占している門であった。Acidobacteria門やActinobacteria門は、主要な門として大規模河川の底質でも検出されたが、Armatimonadetes門は大規模河川の底質には相対存在比として0.5%程度である一方、小規模河川の底質では8%以上(②河川上流)検出されるなど、構成される細菌種も大きく違いがあることが明らかになった。

さらに、cDNAで転写活性が高い門の検出を試みた。③河川上流および⑥合流St.4のサンプルに関しては、再現性に乏しく、解析から除外せざるを得なかった。再現性が概ね良好であったその他のサンプルで確認したところ、Acidobacteria門の転写活性が相対的に高い可能性が示唆された。特に排水処理施設の放流水出口より119 mおよび411 mそれぞれ離れた地点(④合流St.2および⑧合流St.6)において高い割合で検出されている。Acidobacteria門はProteobacteria門と同様に系統的に非常に多様であり、脱窒を行う種類が存在していることが報告されている¹⁵⁾。

また、OTUレベルでの解析を行った結果、図3.13に示すN₂O生成に関与し、N₂O還元能力を有さない微生物群として、アンモニア酸化古細菌として知られる*Ca. Nitrosphaera*属や、完全アンモニア酸化細菌および亜硝酸酸化細菌として知られる*Nitrospira*属が検出された(図3.13)。これらの微生物群はDNAおよびcDNAの双方で検出されたため、規模に拘わらず河川に生息して、アンモニア酸化に関与するとともに、副生成物としてN₂O生成を行っている可能性が裏付けられた。また、生活排水の終末処理場の放流口出口でcDNAとして高い存在比率で検出された*Pseudomonas alcaligenes*はNO₃⁻からNO₂⁻までの還元酵素を有しているものの、それ以降の脱窒反応に関与しておらず、多種多様な微生物群の関与によりN₂O生成・消費が行われていることが示唆された。

さらに、大規模都市河川および小規模河川の微生物叢解析を統合した結果、N₂O生成のみに寄与する共

通する細菌の分類群として *Nitrospira* 属、 N_2O 生成・ N_2O 消費の双方に関連する共通の細菌の分類群として、*Rhodocyclaceae* 科、*Rhizobiales* 属を同定した。一方、 N_2O 消費のみに寄与する細菌の分類群として *Niabella* 属を同定した。 N_2O 消費のみを専属的に行う種に関しては、河川環境に影響を受けて河川ごとに異なる可能性を示唆した。

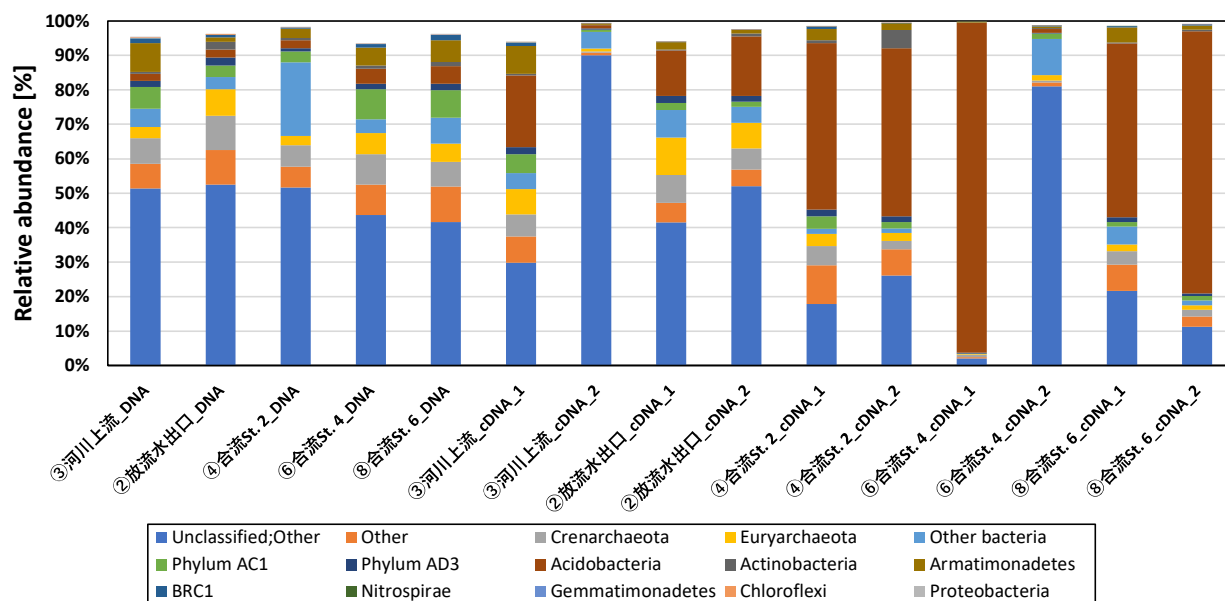


図3. 18 小規模河川の底質中の微生物叢の門レベルでの解析結果。各サンプルサイトに関しては図3. 4を参照のこと。DNAは16S rRNAに関するDNAを、cDNAは16S rRNAを逆転写したおり、転写活性のある種類を示唆している。cDNAは2連で行った。

5. 研究目標の達成状況

サブテーマ3では、サブテーマ1および2で算定される N_2O の排出係数に関して、学術的な根拠を提供することが目的となる。 N_2O 排出係数の算出根拠には、正確な N_2O の生成・消費活性の把握が重要である観点から、 ^{15}N トレーサー法を用いた脱窒工程での真の N_2O の生成・消費速度の算定方法を確立した。さらに、小規模排水処理施設の処理水が放流される河川の上流・下流の底質サンプルに手法を適用し、河川底質の保有する N_2O 生成・消費の活性を定量し、排水処理の施設の下流で活性が高くなる傾向を示唆した。さらに、 N_2O 生成と N_2O 消費を担う微生物を同定した。特に、2015年に発見された完全アンモニア酸化細菌が、大規模および小規模河川の双方の底泥で検出された。また、 N_2O 生成のみに関与する脱窒細菌、 N_2O 生成・消費双方に関与する脱窒細菌、 N_2O 消費のみに関与する非脱窒細菌など、 N_2O 生成・消費に関わる細菌群の同定に成功した。これらの結果は、サブテーマ1で得られた各サンプリングサイトの水質や活性試験の結果を合理的に説明できるものであった。以上より、サブテーマ3の当初の研究目標に対し、目標通りの成果を上げたと考える。

6. 引用文献

- 1) Holtan-Hartwig, L., Dörsch, P. and Bakken, L.R. 2000. Comparison of denitrifying communities in organic soils: kinetics of NO_3^- and N_2O reduction. *Soil Biology and Biochemistry* 32(6), 833-843.
- 2) Suenaga, T., Hori, T., Riya, S., Hosomi, M., Smets, B.F. and Terada, A. 2019. Enrichment, Isolation, and Characterization of High-Affinity N_2O -Reducing Bacteria in a Gas-Permeable Membrane Reactor. *Environmental Science & Technology* 53(20), 12101-

12112.

- 3) Kinh, C.T., Suenaga, T., Hori, T., Riya, S., Hosomi, M., Smets, B.F. and Terada, A. 2017. Counter-diffusion biofilms have lower N₂O emissions than co-diffusion biofilms during simultaneous nitrification and denitrification: Insights from depth-profile analysis. *Water Research* 124, 363-371.
- 4) Kanehisa, M. and Goto, S. 2000. KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes. *Nucleic Acids Research* 28(1), 27-30.
- 5) Zhou, Y., Toyoda, R., Suenaga, T., Aoyagi, T., Hori, T. and Terada, A. 2022. Low nitrous oxide concentration and spatial microbial community transition across an urban river affected by treated sewage. *Water Research* 216, 118276.
- 6) Daims, H., Lebedeva, E.V., Pjevac, P., Han, P., Herbold, C., Albertsen, M., Jehmlich, N., Palatinszky, M., Vierheilig, J., Bulaev, A., Kirkegaard, R.H., von Bergen, M., Rattei, T., Bendinger, B., Nielsen, P.H. and Wagner, M. 2015. Complete nitrification by *Nitrospira* bacteria. *Nature* 528(7583), 504-509.
- 7) van Kessel, M.A.H.J., Speth, D.R., Albertsen, M., Nielsen, P.H., Op den Camp, H.J.M., Kartal, B., Jetten, M.S.M. and Lückner, S. 2015. Complete nitrification by a single microorganism. *Nature* 528(7583), 555-559.
- 8) Zhou, S., Borjigin, S., Riya, S., Terada, A. and Hosomi, M. 2014. The relationship between anammox and denitrification in the sediment of an inland river. *Science of the Total Environment* 490, 1029-1036.
- 9) Suenaga, T., Ota, T., Oba, K., Usui, K., Sako, T., Hori, T., Riya, S., Hosomi, M., Chandran, K., Lackner, S., Smets, B.F. and Terada, A. 2021. Combination of ¹⁵N Tracer and Microbial Analyses Discloses N₂O Sink Potential of the Anammox Community. *Environmental Science & Technology* 55(13), 9231-9242.
- 10) Suenaga, T., Riya, S., Hosomi, M. and Terada, A. 2018. Biokinetic Characterization and Activities of N₂O-Reducing Bacteria in Response to Various Oxygen Levels. *Frontiers in Microbiology* 9(697).
- 11) Sanford, R.A., Wagner, D.D., Wu, Q.Z., Chee-Sanford, J.C., Thomas, S.H., Cruz-Garcia, C., Rodriguez, G., Massol-Deya, A., Krishnani, K.K., Ritalahti, K.M., Nissen, S., Konstantinidis, K.T. and Löffler, F.E. 2012. Unexpected nondenitrifier nitrous oxide reductase gene diversity and abundance in soils. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 109(48), 19709-19714.
- 12) Jones, C.M., Graf, D.R.H., Bru, D., Philippot, L. and Hallin, S. 2013. The unaccounted yet abundant nitrous oxide-reducing microbial community: a potential nitrous oxide sink. *ISME Journal* 7(2), 417-426.
- 13) Zhou, Y., Toyoda, R., Suenaga, T., Aoyagi, T., Hori, T. and Terada, A. 2022. Low nitrous oxide concentration and spatial microbial community transition across an urban river affected by treated sewage. *Water Research* 216, 118276.
- 14) Kits, K.D., Jung, M.-Y., Vierheilig, J., Pjevac, P., Sedlacek, C.J., Liu, S., Herbold, C., Stein, L.Y., Richter, A., Wissel, H., Brüggemann, N., Wagner, M. and Daims, H. 2019. Low yield and abiotic origin of N₂O formed by the complete nitrifier *Nitrospira inopinata*. *Nature Communications* 10(1), 1836.
- 15) Kielak, A.M., Barreto, C.C., Kowalchuk, G.A., van Veen, J.A. and Kuramae, E.E. 2016. The Ecology of Acidobacteria: Moving beyond Genes and Genomes. *Frontiers in Microbiology* 7.

Ⅲ. 研究成果の発表状況の詳細

(1) 誌上発表

<査読付き論文>

【サブテーマ1】

- 1) 柿島隼徒、塩原拓実、蛭江美孝、山崎宏史：浄化槽放流水および放流先水路における温室効果ガス CH_4 ・ N_2O の排出特性，日本水処理生物学会誌【投稿中】
- 2) Hiroshi Yamazaki, Ayaka Kagamu, Kenta Kezuka, Akito Murano, Yoshitaka Ebie: Development of emission factors for N_2O derived from nitrification in sewage-treated water in rivers, Water Science and Technology【投稿中】
- 3) S. Masuda, T. Sato, I. Mishima, C. Maruo, H. Yamazaki, O. Nishimura: Journal of Environmental Management, 112621 (2021) Impact of Nitrogen Compound Variability of Sewage Treated Water on N_2O Production in Riverbeds. (IF:6.789) サブテーマ2と共著

【サブテーマ2】

- 1) 大友 渉平, 柴田 悟, 李 玉友, 高階 史章, 宮田 直幸, 増田 周平:土木学会論文集G(環境) 77 (7) : 71-82, 攪拌方法の最適化による 無終端水路反応槽における N_2O 排出抑制戦略 —実処理場での連続測定と実証試験—
- 2) S. Masuda, T. Sato, I. Mishima, C. Maruo, H. Yamazaki, O. Nishimura: Journal of Environmental Management, 112621 (2021) Impact of Nitrogen Compound Variability of Sewage Treated Water on N_2O Production in Riverbeds. (IF:6.789)
- 3) Shohei Otomo, Akihiko Terada, Yu-You Li, Kazuya Nishitoba, Fumiaki Takakai, Kunihiro Okano, Naoyuki Miyata, Shuhei Masuda : Journal of Water and Environment Technology, 19(3):139-152(2021) Long-term assessment of N_2O emission factor in full-scale oxidation ditch reactor considering spatiotemporal distribution. (CiteScore:1.6)

【サブテーマ3】

- 1) K. Oba, T. Suenaga, M. Kuroiwa, S. Riya, A. Terada: Exploring the functions of efficient canonical denitrifying bacteria as N_2O sinks: Implications from ^{15}N tracer and transcriptome analyses, Environmental Science and Technology【投稿中】
- 2) Y. ZHOU, R. TOYODA, T. SUENAGA, T. AOYAGI, T. HORI, A. TERADA: Water Res. 216, 118276(2022) Low nitrous oxide concentration and spatial microbial community transition across an urban river affected by treated sewage. (IF:11.236)
- 3) Shohei Otomo, Akihiko Terada, Yu-You Li, Kazuya Nishitoba, Fumiaki Takakai, Kunihiro Okano, Naoyuki Miyata, Shuhei Masuda : Journal of Water and Environment Technology, 19(3):139-152(2021) Long-term assessment of N_2O emission factor in full-scale oxidation ditch reactor considering spatiotemporal distribution. (CiteScore:1.6) サブテーマ2と共著

<その他誌上発表（査読なし）>

【サブテーマ1】

- 1) 山崎宏史：給排水設備研究, Vol. 38, No. 4, pp.10-16 (2022) 脱炭素社会に向けた浄化槽分野における地球温暖化対策
- 2) 山崎宏史, 村野昭人, 青木宗之, 蛭江美孝, 小野寺崇, 増田周平, 寺田昭彦：月刊浄化槽, No. 538, pp. 12-16 (2021) 浄化槽処理水の放流後から排出される温室効果ガス

【サブテーマ2】

- 1) 山崎宏史, 村野昭人, 青木宗之, 蛭江美孝, 小野寺崇, 増田周平, 寺田昭彦: 月刊浄化槽, No. 538, pp. 12-16 (2021) 浄化槽処理水の放流後から排出される温室効果ガス
サブテーマ1と共著

【サブテーマ3】

- 1) 山崎宏史, 村野昭人, 青木宗之, 蛭江美孝, 小野寺崇, 増田周平, 寺田昭彦: 月刊浄化槽, No. 538, pp. 12-16 (2021) 浄化槽処理水の放流後から排出される温室効果ガス
サブテーマ1と共著

(2) 口頭発表 (学会等)

【サブテーマ1】

<口頭発表>

- 1) 【予定】各務絢香、蛭江美孝、山崎宏史、土木学会全国大会第77回年次学術講演会 (2022) 下水道処理後排水が放流される河川環境での CH_4 生成に及ぼす主要因子の解析 (国内、対面予定)
- 2) 毛塚拳巧、各務絢香、蛭江美孝、山崎宏史、第56回日本水環境学会年会 (2022) 水環境中に放流される下水処理後排水由来 N_2O 排出量算定方法の開発と削減方策の検討 (国内、オンライン)
- 3) 大原想、蛭江美孝、山崎宏史、第49回土木学会関東支部技術研究発表会 (2022) 下水道システムからの直接発生・間接発生を考慮したGHGs排出量の一体的評価 (国内、オンライン)
- 4) 各務絢香、蛭江美孝、山崎宏史、第49回土木学会関東支部技術研究発表会 (2022) 下水道処理後排水が放流される河川環境での N_2O 生成に及ぼす主要因子の解析 (国内、オンライン)
- 5) 各務絢香、山崎宏史、土木学会全国大会第76回年次学術講演会 (2021) 下水道処理後排水からの脱気による N_2O 排出挙動解析 (国内、オンライン)
- 6) 柿島隼徒、塩原拓実、蛭江美孝、山崎宏史、土木学会全国大会第76回年次学術講演会 (2021) 浄化槽処理水の放流先水路からの温室効果ガス CH_4 ・ N_2O 排出特性 (国内、オンライン)
- 7) 毛塚拳巧、各務絢香、山崎宏史、蛭江美孝、第58回下水道研究発表会 (2021) 環境中に放流される有機性排水を起源とするGHGs排出量算定方法の開発 (国内、オンライン)
- 8) 山崎宏史、毛塚拳巧、各務絢香、蛭江美孝、日本水処理生物学会第57回 (神奈川) 大会 (2021) 下水処理水を起源とした放流河川における一酸化二窒素の挙動解析 (国内、オンライン)

<ポスター発表>

- 9) 【予定】小野寺崇、蛭江美孝、山崎宏史、毛塚拳巧、各務絢香、小松一弘、高津文人、珠坪一晃、第59回下水道研究発表会 (2022) 合流式下水道越流水が流入する河川における温室効果ガスの測定 (東京、対面予定)
- 10) 山崎宏史、村野昭人、青木宗之、小野寺崇、蛭江美孝、第54回日本水環境学会年会 (盛岡) (2020) 環境中に放流される有機性排水を起源とするGHGs排出量算定方法の開発 (国内、オンライン)

【サブテーマ2】

<口頭発表>

- 1) 増田周平、蛭江美孝、小野寺崇、寺田昭彦、山崎宏史、第56回日本水環境学会年会 (2022) 下水処理水に含まれる溶存態温室効果ガスの排出係数に関する考察 (国内、オンライン)
- 2) 加賀谷悠聖、富樫ちあき、大友渉平、金主鉉、増田周平、令和3年度土木学会東北支部技術研究発表会 (2022) 下水二次処理水のオゾン消毒プロセスにおける N_2O の生成特性評価 (国内、オンライン)
- 3) 増田周平、北條俊昌、大友渉平、李玉友、山崎宏史、第58回下水道研究発表会 (2021) 水処理プロセスにおける亜酸化窒素濃度の時間変動一連続モニタリングの比較一 (国内、オンライン)
- 4) 村山魁都、草薨真久、北條俊昌、金主鉉、増田周平、令和2年度土木学会東北支部技術研究発表

- 会（2021），下水二次処理水の塩素消毒工程における N_2O の生成特性評価（国内，オンライン）
- 5) 草薨真久、大友渉平、西鳥羽一也、高階史章、宮田直幸、金主鉉、増田周平、令和元年度土木学会東北支部技術研究発表会，秋田，（2020）無終端水路における連続データを用いた溶存態 N_2O 濃度の変動特性解析（国内）

〈ポスター発表〉

- 6) S. MASUDA, M. KUSANAGI, S. OTOMO, K. NISHITOBA, J. Kim, N. MIYATA, 5th IWA Specialized International Conference ' Ecotechnologies for Wastewater Treatment 2021' (2021) Impact of Influent Load on Dissolved Nitrous Oxide Production in Actual Sewage Treatment Plant. (国外，オンライン)
- 7) M. KUSANAGI, S. MASUDA, S. OTOMO, K. NISHITOBA, J. Kim, N. MIYATA, 5th IWA Specialized International Conference ' Ecotechnologies for Wastewater Treatment 2021' (2021) Contribution to Nitrous Oxide Production in Sewage Treatment Plant: Potential versus Temporary Conditions. (国外，オンライン)
- 8) 草薨真久，大友渉平，柴田悟，高階史章，宮田直幸，金主鉉，増田周平，第55回日本水環境学会年会（2021）活性汚泥の生物活性試験に基づく下水処理場の N_2O 排出特性の解析（国内，オンライン）
- 9) 石井武文，北條俊昌，大友渉平，柴田悟，高階史章，李玉友，増田周平，第55回日本水環境学会年会（2021） N_2O 排出特性の日変動特性に及ぼす流入負荷および降雨の影響（国内，オンライン）
- 10) 大友渉平，草薨真久，柴田悟，金主鉉，高階史章，李玉友，宮田直幸，増田周平，第55回日本水環境学会年会（2021）無終端水路の攪拌状況が亜酸化窒素濃度変動に与える影響—連続測定に基づく短期間トレンド解析—（国内，オンライン）
- 11) 増田周平、大友渉平、金主鉉、高階史章、西鳥羽一也、宮田直幸、第54回日本水環境学会年会、盛岡（2020）OD槽における攪拌方法とDO分布が溶存態亜酸化窒素濃度に及ぼす影響（国内，オンライン）
- 12) Shuhei MASUDA, Shohei OTOMO, Kazuya NISHITOBA, Fumiaki TAKAKAI, Kunihiro OKANO, Akihiko TERADA, 8th IWA-ASPIRE conference and exhibition, Hong Kong (2019) Estimation of Nitrous Oxide Production from Oxidation Ditch Reactor based on Nitrous Oxide Production Potential (国外)

【サブテーマ3】

〈ポスター発表〉

- 1) 呉中豪、ZHOU Yiwen、寺田昭彦、山崎宏史、日本微生物生態学会第34回大会（2021）生活排水処理施設放流水が河川底泥の亜酸化窒素生成と消費活性へ及ぼす影響（国内，オンライン）
- 2) WU, Zhonghao, ZHOU Yiwen, YAMAZAKI Hiroshi, TERADA Akihiko, Water and Environment Technology Conference 2021-Online (2021) Effect of treated water from a municipal wastewater treatment plant on nitrous oxide production and consumption activities of the downstream river sediments (国外，オンライン)
- 3) 大場康平、末永俊和、利谷翔平、寺田昭彦、第54回日本水環境学会年会、盛岡（2020） $15N$ トレーサー法を用いた脱窒細菌の N_2O 還元ポテンシャルの評価

(3) 「国民との科学・技術対話」の実施

【サブテーマ1】

- 1) 東洋大学オープンキャンパス「環境中に放流された排水由来GHGs排出メカニズムの解明と排出量算定方法の検討」（主催：東洋大学、2019年8月2日、3日、来訪者約76名）
- 2) 東洋大学こもれび祭「環境中に放流された排水由来GHGs排出メカニズムの解明と排出量算定方

法の検討」(主催:東洋大学川越キャンパスこもれび祭実行委員会、2019年11月3日、4日、来訪者約90名)

- 3) 中核人材育成セミナー「脱炭素社会に向けた排水処理分野における地球温暖化対策」(主催:東洋大学産学協同教育センター、2021年6月19日、聴講者約62名)(オンライン)
- 4) 麴町学園女子高等学校 オンラインキャンパスツアー「脱炭素社会に向けた排水処理分野における地球温暖化対策」(主催:東洋大学、2021年11月20日、聴講者約60名)(オンライン)

【サブテーマ2】

- 1) 令和2年度秋田工業高等専門学校環境工学研究室研究集会「①下水処理場における N_2O 濃度の変動特性に及ぼす流入負荷および降雨の影響(増田周平)」、「②OD槽における攪拌方法とDO分布が溶存態亜酸化窒素濃度に及ぼす影響(大友渉平)」、「③活性汚泥の生物活性試験に基づく下水処理場の N_2O 排出特性の解析(草薙真久)」、「④下水二次処理水の塩素消毒工程における N_2O の生成特性評価(増田周平)」(オンライン)(主催:秋田高専、2021年3月25日、受講者15名)
- 2) 秋田高専公開講座「土木・建築の日」第一部「下水処理場とSDGs～地球温暖化と資源循環」(主催:秋田高専、2022年1月8日、受講者2名)

※対面方式により実施,受講者数は新型コロナウイルスの影響あり

【サブテーマ3】

特に記載すべき事項はない。

(4) マスコミ等への公表・報道等>

【サブテーマ1】

- 1) 東洋大学ホームページ(2021年1月)研究・産官学連携活動 Research Activities INTERVIEW 「排水由来の温室効果ガス排出メカニズムを解明しパリ協定における削減目標の達成を目指す」
<https://www.toyo.ac.jp/research/interview/01/>
- 2) 水を還す「ヒト・コト・モノ」マガジン(2019年8月2日、19頁、「水Lab Vol.4 東洋大学理工学部都市環境デザイン学科「水環境システム研究室」」)
- 3) 日刊工業人文第2部埼玉県特集(2019年11月28日、9頁、「県内5大学、一押し産学連携」)

【サブテーマ2】

特に記載すべき事項はない。

【サブテーマ3】

特に記載すべき事項はない。

(5) 本研究費の研究成果による受賞

【サブテーマ1】

- 1) 土木学会第49回関東支部技術研究発表会優秀発表者、土木学会関東支部、2022年3月10日、東洋大学大学院 各務絢香
- 2) 令和2年度土木学会全国大会 第75回年次学術講演会優秀論文賞、土木学会、令和2年11月1日、東洋大学大学院 毛塚拳巧

【サブテーマ2】

特に記載すべき事項はない。

【サブテーマ3】

特に記載すべき事項はない。

IV. 英文Abstract

Development of an Estimation Methodology Based on Clarification of the Mechanism of Greenhouse Gas Emission from Treated/Untreated Wastewater Discharged into Water Environment

Principal Investigator: Hiroshi YAMAZAKI

Institution: Department of Civil and Environmental Engineering, Toyo University,
2100, Kujirai, Kawagoe City, Saitama 350-8585, JAPAN

Tel: +81-49-239-1404 / Fax: +81-49-231-1400

E-mail: yamazaki058@toyo.jp

Cooperated by: • Material Cycles Division, National Institute for Environmental Studies
• Department of Civil Engineering and Architecture, National Institute of Technology, Akita College
• Department of Chemical Engineering, Tokyo University of Agriculture and Technology

[Abstract]

Key Words: Greenhouse Gases (GHGs), Nitrous Oxide (N₂O), Methane (CH₄), Treated Wastewater, Untreated Wastewater, Estimation Methodology of GHGs Emission, Reduction method of GHGs Emission, Clarification of Mechanism of GHGs Emission, Stable isotopes

Country-specific emission factors (EFs) of CH₄ and N₂O for wastewater treatment plants (WWTPs) have been developed in Japan, however, IPCC default emission factors are used for treated and untreated wastewater. This study aimed to develop a method for estimating accurate greenhouse gases emissions from the natural decomposition of organic and nitrogen compounds in treated wastewater and untreated wastewater. Based on the continuous monitoring of N₂O in several WWTPs, non-negligible amount of dissolved N₂O in the treated wastewater was found as a new emissions source. Detailed understanding of the spatiotemporal distribution of dissolved GHGs in the wastewater treatment processes enabled us to develop a new EF of dissolved N₂O in the effluent of WWTPs. Country-specific CH₄ and N₂O EFs in rivers were also developed through the year-round field surveys. A methodology of the simultaneous evaluation of true N₂O production/consumption rate in river sediments was developed by use of ¹⁵N isotope tracer. Molecular microbiological analysis identified some key microbes in the N₂O generation and consumption. Overall greenhouse gases emissions from wastewater management including CH₄ and N₂O emissions from WWTPs and CO₂ emissions derived from energy consumption were estimated for several cases. Comparing these estimations, scenarios to minimize overall greenhouse gases emissions are suggested.