

博士論文

導電性下水管を用いた硫化水素の生物学的酸化の促進によるその発生抑制に関する研究  
(Study on Mitigation of Hydrogen Sulfide Generation by Enhancement of Biological  
Oxidation using Conductive Sewer Pipe)

西暦 2021年9月

福島 聖人

山口大学大学院創成科学研究科

## 目次

第1章 研究背景 .....	1
1.1 下水管渠における硫化水素問題と歴史.....	2
1.2 下水管渠における硫化水素 .....	3
1.2.1 下水管渠における硫黄循環の基本的事項.....	3
1.2.2 硫化水素生成の基礎と化学量論.....	4
1.2.3 硫化物生成への影響因子 .....	4
1.2.3.1 硫酸塩.....	4
1.2.3.2 生物分解性有機物の量と質 .....	4
1.2.3.3 水温 .....	5
1.2.3.4 pH.....	5
1.2.3.5 管渠内表面積と下水容積の比.....	5
1.2.3.6 流速.....	5
1.2.3.7 嫌気保持時間.....	5
1.2.3.8 コンクリート腐食 .....	6
1.3 金属腐食 .....	7
1.4 下水処理場への影響.....	7
参考文献 .....	8
第2章 既存の研究および研究目的 .....	12
2.1 下水管渠における硫化物の抑制 .....	13
2.1.2 硫化物問題への積極的設計対応.....	13
2.1.3 硫化物問題への受動的設計対応.....	13
2.1.4 硫化物対策のための維持管理方法 .....	14
2.2 硫酸塩還元条件の抑制手法 .....	15
2.2.1 空気注入.....	15
2.2.2 純酸素注入 .....	15
2.2.3 硝酸塩添加 .....	15
2.2.4 硫化物の化学的沈殿法.....	16
2.3 生物反応への特殊効果をねらった方法.....	16
2.3.1 pHを上昇させるアルカリ剤.....	16
2.3.2 塩素.....	16
2.3.3 過酸化水素およびオゾン .....	17
2.3.4 物理的方法 .....	17
2.4 微生物燃料電池(MFCs: Microbial fuel cells).....	18
2.5 電子放出菌(EPB:Electricity-producing bacteria) .....	19

2.6 研究目的 .....	21
参考文献 .....	23
第 3 章 市販の導電性コンクリートによる硫化水素の抑制効果の検証及び抑制メカニズム の検討.....	26
3.1 緒言 .....	27
3.2 本研究で検証した導電性コンクリートによる硫化水素の抑制メカニズム .....	27
3.2.1 導電性炭素による硫化水素の吸着 .....	28
3.2.2 電子放出菌による硫化水素の生物学的酸化 .....	28
3.3 実験方法 .....	28
3.3.1 使用した導電性コンクリート .....	28
3.3.2 電気抵抗率の測定.....	29
3.3.3 供試体の作製.....	29
3.3.4 板状型あるいはコップ型供試体を用いた実験.....	30
3.3.4.1 コップ型供試体 A を用いた硫化水素吸着実験 .....	30
3.3.4.2 板状型供試体を用いた電圧測定実験 .....	30
3.3.4.3 コップ型供試体 A を用いた硫化水素抑制実験 .....	31
3.3.4.4 コップ型供試体 A,B を用いた硫化水素抑制実験 .....	31
3.4 実験結果および考察.....	34
3.4.1 電気抵抗率の測定.....	34
3.4.2 コップ型供試体 A を用いた硫化水素吸着実験.....	34
3.4.3 板状型供試体を用いた電圧測定実験.....	35
3.4.4 コップ型供試体 A を用いた硫化水素抑制実験.....	36
3.4.5 コップ型供試体 A,B を用いた硫化水素抑制実験.....	39
参考文献 .....	42
第 4 章 下水管内における硫化水素の生物学的酸化を促進する高導電性コンクリートの開 発.....	44
4.1 緒言 .....	45
4.1.2 電子放出菌による硫化水素の酸化 .....	46
4.2 実験方法 .....	46
4.2.1 使用した市販及び新規導電性コンクリート .....	46
4.2.2 電気抵抗率の測定.....	47
4.2.3 導電性物質への硫化水素の吸着性評価 .....	47
4.2.4 コップ型供試体の作製.....	48
4.2.5 電子放出菌の植菌が硫化水素の低減に与える影響.....	48

4.2.5.1	下水汚泥からの電子放出菌の分離培養及び同定.....	48
4.2.5.2	導電性コンクリートへの植菌による硫化水素の低減効果の評価.....	48
4.2.6	硫化水素の低減に関与する電子放出菌の集積.....	49
4.2.6.1	棒状導電性コンクリートを用いた水槽実験.....	49
4.2.6.2	棒状導電性コンクリート近傍から採取した汚泥中の電子放出菌の集積評価.....	52
4.2.7	新規導電性コンクリートの開発による硫化水素低減効果の評価.....	54
4.3	実験結果および考察.....	55
4.3.1	電気抵抗率の測定.....	55
4.3.2	導電性物質による硫化水素の物理吸着性の評価.....	55
4.3.3	電子放出菌の植菌が硫化水素の低減効果に与える影響.....	56
4.3.4	棒状導電性コンクリート電極を用いた水槽実験.....	59
4.3.5	棒状導電性コンクリート近傍から採取した汚泥中の電子放出菌の集積評価.....	60
4.3.6	新規導電性コンクリートの開発による硫化水素低減効果の評価.....	64
	参考文献.....	73
第5章 結論.....		76
今後の課題.....		77
謝辞.....		78

# 第 1 章 研究背景

## 1.1 下水管渠における硫化水素問題と歴史

1960年代から70年代にかけて、硫化水素に起因する下水管渠の腐食<sup>1-7</sup>、毒性<sup>8,9</sup>、悪臭<sup>10,11</sup>といった問題が関係者と公共(一般住民)の双方に明らかになった。硫化水素の生成と抑制に関する知見を得るための調査<sup>12-15</sup>がいくつかの国で実施された。その結果、多数の硫化物生成予測モデル<sup>16-20</sup>と自然流下管渠と圧送管渠における硫化物問題<sup>21</sup>は解決するためのガイドラインが開発された。これらのモデルとガイドラインは、管渠の設計<sup>22</sup>と、硫化物の生成またはその影響を抑制するための適切な手法<sup>23-25</sup>の導入に広く用いられてきた。

これらの問題について、主要な理論的研究と現場に適用できる技術開発は、米国<sup>26,27</sup>、オーストラリア<sup>28-30</sup>、南アフリカなど<sup>31,32</sup>の国々で行われてきた。これらの国では、管渠は長距離に及び、下水の温度も約20~30°Cと高い。

下水管渠における硫化物の挙動(生成、影響、抑制)は、複雑である。水温の重要性は、一つのファクターにすぎない。管渠による下水の輸送に関する設計指針、下水水質(水質は管渠内で変化する)が、硫化物の挙動に大きく影響する。実際には従来の管渠設計方法は、下水の嫌気状態を招くことも多いため、設計過程において管渠内での生物化学反応を考慮し、予測手法を用いることが重要である。

デンマークとポルトガルにおける下水管渠での硫化物問題について述べる。デンマークは温帯気候であるが、管渠における硫化物問題は、1980年代中頃まで重要とは考えられていなかった。従来、デンマークの自然流下管渠(特に、合流式下水道地域)は、晴天時の流量に対し、流下能力が十分になるように設計されてきた。したがって、再曝気が十分行われ、生物膜中での硫化物が生成したとしても、硫化物問題は発生しなかった。ところが、下水の集約処理方針が打ち出されてこの状況が変わった。1980年代に多くの圧送管渠が整備されたからである。圧送管渠では、下水は嫌気状態となるが、いくつかの事業者で、圧送管渠の下流のポンプ場やコンクリート製の自然流下管渠が供用開始から2~4年で硫化物が原因で腐食する事態となった。その結果、硫化物生成に関する最初の調査に加え、近年の調査結果から、水温が6~8°Cとなる冬期でもかなりの硫化物が圧送管渠で生成することが分かった。さらに、硫化物は、処理場で活性汚泥の沈降性に悪影響を与えることも報告されている。一方、ポルトガルは南ヨーロッパに位置し、管渠における下水水温は25°C程度となる。1960年代の初めから圧送管渠が用いられてきたが、硫化物によって下流域のコンクリート製および繊維強化セメント製の自然流下管渠の腐食が引き起こされた。硫化物問題は、海水浴場の汚染防止のために設計された沿岸部の長距離管渠の建設とともに特に表面化した。そこで、供用開始から6~8年で圧送管渠と揚水ポンプ場となった例がある。そして、これらのポンプ場では、多くの場合、硫化物問題を抑制するために空気注入が導入されてきた。これらデンマークとポルトガルの事例から、管渠における硫化物生成が世界中で重要課題であり、その内容は複雑であることが分かる。

## 1.2 下水管渠における硫化水素

### 1.2.1 下水管渠における硫黄循環の基本的事項

図 1-1 に下水管渠における好気・嫌気生物化学反応による生物学的な硫黄のサイクル<sup>33,34</sup>を表したものである。

図 1-1 は、好気プロセス(硫黄の酸化)と嫌気プロセス(硫黄の還元)の両方を含んでいることに注目する必要がある。さらに、増殖と分解は主に好気環境下と関連が深い。嫌気性の硫酸塩還元細菌<sup>35-40</sup>(主に *Desulfovibrio* と *Desulfotomaculum*)の増殖速度は遅いので、もしこれらが下水中で生息するのであれば、下水管渠からはウォッシュアウトされる。しかし、生物膜と管渠内堆積物中ではそれらの細菌は保持される。その結果、硫酸塩還元は、生物膜中や堆積物が存在すれば、主にそれらの場で起こる。剥離した嫌気性生物膜は、通常、下水中で硫化物生成を引き起こすが、これはそれほど重要ではない。嫌気性雰囲気下の圧送管渠における硫化物生成にとって、明らかに生物膜が重要である。自然流下管渠においては、下水そのものは好気状態になったり嫌気状態となったりするが、生物膜の深い部分は嫌気状態となっていることが多いので、自然流下管渠においても生物膜が硫化物生成にとって重要であることが理解される。

硫黄単体(S)や硫酸塩( $\text{SO}_4^{2-}$ )への硫化物の酸化は、好気条件下で起こる。仮に、自然流下管渠内面の生物膜の深い部分で硫化物が生成しても、硫化物は生物膜の表面付近に存在する好気性の部分、または下水中で酸化される可能性がある。酸化に関してはまだ研究が進んでいないが、化学的な反応と生物学的な反応で起こると考えられる。この酸化反応では、酸化数 0 の硫黄単体が一時的に生成されるが、最終的には硫酸塩にまで酸化される。

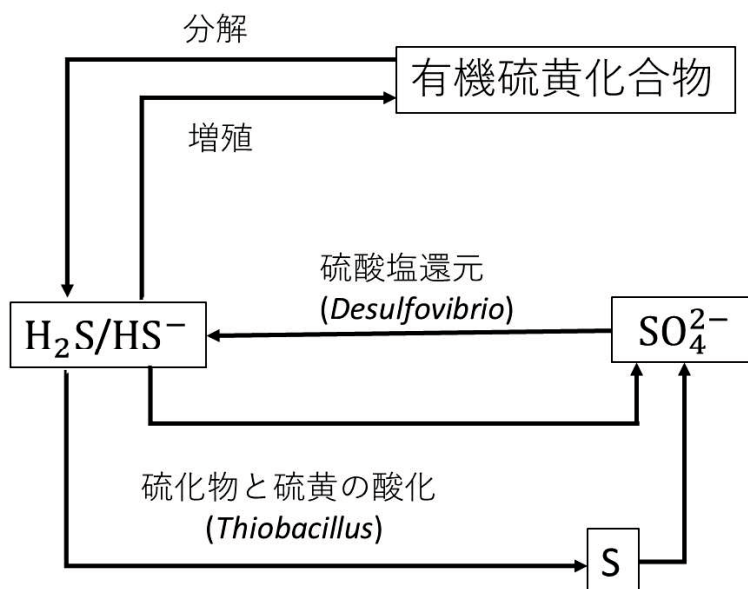


図 1-1 下水管渠における好気・嫌気生物化学的反應における硫黄の生物学的循環

### 1.2.2 硫化水素生成の基礎と化学量論

ある種のタンパク質やアミノ酸のような有機硫黄化合物は、分解時に硫化水素を生成する。以下に、アミノ酸の一種であるシステインの加水分解を例として示す。



式(1.1)に示した下水中有機硫黄化合物の分解は、通常、硫化物の生成源とみなされない。硫化物生成の主要なプロセスは、*Desulfovibrio* や *Desulfotomaculum* といった硫酸塩還元従属栄養細菌による硫酸呼吸である。従属栄養細菌による硫化物生成を簡略化して表すと次式となる。



式(1.2)に示した硫酸塩を電子受容体と考えると、還元反応は、次式で表される。



硫化物生成の化学量論を求めるためには、従属栄養性の硫酸塩還元細菌への電子供与体である有機物の酸化反応を式(1.3)に導入する必要がある。

### 1.2.3 硫化物生成への影響因子

硫化物が生成する条件として、嫌気状態すなわち溶存酸素、硝酸塩、その他の酸化された無機窒素化合物が存在しない状態であることが重要である。硫化物は、嫌気条件下でなければ存在しないが、管渠内で溶存酸素濃度の低い部分がある場合、嫌気部分で生成した硫化物がこの部分へ移動し、一時的に存在することもある。一例を挙げると、硫化物は、管渠内生物膜の内部で生成され、生物膜表面の好气的部分まで移動することがある。あるいは、下水中までに移動することもある。

#### 1.2.3.1 硫酸塩

硫酸塩は、通常、下水に含まれており、その濃度が 5~15 mgS/L 以上である。この濃度では比較的薄い生物膜では硫化物生成の律速にならない。管渠内に堆積物がある場合、堆積物の深層部にまで硫酸塩が浸透するので、下水中の硫酸塩濃度が高いほど硫酸塩還元が増大する可能性が高い。例えば、工場排水のような特殊な条件では、チオ硫酸塩や亜硫酸塩などの酸化硫黄化合物も硫酸塩還元細菌によって硫黄源となる。

#### 1.2.3.2 生物分解性有機物の量と質

下水中には、硫酸塩還元反応に必要な基質である生分解性有機物が含まれている。例えば、食品工場からの排水には、硫酸塩還元細菌が好む易生物分解性有機物が高濃度に含まれているが、この場合、家庭排水に比べ硫酸塩還元速度が大きくなる。家庭排水の場合でも、節水や水の再利用を行っている地域では易分解性 COD 成分や速加水分解 COD 成分の濃度が



高くなり、その結果硫化物生成のポテンシャルが高くなるケースがある。ギ酸、乳酸、エタノールなどが硫酸塩還元細菌に特に利用されやすい有機物として報告されている。

#### 1.2.3.3 水温

硫酸塩還元細菌そのものの温度依存性は高く、硫酸塩還元速度の温度係数( $\alpha$ )は約 1.13 である。これは、水温が 10°C 上がると速度が 3.4 倍になることを意味する。通常、硫化物生成は、基質の生物膜や底泥への拡散プロセスに依存するので、温度係数は 1.03 程度である。長期間のうちには、低温または高温に順応した硫酸塩還元細菌が出現する。つまり、冬期と夏期の間で水温による反応速度に違いが小さくなる。

#### 1.2.3.4 pH

硫酸塩還元細菌は、おおむね pH が 5.5~9 の範囲で生息する。ただし、pH が約 10 以下では、重大な阻害要因になることはない。酸化数が 2 である硫化物の形態として  $\text{H}_2\text{S}$  と  $\text{HS}^-$  の 2 種類があるが、これらの存在比は pH に依存する。

#### 1.2.3.5 管渠内表面積と下水容積の比

硫化物は、主に生物膜内で生成する(堆積物がある場合は、堆積物内でも生成する)。管渠内表面積と下水容積の比(A/V)から、生物膜内での生成量を下水中濃度で表すことができる。圧送管渠や満管状態の自然流下管渠では、A は管渠内表面積、V は管渠の容量に等しい。非満流の自然流下管渠では、A は下水に接する管内渠表面積、V は下水容量に等しくなる。小口径と大口径の圧送管渠を比べると、ほかの条件が同じであれば、小口径の A/V 値の方が大きいので下水中硫化物濃度が高くなる。

#### 1.2.3.6 流速

硫化物生成ポテンシャルは、生物膜の厚さによる。圧送管渠内の流速が 0.8~1 m/s であれば、生物膜の厚さは、通常 100~300 $\mu\text{m}$  で薄いといえる。しかし、流速が大きい場合、拡散境界層が薄くなり、基質と生成物に対する生物膜と液相間の移動抵抗が小さくなる。全体としては、高流速の場合、硫化物生成ポテンシャルは小さくなるといえる。さらに、流れの状況は気相と液相間の物質移動プロセス(硫化水素の気相への放散)に影響する。

#### 1.2.3.7 嫌気保持時間

管渠内において嫌気状態に保持される時間によって下水中硫化物濃度が異なるが、圧送管渠内滞留時間は、下水流量と管渠の容量で決まる。従って、ある圧送管渠の終点における硫化物濃度は、圧送管渠への流入量の日変動と合流式下水道の場合であれば降雨パターンに左右されることになる。

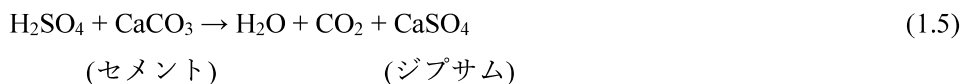
### 1.2.3.8 コンクリート腐食

コンクリート腐食<sup>441-44</sup>は、硫化水素の生成を原因として起こる。コンクリート腐食を含めて硫化水素問題は、管渠における下水の嫌気化の結果生じる主な問題点として知られてきた。コンクリート腐食は、現在でもその経済的損失を世界規模で与えている。

硫化物が下水中にとどまっている限り、それによる有害な影響はない。コンクリート腐食問題は、気相中の硫化水素ガスが管渠の湿ったコンクリート表面にある液膜に吸着されることによって引き起こされる。特に腐食の厳しいのは、水面付近および流れが乱されて硫化水素の放散量が多い部分である。さらに、管頂部にも腐食が見られる。これらの湿潤な管渠内表面では、通常、気相中の酸素が利用可能であり、H<sub>2</sub>Sが微生物反応によって硫酸に酸化される<sup>6,45</sup>。



硫化水素の硫酸への酸化に関与する好気性微生物は、好気性で独立栄養細菌の *Thiobacillus* 属である。これらの微生物は、pH がかなり低い状態においても活性を保持する。*Thiobacillus concretivorus* は、pH が 0.5~5 の間でも活性を持ち、約 7% までの硫酸溶液を生成することもある。これは、pH を低下させる他の *Thiobacillus* 属の共生を必要とする。*Thiobacillus concretivorus* と *Thiobacillus neapolitanus* は、硫化物に加え、エネルギー源としてチオ硫酸塩および硫黄単体も利用できる。管渠表面で生成した硫酸は、コンクリート中のアルカリセメントと反応する。この反応を単純に表した化学量論は次式で与えられる。



硫酸の生成速度が小さい場合でも、硫酸の大部分がセメントと反応し、不溶性の成分(例えば、砂や砂利)を欠落させてしまう。一方、生成速度が比較的速い場合、硫酸の一部は反応前に下水に流されてしまい、下水中で硫酸イオンとなってアルカリ成分と反応する。管渠表面の液膜で生成するこの硫酸イオンは、コンクリート中のセメント(CaCO<sub>3</sub>)と反応することが分かる。

通常、温度 20°C 未満で、下水中硫化物濃度が低い場合(0.5 mg/L 未満)、コンクリート腐食速度は比較的小さい。しかし、以下の事項が腐食のリスクを増大させる可能性がある。

- (1) 高濃度の硫化物が生成する条件が整った施設の下流に、コンクリート製の下水管渠やポンプ場がある場合。このような例として圧送管渠や堆積物が存在する自然流下管渠が含まれる。
- (2) 嫌気性下水の流れの乱れが厳しい場合や硫化水素の放散ポテンシャルが高い条件の場合、流れの乱れが増大するリスクのある部分として、流入部、段差、落差工、急曲管部、伏せ越しがある。一例として圧送管渠から自然流下管渠に流れが変化する部分では硫化水素の放散リスクが大きい。

### 1.3 金属腐食

硫化水素は、ほとんどの重金属と反応する弱酸で、反応により難水溶性の金属硫化物ができ、2価の金属で示すと、反応は次式で表される。



金属腐食<sup>46,47</sup>は、ポンプ場や電子機器を備えた管渠でよく見られる。

### 1.4 下水処理場への影響

処理場への流入部では、下水の流れが乱されることが多い。それによって硫化水素や他の悪臭物質が空気中へ放散されると問題となり、脱臭が必要になる場合もある。一方、嫌気性下水を曝気すると、硫化物や数種類の有機悪臭物質は短時間で酸化することができる。しかし、窒素を含む悪臭物質の酸化速度は小さいので、処理場流入部でそれが含まれていると問題となる可能性がある。

硫化物を含む下水が活性汚泥処理を採用している処理場に流入すると、反応タンクにおいてフロック中の $\text{Fe}^{3+}$ が $\text{FeS}$ に還元されるのでフロックの構造が変わるといわれている。それにより、フロックの凝集性が低下し解体しやすくなる可能性があるとされている。フロック中の全有機物のうち、10%までの放出が確認されているが、放出された物質は、細胞外ポリマー物質(EPS)と呼ばれる汚泥沈降障害物質、コロイド物質、バルキングを起こす糸状性細菌であった。

## 参考文献

1. Mathews, E. R. *et al.* Town-scale microbial sewer community and H<sub>2</sub>S emissions response to common chemical and biological dosing treatments. *J. Environ. Sci. (China)* **87**, 133–148 (2020).
2. Jiang, G., Sun, J., Sharma, K. R. & Yuan, Z. Corrosion and odor management in sewer systems. *Curr. Opin. Biotechnol.* **33**, 192–197 (2015).
3. Jiang, G. *et al.* The role of iron in sulfide induced corrosion of sewer concrete. *Water Res.* **49**, 166–174 (2014).
4. Jiang, G., Keller, J. & Bond, P. L. Determining the long-term effects of H<sub>2</sub>S concentration, relative humidity and air temperature on concrete sewer corrosion. *Water Res.* **65**, 157–169 (2014).
5. Satoh, H., Odagiri, M., Ito, T. & Okabe, S. Microbial community structures and in situ sulfate-reducing and sulfur-oxidizing activities in biofilms developed on mortar specimens in a corroded sewer system. *Water Res.* **43**, 4729–4739 (2009).
6. De Belie, N. *et al.* Experimental research and prediction of the effect of chemical and biogenic sulfuric acid on different types of commercially produced concrete sewer pipes. *Cem. Concr. Res.* **34**, 2223–2236 (2004).
7. William E. Shook, L. W. B. Corrosion Control in Concrete Pipe and Manholes. *Water Environ. Fed. 71st Annu. Conf. Expo.* 1–5 (1998).
8. Dordević, D., Jančíková, S., Vítězová, M. & Kushkevych, I. Hydrogen sulfide toxicity in the gut environment: Meta-analysis of sulfate-reducing and lactic acid bacteria in inflammatory processes. *J. Adv. Res.* (2020). doi:10.1016/j.jare.2020.03.003
9. Malone Rubright, S. L., Pearce, L. L. & Peterson, J. Environmental toxicology of hydrogen sulfide. *Nitric Oxide - Biol. Chem.* **71**, 1–13 (2017).
10. Paul, B. D. & Snyder, S. H. Gasotransmitter hydrogen sulfide signaling in neuronal health and disease. *Biochem. Pharmacol.* **149**, 101–109 (2018).
11. Nielsen, A. H., Vollertsen, J., Jensen, H. S., Wium-Andersen, T. & Hvitved-Jacobsen, T. Influence of pipe material and surfaces on sulfide related odor and corrosion in sewers. *Water Res.* **42**, 4206–4214 (2008).
12. Tavares, S. S. M., Batista, R. T., Landim, R. V., Velasco, J. A. C. & Senna, L. F. Investigation of the effect of low temperature aging on the mechanical properties and susceptibility to sulfide stress corrosion cracking of 22%Cr duplex stainless steel. *Eng. Fail. Anal.* **113**, 104553 (2020).
13. Vera, L., Malivel, G., Michanowicz, D., Kang, C. M. & Wylie, S. Photopaper as a tool for community-level monitoring of industrially produced hydrogen sulfide and corrosion. *Atmos. Environ. X* **5**, 100049 (2020).
14. Ventura Spagnolo, E. *et al.* Toxicological investigations in a fatal and non-fatal accident due to hydrogen sulphide (H<sub>2</sub>S) poisoning. *Forensic Sci. Int.* **300**, e4–e8 (2019).

15. Anikeev, A. N., Chumanov, I. V. & Sedukhin, V. V. Investigation of Valves with a Weld Microstructure Layer Resistant to the Hydrogen Sulfide Corrosion. *Procedia Eng.* **150**, 1063–1067 (2016).
16. Moreno-Silva, C. *et al.* Hydrogen sulphide emissions and dispersion modelling from a wastewater reservoir using flux chamber measurements and AERMOD® simulations. *Atmos. Environ.* **224**, (2020).
17. Liang, Z. S., Zhang, L., Wu, D., Chen, G. H. & Jiang, F. Systematic evaluation of a dynamic sewer process model for prediction of odor formation and mitigation in large-scale pressurized sewers in Hong Kong. *Water Res.* **154**, 94–103 (2019).
18. Somma, R. *et al.* Modelling of hydrogen sulfide dispersion from the geothermal power plants of Tuscany (Italy). *Sci. Total Environ.* **583**, 408–420 (2017).
19. Liu, Y., Ganigué, R., Sharma, K. & Yuan, Z. Event-driven model predictive control of sewage pumping stations for sulfide mitigation in sewer networks. *Water Res.* **98**, 376–383 (2016).
20. Lahav, O., Sagiv, A. & Friedler, E. A different approach for predicting H<sub>2</sub>S(g) emission rates in gravity sewers. *Water Res.* **40**, 259–266 (2006).
21. Gao, R., Zhang, Z., Zhang, T., Liu, J. & Lu, J. Upstream Natural Pulsed Ventilation: A simple measure to control the sulfide and methane production in gravity sewer. *Sci. Total Environ.* **742**, 140579 (2020).
22. Singh, R. P., Kun, W. & Fu, D. Designing process and operational effect of modified septic tank for the pre-treatment of rural domestic sewage. *J. Environ. Manage.* **251**, 109552 (2019).
23. Kaushal, V. & Najafi, M. Comparative Assessment of Environmental Impacts from Open-Cut Pipeline Replacement and Trenchless Cured-in-Place Pipe Renewal Method for Sanitary Sewers. *Infrastructures* **5**, 48 (2020).
24. Ji, H. W., Yoo, S. S., Lee, B. J., Koo, D. D. & Kang, J. H. Measurement of wastewater discharge in sewer pipes using image analysis. *Water (Switzerland)* **12**, 1–10 (2020).
25. Jothiprakash, V. & Tobias, M. J. The Socioeconomic Spillover of sanitation: Sewage Treatment plants in Navi Mumbai, India. **1**, 0–22 (2020).
26. Rose, S. Comparative solute-discharge hysteresis analysis for an urbanized and a ‘control basin’ in the Georgia (USA) Piedmont. *J. Hydrol.* **284**, 45–56 (2003).
27. Chakravorty, C. C Ache M Anagement I Ssues in M Obile. **2**, 21–27 (2012).
28. Ganigue, R., Gutierrez, O., Rootsey, R. & Yuan, Z. Chemical dosing for sulfide control in Australia: An industry survey. *Water Res.* **45**, 6564–6574 (2011).
29. Ahmed, W., Wan, C., Goonetilleke, A. & Gardner, T. Evaluating Sewage-Associated JCV and BKV Polyomaviruses for Sourcing Human Fecal Pollution in a Coastal River in Southeast Queensland, Australia. *J. Environ. Qual.* **39**, 1743–1750 (2010).
30. Fisher, A. K., Bullen, F. & Beal, D. The durability of cellulose fibre reinforced concrete pipes in

- sewage applications. *Cem. Concr. Res.* **31**, 543–553 (2001).
31. Gemmell, M. E. & Schmidt, S. Microbiological assessment of river water used for the irrigation of fresh produce in a sub-urban community in Sobantu, South Africa. *Food Res. Int.* **47**, 300–305 (2012).
  32. Paulse, A. N., Jackson, V. A. & Khan, W. Comparison of enumeration techniques for the investigation of bacterial pollution in the Berg River, Western Cape, South Africa. *Water SA* **33**, 165–173 (2007).
  33. Straub, K. L., Straub, K. L., Schink, B. & Schink, B. Ferrihydrite-Dependent Growth of. *Society* **70**, 5744–5749 (2004).
  34. Friedrich, C. G., Rother, D., Bardischewsky, F., Quentmeier, A. & Fischer, J. Oxidation of Reduced Inorganic Sulfur Compounds by Bacteria.pdf. *Appl. Environ. Microbiol.* **67**, 2873–2882 (2001).
  35. Lu, X. *et al.* Effect of influent COD/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> ratios on biodegradation behaviors of starch wastewater in an upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactor. *Bioresour. Technol.* **214**, 175–183 (2016).
  36. Dash, J., Das, T., Mishra, B. K. & Kar, R. N. Isolation, characterization and growth control of a sulfate reducing bacteria from sewage water. *Appl. Ecol. Environ. Res.* **10**, 233–242 (2012).
  37. Sabumon, P. C. Development of enhanced sulphidogenesis process for the treatment of wastewater having low COD/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> ratio. *J. Hazard. Mater.* **159**, 616–625 (2008).
  38. Braissant, O. *et al.* Exopolymeric substances of sulfate-reducing bacteria: Interactions with calcium at alkaline pH and implication for formation of carbonate minerals. *Geobiology* **5**, 401–411 (2007).
  39. Heidelberg, J. F. *et al.* The genome sequence of the anaerobic, sulfate-reducing bacterium *Desulfovibrio vulgaris* Hildenborough. *Nat. Biotechnol.* **22**, 554–559 (2004).
  40. Matias, P. M., Pereira, I. A. C., Soares, C. M. & Carrondo, M. A. Sulphate respiration from hydrogen in *Desulfovibrio* bacteria: A structural biology overview. *Prog. Biophys. Mol. Biol.* **89**, 292–329 (2005).
  41. Wu, M., Wang, T., Wu, K. & Kan, L. Microbiologically induced corrosion of concrete in sewer structures: A review of the mechanisms and phenomena. *Constr. Build. Mater.* **239**, 117813 (2020).
  42. Mondal, S. & (Dey) Ghosh, A. Review on microbial induced calcite precipitation mechanisms leading to bacterial selection for microbial concrete. *Construction and Building Materials* **225**, 67–75 (2019).
  43. Sun, X., Jiang, G., Bond, P. L. & Keller, J. Periodic deprivation of gaseous hydrogen sulfide affects the activity of the concrete corrosion layer in sewers. *Water Res.* **157**, 463–471 (2019).
  44. Jiang, G. *et al.* Wastewater-Enhanced Microbial Corrosion of Concrete Sewers. *Environ. Sci.*

- Technol.* **50**, 8084–8092 (2016).
45. Milde, K., Sand, W., Wolff, W. & Bock, E. Thiobacilli of the corroded concrete walls of the Hamburg sewer system. *J. Gen. Microbiol.* **129**, 1327–1333 (1983).
  46. Farimani, A. M., Hassannejad, H., Nouri, A. & Barati, A. Using oral penicillin as a novel environmentally friendly corrosion inhibitor for low carbon steel in an environment containing hydrogen sulfide corrosive gas. *J. Nat. Gas Sci. Eng.* **77**, 103262 (2020).
  47. Deffo Ayagou, M. D. *et al.* Impact of oxygen contamination on the electrochemical impedance spectroscopy of iron corrosion in H<sub>2</sub>S solutions. *Corros. Sci.* **164**, 108302 (2020).

## 第 2 章 既存の研究および研究目的



## 2.1 下水管渠における硫化物の抑制

下水管渠における硫化物問題の抑制のため、多くの考え方や技術が検討、開発されてきた。硫化物に関する問題点を引き起こさない方法は、管渠の計画と設計段階で検討されるべきである。可能であれば、硫化物問題を起こしたシステムへ運転規定を導入するべきである。特に、圧送管渠では設計過程でそのような方法を適用しなければならないことが多い。抑制手法は、3つに分類される。硫化物問題への積極的設計対応、受動的設計対応、硫化物問題を抑制する維持管理がある。硫化物問題への積極的設計対応は、硫化物がなるべく生成しないように設計する手法、受動的設計対応は、硫化物の生成を必ずしも抑制しないが、硫化物の影響を小さくするように設計する手法、硫化物問題を抑制する維持管理は、硫化物生成と影響を維持管理で低減する手法。この手法は、硫化物問題が顕在化した後、採用される。上記の3つの硫化物抑制手法は、全体的な分類である。これらの手法には、硫化物の抑制だけでなく、他の臭気物質の低減につながるものである。

### 2.1.2 硫化物問題への積極的設計対応

管渠における積極的な設計手法には、再曝気の増大、嫌気性下水の流れが乱れることを防ぐこと、堆積物の防止、生物膜の厚さの低減がある。管渠(特に自然流下管渠)を設計する際、硫化物や有機臭気物質の生成を抑制するうえで、再曝気が重要である。多くの水理的な条件や管渠諸元が再曝気速度の増大および硫化物に関連した問題の低減に関連する。特に、水理学的水深、径深、流速、管渠こう配が重要な要因である。必ずしも生物膜での硫化物生成を抑制することが目的ではなく、下水中に存在する硫化物濃度を低く抑えることが目的である。従って、下水中溶存酸素濃度は  $0.2 \text{ mgO}_2/\text{L}$  より低くはならず、硫化物を十分に酸化して、管渠内気相中に硫化水素として放散しないように高く保つ必要がある。嫌気性下水の流れが乱れると、硫化物問題のリスクが大きくなるので、これを防ぐ必要がある。一方、好気反応の面からこれを見ると、流れが乱れることによって再曝気が促進されることになる。

管渠内面の生物膜の厚さは、硫化物生成に影響を及ぼす。流速が速くなり生物膜が薄くなれば、硫化物問題が低減する可能性がある。好気性の自然流下管渠で流速が極端に遅い場合、生物膜の厚さは  $50 \text{ mm}$  を超えることもあるが、流速が大きくなると通常、 $1\sim 5 \text{ mm}$  になる。生物膜の厚さは、下水の流れによって管渠内面に生じるせん断力に関連する。

### 2.1.3 硫化物問題への受動的設計対応

硫化物問題のリスク低減のための積極的対応に加え、多くの受動的な対応方法がある。以下に示す設計手法(防食材料の選定、管渠内換気の強化)は、特に腐食の防止に有効である。

管渠に用いられているコンクリート材料は、通常、ポルトランドセメントである。ポルトランドセメントであれば、種類が異なっても腐食速度に大差はない。しかし、セメント含有率が高いとアルカリ度が大きくなるので年間腐食深さが小さくなる。骨材として高アルカリ材(石灰石、白雲石)を用いても腐食速度を下げるができる。耐酸コンクリート、アル

ミナセメント，硫黄コンクリートなどの防食コンクリートも存在するが比較的高価である。表面をエポキシ樹脂やコーラルでコーティングしたものもある。コーティングによる不透水性の確保は有効である。さらに，ポリ塩化ビニル管，ABS樹脂管，ポリエチレン管を用いる方法もある。また，陶器も硫化水素腐食に対して優れた耐食性を示す。

管渠内の換気は，気相中の硫化水素濃度を低下させるだけでなく，管渠壁での微生物活動に欠かせない水分を低減する効果がある。換気にあたっては，管渠周辺で臭気問題を引き起こさないよう考慮しなければならない。場合によっては，酸化，化学洗浄，バイオフィルターによる脱臭処理(生物脱臭)を検討する必要がある。

#### 2.1.4 硫化物対策のための維持管理方法

硫化物対策のための管渠維持管理方法は，過去40~50年間，既存の管渠に対する対策として検討，実施されてきた。硫化物対策は必ずしも管渠施設の設計段階で予測，検討されてきたわけではなく，日々の管理において硫化物が扱われてきたからである。しかし，圧送管渠の場合には，通常，高濃度の硫化物が生成するので硫化水素の抑制が求められ，事業者によっては対策をとる必要性に迫られている。表2-1に示した下水管渠における硫化物抑制方法では，薬品添加<sup>1-3</sup>，化学的沈殿方法<sup>4,5</sup>等がある。これらの手法に関しては，下水処理過程，公共用水域に影響を与える恐れがあるため，検討が必要である。

表 2-1 下水管渠における硫化物抑制方法

抑制方法の一般的原理	具体的な手法
硫酸塩還元条件の抑制	下水への空気注入 下水への純酸素注入 下水への硝酸塩添加
副作用の防止	硫化鉄添加による硫化物の固定化 塩化鉄単価による硫化物の固定化
生物反応への特殊効果を狙った方法	pHを上昇させるアルカリ剤 塩素，過酸化水素，オゾン
物理的方法	フラッシング 生物膜除去
処理方法	化学的処理 生物学的処理

## 2.2 硫酸塩還元条件の抑制手法

### 2.2.1 空気注入

注入された空気中の酸素<sup>6-11</sup>は、管渠中で下水が硫酸塩還元雰囲気下になることを防ぐ。下水中溶存酸素によって生物膜の浅い部分が好気性になるので、深い部分あるいは堆積物中で生成した硫化物は酸化される。硫化物の酸化は生物的酸化も起こるが、主として化学反応として進行する。硫化物酸化速度に影響する要因はpH、温度、重金属などの触媒の有無である。

硫酸塩還元雰囲気を防ぐために必要な酸素量は、下水中と生物膜中の好気呼吸速度から求められ、管渠での全硫化物生成ポテンシャルから決めるべきではない。酸素の溶解度は、溶存酸素消費速度と比べ低い(9~11 mgO<sub>2</sub>/L)ので、確実に好気状態を保とうとすれば複雑の地点で空気を注入する必要がある場合がある。このため、管理要因が多くなり費用が高くなる。また、易分解性有機物、速い加水分解性有機物が管渠内で減少する。機械的処理が行われる場合、この現象は処理に良い影響を与えるが、脱窒や生物学的りん除去が処理場で実施される場合は反対に悪影響を与える。

これまでに、多くの空気注入システムが設置されてきたが、圧送管渠に空気を注入する場合、酸素量は20%であることを留意しなければならない。溶解しない窒素ガスが圧送管渠の最も高い部分に集められるので、自動でこれを排出する装置が設置されることもある。空気注入された圧送管渠のポンプ性能は、エネルギー損失モデルを用いて評価することができる。

### 2.2.2 純酸素注入

純酸素の注入<sup>8,12,13</sup>は、空気注入に比べていくつかの問題点を解決する。純酸素の水に対する溶解度は、空気中の酸素の5倍で約45~50 mgO<sub>2</sub>/Lである。さらに、非溶解性のガスはほとんどない。欠点は、注入点まで純酸素を運搬、保管しなければならない点、或いは注入点で製造しなければならない点である。

### 2.2.3 硝酸塩添加

硝酸塩を添加<sup>14-19</sup>すると、溶存酸素がなくなった時点で無酸素状態となるので、硫酸塩還元を抑制することができる。硝酸塩は十分に硫化物を酸化するとされるが、下水中と生物膜中における硫酸塩還元の抑制に関連して、無酸素反応に関する理論的な詳細、および下水中に硫化物が存在する現象については、未だ知見が得られていない。

無酸素状態における微生物の活性は、好気状態よりも低い。このことは、以下の点で重要である。電子当量単位で見ると、硝酸塩利用速度(NUR)の方が酸素利用速度(OUR)より小さい。これは、有機物のうち、最も生物分解されやすい成分の変化速度も低いことを意味する。空気注入の要点で述べたように、このことは下水処理と密接な関係がある。また、NURが比較的低いいため、硫化物生成を抑制するのに必要な硝酸塩を低減できる効果もある。硝酸塩

は、数種類の形態で添加される。例えば、 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  は肥料の原料としてよく知られている。硝酸塩の処理場および公共用水域への流入は避けなければならない。従って、下水への硝酸塩添加量を制御する必要がある。

#### 2.2.4 硫化物の化学的沈殿法

硫化物の化学的沈殿法<sup>4,5</sup>として最もよく使われるのは、硫化鉄あるいは塩化鉄の形態をとる2価と3価の鉄塩である。嫌気状態の下水では、3価の鉄イオンは2価に還元され、次式で示すように硫化物は非溶解性の硫化鉄( $\text{FeS}$ )として固定化される。この反応は、瞬時に進む。



鉄塩の添加によって硫化物は下水中で固定化され、硫化物の管渠内気相中への放散とそれに伴う悪影響が防止される。硫化物の固定化は、通常、硫化物生成に対する効果はない。硫酸塩還元反応において、硫酸塩は電子受容体として必要であるが、下水中では、通常、十分に存在する。嫌気発酵反応が進み、生成した有機悪臭物質は、鉄塩添加によって影響を受けない。鉄塩は、通常、溶解した状態で好気条件下において添加される。従って、3価の鉄イオンは、水和された酸としてはたらく。



添加装置には、耐食性の材料を使用する必要がある。鉄塩の添加によって下水のアルカリ度が低下し、pHも低下する可能性があるからである。アルカリ度が低下すれば、下流の処理場における硝化速度が低下する場合もある。

### 2.3 生物反応への特殊効果をねらった方法

硫化物抑制のために多くの化学物質が用いられてきた。以下に広く用いられてきた方法を示すが、これらは生物反応に対して異なる影響を及ぼす。

#### 2.3.1 pHを上昇させるアルカリ剤

pHを約12以上にするアルカリ剤<sup>20,21</sup>を添加すると生物膜は分解され、ほとんどが管渠内面から流されてしまう。硫化物抑制効果が発揮されるのは、新たな生物膜が生成するまでの数日までで一時的なものである。実際には、水酸化ナトリウム( $\text{NaOH}$ , 苛性ソーダ)、水酸化カルシウム( $\text{CaOH}_2$ )が用いられる。この方法を採用する場合、下水処理過程に及ぼす影響を考慮する必要がある。

#### 2.3.2 塩素

塩素( $\text{Cl}_2$ )<sup>22,23</sup>には、生物に対し毒となる効果と硫化物を酸化する効果があるので、硫化物抑制剤として使用される。塩素を用いた場合、特定できない多くの副作用を下水道に与える可能性がある。また、約50 mg/Lの塩素でも5~10 mgS/Lの硫化物を十分には低減できな

い. 塩素は、毒性のある化学物質であるため、使用量には注意すべきである.

### 2.3.3 過酸化水素およびオゾン

塩素とは逆に、過酸化水素( $\text{H}_2\text{O}_2$ )<sup>24-26</sup>のはたらきは明確で、pH が約 8 以下で硫化物を主に S または  $\text{SO}_4^{2-}$  まで酸化する. さらに、過酸化水素は生物膜中の硫酸塩還元細菌を分解する. 過酸化水素は高価であるが、その効果から考えると経済的であるといわれている. 濃度 5~10 mg/L で硫化物生成の抑制に十分である. また、オゾン<sup>27,28</sup> も硫化物抑制に使用される.

### 2.3.4 物理的方法

硫化物対策としての物理的方法の例を挙げると、フラッシングやクリーニングボールを用いて生物膜と管渠内堆積物を除去する方法がある.

## 2.4 微生物燃料電池(MFCs: Microbial fuel cells)

MFCs(微生物燃料電池)において、微生物から放出された電子は、はじめにアノード電極へと受け渡される<sup>29</sup>(図 2-1)。アノード電極の素材としては、表面面積が大きいグラファイトフェルトなどがよく使用されている。電子はアノードから外部負荷を経てカソードと移動し、そこで酸化剤(電子受容体)となる化合物、およびアノード側から拡散してきたプロトンと反応し、回路が形成される。酸化剤としてはフェリシアン化カリウムや酸化マンガンなどの化合物が使われるが、主に多くの MFCs ではコストがかからない大気中の酸素が利用されている。しかし、一方、酸素の還元をするためには大きな活性エネルギーを必要とするため、活性化エネルギーを低減させるため化学触媒が用いられている。また、化学触媒として高価なプラチナに代替するカソード素材として窒素を含む炭素骨格に安価な遷移金属(鉄やコバルト)を配位した触媒が有用であることが報告されている<sup>30,31</sup>。

MFCs の形状としては主に 2 槽型と 1 槽型のものが存在する(図 2-1)。2 槽型 MFCs ではアノード槽とカソード槽がプロトン交換膜で仕切られており、酸素などの酸化剤はカソード槽へと供給される(図 2-1 A)。このタイプは、気密性が高いという利点があるが、酸素の水への溶解度が低いことから、酸素を酸化剤として使用する場合には曝気が必要となる。一方、1 槽型の MFCs はエアカソード(酸素拡散正極)と呼ばれる膜タイプのカソードが使用される(図 2-1 B)。エアカソードの酸素は透過性を持ち、大気中から透過した酸素は内側にコーティングされたカソード触媒によりプロトンと反応して最終的には水となる。このシステムでは槽内に透過した余剰の酸素が微生物によって消費されるため有機物からのエネルギー回収率は低くなるが、曝気が不要であるため、2 槽型と比較してランニングコストが低く抑えられる。また、アノードとカソード間の距離を縮めることが可能であるため、電極間のプロトン拡散移動に伴う内部抵抗を低減し、高出力を得ることができる。最近の研究ではアノードとカソードを一体化したカセット電極も開発されており、廃水処理 MFCs への適用において高い性能を示すことが報告されている<sup>32</sup>。今後、実用化に向けて一槽型 MFCs が主流となっている。

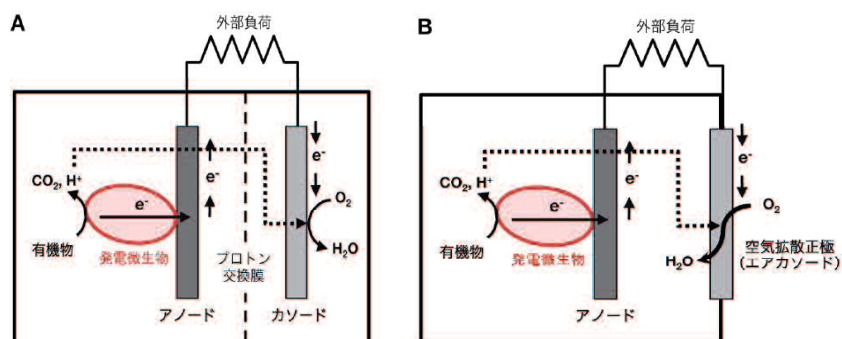


図 2-1 2 槽型 A および 1 槽型 B MFC の模式図<sup>33</sup>

## 2.5 電子放出菌(EPB:Electricity-producing bacteria)

生物がエネルギーを獲得するための仕組みは「呼吸」、「発酵」、「光合成」の3種類に大別され、多くの生物は酸素を利用する（好気呼吸）を行うことによりエネルギーを得ている。

呼吸とはエネルギー源となる電子供与物質（有機物）の酸化反応と電子受容体（酸素）の還元反応により発生する生体内のエネルギー通貨である ATP を合成することである。

生物が有機物を酸化分解すると、有機物に含まれていた電子は細胞内の電子伝達物質（ $\text{NAD}^+$ ）に受け渡され、還元型  $\text{NAD}(\text{NADH})$  が合成される。好気呼吸において、はじめに  $\text{NADH}$  が内膜に存在する酵素（ $\text{NADH}$  脱水素酵素： $\text{NDH}$ ）によって酸化される。それに伴って放出された電子やキノンやシトクロムタンパク質から構成される呼吸鎖電子伝達系を移動し、最終的には末端酸化酵素（シトクロム c オキシダーゼ）の働きによって酸素へ受け渡される。この過程で電子供与体（ $\text{NADH}$ ）と最終電子受容体（酸素）の酸化還元電位の差に相当するエネルギーが放出される。このエネルギーは電子が呼吸鎖電子伝達系を通る際に、プロトンポンプの働きによって膜の内外のプロトンの電気化学ポテンシャル差として保存される仕組みである(図 2-2)。

一方、電子放出菌<sup>34,35</sup>は嫌気呼吸を行う微生物であり、電極が最終電子受容体となる呼吸（電極呼吸）によって細胞の維持や増殖に必要なエネルギーを得ている(図 2-3)。電極呼吸を行う微生物は細胞膜を貫通する呼吸鎖伝達経路（細胞外電子伝達経路）を備えているため、細胞の外にある電極に対して電子を伝達することが可能である。この現象は、呼吸（好気呼吸）と同様な働きであり、電子伝達に伴ってプロトンの濃度勾配が形成され、電気化学ポテンシャルによって ATP が合成される原理である。次に、細胞外電子伝達のメカニズムについて述べる。微生物には絶縁体の細胞膜や細胞壁が存在するため、電極へ電子を受け渡すこれらの障壁を乗り越えるための導電経路が必要となる。例えば、微生物燃料電池(MFCs)に細胞膜を透過可能な電子伝達物質（電子シャトル）を人為的に添加すれば、電子シャトルが細胞内から電極への電子伝達を介在するため、特に導電経路を持っていない大腸菌などの微生物にも電流生産を行うことが可能となる<sup>36</sup>。

また、電極呼吸を行う細菌は、自然環境中では固体の金属酸化物（酸化鉄など）を電子受容体とした呼吸（金属呼吸）を行う金属還元細菌は約 30 年前に *Shewanella oneidensis*<sup>37</sup> と *Geobacter metallireducens*<sup>38</sup> の 2 株が発見された。それ以降、グラム陽性菌や古細菌を含む多様な微生物が金属呼吸を行うことが報告されている<sup>35,39,40</sup>。細胞外電子伝達のメカニズムは *Shewanella oneidensis* などの金属還元細菌を用いた研究により明らかになってきており、(1) 細胞外膜に局在する導電性タンパク質（細胞外膜シトクロム）による直接的な接触、もしくは(2)電子伝達を経由する化合物（電子シャトル）を介した間接的な経路により、電極もしくは金属酸化物に電子を伝達することが明らかになっている。

これまでの金属還元細菌の研究結果では、主に *Shewanella oneidensis* の細胞外電子伝達経路に関する研究<sup>35,41</sup>が行われている。この経路では、CymA, MtrA, MtrC, OmcA といった導電性シトクロム c タンパク質が重要な働きをする。NADH から細胞内膜上のキノンに移

動した電子は、はじめに CymA へと受け渡される。CymA は細胞内膜につながれた状態でペリプラズム(細胞内膜と細胞外膜の間の空間)に局在しており、そこから MtrA へと電子が移動するとされている。MtrB は筒状の構造をしたタンパク質であり、MtrA と細胞外シトクロム(MtrC 又は OmcA)が接触可能となるように、外膜に穴を開ける役割を担う。MtrC と OmcA が細胞外の電子受容体の還元において重要な働きをしており、(1) これら細胞外膜シトクロム c との直接的な接触、(2) 電子シャトルとして自身が分泌するフラビン類(フラビンモノヌクレオチドもしくはリボフラビン)を介した間接的なシャトル経路により、細胞外へ電子が伝達される仕組みである。

現在では、電極と微生物間の相互作用を利用した研究が行われている。最も実用化に近い応用技術として、廃水・廃棄物処理に適用し、有機物の処理とともに電力を回収するシステムが行われている<sup>32,42-44</sup> 他、また MFCs(微生物燃料電池)の原理を応用して、海洋・河川底泥などの堆積物中にアノード電極を埋めこみ、堆積物中の有機物を酸化分解して嫌気的環境を改善する研究<sup>34,45</sup> も行われている。

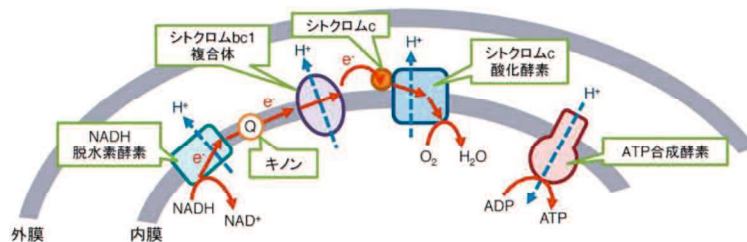


図 2-2 酸素呼吸による電子伝達系<sup>33)</sup>

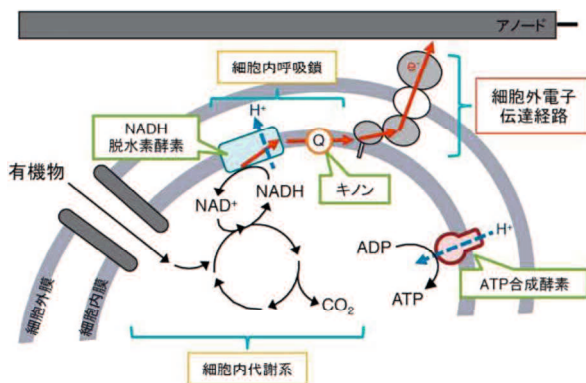


図 2-3 電極への電子伝達反応(電極呼吸)<sup>33)</sup>



## 2.6 研究目的

本研究の目的は、維持管理コスト・耐久性の両観点からライフサイクルコストの低減に資するコンクリート系管材の開発を行い、その効果を実証することである。そこで、本研究では導電性コンクリートの開発を行い、コンクリート壁内に電子の伝達経路を提供する。そして、「硫化水素を硫黄へ酸化する電子放出菌(2.5)」による汚泥堆積層内の硫化水素を酸化することで、維持管理コストが低く新たな発生抑制技術を開発する。導電性コンクリートの開発により、環境・エネルギー分野で着目されている微生物燃料電池(2.4)に用いられている電子放出菌を利用して硫化水素の発生抑制を検証する。

はじめに、3章にて市販の導電性コンクリートによる硫化水素の抑制効果の検証及びメカニズムの検討を行う。まず、導電性コンクリートにより形成された電子伝達経路の通電の確認、硫化水素発生抑制の実証を行う。次に想定される硫化水素の抑制メカニズムの検討では、(1)導電性物質として含まれる無定形炭素への物理的吸着作用、(2)電子放出菌による生物学的酸化が考えられ、これらのメカニズムの検討を行う。そして、硫化水素( $\text{H}_2\text{S}$ )から元素硫黄( $\text{S}^0$ )への酸化(式 2-1~2-3, 図 2-4)の確認を行い、電子放出菌による硫化水素の生物学的な酸化であることを検討する。次に、4章では、下水汚泥中に生息する電子放出菌の分離培養・同定を行い、同定した電子放出菌の植菌による硫化水素低減効果の確認を行う。この結果から、電子放出菌を人工的に植菌することにより硫化水素を生物学的に酸化することが可能となる。しかしながら、電子伝達経路の提供により導電性コンクリート近傍付近に電子放出菌が集積して硫化水素を生物学的に酸化することが確認されていないため、硫化水素の低減に関与する電子放出菌の集積を行う。最後に、はじめに使用した市販の導電性コンクリートよりも安価で、導電性が高く硫化水素を生物学的酸化の効果を促進する新規導電性コンクリートの開発を行い、生物学的酸化による硫化水素の低減効果の評価を行う。

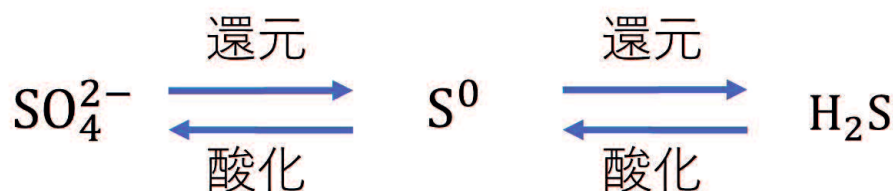
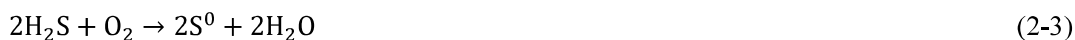


図 2-4 硫黄の酸化・還元反応



## 参考文献

1. Pikaar, I. *et al.* Full-scale investigation of in-situ iron and alkalinity generation for efficient sulfide control. *Water Res.* **167**, 115032 (2019).
2. Gu, T. *et al.* Characteristics and mechanism of dimethyl trisulfide formation during sulfide control in sewer by adding various oxidants. *Sci. Total Environ.* **673**, 719–725 (2019).
3. Nielsen, A. H., Lens, P., Vollertsen, J. & Hvitved-Jacobsen, T. Sulfide-iron interactions in domestic wastewater from a gravity sewer. *Water Res.* **39**, 2747–2755 (2005).
4. Farghali, M. *et al.* Prospects for biogas production and H<sub>2</sub>S control from the anaerobic digestion of cattle manure: The influence of microscale waste iron powder and iron oxide nanoparticles. *Waste Manag.* **101**, 141–149 (2020).
5. Zhang, L. *et al.* Decrease of dissolved sulfide in sewage by powdered natural magnetite and hematite. *Sci. Total Environ.* **573**, 1070–1078 (2016).
6. Charnnok, B., Suksaroj, T., Boonswang, P. & Chaiprapat, S. Oxidation of hydrogen sulfide in biogas using dissolved oxygen in the extreme acidic biofiltration operation. *Bioresour. Technol.* **131**, 492–499 (2013).
7. Duranceau, S. J., Trupiano, V. M., Lowenstine, M., Whidden, S. & Hopp, J. Innovative Hydrogen Sulfide Treatment Methods : Moving Beyond Packed Tower Aeration. *Florida Water Resour. J.* 4–14 (2010).
8. Duangmanee, T. Micro-aeration of hydrogen sulfide removal from biogas. 1–126 (2009).
9. Alcántara, S. *et al.* Hydrogen Sulfide Oxidation by a Microbial Consortium in a Recirculation Reactor System: Sulfur Formation under Oxygen Limitation and Removal of Phenols. *Environ. Sci. Technol.* **38**, 918–923 (2004).
10. Tanaka, N., Hvitved-Jacobsen, T., Ochi, T. & Sato, N. Aerobic-Anaerobic Microbial Wastewater Transformations and Re-aeration in an Air-Injected Pressure Sewer. *Water Environ. Res.* **72**, 665–674 (2000).
11. Janssen, A. J. H., Ma, S. C., Lens, P. & Lettinga, G. Performance of a sulfide-oxidizing expanded-bed reactor supplied with dissolved oxygen. *Biotechnol. Bioeng.* **53**, 32–40 (1997).
12. Lee, P. H., Cotter, S. F., Reyes Prieri, S. C., Attalage, D. & Sung, S. PH-gradient real-time aeration control for nitrification community selection in a non-porous hollow fiber membrane biofilm reactor (MBfR) with dilute wastewater. *Chemosphere* **90**, 2320–2325 (2013).
13. He, R., Xia, F. F., Wang, J., Pan, C. L. & Fang, C. R. Characterization of adsorption removal of hydrogen sulfide by waste biocover soil, an alternative landfill cover. *J. Hazard. Mater.* **186**, 773–778 (2011).
14. Liu, Y. *et al.* Simultaneous removal of nitrate and hydrogen sulfide by autotrophic denitrification in nitrate-contaminated water treatment. *Environ. Technol. (United Kingdom)* **40**, 2325–2336 (2019).

15. Mohanakrishnan, J. *et al.* Impact of nitrate addition on biofilm properties and activities in rising main sewers. *Water Res.* **43**, 4225–4237 (2009).
16. Cardoso, R. B. *et al.* Sulfide oxidation under chemolithoautotrophic denitrifying conditions. *Biotechnol. Bioeng.* **95**, 1148–1157 (2006).
17. Hubert, C., Nemati, M., Jenneman, G. & Voordouw, G. Corrosion risk associated with microbial souring control using nitrate or nitrite. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **68**, 272–282 (2005).
18. Vaiopoulou, E., Melidis, P. & Aivasidis, A. Sulfide removal in wastewater from petrochemical industries by autotrophic denitrification. *Water Res.* **39**, 4101–4109 (2005).
19. Knapp, R. O. Y. M. Effect of Nitrate on Biogenic Sulfide Production. *Microbiology* **51**, 1205–1211 (1986).
20. Xia, G. *et al.* Simultaneous removal of carbon disulfide and hydrogen sulfide from viscose fibre waste gas with a biotrickling filter in pilot scale. *J. Clean. Prod.* **230**, 21–28 (2019).
21. Zhang, L. *et al.* Chemical and biological technologies for hydrogen sulfide emission control in sewer systems: A review. *Water Res.* **42**, 1–12 (2008).
22. Devai, I. & Delaune, R. D. Effectiveness of selected chemicals for controlling emission of malodorous sulfur gases in sewage sludge. *Environ. Technol. (United Kingdom)* **23**, 319–329 (2002).
23. Kodama, S., Yamamoto, A., Ohto, M. & Matsunaga, A. Major degradation pathway of thiuram in tap water processed by oxidation with sodium hypochlorite. *J. Agric. Food Chem.* **47**, 2914–2919 (1999).
24. Liu, F. *et al.* Hydrogen peroxide is involved in hydrogen sulfide-induced carbon assimilation and photoprotection in cucumber seedlings. *Environ. Exp. Bot.* **175**, 104052 (2020).
25. Legros, J. & Bolm, C. Highly enantioselective iron-catalyzed sulfide oxidation with aqueous hydrogen peroxide under simple reaction conditions. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **43**, 4225–4228 (2004).
26. Richardson, D. E., Yao, H., Frank, K. M. & Bennett, D. A. Equilibria, kinetics, and mechanism in the bicarbonate activation of hydrogen peroxide: Oxidation of sulfides by peroxymonocarbonate. *J. Am. Chem. Soc.* **122**, 1729–1739 (2000).
27. Wang, Y., Wang, Y. & Liu, Y. Removal of gaseous hydrogen sulfide using ultraviolet/Oxone-induced oxidation scrubbing system. *Chem. Eng. J.* **393**, 124740 (2020).
28. Terry, P. A. Application of ozone and oxygen to reduce chemical oxygen demand and hydrogen sulfide from a recovered paper processing plant. *Int. J. Chem. Eng.* **2010**, (2010).
29. Watanabe, K. Recent Developments in Microbial Fuel Cell Technologies for Sustainable Bioenergy. *J. Biosci. Bioeng.* **106**, 528–536 (2008).
30. Zhao, Y., Watanabe, K. & Hashimoto, K. Self-supporting oxygen reduction electrocatalysts made from a nitrogen-rich network polymer. *J. Am. Chem. Soc.* **134**, 19528–19531 (2012).

31. Zhao, Y., Watanabe, K. & Hashimoto, K. Efficient oxygen reduction by a Fe/Co/C/N nanoporous catalyst in neutral media. *J. Mater. Chem. A* **1**, 1450–1456 (2013).
32. Huang, L. & Logan, B. E. Electricity generation and treatment of paper recycling wastewater using a microbial fuel cell. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **80**, 349–355 (2008).
33. 高妻篤史. 微生物の発電. **71**, 296–301 (2018).
34. Pfeffer, C. *et al.* Filamentous bacteria transport electrons over centimetre distances. *Nature* **491**, 218–221 (2012).
35. Gorby, Y. A. *et al.* Electrically conductive bacterial nanowires produced by *Shewanella oneidensis* strain MR-1 and other microorganisms. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **103**, 11358–11363 (2006).
36. Park, D. H. & Zeikus, J. G. Electricity generation in microbial fuel cells using neutral red as an electronophore. *Appl. Environ. Microbiol.* **66**, 1292–1297 (2000).
37. Myers, C. R. & Nealson, K. H. Bacterial manganese reduction and growth with manganese oxide as the sole electron acceptor. *Sci. Sci.* **240**, 1319–1321 (1988).
38. Suiurvey, U. S. G., Resouirces, W., River, P. & Myers, R. Lovley, Phillips - 1988 - Novel mode of microbial energy metabolism organic carbon oxidation coupled to dissimilatory reduction of iron. **54**, 1472–1480 (1988).
39. Pankratova, G., Hederstedt, L. & Gorton, L. Extracellular electron transfer features of Gram-positive bacteria. *Anal. Chim. Acta* **1076**, 32–47 (2019).
40. Bi, X. & Westerhoff, P. Ferric reducing reactivity assay with theoretical kinetic modeling uncovers electron transfer schemes of metallic-nanoparticle-mediated redox in water solutions. *Environ. Sci. Nano* **6**, 1791–1798 (2019).
41. Shi, L., Squier, T. C., Zachara, J. M. & Fredrickson, J. K. Respiration of metal (hydr)oxides by *Shewanella* and *Geobacter*: A key role for multihaem c-type cytochromes. *Mol. Microbiol.* **65**, 12–20 (2007).
42. Wang, F. *et al.* Synchronously electricity generation and degradation of biogas slurry using microbial fuel cell. *Renew. Energy* **142**, 158–166 (2019).
43. Kumar, S. S. *et al.* Microbial fuel cells (MFCs) for bioelectrochemical treatment of different wastewater streams. *Fuel* **254**, 115526 (2019).
44. Gunasekaran, G., Chongdar, S., Naragoni, S., Rodrigues, P. V. & Bobba, R. Microbial fuel cell constructed with micro-organisms isolated from industry effluent. *Int. J. Hydrogen Energy* **36**, 14914–14922 (2011).
45. Cahoon, L. A. & Freitag, N. E. The electrifying energy of gut microbes. *Nature* **562**, 43–44 (2018).

### 第3章 市販の導電性コンクリートによる硫化水素 の抑制効果の検証及び抑制メカニズムの検討

### 3.1 緒言

今後、日本各地の下水道では耐用年数を迎える管路施設が急速に増加するため、地方公共団体は低いライフサイクルコストを目指しながら、既存管路施設の維持管理や更新計画を策定する必要に迫られている。現在、管路施設の維持管理を行う上で大きな問題となっているのが下水管内で発生する硫化水素に起因する下水管（コンクリート）の腐食である<sup>1-3</sup>。

この硫化水素は嫌気的環境となっている汚泥堆積物の中で硫酸塩還元菌により生成されるが、硫化水素は気相部のコンクリート部分に生息する硫黄酸化菌により硫酸へと酸化され、コンクリート強度の顕著な低下を引き起こす。なお、硫酸濃度は高い場合で 50,000 ppm に達するとの報告もある<sup>4</sup>。このような背景から、管路施設内における硫化水素を抑制する技術が強く求められている。近年では、薬剤を添加することで硫酸塩還元菌の活動を抑制する方法や曝気を行うことで嫌気的環境を改善する方法が提案されている<sup>2,3,5-9</sup>が、継続的な維持管理コストが必要という問題がある。本研究では、無定形炭素を導電性物質として含む市販の導電性コンクリートを用いて、導電性コンクリートによる硫化水素の抑制効果について検証した。さらにその抑制メカニズムとして2つの可能性を想定し、導電性コンクリートが示した硫化水素の抑制効果のメカニズムの検討を試みた結果を記す。

### 3.2 本研究で検証した導電性コンクリートによる硫化水素の抑制メカニズム

本研究では無定形炭素を含む導電性コンクリートを用いることにより硫化水素の抑制を試みたが、導電性コンクリートが硫化水素の抑制に有効と考えた理由は下記の2つのメカニズム(図3-1)が可能性として考えられたからである。

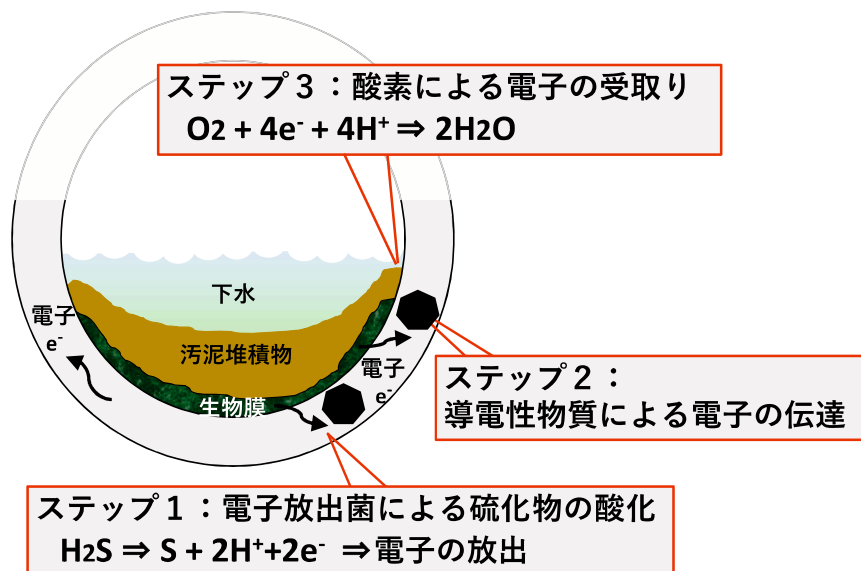


図3-1 本研究で検証した導電性コンクリートによる硫化水素の抑制メカニズム

### 3.2.1 導電性炭素による硫化水素の吸着

活性炭<sup>10-14</sup>やバイオ炭<sup>15,16</sup>などの炭素物質が気相に含まれる硫化水素を吸着・除去する能力を有することは既存の研究により報告されており、そのメカニズムについては多く議論されている。例えば Mochizuki ら<sup>14</sup>は活性炭による硫化水素の除去メカニズムを検討し、マイクロポアの表面積が硫化水素の吸着能力と相関があることを見出した。そしてこれらのサイトへの物理吸着が主な硫化水素の除去メカニズムとしている。また、Yan ら<sup>12</sup>および Shi ら<sup>13</sup>は物理吸着とともに化学吸着も重要なメカニズムであり、内部に存在する孔で進行する物理吸着に比べて活性炭表面で進行する化学的吸着は速いと報告している。これらの文献で報告されている知見は、無定形炭素も硫化水素を物理的あるいは化学的に吸着する能力を有する可能性を示している。つまり、水相に存在する硫化水素および気相に放出された硫化水素を無定形炭素により吸着・除去することにより、硫酸の生成を抑制することができると考えられる。

### 3.2.2 電子放出菌による硫化水素の生物学的酸化

電子放出菌は有機物や硫化水素を酸化した際に生じる電子を体外に放出する能力を有し、近年ではこの電子放出菌を「電流発生菌」として微生物燃料電池に利用する研究が盛んに行われている<sup>17-21</sup>。微生物燃料電池によりエネルギーを得るためには電子放出菌が体外に放出した電子を収集するアノード電極、そしてカソード電極表面で電子を受け取る電子受容体が必要となるが、これらの文献ではアノードとしてグラファイトなどの導電性物質が、そして電子受容体として酸素が多く用いられている。つまり、導電性を有する無定形炭素を含む導電性コンクリートを下水管材として用いれば、電子放出菌が硫化水素を酸化<sup>19,21</sup>する際に発生した電子は導電性コンクリートの中に含まれる無定形炭素に受け渡され、その後は下水管内で伝達されて最終的には水面近傍に存在する酸素に受け取られることで酸化還元反応が成立すると考えられる。つまり、硫化水素を生物学的に酸化することで硫化水素を抑制することができると考えられる。

## 3.3 実験方法

実験は  $24 \pm 1$  °C に温度調節された室内で行い、特に明記しない限り水溶液の調整には蒸留水 (SA-2100A・An 型, 東京理化機械 (株)) を用いた。試薬はキシダ化学 (株)、ナカライテスク (株)、あるいは富士フィルム和光純薬工業 (株) の特級試薬を使用した。

### 3.3.1 使用した導電性コンクリート

本研究で使用した導電性コンクリートは (株) サンコーシャが製造しているサンアース M5C (以後サンアースと略記) である。サンアースは石油精製から生じる無定形炭素を導電性物質として含んでいる。緩やかな流水中にサンアースを放置することで導電性炭素をセメント粒子と分離した結果、100 g のサンアースから得られた無定形炭素は約 50 g であ



り、その大きさは最大で 0.3 mm 程度であった(図 3-3)。そして、マイクロトラック・ベル(株)の BELSORP-mini II を用いて BET 法 (Brunauer-Emmett-Teller 法) により測定した比表面積は 1.9 m<sup>2</sup>/g であった。なお、導電性炭素繊維などを含む導電性コンクリートはサンアース以外にも市販されているが、他の導電性コンクリートより炭素含有量が多いこと、そして導電性が高いことから本研究ではサンアースを選択した。

### 3.3.2 電気抵抗率の測定

導電性コンクリートの電気抵抗率の測定は、ケミカルインピーダンスアナライザ(日置電機(株), IM3590)を用いて既往の研究<sup>22</sup>でも用いられている四電極法により行った。供試体は  $\phi 50 \times 100$  mm 又は  $\phi 100 \times 200$  mm の円柱とし、実際の管路が湿潤状態であることを踏まえて水中養生とした。計測の際の印加電圧は本研究で得られている電圧が 100 mV 程度(3.4 の結果参照)であることから比較的小さめの 1.0 V とし、電源周波数は 50 - 80,000 Hz とした。コンクリートは電解質を多く含むため、電気抵抗率は印加時間により変化する。本研究で報告する電気抵抗率は、一定値に収束するのに長い時間を要するとされる低周波数域においても値が安定することが予備実験により確認された 30 分後の値である。

### 3.3.3 供試体の作製

普通ポルトランドセメントおよびサンアースを用いて作製した供試体および使用方法を図 3-2 に示す。供試体はその形状により板状型供試体とコップ型供試体に分類される。さらに、サンアースのコップ型供試体については実験目的により 2 種類 (コップ型供試体 A およびコップ型供試体 B) を作製したため、作製した供試体の形状は合計で 3 種類である。コップ型供試体 A は容量が約 1.9 L であり内部には補強筋が配置されている。コップ型供試体 B はコップ型供試体 A と容量は同じであるが、上端から 50 mm のところに約 10 mm のエポキシ樹脂の層が挿入されている。板状型供試体は 150×100×50 mm と 100×100×50 mm と供試体を 1 セットとし、3.4.4.2 で記述するようにこれらの供試体を 100  $\Omega$  の外部抵抗を介して接続した状態で実験を行った。

導電性物質として無定形炭素を含んでいるため、サンアースは普通ポルトランドセメントに比べて吸水率が高い。そのため、供試体の形状に関わらず、同等の柔らかさ(ハンドリングのしやすさ)を保つために普通ポルトランドセメントおよびサンアースの水粉体比はそれぞれ 30 % および 40 % とした。そして大気養生後に供試体を脱型し、ミョウバンを主成分としたアク抜き剤による処理を行った。なお、本研究で作製した供試体は骨材を含んでいないため、正しくはモルタルと称するべきであるが、将来的な実用化も含めて便宜的にコンクリートと称する。

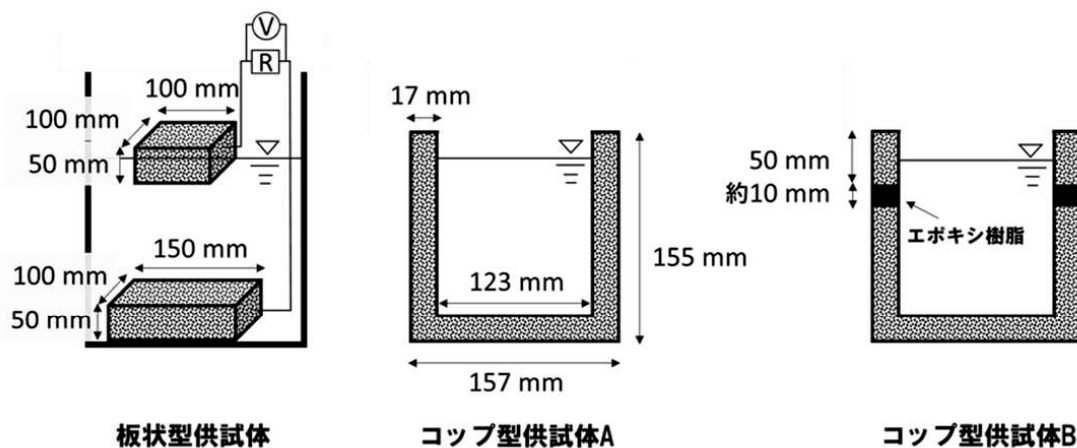


図 3-2 本研究で作製した 3 種類の形状の供試体

### 3.3.4 板状型あるいはコップ型供試体を用いた実験

本実験では宇部市東部浄化センターから採取した余剰汚泥と消化汚泥を体積百分率 1:1 で混合した汚泥(表 3-1)を使用した。混合汚泥を使用した理由は、好気性微生物が大部分を占める余剰汚泥には硫酸塩を還元する能力を有する細菌、すなわち硫酸塩還元菌が多くは存在しないため混合汚泥を用いた。実験で用いた人工排水は、アスコルビン酸を必要最小量添加することで脱塩素処理した水道水を用いて、文献<sup>23</sup>で用いられている組成となるように試薬を混合して調製した(表 3-2)。

#### 3.3.4.1 コップ型供試体 A を用いた硫化水素吸着実験

コップ型供試体 A を用いたこの実験の目的は、導電性コンクリートに含まれる導電性炭素による硫化物の吸着性を評価することである。窒素バブリングにより溶存酸素濃度を 0.1 mgO<sub>2</sub>/L 以下とした 1.4L の蒸留水をコップ型供試体 A に入れ、硫化ナトリウムのストック水溶液を少量添加することにより硫化物濃度をおおよそ 10 mgS/L になるように調整した。そして、必要に応じて塩酸水溶液を添加することにより pH を 7.0±0.1 の範囲に保ちながら、硫化物濃度の経時変化を調べた。なお、硫化水素の酸解離定数 pK<sub>a</sub> が 7.0 であることを踏まえると、実験を行った pH7.0±0.1 では約 50% の硫化水素が揮発性の H<sub>2</sub>S として存在している。そのため、実験期間中はコップ型供試体 A をプラスチックフィルムで多重に覆うことにより、水面上のヘッドスペースを無くすと同時に酸素の供給を遮断することで水面からの硫化水素の揮発および硫化水素の酸化を抑制した。つまり、水相中の硫化物濃度が減少する要因がコンクリートへの吸着のみとなる条件で実験を行った。

#### 3.3.4.2 板状型供試体を用いた電圧測定実験

板状型供試体を用いたこの実験の目的は、3.2.2 に記述した電子放出菌による生物学的な硫化水素の酸化に必要となる酸素への電子の伝達経路が導電性コンクリートにより提供さ

れた電子伝達経路の形成の通電の確認を行うことである。図 3-2 に示すように、ポリプロピレン製のコンテナの底部に非導電性の普通ポルトランドセメントあるいはサンアースで作製した供試体を置き、混合汚泥#1(表 3-1)を 0.8 L 入れることでアノードを完全に汚泥で覆った。その後、人工排水を 3.2 L 入れ、さらに深さとして約 3 cm が人工排水に浸かり約 2 cm が空気と接触するようにカソードを設置した。そして、アノードとカソードを 100 Ω の外部抵抗を介して接続し、閉回路の抵抗区間の電圧をデータロガー（グラフテック（株）,midi LOGGER GL240）で測定した。

#### 3.3.4.3 コップ型供試体 A を用いた硫化水素抑制実験

コップ型供試体 A を用いたこの実験の目的は、サンアースを用いることにより硫化水素が抑制できることを実証することである。コップ型供試体 A に 0.14 L の混合汚泥#2(と表 3-1)1.12 L の人工排水を混合した後に静置した状態で実験を開始し、水面から約 5 cm の水相の pH, 硫酸イオン, そして硫化物の濃度を定期的に測定した。なお、3.3.4.1 に記述した実験では供試体をプラスチックフィルムで覆ったが、この実験はプラスチックフィルムによる覆いは行わなかった。この理由は実験目的の違いにある。3.2.1 と 3.2.2 に記述した 2 つの硫化水素の抑制メカニズムの中から硫化水素の供試体への吸着(3.3.4.1)のみを評価することを目的としたのに対して、この実験では吸着のみならず生物学的な硫化水素の酸化を含めた 2 つのメカニズムの全てが発現可能な条件で硫化水素の抑制を実証することを目的としている。つまり、硫化水素が酸化された際に生じる電子の最終受容体である酸素の供給を遮断しないために大気開放系で行った。水中に含まれる硫酸イオンは、0.45 μm のメンブレンフィルターでろ過した後に USEPA 法 375.4 に準拠した硫酸バリウム比濁法により測定し、硫化物は USEPA 法 376.2 に準拠したメチレンブルー法により定量した。また、硫酸イオンが硫酸塩還元菌により硫化水素へと還元されてほぼ 0 mgS/L となったことを確認した後に、グルコース (2000 mg/L) および硫酸マグネシウム (33 mgS/L) を添加した。そして、66 日間の実験が終了した後に供試体の底部に堆積した汚泥堆積物を表面から数 mm 掻き取り、窒素雰囲気下で乾燥させ、汚泥堆積物に含まれる硫黄の濃度を K-Alpha™ XPS システム (Thermo Fisher Scientific 社) を用いた X 線光電子分光 (XPS) 分析により定量し、さらに 2p 3/2 準位のエネルギーシフトから硫黄の酸化数に関する知見を得た。

#### 3.3.4.4 コップ型供試体 A,B を用いた硫化水素抑制実験

コップ型供試体 A および B を用いたこの実験の目的は、硫化水素の抑制に生物学的な酸化反応が寄与しているか否かを検証することである。コップ型供試体 A を用いた予備実験で水深ごとの溶存酸素濃度を溶存酸素計 (OM-71-2, (株) 堀場製作所) で測定した結果、溶存酸素は表層 1 cm 程度のみが存在し、それ以下の水深ではほぼ 0 mgO<sub>2</sub>/L であることが分かった。つまり、前項の実験において、本研究が想定している導電性コンクリートにより提供された電子伝達経路の形成により硫化水素が生物学的に酸化(3.2.2) されているので

あれば、水面から約 5 cm 下に非導電性のエポキシ樹脂が挿入されているコップ型供試体 B を用いた場合にはエポキシ樹脂により電子の伝達が遮断されるために溶存酸素が含まれる表層近くまで電子が伝達されず、その結果、電子受容体が存在しないために硫化水素の酸化反応が進行しないはずである。また、3.2.1 に記述した導電性炭素による吸着が主な硫化水素の抑制メカニズムであればエポキシ樹脂の挿入に関わらずその効果は失われなければならないはずである。実験は混合汚泥#3(表 3-1)を用いて、そして他の条件はコップ型供試体 A を用いた上述の実験と同じとして 18 日間行った。

表 3-1 本研究で使用した汚泥の SS および VSS の濃度

混合汚泥#	余剰汚泥 (mg/L)		消化汚泥 (mg/L)	
	SS	VSS	SS	VSS
#1	1,560	1,200	10,200	8,600
#2	2,980	2,300	31,800	14,200
#3	5,700	4,700	11,800	8,600

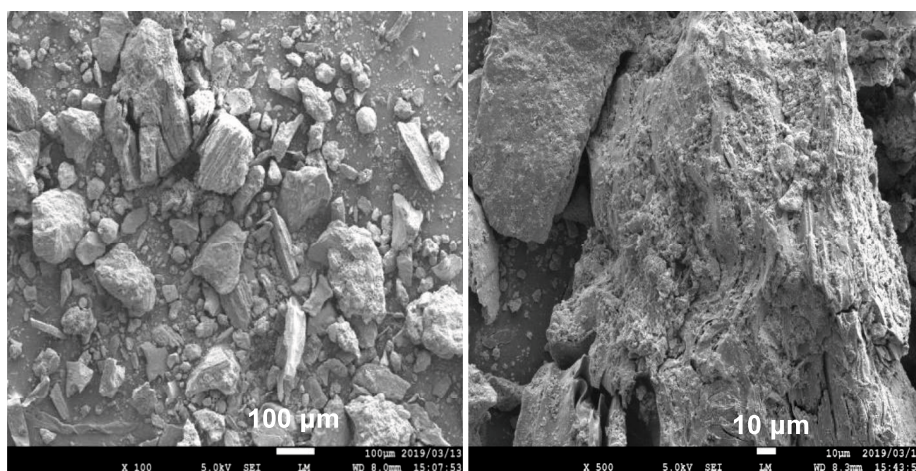


図 3-3 サンアースに含まれる導電性物質(無定形炭素)の走査型電子顕微鏡画像(SEM)

表 3-2 本研究で用いた人工排水の組成 (1L あたり) <sup>23</sup>

NaHCO <sub>3</sub>	2 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	2 g
Yeast extract	0.02 g
Glucose	2 g
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.7 g
KCl	0.75 g
NH <sub>4</sub> Cl	0.85 g
FeCl <sub>3</sub> · 6H <sub>2</sub> O	0.42 g
MgCl <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O	0.81 g
MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	0.25 g
CoCl <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O	0.018 g
CaCl <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O	0.15 g

### 3.4 実験結果および考察

#### 3.4.1 電気抵抗率の測定

普通ポルトランドセメントとサンアースの電気抵抗率を測定した結果を図 3-4 に示す。普通ポルトランドセメントおよびサンアースの両方に共通して電源周波数の上昇に伴い電気抵抗率が低下する傾向が得られた。しかし、どの電源周波数においても、サンアースの電気抵抗率は普通ポルトランドセメントのそれより著しく低く、3-28 倍の違いがあった。これらの結果から、サンアースを用いて作製した供試体は電子の流れに対する抵抗が小さく、硫化水素の酸化により供給された電子がアノードからカソードまで容易に移動できることが示唆された。

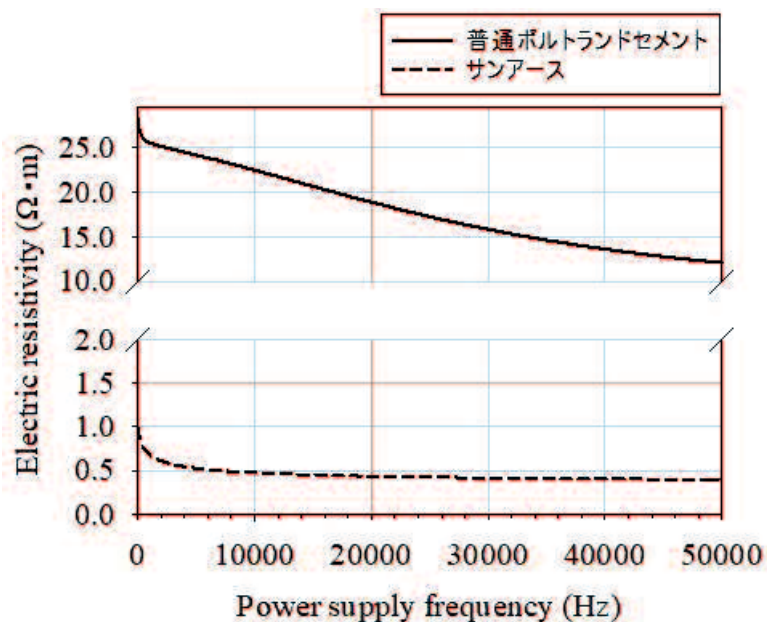


図 3-4 普通ポルトランドセメントおよびサンアースの電気抵抗率と電源周波数の関係

#### 3.4.2 コップ型供試体 A を用いた硫化水素吸着実験

普通ポルトランドセメントおよびサンアースで作製したコップ型供試体 A を用いて硫化物の吸着を評価した結果を図 3-5 に示す。普通ポルトランドセメントの場合もサンアースの場合も硫化ナトリウムを添加した 3 日後には濃度が 1/10 以下になっており、硫化物はコンクリートに吸着されることが分かる。また、普通ポルトランドセメントとサンアースを比較すると、サンアースの方が硫化水素の減少速度が速かった。この結果は、サンアースに約 50 wt.%含まれている無定形炭素への吸着により硫化物が水中から除去されており、3.2.1 に記述した無定形炭素による硫化水素の吸着が実際に進行していることを示している。

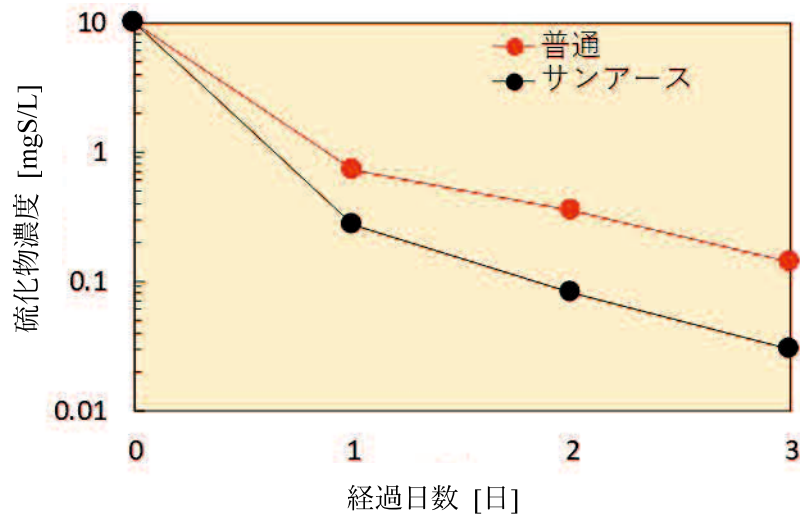


図 3-5 コップ型供試体 A を用いた硫化物の吸着実験の結果

### 3.4.3 板状型供試体を用いた電圧測定実験

板状型供試体を用いた実験で得られた電圧の経時変化を図 3-6 に示す。また、これらの図中の矢印はグルコース（2000 mg/L）および硫酸ナトリウム（33 mgS/L）を添加したことを意味する。普通ポルトランドセメントでは実験期間中ほぼ 0 mV の電圧値を示したのに対して、サンアースでは最大で 100 mV 近い電圧が得られたことが分かる。これは、導電性炭素を含むことによりサンアースの電気抵抗率が普通ポルトランドセメントより著しく低下して電子が流れやすくなること、そして導電性物質によりアノードおよびカソード表面にて電子の受け渡しが可能となったことが要因と考えられる。図 3-6 に示した結果は、図 3-4 に示したように電気抵抗率が低い（導電性が高い）サンアースを用いることにより、本研究が期待している嫌気的条件下にある容器底部から水面近くに存在する溶存酸素への電子の伝達が実際に進行することを示す結果である。

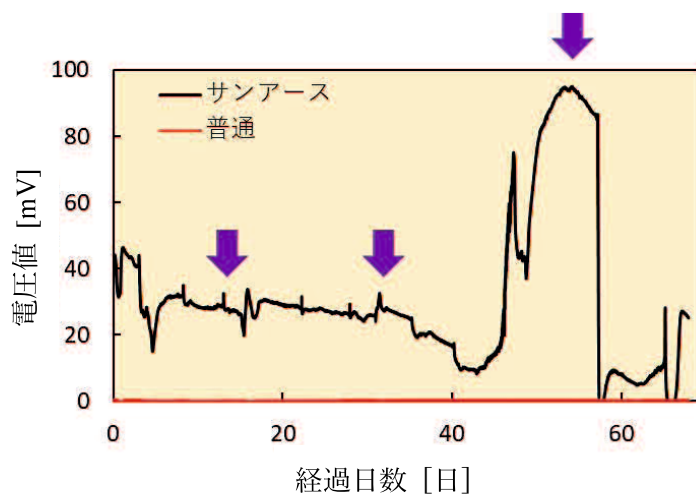


図 3-6 板状型供試体を用いた電圧測定結果

#### 3.4.4 コップ型供試体 A を用いた硫化水素抑制実験

図 3-7～図 3-9 にコップ型供試体 A を用いた硫化水素抑制実験の結果を示す。なお、図 3-6 と同様に、図中の矢印はグルコース (2000 mg/L) および硫酸マグネシウム (33 mgS/L) の添加を示す。まず pH の経時変化に着目すると、有機酸が生成するためにグルコースを添加した直後に pH が 5.5 程度にまで低下しているが、その後の数日間で pH8-9 にまで上昇したことが分かる。この pH の上昇は、有機酸の揮発および分解が要因と考えられる。次に水中の硫酸イオンの濃度に着目すると、硫酸マグネシウムを添加したいずれの場合も数日以内に硫酸イオンの濃度はほぼ 0 mgS/L となっており、最大濃度では普通ポルトランドセメントがサンアースより若干高い傾向があるものの、大きくは異なる挙動を示した。そして最後に水中の硫化物濃度に着目すると、サンアースを用いることにより硫化物濃度は大きく低下した。具体的には、普通ポルトランドセメントを使用した際には最大 10 mgS/L 近くまで上昇した硫化物濃度がサンアースでは 4 mgS/L 程度にまで抑制された。また、この硫化水素の抑制効果は実験を行った 66 日の間保たれており、硫化水素の抑制効果が長期間安定して持続することが確認できた。そこで、サンアースによる硫化水素の抑制メカニズムに関する知見を得るために、実験終了後にコップ型供試体の底部から汚泥堆積物を掻き取り、XPS により硫黄含有量を測定すると同時にエネルギーシフトから硫黄の酸化数に関する情報を得た。XPS スペクトルの例および分析結果から算出した S/N(硫黄と窒素)の比を図 3-10 に示す。図 3-10(b)の Y 軸の S/N 比については、生物膜中のタンパク系の窒素成分と蓄積された硫黄成分の比を示し、どの程度の硫黄が生物膜中へ蓄積されているかを示す指標である。まず、普通ポルトランドセメントから採取した汚泥堆積物からは硫黄はほぼ検出されず、測定した 3 サンプルのいずれも定量限界 ( $\sim 0.4$  atom.%) 以下であった。その一方で、サンアースから採取した汚泥堆積物からは、S/N の比として 0.072 - 0.17 となる高濃度の硫黄が検出され、さらにエネルギーシフトから汚泥堆積物に含まれる硫黄は元素硫黄 ( $S^0$ ) あるいは硫化物イオン ( $S^{2-}$ ) であることが分かった。 $S^0$  と  $S^{2-}$  はエネルギーシフト差が小さくこれらの 2 つの酸化数が異なる硫黄を定量的に分別することは困難であるが、汚泥中に  $S^{2-}$  が高濃度に蓄積したとは考えにくい。つまり、図 3-10 に示した結果は、汚泥の中で硫化水素が元素硫黄に酸化された後に蓄積されていると解釈することができる。



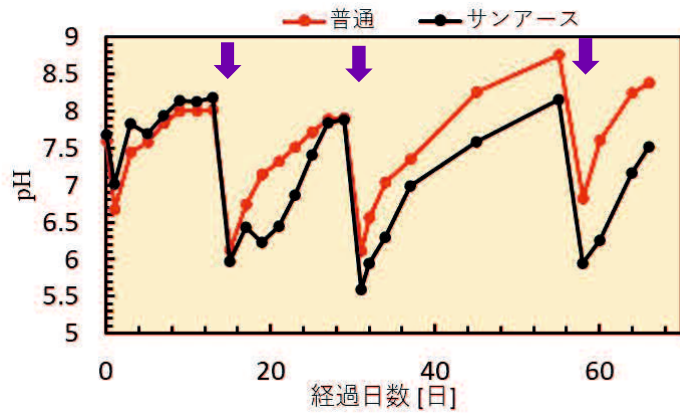


図 3-7 pH の経日変化

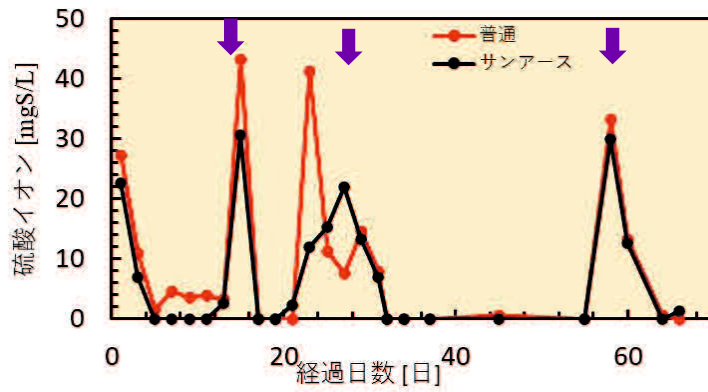


図 3-8 硫酸イオン濃度の経日変化

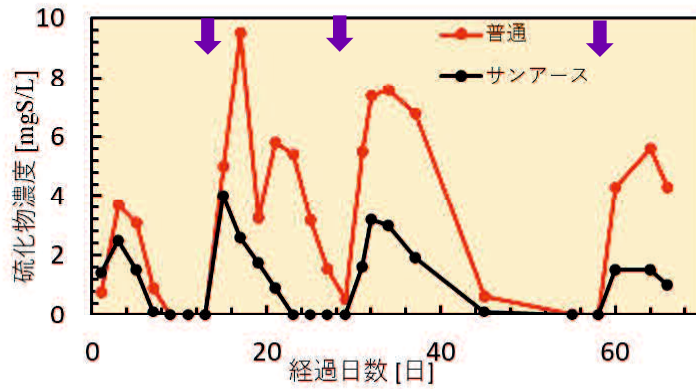


図 3-9 硫化物濃度の経日変化

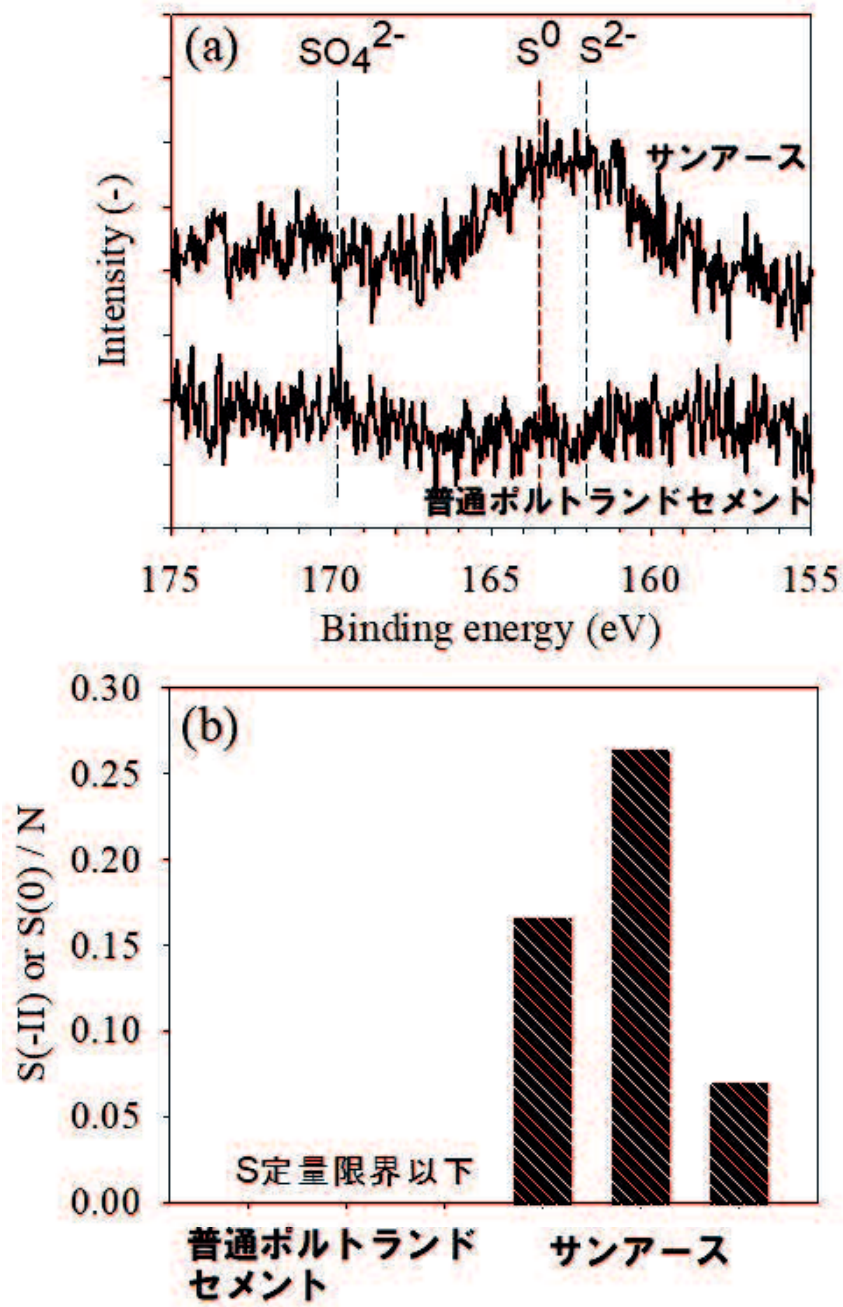


図 3-10 (a)通電終了後の堆積汚泥に含まれる硫黄の  $2p_{3/2}$  スペクトル, (b) S/N の比

### 3.4.5 コップ型供試体 A,B を用いた硫化水素抑制実験

図 3-11,3-12,3-13 にコップ型供試体 A および B を用いた硫化水素抑制実験の結果を示す。なお、図 3-6 および図 3-7~図 3-9 と同様に、図中の矢印は図中の矢印はグルコース (2000 mg/L) および硫酸マグネシウム (33 mgS/L) の添加を示す。実験開始時に約 40 mgS/L あった硫酸イオンが硫酸塩還元菌により還元されてほぼ 0 mgS/L になるのに要した期間は約 9 日間であり、この期間は 10 日目に添加した硫酸イオンがほぼ 0 mgS/L になるのに要する期間 (約 4 日) より長かった。これは、実験初期の 9 日間は pH が比較的高く、中性領域を好む硫酸塩還元菌の活動が抑制された結果と考えられる。そして硫化物濃度については、エポキシ樹脂が挿入されていないコップ型供試体 A (サンアース) では硫化水素の抑制効果が得られた一方で、エポキシ樹脂が挿入されたコップ型供試体 B (サンアース) では硫化水素の抑制効果が得られずに普通ポルトランドセメントと同程度の硫化物濃度を示した。つまり、エポキシ樹脂層を挿入することによりサンアースの硫化水素の抑制効果が失われた。

これらの結果を踏まえて、本研究では 3.2.1,3.2.2 に記述した 2 つの可能性を初期指針として、市販の導電性コンクリートであるサンアースを用いて硫化水素の抑制効果を実証するための実験、およびそのメカニズムを検討するための実験を行った。そして、図 3-9 および図 3-13 に示したように、導電性コンクリートを用いることにより硫化水素を抑制できることが実証できた。そこでここでは、上述した種々の実験結果を踏まえて、導電性コンクリートによる硫化水素の抑制メカニズムについて考察する。

まず、3.2.1 に記述した導電性炭素による硫化水素の吸着についてであるが、図 3-5 に示したようにサンアースは普通ポルトランドセメントより高い硫化水素の吸着能を示した。つまり、無定形炭素による硫化水素の吸着は多かれ少なかれ硫化水素の抑制に寄与していると言える。しかし、コップ型供試体 B に挿入したエポキシ樹脂層の厚さは 10 mm 程度であり、エポキシ樹脂を挿入しても硫化水素の吸着剤として機能するサンアースの体積減少は無視できる程度であることを踏まえると、エポキシ樹脂層の挿入により硫化水素の抑制効果が失われたことを示す図 3-13 は導電性炭素による吸着は主な硫化水素の抑制メカニズムではないことを意味している。さらに、非導電性のエポキシ樹脂が挿入されているコップ型供試体 B ではエポキシ樹脂により電子の伝達が遮断されて溶存酸素が含まれる表層近くまで電子が伝達されないこと、そしてそのコップ型供試体 B では硫化水素の抑制効果が失われたことを踏まえると、エポキシ樹脂が挿入されていないコップ型供試体 A で得られた硫化水素の主な抑制メカニズムは生物学的(3.2.2)な硫化水素の酸化と判断することができる。

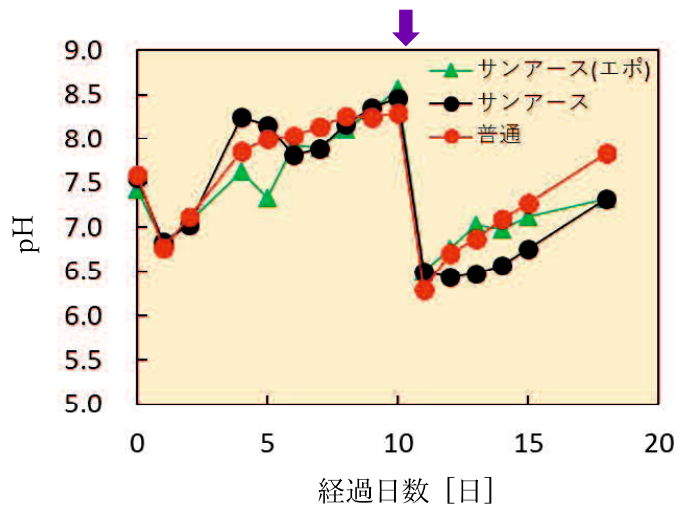


図 3-11 pH の経日変化

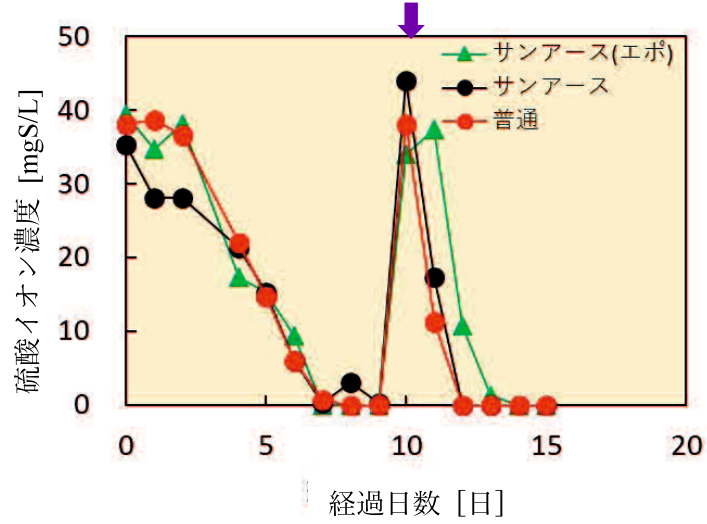


図 3-12 硫酸イオン濃度の経日変化

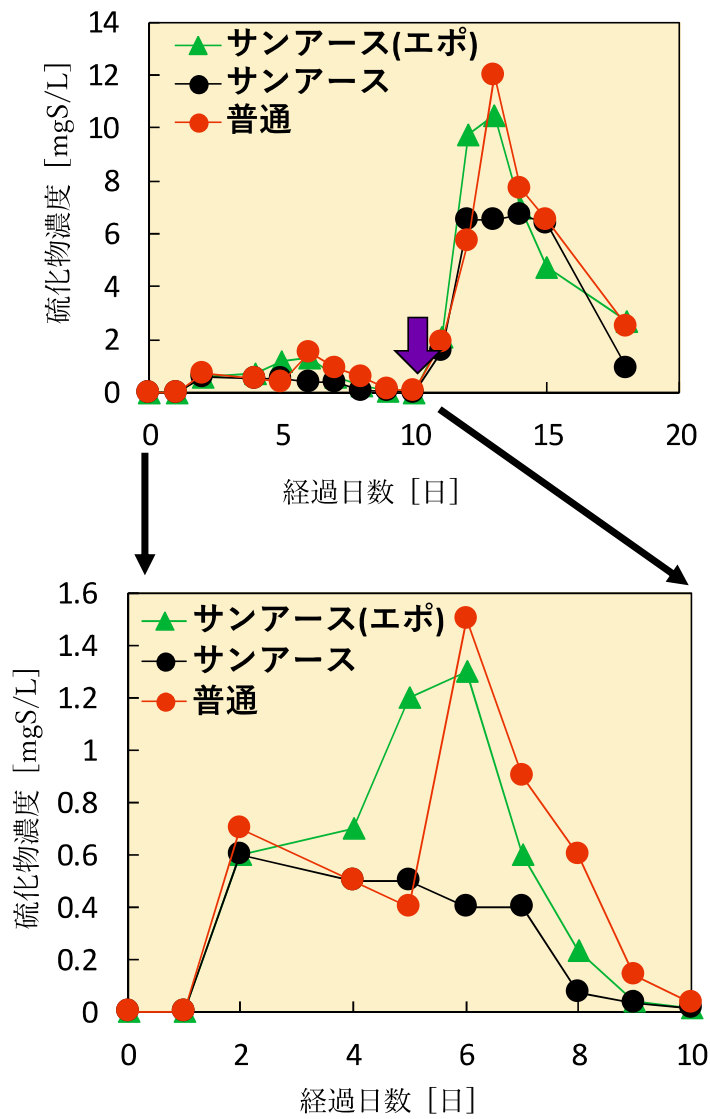


図 3-13 硫化物濃度の経日変化 (10 日)

## 参考文献

1. Firer, D., Friedler, E. & Lahav, O. Control of sulfide in sewer systems by dosage of iron salts: Comparison between theoretical and experimental results, and practical implications. *Sci. Total Environ.* **392**, 145–156 (2008).
2. Zhang, L. *et al.* Chemical and biological technologies for hydrogen sulfide emission control in sewer systems: A review. *Water Res.* **42**, 1–12 (2008).
3. Ganigue, R., Gutierrez, O., Rootsey, R. & Yuan, Z. Chemical dosing for sulfide control in Australia: An industry survey. *Water Res.* **45**, 6564–6574 (2011).
4. Plaza, C., Xu, Q., Townsend, T., Bitton, G. & Booth, M. Evaluation of alternative landfill cover soils for attenuating hydrogen sulfide from construction and demolition (C&D) debris landfills. *J. Environ. Manage.* **84**, 314–322 (2007).
5. Farghali, M. *et al.* Prospects for biogas production and H<sub>2</sub>S control from the anaerobic digestion of cattle manure: The influence of microscale waste iron powder and iron oxide nanoparticles. *Waste Manag.* **101**, 141–149 (2020).
6. Liu, Y. *et al.* Simultaneous removal of nitrate and hydrogen sulfide by autotrophic denitrification in nitrate-contaminated water treatment. *Environ. Technol. (United Kingdom)* **40**, 2325–2336 (2019).
7. Xia, G. *et al.* Simultaneous removal of carbon disulfide and hydrogen sulfide from viscose fibre waste gas with a biotrickling filter in pilot scale. *J. Clean. Prod.* **230**, 21–28 (2019).
8. Charnnok, B., Suksaroj, T., Boonswang, P. & Chaiprapat, S. Oxidation of hydrogen sulfide in biogas using dissolved oxygen in the extreme acidic biofiltration operation. *Bioresour. Technol.* **131**, 492–499 (2013).
9. Jung, D. *et al.* Emission of hydrogen sulfide (H<sub>2</sub>S) at a waterfall in a sewer: Study of main factors affecting H<sub>2</sub>S emission and modeling approaches. *Water Sci. Technol.* **76**, 2753–2763 (2017).
10. Katoh, H., Kuniyoshi, I., Hirai, M. & Shoda, M. Studies of the oxidation mechanism of sulphur-containing gases on wet activated carbon fibre. *Appl. Catal. B, Environ.* **6**, 255–262 (1995).
11. Bandosz, T. J. On the adsorption/oxidation of hydrogen sulfide on activated carbons at ambient temperatures. *J. Colloid Interface Sci.* **246**, 1–20 (2002).
12. Yan, R., Liang, D. T., Tsen, L. & Tay, J. H. Kinetics and mechanisms of H<sub>2</sub>S adsorption by alkaline activated carbon. *Environ. Sci. Technol.* **36**, 4460–4466 (2002).
13. Shi, L., Yang, K., Zhao, Q., Wang, H. & Cui, Q. Characterization and Mechanisms of H<sub>2</sub>S and SO<sub>2</sub> Adsorption by Activated Carbon. *Energy and Fuels* **29**, 6678–6685 (2015).
14. Mochizuki, T., Kubota, M., Matsuda, H. & D'Elia Camacho, L. F. Adsorption behaviors of ammonia and hydrogen sulfide on activated carbon prepared from petroleum coke by KOH chemical activation. *Fuel Process. Technol.* **144**, 164–169 (2016).
15. Shang, G., Shen, G., Liu, L., Chen, Q. & Xu, Z. Kinetics and mechanisms of hydrogen sulfide

- adsorption by biochars. *Bioresour. Technol.* **133**, 495–499 (2013).
16. Kanjanarong, J. *et al.* Removal of hydrogen sulfide generated during anaerobic treatment of sulfate-laden wastewater using biochar: Evaluation of efficiency and mechanisms. *Bioresour. Technol.* **234**, 115–121 (2017).
  17. Gorby, Y. A. *et al.* Electrically conductive bacterial nanowires produced by *Shewanella oneidensis* strain MR-1 and other microorganisms. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **103**, 11358–11363 (2006).
  18. Pfeiffer, C. *et al.* Filamentous bacteria transport electrons over centimetre distances. *Nature* **491**, 218–221 (2012).
  19. Rabaey, K. *et al.* Microbial fuel cells for sulfide removal. *Environ. Sci. Technol.* **40**, 5218–5224 (2006).
  20. González, T., Ureta-Zañartu, M. S., Marco, J. F. & Vidal, G. Effect of Zeolite-Fe on graphite anode in electroactive biofilm development for application in microbial fuel cells. *Appl. Surf. Sci.* **467–468**, 851–859 (2019).
  21. Liu, S. H., Lai, Y. C. & Lin, C. W. Enhancement of power generation by microbial fuel cells in treating toluene-contaminated groundwater: Developments of composite anodes with various compositions. *Appl. Energy* **233–234**, 922–929 (2019).
  22. Dilushani, P. D. R., Nawodani, W. R. N. & Bambaravanage, T. Soil Resistivity Analysis and Earth Electrode Resistance Determination. **15**, 26–35 (2020).
  23. Zhou, W., Imai, T., Ukita, M., Sekine, M. & Higuchi, T. Triggering forces for anaerobic granulation in UASB reactors. *Process Biochem.* **41**, 36–43 (2006).

## 第4章 下水管内における硫化水素の生物学的酸化 を促進する高導電性コンクリートの開発



#### 4.1 緒言

嫌気的環境となっている汚泥堆積層の中で硫酸塩還元菌により生成される硫化水素は、下水管の腐食、短寿命化、そして道路陥没の原因となっている<sup>1-5</sup>。そのため、薬剤添加や曝気により硫酸塩還元菌の活動を抑える方法<sup>6,7</sup>が提案されているが、継続的な維持管理コストが必要という問題がある。また、近年では、硫酸に高い耐性を示すコンクリートの開発<sup>8-10</sup>やエポキシ樹脂のライニング<sup>11</sup>などの下水管の耐硫酸性を高めるアプローチも検討されているが、普通ポルトランドセメントに比べて製造コストが高いなどのデメリットが存在するために普及には至っていないのが現状である。既存研究<sup>12</sup>にて、無定形炭素を導電性物質とした市販の導電性コンクリートを用いた実験を行い、導電性コンクリートにより水中の硫化物(硫化物イオン $S^{2-}$ 、硫化水素イオン $HS^-$ 、硫化水素 $H_2S$ )を低減できることを示した。しかし、その詳細なメカニズムの解明には至らず、その結果、より高い効果を示す導電性コンクリートの開発には至っていない。そこで、本研究では1)市販の導電性コンクリートが硫化水素を低減するメカニズムについて理解を深めること、そして2)先の1)で得られた知見を踏まえてより高い効果を示す新規導電性コンクリートを開発することを目的として行った実験の結果を記す(図4-1)。

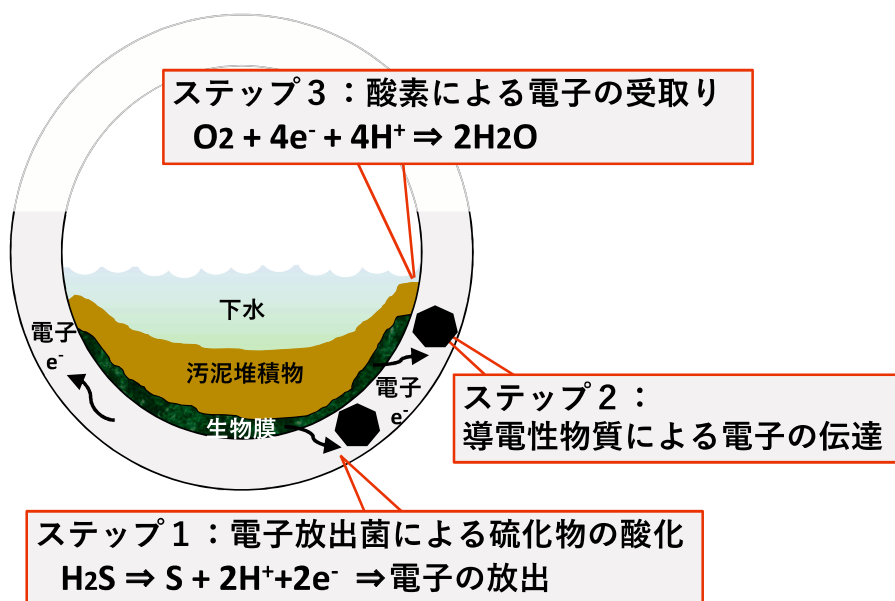


図4-1 電子放出菌による硫化水素の酸化メカニズム

#### 4.1.2 電子放出菌による硫化水素の酸化

導電性コンクリートが水中の硫化物を低減するメカニズムは、導電性物質による吸着や生物学的な酸化などが可能性として挙げられる。しかし、既存研究<sup>12</sup>にて電子伝達経路を遮断した実験では硫化水素の低減効果が得られなかったことから、導電性コンクリートが硫化水素を低減する主なメカニズムは導電性コンクリートを電子伝達経路として用いた生物学的な酸化と考えられる。そこで本研究では、図4-1に示す「電子放出菌による硫化水素の酸化」を想定して実験を行った。電子放出菌とは有機物や硫化水素を酸化した際に生じる電子を体外に放出する能力を有する菌であり、下水汚泥の中にもその存在が報告されている<sup>13-18</sup>。つまり、導電性物質を含む導電性コンクリートを下水管材として用いれば、嫌気的環境下であっても電子放出菌が硫化水素を酸化<sup>19,20</sup>した際に発生した電子は導電性コンクリートの中に含まれる導電性物質に受け渡され、下水管内を伝達し、最終的には水面近傍に存在する酸素に受け渡されるユニークな電子伝達経路を下水管内に構築でき、水中の硫化水素を低減することができると考えられる。

## 4.2 実験方法

実験は室温(24 ± 1 °C)で行い、特に明記しない限り水溶液の調整には蒸留水(SA-2100A・An型, 東京理化学工業(株))を用いた。試薬はキシダ化学(株)、ナカライテスク(株)、あるいは富士フィルム和光純薬工業(株)の特級試薬を使用した。

### 4.2.1 使用した市販及び新規導電性コンクリート

本研究で使用した市販の導電性コンクリートは、既存研究<sup>12</sup>で水中の硫化水素を低減できることが明らかになっている(株)サンコーシャが製造するサンアース M5C(以後サンアースと略記)である。サンアースは石油精製から生じる無定形炭素(大きさは最大で0.3 mm程度で比表面積が1.9 m<sup>2</sup>/g: 図4-2(a))を導電性物質として含んでおり、その配合量は約50 wt.%である。本研究では、サンアースよりも高い硫化水素低減効果を示す新規導電性コンクリートの開発を目指して、炭素系と鉄系の2種類の導電性物質を選定した(図4-2(b),(c))。一つ目は(株)デンカが製造するアセチレンブラック(商品名: デンカブラック)であり、比表面積は49.6 m<sup>2</sup>/gである。二つ目は森下弁柄工業(株)が製造するマグネタイト(商品名: MTB-30)であり、比表面積は13.3 m<sup>2</sup>/gである。粉体全体(新規導電性コンクリートの場合は普通ポルトランドセメントと導電性物質)における導電性物質の配合量はハンドリングの容易さを考慮して、アセチレンブラックの場合は5 wt.%あるいは10 wt.%、そしてマグネタイトの場合は25 wt.%あるいは50 wt.%とした。また、ハンドリングの容易さを同等に保つために、水粉体比は導電性物質の種類および配合量によって変え、普通ポルトランドセメントは36%、サンアースは42%、アセチレンブラック(5 wt.%)は50%、アセチレンブラック(10 wt.%)は62%、マグネタイト(25 wt.%)は38%、そしてマグネタイト(50 wt.%)は40%とした。その後、大気養生後にミョウバンを主成分としたアク抜

き剤による処理を行った。

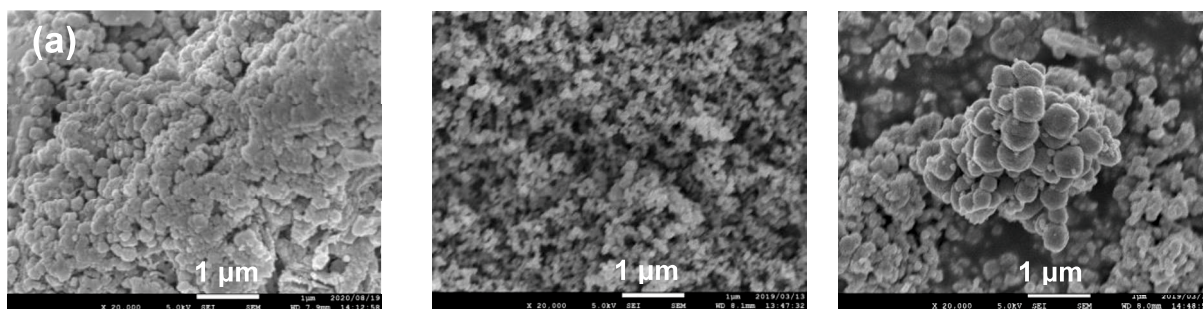


図 4-2 本研究で用いた導電性物質の捜査電子顕微鏡画像  
(a) サンアース (b) アセチレンブラック (c) マグネタイト

#### 4.2.2 電気抵抗率の測定

上記の新たに選定した導電性物質を配合した新規導電性コンクリートの導電性は、文献<sup>21</sup>でも幅広く用いられている四電極法により測定した電気抵抗率を指標として評価を行った。

供試体は実際の管路が湿潤状態であることを踏まえて 24 日間水中養生したものを使用し、測定に用いたケミカルインピーダンスアナライザ (IM3590, 日置電機 (株)) の印加電圧は 0.3 V, 電源周波数は 50 Hz とした。本研究で使用した電気抵抗率は、値が安定した 5 分後の値である。

#### 4.2.3 導電性物質への硫化水素の吸着性評価

この実験の目的は、本研究で新たに開発する導電性コンクリートが示す硫化水素の低減効果に、導電性物質による硫化水素の吸着が大きくは寄与していないことを確認することである。窒素バブリングにより溶存酸素濃度を 0.1 mgO<sub>2</sub>/L 以下にした蒸留水を 100 mL 入れたバイアル瓶をそれぞれの導電性物質につき 3 本用意し、Na<sub>2</sub>S・9H<sub>2</sub>O を 20.5 mgS/L となるように添加した。この硫化物の初期濃度は、後に記述するコップ型供試体を用いた実験 (4.3.6) で得られた硫化物の濃度範囲 (図 4-21) に合わせて設定した。そして、HCl により pH を 7.0 ± 0.1 に調整した後にサンアースに含まれる無定形炭素、アセチレンブラック、マグネタイトをそれぞれ 50 mg, 10 mg, 50 mg 入れ、速やかにブチルゴム栓で密閉して振とうした状態で吸着実験を開始した。所定時間が経過した後でサンプリングを行い、水中の硫化物濃度の経時変化を測定した。なお、予備実験により、サンプリングの際の酸素の混入およびそれに伴う硫化水素の酸化は無視できることを確認している。

#### 4.2.4 コップ型供試体の作製

普通ポルトランドセメント，サンアース，そして新規導電性コンクリートを用いて作製したコップ型供試体の形状を図 4-3 に示す．このコップ型供試体は既存研究<sup>12</sup>でサンアースの硫化水素低減効果を評価する際に用いた供試体と同様であり，容量は 1.9 L である．なお，本研究で作製した供試体は骨材を含んでいないため，正しくはセメントペーストと称すべきであるが，将来的な実用化を含めて便宜的にコンクリートと称する．

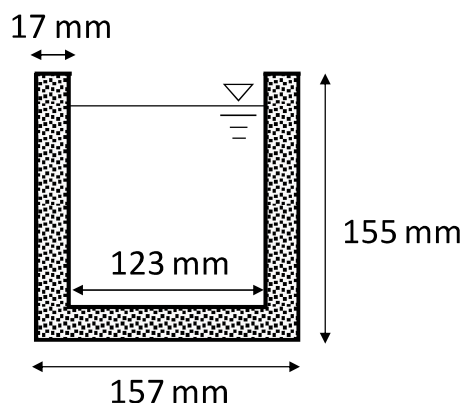


図 4-3 本研究で作製したコップ型供試体の形状

#### 4.2.5 電子放出菌の植菌が硫化水素の低減に与える影響

##### 4.2.5.1 下水汚泥からの電子放出菌の分離培養及び同定

宇部市東部浄化センターより採取した余剰汚泥と消化汚泥を，30°Cの還元雰囲気下で Miller の LB (Luria-Bertani) 培地を用いて分離培養した．そして，極東製薬工業 (株) の MORA-EXTRACT キットを用いた DNA の抽出と 16SrRNA 約 200 bp 増幅用の GC-341f と 518r をプライマーとした Touch Down 法による PCR 操作を経て，DNA シーケンサー Ion S5 (Thermo Fisher (株)) および Windows 用フリーソフトウェア BioEdit (SD バイオシステム (株)) を用いた細菌種の解析を行った．その結果，99.7%以上の相同性で余剰汚泥からは *Morganella morganii* と *Proteus alimentorum* の 2 種を，消化汚泥からは *Proteus mirabilis* と *Shigella sonnei* の 2 種を同定した．なお，これらは代表的な腸内細菌であり，*Proteus alimentorum* 以外の細菌については電子放出菌であることが微生物燃料電池に関する文献<sup>13,14,22-24</sup>に示唆されている．また，*Proteus alimentorum* については，本研究で同定した *Proteus mirabilis* を含め，同じ *Proteus* 属に分類される細菌が電子放出菌であることが文献<sup>14,23-26</sup>に示唆されている．

##### 4.2.5.2 導電性コンクリートへの植菌による硫化水素の低減効果の評価

普通ポルトランドセメントおよびサンアースの供試体をそれぞれ二つ作製し，一つの供試体には宇部市東部浄化センターから採取した消化汚泥 (SS 濃度 17,160 mg/L, VSS 濃度 12,800 mg/L) と人工排水<sup>27</sup>(表 4-5 にその組成を示す)をそれぞれ 0.14 L と 1.12 L 混合し

た。また、もう一つの供試体には上述の消化汚泥と人工排水に加え 4.2.5.1 で分離培養及び同定した 4 種類の電子放出菌をそれぞれがおおよそ  $10^8$  CFU/mL となるように添加して、混合した後に静置した状態で実験を開始した。その後、水相の pH, 硫酸イオン, そして硫化物の濃度をモニタリングした。水中に含まれる硫酸イオンは、 $0.45 \mu\text{m}$  のメンブレンフィルターでろ過したのちに USEPA 法 375.4 に準拠した硫酸バリウム比濁法により測定し、硫化物は USEPA 法 376.2 に準拠したメチレンブルー法により定量した。また、5, 10, 15 日に硫酸マグネシウムとグルコースを添加した。

#### 4.2.6 硫化水素の低減に関与する電子放出菌の集積

##### 4.2.6.1 棒状導電性コンクリートを用いた水槽実験

本実験の目的は、導電性コンクリートにより電子伝達経路を提供することで進行する硫化物の生物学的酸化の根拠となる分子生物学的データを取得することである。そのため、水槽の底に設置したアノード電極と半分が水に浸るように設置したカソード電極と  $100\Omega$  の外部抵抗を介して銅線で接続することで電子伝達経路を提供した系(図 4-7)と、それらを接続しない系の 2 セットを用意した。なお、本研究が対象とする生物学的酸化の効果のみを評価するために、棒状導電性コンクリート電極(アノード)の表面積を下水流量に対して先行研究<sup>12</sup>の  $1/10$  以下と大幅に小さくして、吸着による硫化水素の抑制効果が長期間持続しないようにした。そして、以上の実験系にて、一定期間ごとに 4 組ある棒状導電性コンクリート電極から 1 組ずつ電極を取り出してアノード電極表面近傍の生物膜を採取し、4.2.6.2 にて菌叢解析を行った。また、菌叢解析の結果を解釈する際に比較するため、普通コンクリートで作成した板状型供試体<sup>12</sup>を入れた水槽も設置した。

実験条件を表 4-1 に示す。使用した余剰汚泥と消化汚泥は東部浄化センターで採取し、採取時の汚泥の性状は表 4-2 のとおりである。使用した棒状導電性コンクリート電極、人工排水の組成は 4.2.5.2 の実験と同様である。図 4-7 に実験装置の配置を示す。各実験装置には、採取した余剰汚泥 0.48L と消化汚泥 0.48L, 人工排水 3.84L を投入した。さらに棒状導電性コンクリート電極の約  $7.5 \text{ mm}$  が人工排水に浸かり残りの半分が空気と接触するようにカソードを設置した状態で実験を開始し、水面から約  $3 \text{ cm}$  の水相の pH, 硫酸イオン, 硫化物の濃度を定期的に測定した。水中に含まれる硫酸イオンは、 $0.45 \mu\text{m}$  のメンブレンフィルターでろ過した後に USEPA 法 375.4 に準拠した硫酸バリウム比濁法により測定し、硫化物は USEPA 法 376.2 に準拠したメチレンブルー法により定量した。また、硫酸イオンが硫酸塩還元菌により硫化水素へと還元されてほぼ  $0 \text{ mgS/L}$  となったことを確認した後に、グルコース ( $2000 \text{ mg/L}$ ) および硫酸マグネシウム 7 水和物 ( $33 \text{ mgS/L}$ ) を実験開始後 20, 40, 68 日に添加した。電圧値測定に関しては閉回路の抵抗区間の電圧をデータロガー (グラフィテック (株), midiLOGGER GL240) で測定した。

表 4-1 実験条件

抵抗値[Ω]	100
実験期間	76 日間
測定項目	pH, 硫化物濃度, 硫酸イオン濃度, 電圧

表 4-2 本研究で使用了汚泥の SS および VSS の濃度

	SS[mg/L]	VSS[mg/L]	有機物量[%]
余剰汚泥	8540	7410	86.8
消化汚泥	8040	7240	90.0

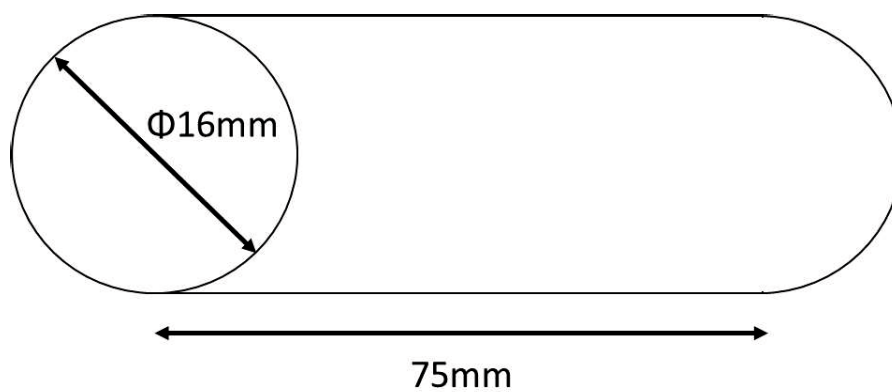


図 4-4 使用了棒状導電性コンクリート電極の寸法



図 4-5 使用了棒状導電性コンクリート電極の画像

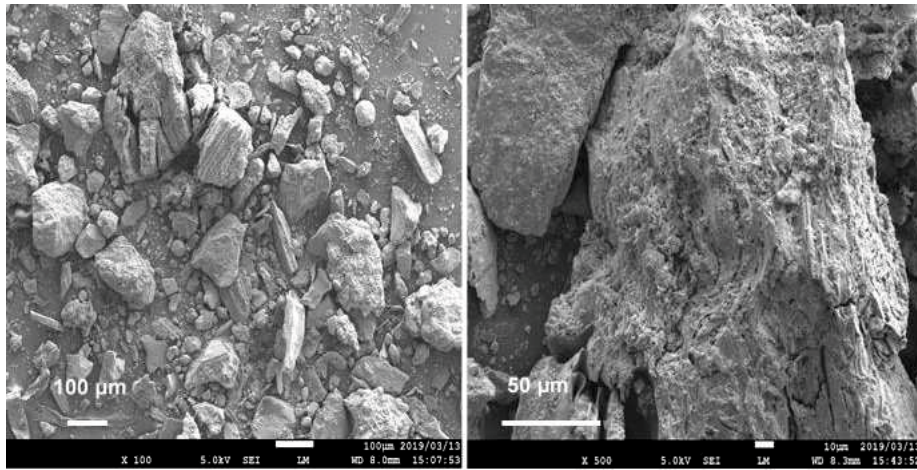


図 4-6 サンアースに含まれる導電性物質(無定形炭素)の走査型電子顕微鏡(SEM 画像)<sup>12</sup>

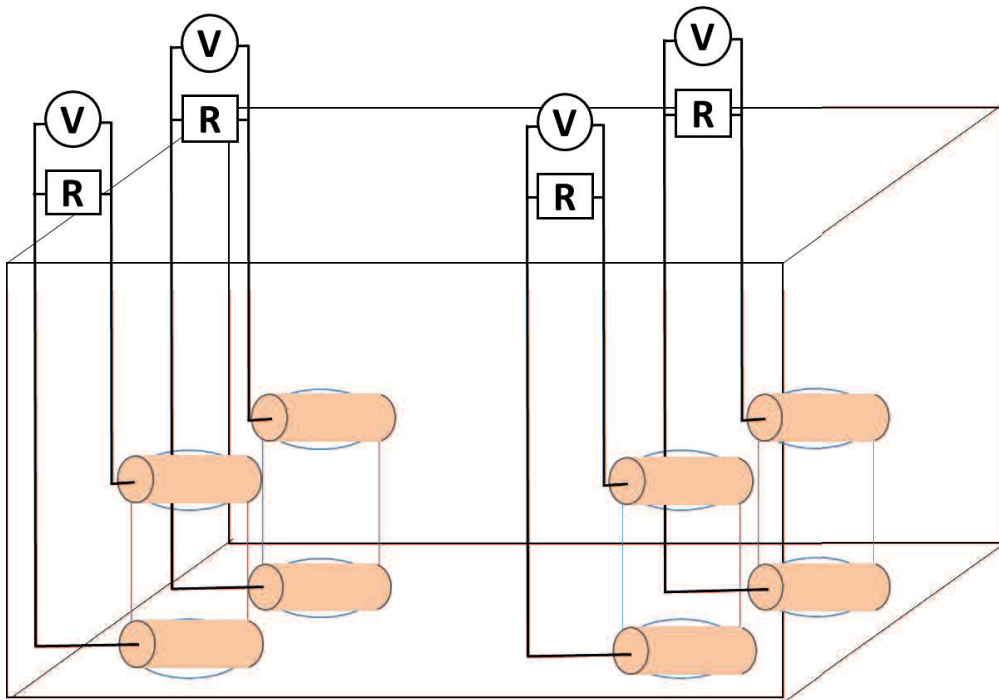


図 4-7 実験装置の概略図

#### 4.2.6.2 棒状導電性コンクリート近傍から採取した汚泥中の電子放出菌の集積評価

本実験では4.2.6.1の水槽実験で用いた棒状導電性コンクリート電極及び水槽底部の汚泥を採取し、菌叢解析を行うことで、経日的な微生物の種類の変化やその増殖を調べる。これにより、導電性コンクリートを用いた下水管内における電子放出菌の硫化水素発生抑制への関与を明らかにすることを目的とする。

汚泥の採取方法は、4.2.6.1の水槽実験で用いた棒状導電性コンクリート電極及び水槽底部の汚泥を採取し、菌叢解析を行った。棒状導電性コンクリート電極表面に付着した汚泥は、葉さじを用いて採取した。また、コンクリート内部に電子放出菌が優占的に増殖する可能性を考え、カッターナイフでコンクリートごと削って汚泥を採取した。さらに、混合汚泥の経日的な変化を確認するために水槽底部の汚泥をピペットで採取した。

棒状導電性コンクリート電極及び水槽底部の汚泥から採取した微生物の菌叢解析は、16SrRNA 遺伝子 V3 領域の塩基配列に基づいた変性剤濃度勾配ゲル電気泳動解析 (PCR-DGGE 解析) により行った。採取した微生物からの核酸抽出は、株式会社ニッポンジーンの DNA Extraction Kit を用いて行った。使用したプライマーは、16S に対して、バクテリアでは 27f/1492r, アーキアでは、21f/958r を用いた。V3 領域に対しては、バクテリアでは 341f-GC/518r を、アーキアでは 340f-GC/519r を用いて行った。PCR 反応液 (25  $\mu$ L) は、Emerald Amp Max PCR Master , 10  $\mu$ M の各プライマー, 1.5  $\mu$ L またはその 2 倍量 3.0  $\mu$ L の鋳型 DNA を含んだ。バクテリアの PCR の温度サイクルを表 4-3 に、アーキアの PCR の温度サイクルを表 4-4 に示す。PCR 産物はアガロースゲル電気泳動により確認した。DGGE は DCode 微生物群集解析基本システム (Bio-Rad) を使用して 40~70%変性剤の勾配をかけた 6%ポリアクリルアミドゲルを用いて行い、20V の電圧と 60°Cの保温温度で 10 分、その後 70V の電圧と 60°Cの保温温度で 16 時間泳動を行った。泳動後、ゲルを SYBR Gold で 1 時間染色した。UV 撮影機器 BIO-RAD (ChemiDocXRS) で DNA バンドを視覚化した。DNA バンドを切り出した後バクテリアには 341f/518r を、アーキアには 340f/519r を用い、V3 領域に対して PCR を行い、DNA 塩基配列を決定した。MEGAX を用いて、シークエンスデータから DNA 塩基配列の解析を行った。また、16SrRNA 遺伝子のデータベース検索は、BLAST プログラム (NCBI) を用いて行った。



表 4-3 PCR の温度サイクル(バクテリア)

	16S			V3		
	温度[°C]	時間	サイクル	温度[°C]	時間	サイクル
初期変性	95.5	5:00	—	—	—	—
変性	95	0:30		94	1:00	
アニーリング	52	0:40	30	65	0:45	20
伸長	72	1:30		72	1:00	
変性	—	—	—	94	1:00	
アニーリング	—	—	—	55	0:45	10
伸長	—	—	—	72	1:00	
最終伸長	72	5:00	—	72	10:00	—

表 4-4 PCR の温度サイクル(アーキア)

	16S			V3		
	温度[°C]	時間	サイクル	温度[°C]	時間	サイクル
初期変性	94	2:00	—	94	3:00	—
変性	94	1:00		94	1:00	
アニーリング	51	1:00	35	53	1:00	34
伸長	72	1:00		72	2:00	
最終伸長	72	10:00	—	72	10:00	—

#### 4.2.7 新規導電性コンクリートの開発による硫化水素低減効果の評価

この実験の目的は、導電性が異なる種々の新規導電性コンクリートを用いて、導電性が硫化水素の低減効果に及ぼす影響を評価することである。宇部市東部浄化センターから採取した余剰汚泥（SS 濃度 6,080 mg/L, VSS 濃度 5,210 mg/L）と消化汚泥（SS 濃度 12,820 mg/L, VSS 濃度 9,820 mg/L）を体積比 1:1 で混合した汚泥 0.14 L と 1.12 L の人工排水<sup>27</sup>(表 4-5)を供試体に入れ、静置した状態で実験を開始した。そして、水相の pH, 硫酸イオン, そして硫化物の濃度をモニタリングした。また、硫酸イオンが硫酸塩還元菌により硫化水素へと還元されてほぼ 0 mgS/L となったことを確認したのちに、グルコースおよび硫酸マグネシウムを添加した。

表 4-5 本研究で用いた人工排水の組成 (1 L あたり)<sup>27</sup>

NaHCO <sub>3</sub>	2 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	2 g
Yeast extract	0.02 g
Glucose	2 g
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.7 g
KCl	0.75 g
NH <sub>4</sub> Cl	0.85 g
FeCl <sub>3</sub> · 6H <sub>2</sub> O	0.42 g
MgCl <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O	0.81 g
MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	0.25 g
CoCl <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O	0.018 g
CaCl <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O	0.15 g

### 4.3 実験結果および考察

#### 4.3.1 電気抵抗率の測定

普通ポルトランドセメントおよび導電性コンクリートの電気抵抗率を測定した結果を図4-8に示す。まずアセチレンブラックのデータに着目すると、アセチレンブラックの添加により電気抵抗率は大きく低下し、普通ポルトランドセメントの電気抵抗率が $18\ \Omega\cdot\text{m}$ 程度であったのに対してアセチレンブラックを5 wt.%配合した導電性コンクリートでは半分以下の $8\ \Omega\cdot\text{m}$ 程度まで低下した。そしてさらに配合量を増やして10 wt.%配合すると、電気抵抗率は $6\ \Omega\cdot\text{m}$ 以下にまで低下してサンアースより低い電気抵抗率を示した。次に、マグネタイトのデータに着目すると、マグネタイトはアセチレンブラックに比べて電気抵抗率に与える影響が小さく、25 wt.%の配合量とすることでサンアースと同等の電気抵抗率を示し、50 wt.%の配合量で10 wt.%のアセチレンブラックを配合したコンクリートと同程度の電気抵抗率を示した。つまり、アセチレンブラックはマグネタイトより効果的にコンクリートの導電性を向上させるが、マグネタイトでも配合量を調節することによりサンアースより高い電気抵抗率を示す導電性コンクリートとなることが分かった。

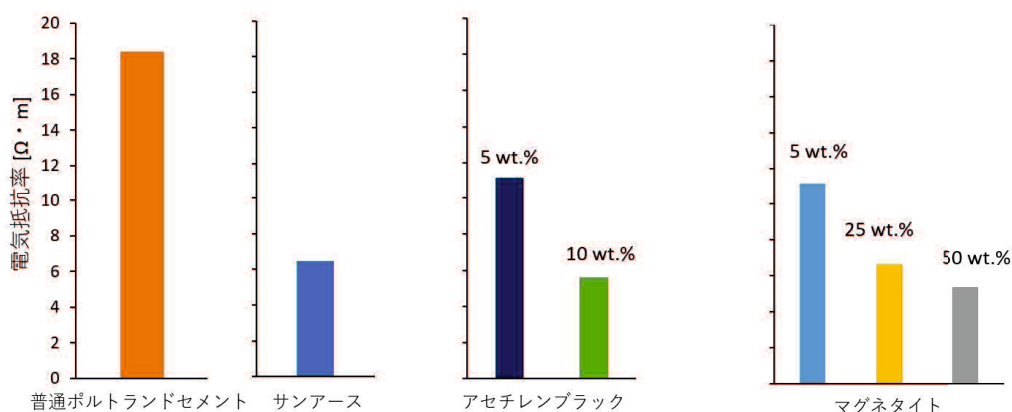


図4-8 本研究で使用したコンクリートの50 Hzにおける電気抵抗率

#### 4.3.2 導電性物質による硫化水素の物理吸着性の評価

サンアースに含まれる無定形炭素、アセチレンブラック、そしてマグネタイトに対する硫化物の吸着実験の結果を図4-9に示す。いずれの導電性物質も吸着は8時間でおおよそ平衡に達した。そして、吸着した硫化物の量はアセチレンブラックが一番少なく、次いでサンアースに含まれる無定形炭素、そしてマグネタイトが一番多い結果となった。これらの結果から吸着平衡に達した導電性物質による継続的な物理吸着作用による硫化水素の低減効果の可能性は低いことが考えられる。

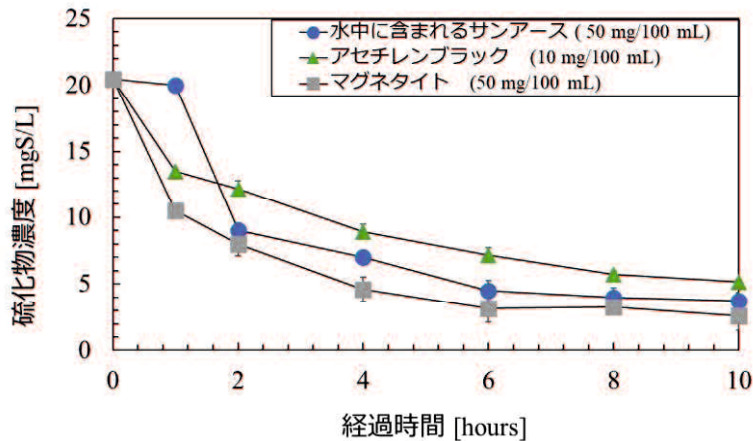


図 4-9 3 種類の導電性物質への硫化物の吸着に反応時間が与える影響

#### 4.3.3 電子放出菌の植菌が硫化水素の低減効果に与える影響

コップ型供試体を用いて電子放出菌の植菌が硫化水素の低減に及ぼす影響を評価した結果を図 4-10 ~ 図 4-12 に示す。図 4-10 の pH のデータに着目すると、pH はグルコースの添加に伴い 4.5 程度にまで低下した後に 9 程度にまで上昇した。これは我々が行った既存研究<sup>12</sup>においても観察された挙動であり、pH の低下は有機酸の生成が、そして pH の上昇は有機酸の揮発、有機酸や含窒素有機化合物の分解に伴うアルカリ生成、およびコンクリートに含まれる水酸化カルシウムの溶出が要因である。次に図 4-11 の水中の硫酸イオンの濃度に着目すると、硫酸マグネシウムを添加したいずれの場合も数日以内に硫酸イオンの濃度は大幅に低下し、その推移はコンクリートの種類や植菌の有無に依存しなかった。そして最後に図 4-12 の水中の硫化物濃度に着目すると、既存研究<sup>12</sup>と同様にサンアースは普通ポルトランドセメントに比べて低い硫化物濃度を示した。以下に考察するように、これはサンアースが普通ポルトランドセメントより高い導電性 (図 4-8) を有することが要因である。そして、サンアースに電子放出菌を植菌すると、硫化物濃度はさらに低下した。これらの結果は、1) 導電性コンクリートの使用、そして (あるいは) 2) 電子放出菌の植菌により硫化物の低減が可能であることを意味している。そこで、この効果を定量的に評価するために 20 日間の実験期間における硫化物濃度の平均を計算し、植菌を行わなかった普通ポルトランドセメントに対する硫化水素の低減率を算出した。その結果を図 4-13 に示す。サンアース (植菌無し) では硫化水素の低減効果は 37%に留まっていたのに対して、普通ポルトランドセメント (植菌有り) では 41%、そしてサンアースと電子放出菌の植菌を組み合わせたサンアース (植菌有り) の場合では 69%の硫化水素を低減できたことが分かる。これらの結果は、生物学的な硫化水素の酸化が進行し、それによる硫化水素の低減が起こることを実証する結果であると同時に、より導電性が高いコンクリートを開発することで電子放出菌による硫化物の酸化・低減を促進することが可能であることを意味するものである。さらに、導電性が低い普通ポルトランドセメントでも植菌により硫化水素の低減効果が得られたこの結

果は、電子放出菌が集積さえすれば、電子放出菌同士が電子を直接受け渡し、電子伝達物質（エレクトロンシャトル）を介することで電子を硫化物から酸素へと受け渡すことが可能であることを示唆している。しかし、普通ポルトランドセメントを用いた下水道管渠内では電子放出菌の集積は自然には進行しないため、これらのメカニズムを発現させるためには導電性コンクリートを用いて電子放出菌が安定して集積できる環境を提供する必要がある。そこで次節では、導電性コンクリートによる電子伝達経路の提供による硫化水素の抑制に関与する電子放出菌の経日的な集積の確認を行った。

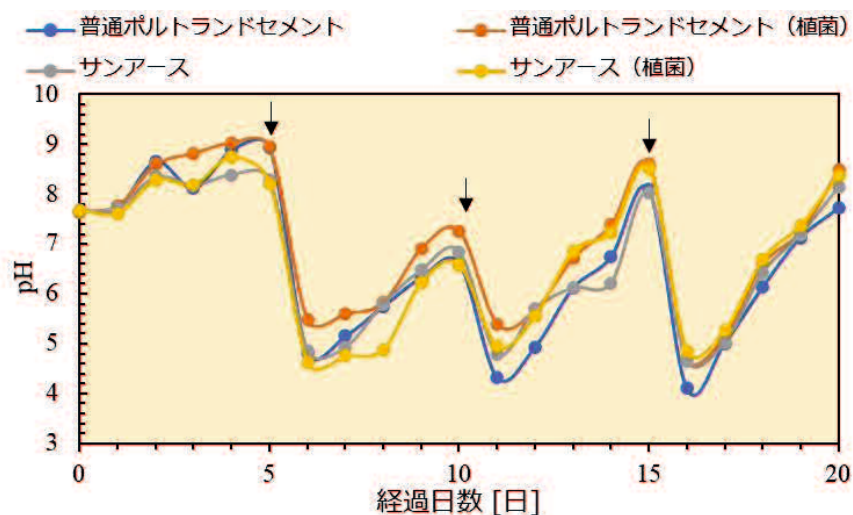


図 4-10 pH の経時変化(図中の矢印はグルコースおよび硫酸マグネシウムの添加を示す。実験開始時には 1,000 mg/L のグルコースと 500 mgS/L の硫酸イオンを添加し、5, 10, 15 日目は 10,000 mg/L のグルコースと 5,000 mgS/L の硫酸イオンを添加した。)

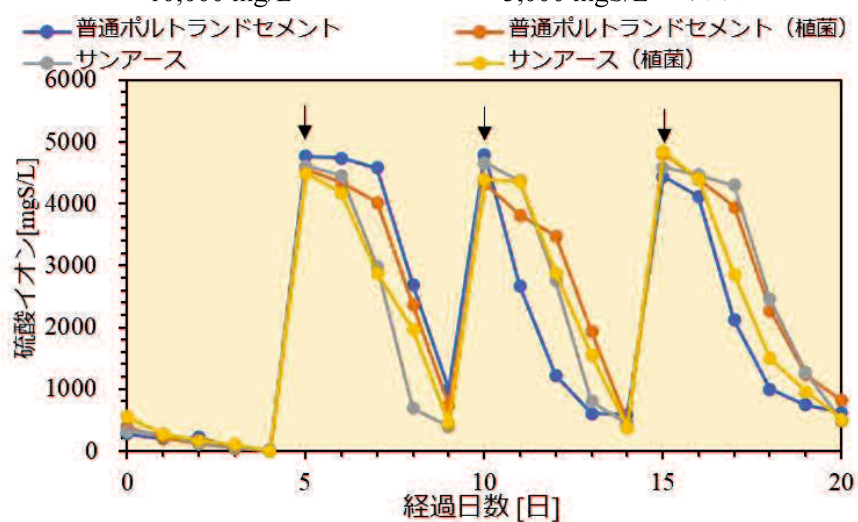


図 4-11 硫酸イオンの経時変化(図中の矢印はグルコースおよび硫酸マグネシウムの添加を示す。実験開始時には 1,000 mg/L のグルコースと 500 mgS/L の硫酸イオンを添加し、5, 10, 15 日目は 10,000 mg/L のグルコースと 5,000 mgS/L の硫酸イオンを添加した。)

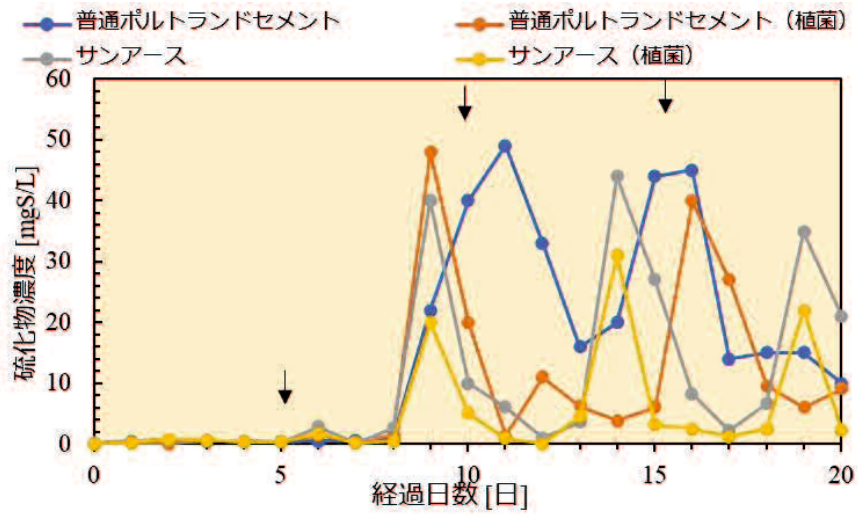


図 4-12 硫化物の経時変化(図中の矢印はグルコースおよび硫酸マグネシウムの添加を示す。実験開始時には 1,000 mg/L のグルコースと 500 mgS/L の硫酸イオンを添加し, 5, 10, 15 日目は 10,000 mg/L のグルコースと 5,000 mgS/L の硫酸イオンを添加した。)

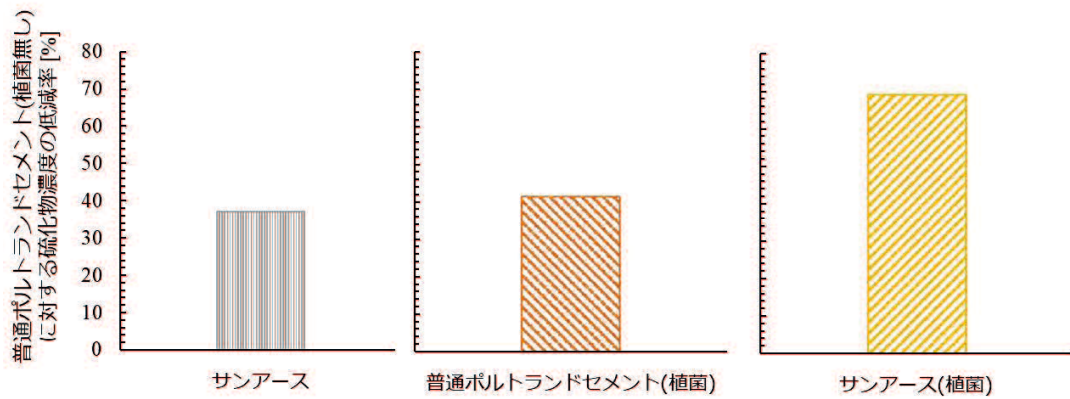


図 4-13 電子放出菌の植菌, 市販の導電性コンクリート (サンアース) の使用, およびその両方により得られた普通ポルトランドセメント(植菌無し)に対する硫化物濃度の低減率

#### 4.3.4 棒状導電性コンクリート電極を用いた水槽実験

図 4-14 に硫化物イオン濃度の経日変化を示す. 1, 2 サイクル目では硫化物濃度に差は見られないが, 3 サイクル目, 4 サイクル目には硫化物濃度の最大値が通電なしとなっており, 導電性コンクリートによる電子伝達経路の提供により生物学的酸化の効果が見られた. また, 図 4-15 に硫化物イオンの発生量を示す. 図 4-15 は, 図 4-14 の硫化物濃度を時間積分することでその総発生量を求めた. 1, 3, 4 サイクル目において, B の方が A より発生量が少なく, 総発生量も A が 5.98 [mgS], B が 4.72 [mgS]であった. これらの結果から電子放出菌による酸化によって硫化物濃度の発生が抑制されていると考えられる. 以上から, 生物学的酸化の効果が確認できた.

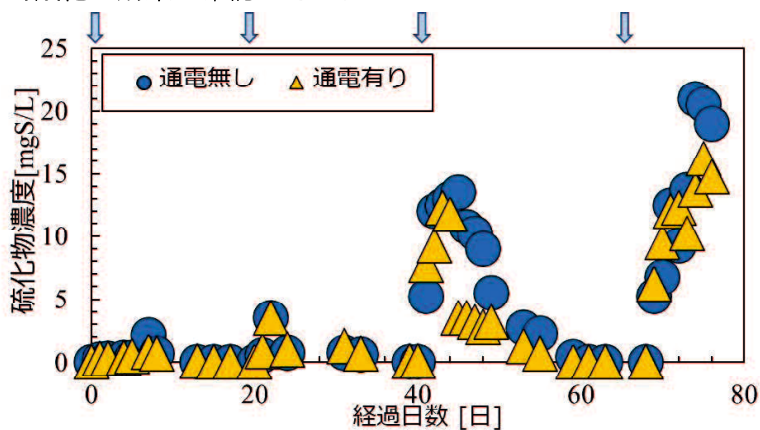


図 4-14 導電性コンクリートを用いた 76 日間の硫化水素の抑制実験の結果. 図中の矢印はグルコースおよび硫酸マグネシウムの添加を示す. 実験開始時, 20, 40, 68 日目に 2000 mg/L のグルコースと 33 mgS/L の硫酸イオンを添加した.

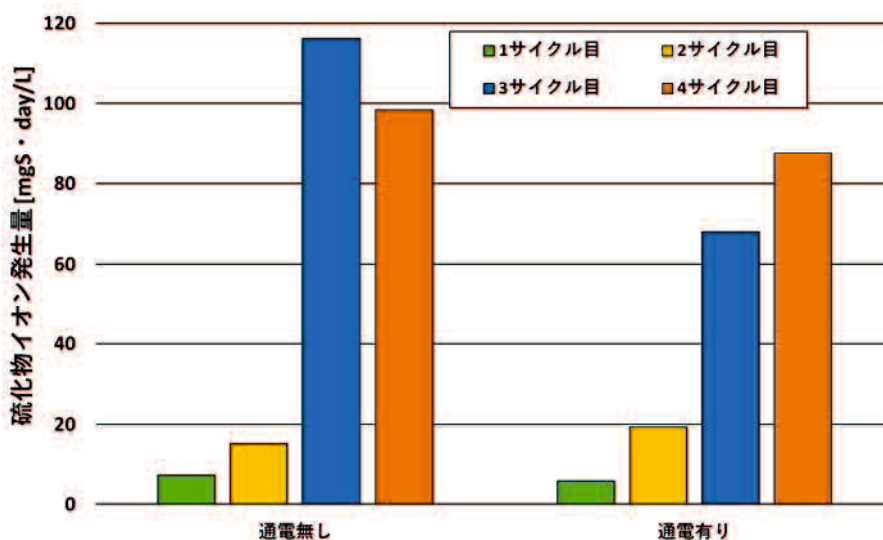


図 4-15 硫化物の総発生量

#### 4.3.5 棒状導電性コンクリート近傍から採取した汚泥中の電子放出菌の集積評価

表 4-6 に実験系の種類と汚泥の採取方法をまとめている。また、表 4-6 の番号は図 4-16～18 の DGGE の結果の画像の番号と対応している。表 4-7 に DGGE-PCR 法及びシーケンスデータの解析により得られたバクテリアの名称を、表 4-8 に得られたアーキアの名称を示す。表 4-7 の記号は図 4-16、表 4-8 の記号は図 4-18 の DGGE の画像内の記号と対応している。図 4-16 にバクテリアの DGGE の画像を示している。画像内の○印はシーケンスデータから DNA 塩基配列の解析を行い、遺伝子データベースと照合することで同定できた微生物を表している。その名称を表 4-7 に示す。参考文献<sup>29-31</sup>より、1B1～1B4 は電子放出菌であることが分かった。1 サイクル目終了後の 1B1～1B4 のバンド部分を拡大した画像を図 4-19 に示す。⑤の B 通電ありの棒状導電性コンクリート電極の内部の汚泥から得たバンドが他の条件のものに比べて濃いことがわかる。また、④は⑤の次に 1B1～1B4 のバンドが濃いことがわかる。ゆえに、通電の有無、つまり電子の通り道があるどうか電子放出菌の生育に関与していることが示唆された。さらに、④、⑤の 1B1～1B4 のバンド濃さの比較からの電子放出菌は棒状導電性コンクリート電極の表面に付着しているものよりも棒状導電性コンクリート電極内部の表層に優占的に増殖していることがわかる。また、図 4-16 から 1B1～1B4 のバンドの経日変化に注目すると、④、⑤では 1 サイクル目に引き続き、2 サイクル目でも濃いバンドが確認された。一方で、1 サイクル目で①～③及び⑦、⑧に薄く出ているバンドは 2 サイクル目ではさらに薄くなっていたことがわかる。つまり、電子放出菌以外の微生物は通電してもその増殖が促進されることはなく、減少することがわかる。よって通電の有無がそれに関わる微生物の生育に関係していることが確認できた。以上の結果より、電子放出菌の働きが生物学的酸化の効果に関与していることが示された。

図 4-18 にアーキアの DGGE 画像を示す。アーキアの結果から得られた微生物は表 4-8 のとおりである。文献より、メタン菌が微生物燃料電池において重要な役割を担っていることが報告されている。表 4-8 に示すように本実験でもメタン菌の生息が確認され、本実験系の中で電子放出菌の生育条件が整っていたものと考えられる。



表 4-6 実験系の種類および汚泥の採取方法

番号	実験系	採取方法等
①	A 通電なし	電極表面の生物膜を葉さじで採取
②	導電性	電極をカッターナイフで削り出して電極内部（表層）の汚泥を採取
③	コンクリート	水槽底部の汚泥を採取
④	B 通電あり	電極表面の生物膜を葉さじで採取
⑤	導電性	電極をカッターナイフで削り出して電極内部（表層）の汚泥を採取
⑥	コンクリート	水槽底部の汚泥を採取
⑦	C 普通	カッターナイフでコンクリート表面の生物膜を削ぐ
⑧	コンクリート	水槽底部の汚泥を採取

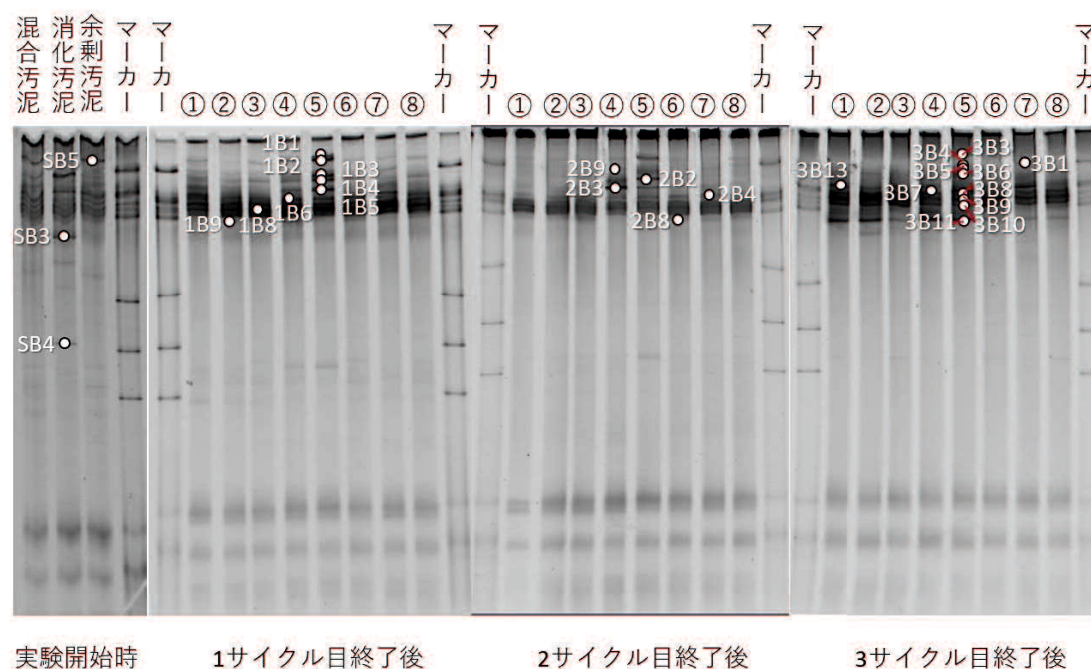


図 4-16 DGGE 画像（バクテリア）

表 4-7 菌叢解析から得られた微生物（バクテリア）

記号	サイクル	微生物名称
SB3		<i>Hydrogenobacter thermophilus</i> TK-6
SB4	実験開始時	<i>Puniceicoccus vermicola</i> strain IMCC1545
SB5		<i>Methylomarinovum caldicuralii</i> strain IT-9
1B1		<i>Geobacter uraniireducens</i> Rf4
1B2		<i>Geobacter psychrophilus</i> strain P35
1B3		<i>Pelobacter carbinolicus</i> DSM 2380
1B4	1 サイクル目終了後	<i>Pelobacter carbinolicus</i> DSM 2380
1B5		<i>Desulphuromonas acetexigens</i> strain 2873
1B6		<i>Macrococcus epidermidis</i> strain CCM 7099
1B8		<i>Fusibacter fontis</i> strain KhalAKB1
1B9		<i>Fusibacter fontis</i> strain KhalAKB1
2B2		<i>Desulphuromonas chloroethenica</i> strain TT4B
2B3		<i>Azoarcus communis</i> strain SWub3
2B4	2 サイクル目終了後	<i>Trichococcus flocculiformis</i> strain DSM 2094
2B8		<i>Clostridium butyricum</i> strain VPI3266
2B9		<i>Azoarcus communis</i> strain SWub3
3B1		<i>Methylobacillus methanolivorans</i> strain Z
3B3		<i>Desulfosarcina variabilis</i> str. Montpellier
3B4		<i>Paenibacillus glycanilyticus</i> strain NBRC 16618
3B5		<i>Lactobacillus hulanensis</i> strain ZW163
3B6		<i>Desulphuromonas chloroethenica</i> strain TT4B
3B7	3 サイクル目終了後	<i>Clostridium kogasensis</i> strain YHK0403
3B8		<i>Desulfosarcina variabilis</i> str. Montpellier
3B9		<i>Clostridium chartatabidum</i> strain 163
3B10		<i>Clostridium chartatabidum</i> strain 163
3B11		<i>Clostridium chartatabidum</i> strain 163
3B13		<i>Psychrobacillus lasiicapitis</i> strain NEAU-3TGS17

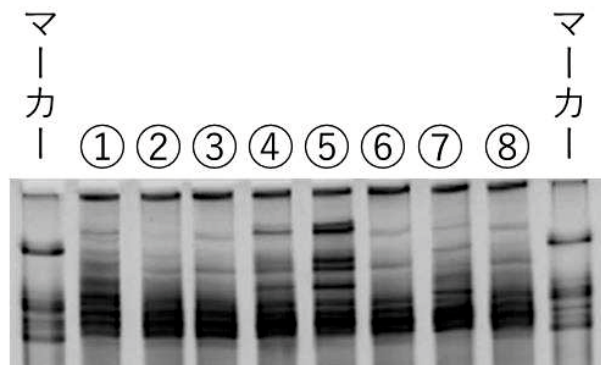


図 4-17 1 サイクル目終了後 DGGE 画像（バクテリア）の拡大図

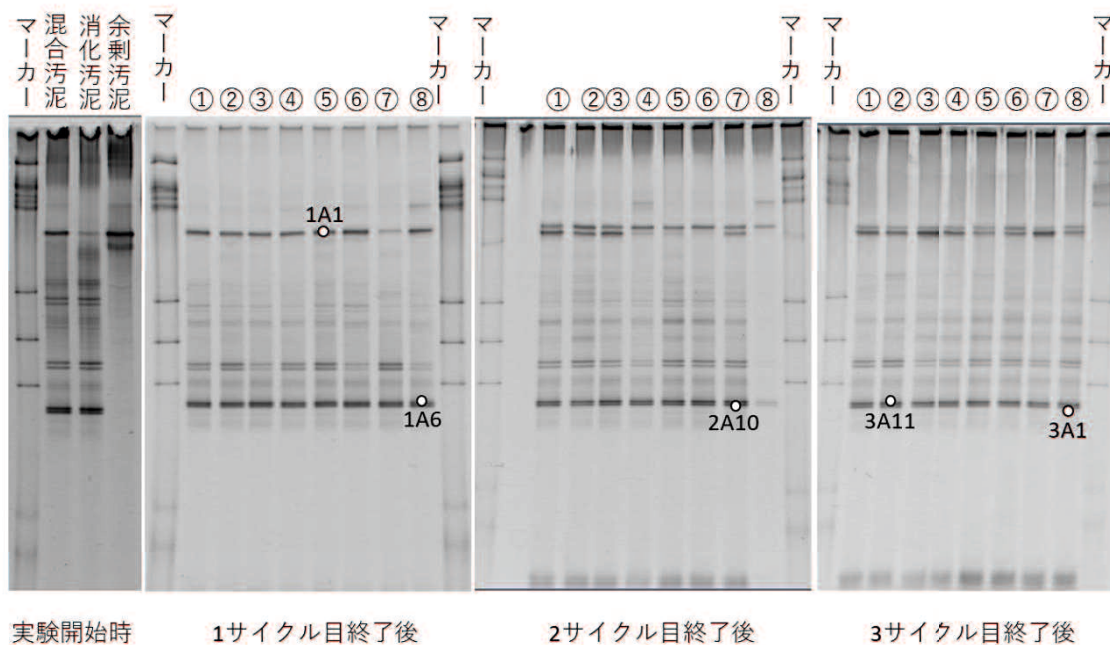


図 4-18 DGGE 画像（アーキア）

表 4-8 菌叢解析から得られた微生物（アーキア）

記号	サイクル	微生物名称
1A1	1 サイクル目終了後	<i>Nitrososphaera viennensis</i> strain EN76
1A6		<i>Methanotherix thermoacetophila</i> PT
2A10	2 サイクル目終了後	<i>Methanotherix thermoacetophila</i> PT
3A1	3 サイクル目終了後	<i>Methanotherix thermoacetophila</i> PT
3A11		<i>Methanotherix thermoacetophila</i> PT

#### 4.3.6 新規導電性コンクリートの開発による硫化水素低減効果の評価

普通ポルトランドセメント，サンアース，そして新規導電性コンクリートの pH，硫酸イオン，そして硫化物濃度を 134 日間モニタリングした結果を図 4-19~図 4-21 に示す。なお，新規導電性コンクリートについては，その代表例として最も硫化物の低減効果が高かったアセチレンブラック (10 wt.%) を示す。また，普通ポルトランドセメントに対する市販の導電性コンクリート，マグネタイト (5,25,50 wt.%)，アセチレンブラック (5,10 wt.%) の結果を図 4-22~図 4-30 に示す。マグネタイト，アセチレンブラック両者においても，配合量を増加させることにより，硫化物の発生が低下していることが分かる。また，これらの結果より簡易的に評価が可能となるように，前節 (4.3.3, 4.3.4) と同様に，134 日間の硫化物濃度の平均から算出した普通ポルトランドセメントに対する硫化物の低減率を図 4-31 に示す。図 4-31 から，どちらの導電性物質についても 5 wt.% の配合量では低減効果は示さなかったが，配合量を増やすことで硫化物の低減効果は高まり，アセチレンブラックでは 10 wt.% を配合することにより，そしてマグネタイトでは 50 wt.% を配合することにより，市販の導電性コンクリートであるサンアースよりも硫化物の低減効果が高まった。なお，図 4-31 に示した硫化物の低減効果の順番 (サンアース < マグネタイト (50 wt.%) < アセチレンブラック (10 wt.%) ) は図 4-9 に示した硫化物の吸着性の順番 (アセチレンブラック (10 mg/100 mL) < サンアース (50 mg/100 mL) < マグネタイト (50 mg/100 mL) ) と一致しなかった。この結果は，サンアース<sup>12</sup>と同様にアセチレンブラックとマグネタイトについても，吸着は硫化物の低減に多かれ少なかれ寄与しているものの主なメカニズムではないことを意味している。次に，硫化物の低減効果を表現する二つ目の指標として，硫化物濃度を 0.5 mgS/L 以下に抑えることができた測定日数の割合を計算し，図 4-32 に示した文献<sup>28</sup>から，管路材の腐食速度は水中の硫化物濃度が 0.5 mgS/L 以下の場合に比較的小さいことが報告されているため，この指標は図 4-31 にその結果を示した指標に比べて管路材の腐食速度をより強く反映していると捉えることができる。計算結果から，0.5 mgS/L 以下となった測定日数の割合は普通ポルトランドセメントが 15%であったのに対して，サンアースでは 34%，マグネタイト (50 wt.%) では 38%，そしてアセチレンブラック (10 wt.%) では普通ポルトランドセメントの 4 倍に近い 58% に増加した。つまり，管路材の腐食速度をより強く反映しているこの指標を用いても，市販の導電性コンクリートであるサンアースに対する新規導電性コンクリートの優位性が示されたといえる。最後に，50 Hz で測定した電気抵抗率の逆数を導電性の指標として，コンクリートの導電性と普通ポルトランドセメントに対する硫化物の低減効果の関係をプロットした結果を図 4-33 に示す。導電性を示す X 軸 (電気抵抗率の逆数) の値が 0.12 (1/( $\Omega \cdot m$ )) 以下では導電性コンクリートは硫化物の低減効果を示さなかったが，予想した通り導電性が高くなるにつれて低減効果を示し，0.12 (1/( $\Omega \cdot m$ )) 以上ではこれらの二つには直線的な相関が得られた。そのため，上述したように市販の導電性コンクリートであるサンアースより高い導電性を示すマグネタイト (50 wt.%) とアセチレンブラック (10 wt.%) は，サンアースより高い硫化物の低減効果を示すことが再

度確認できた。しかしながら、サンアース(市販の導電性コンクリート)の硫化物濃度の経過日数に着目すると、実験開始から約100日以降でマグネタイト(50 wt.%), アセチレンブラック(10 wt.%)と比べて抑制効果が小さくなり、普通ポルトランドセメントと硫化物の発生量が変わらない結果となった。この要因として考えられるのは、サンアースを用いて作製した供試体の壁面構造に空隙(ポラス状)が存在し、その空隙に対して汚泥中の有機物や硫化水素による空隙中へ吸着・蓄積、それらによる電子伝達経路の遮断が硫化水素の抑制効果が小さくなった要因と推察される。今後、商品化に向けてサンアースのような空隙が存在するコンクリートを作成した場合の強度的な問題も挙げられる。本研究で用いた新たな導電性物質であるマグネタイト、アセチレンブラックの配合による供試体の強度的な問題を今後検討する必要がある。一方、上記のような強度が十分に確保されていない導電性コンクリートの場合には、コンクリートの新たな適用方法として普通ポルトランドセメントを用いた暗渠の壁面に混入した導電性コンクリートの導電性物質を塗布(ライニング)を施すことにより、従来の強度が保たれ、実用化へ向けての新たな技術の提案が考えられる。本研究で指標とした導電性以外にも、水面近傍で電子を受け取る役割を果たす酸素を吸着する能力の違いや導電性物質の種類により異なる表面の凸凹性の違いなども硫化物の低減効果に影響する因子と考えられるため、より安価でより高い硫化物低減効果を示す導電性物質の選定に向けてさらなる検討が必要である。

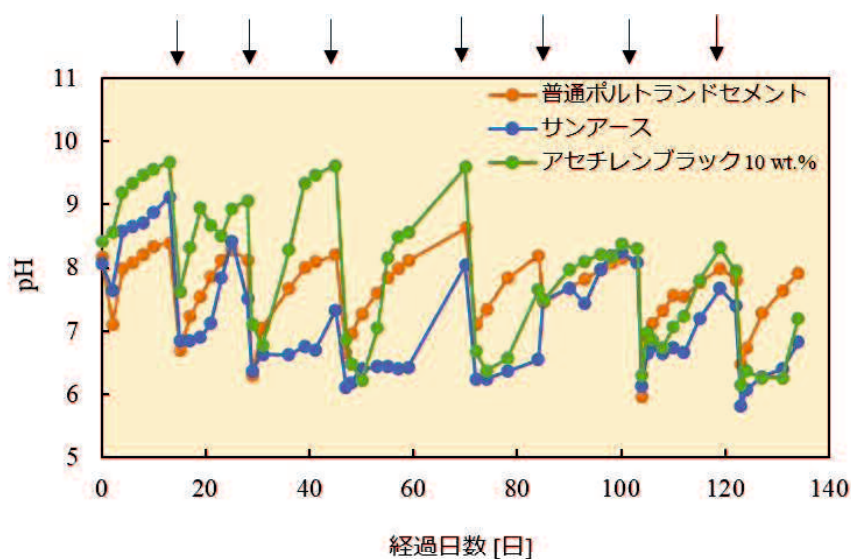


図 4-19 pH の経時変化 (図中の矢印はグルコース 2000 mg/L で、硫酸イオン 33 mgS/L を添加したことを示す)

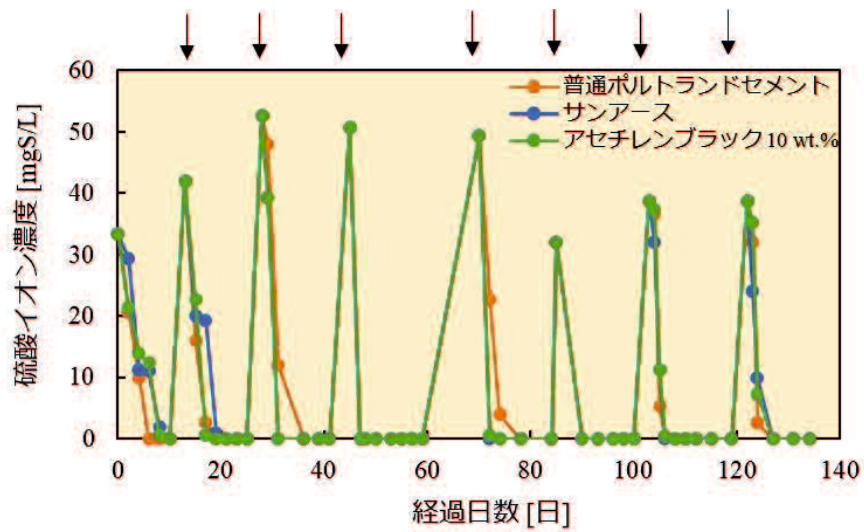


図 4-20 硫酸イオンの経時変化（図中の矢印はグルコース 2000 mg/L で、硫酸イオン 33 mgS/L を添加したことを示す。）

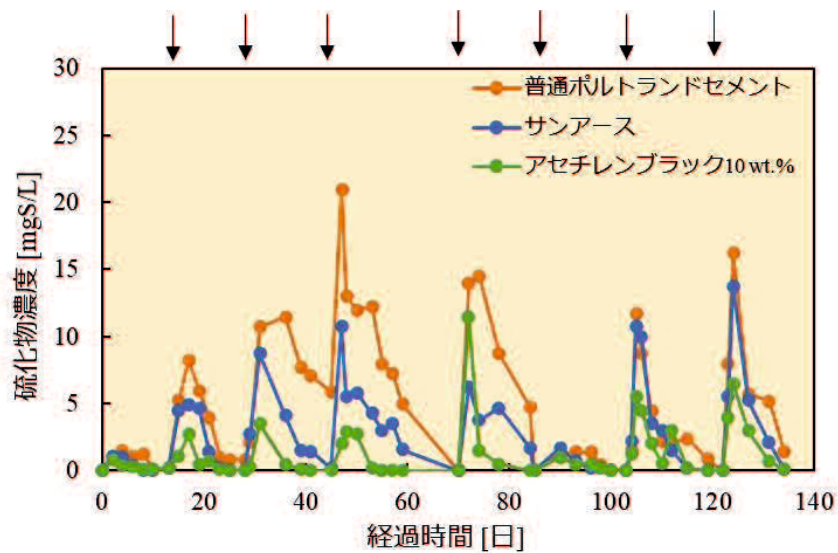


図 4-21 硫化物の経時変化（図中の矢印はグルコース 2000 mg/L で、硫酸イオン 33 mgS/L を添加したことを示す。）

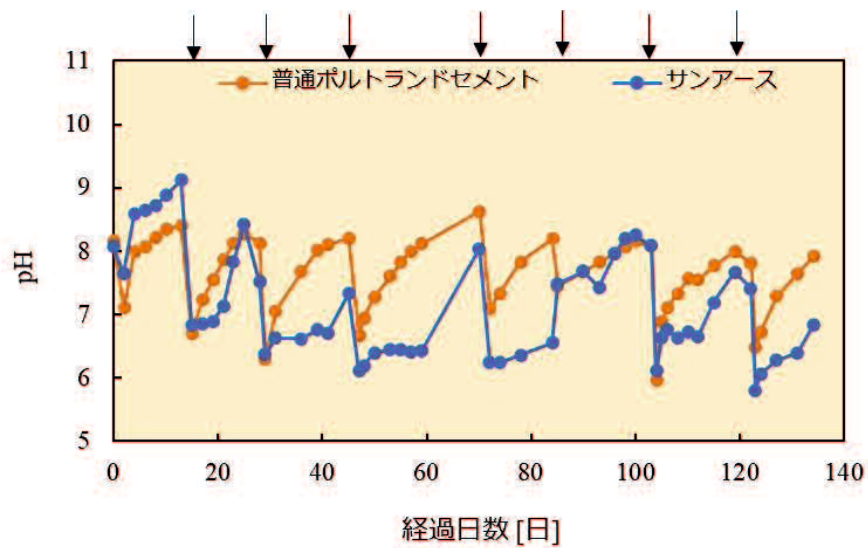


図 4-22 普通ポルトランドセメントに対する市販の導電性コンクリート(サンアース)の pH の経時変化 (図中の矢印はグルコース 2000 mg/L で、硫酸イオン 33 mgS/L を添加したことを示す。)

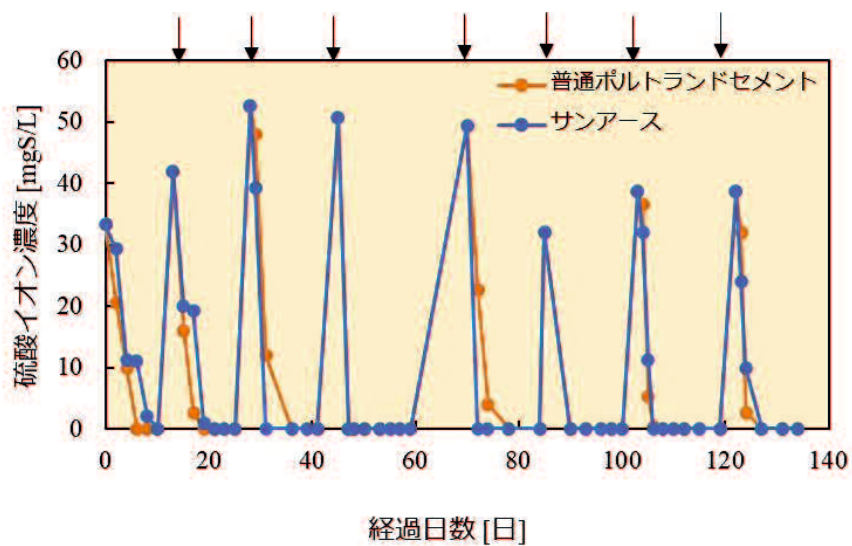


図 4-23 普通ポルトランドセメントに対する市販の導電性コンクリート(サンアース)の硫酸イオンの経時変化 (図中の矢印はグルコース 2000 mg/L で、硫酸イオン 33 mgS/L を添加したことを示す。)

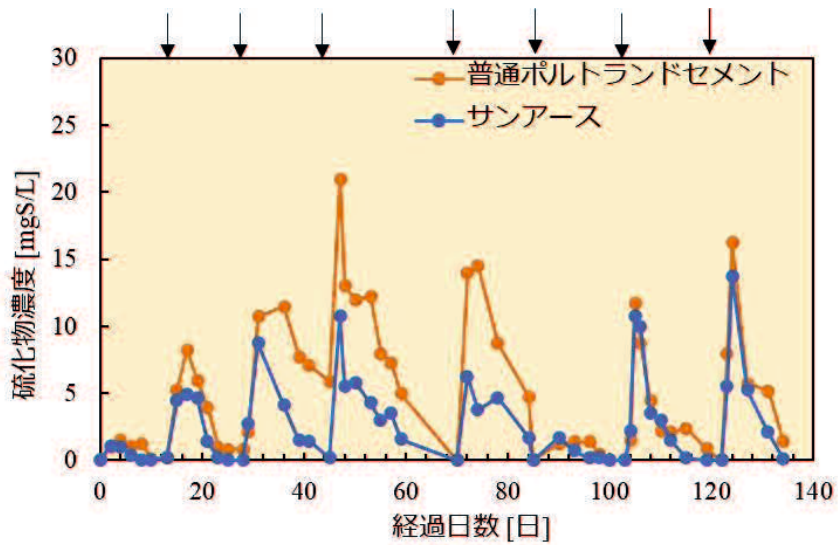


図 4-24 普通ポルトランドセメントに対する市販の導電性コンクリート(サンアース)の硫化物濃度の経時変化 (図中の矢印はグルコース 2000 mg/L で、硫酸イオン 33 mgS/L を添加したことを示す.)

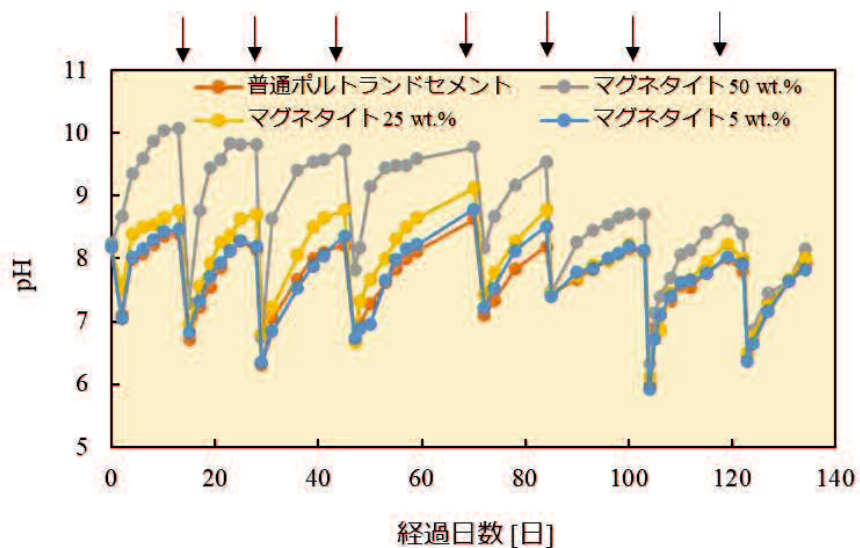


図 4-25 普通ポルトランドセメントに対するマグネタイト(5,25,50 wt.%)の pH の経時変化 (図中の矢印はグルコース 2000 mg/L で、硫酸イオン 33 mgS/L を添加したことを示す.)



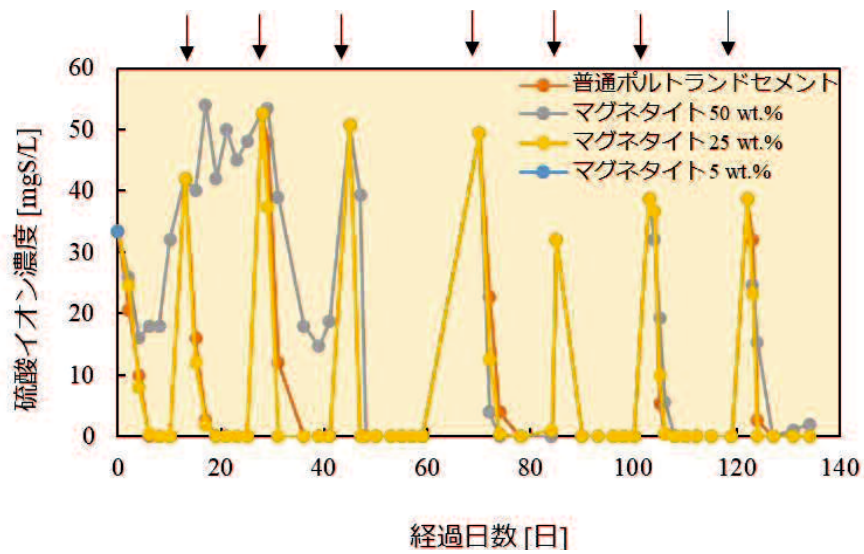


図 4-26 普通ポルトランドセメントに対するマグネタイト(5,25,50 wt.%)の硫酸イオンの経時変化 (図中の矢印はグルコース 2000 mg/L で, 硫酸イオン 33 mgS/L を添加したことを示す.)

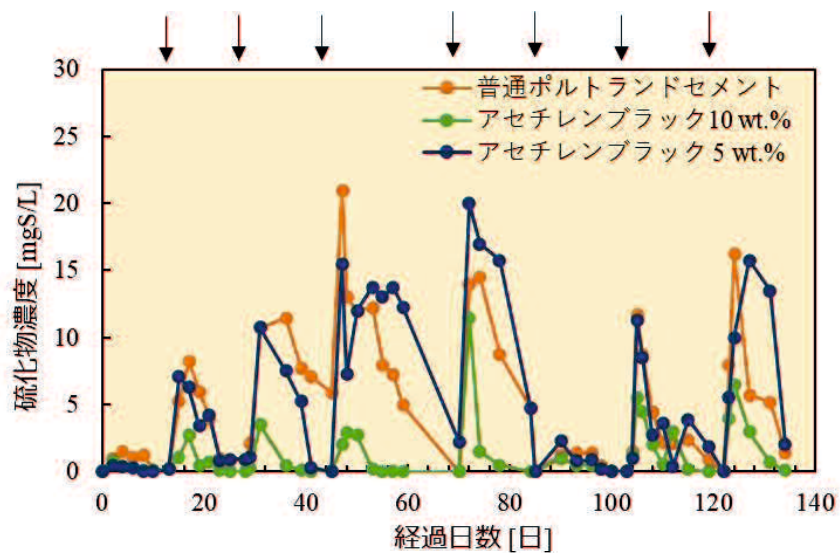


図 4-27 普通ポルトランドセメントに対するマグネタイト(5,25,50 wt.%)の硫化物濃度の経時変化 (図中の矢印はグルコース 2000 mg/L で, 硫酸イオン 33 mgS/L を添加したことを示す.)

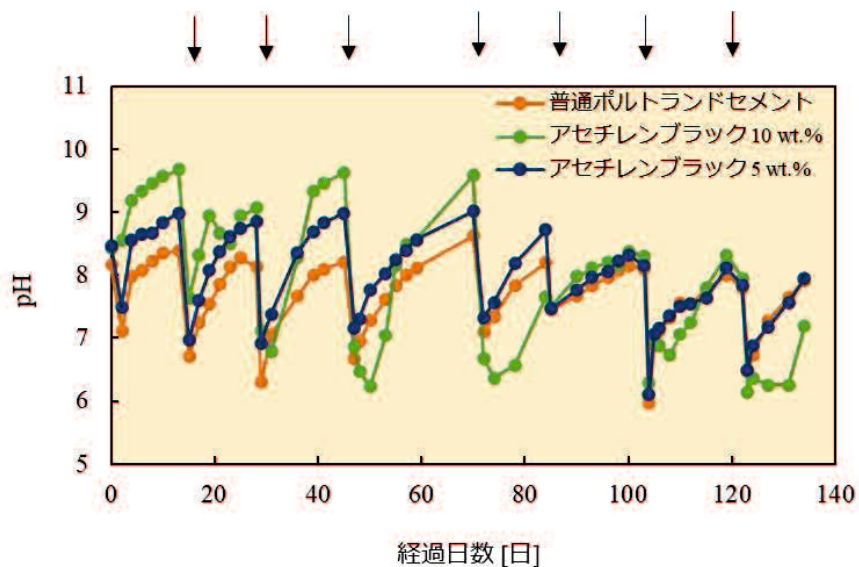


図 4-28 普通ポルトランドセメントに対するアセチレンブラック(5,10 wt.%)の pH の経時変化 (図中の矢印はグルコース 2000 mg/L で、硫酸イオン 33 mgS/L を添加したことを示す.)

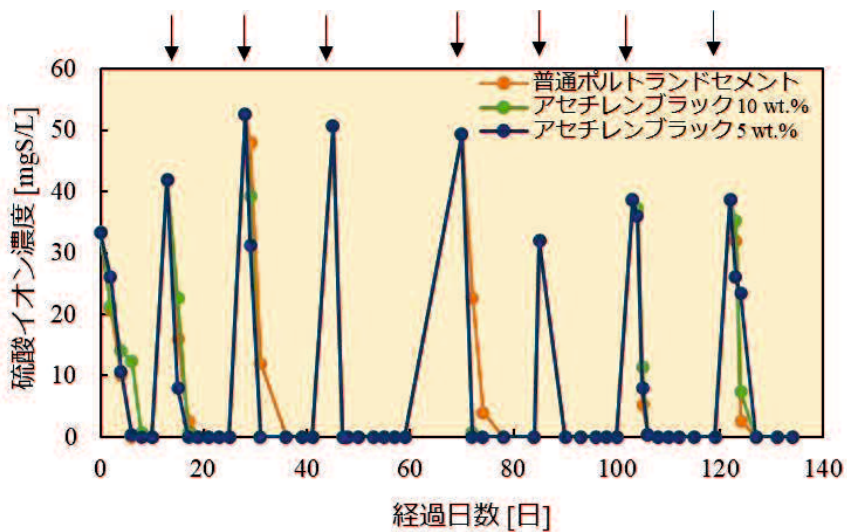


図 4-29 普通ポルトランドセメントに対するアセチレンブラック(5,10 wt.%)の硫酸イオンの経時変化 (図中の矢印はグルコース 2000 mg/L で、硫酸イオン 33 mgS/L を添加したことを示す.)

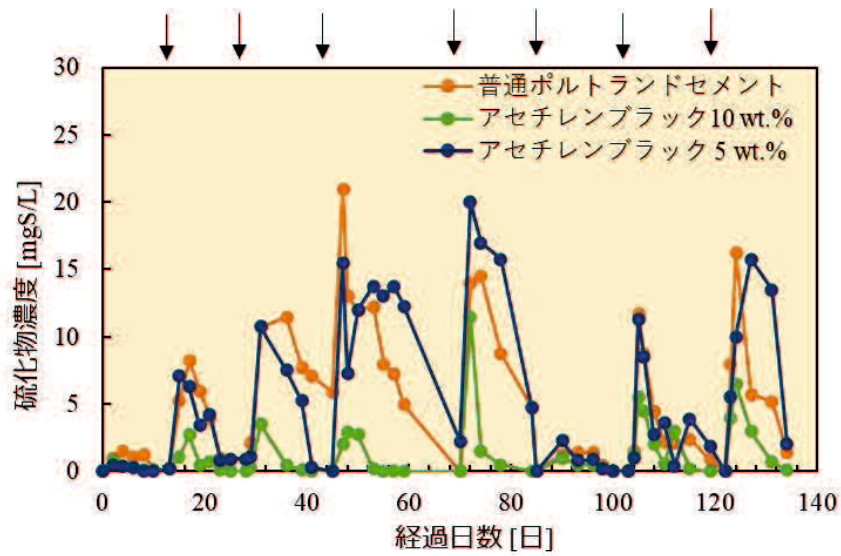


図 4-30 普通ポルトランドセメントに対するアセチレンブラック(5,10 wt.%)の硫化物濃度の経時変化 (図中の矢印はグルコース 2000 mg/L で、硫酸イオン 33 mgS/L を添加したことを示す.)

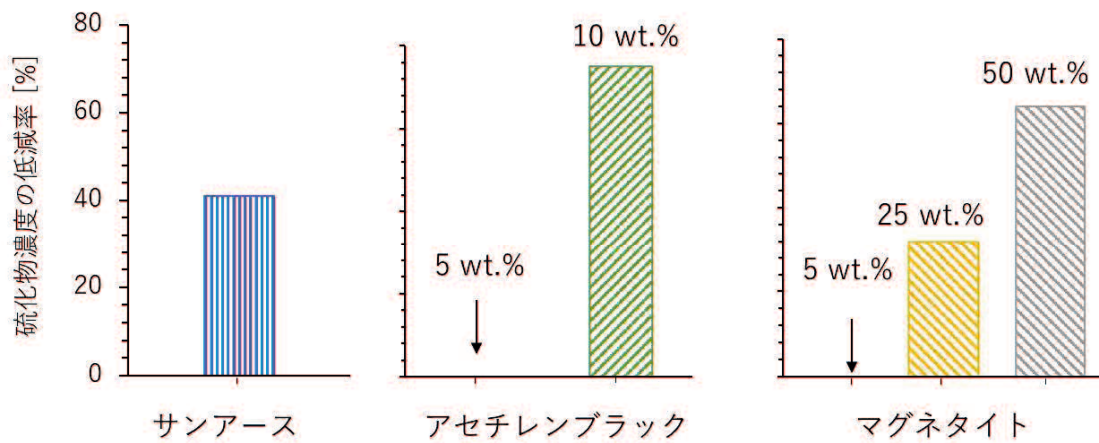


図 4-31 サンアースおよび新規導電性コンクリートの使用により得られた普通ポルトランドセメントに対する硫化物の低減率

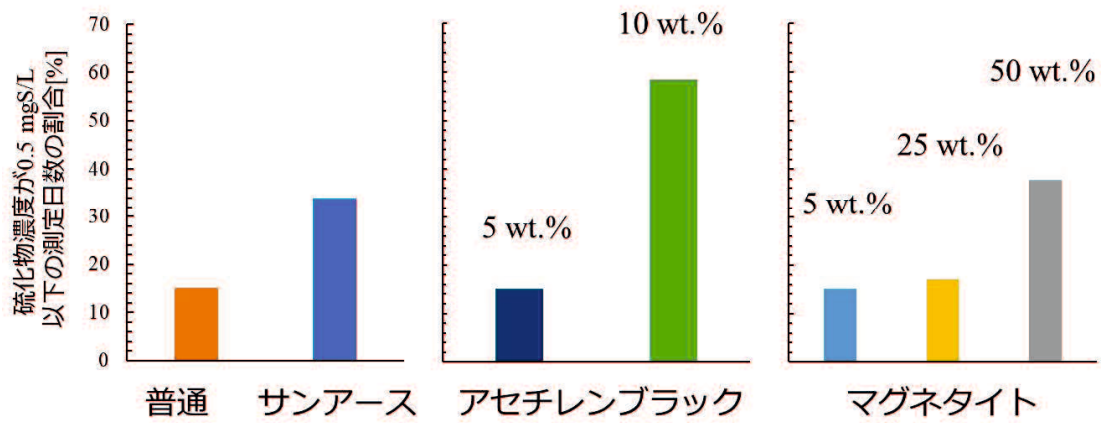


図 4-32 硫化物濃度を 0.5 mgS/L 以下に抑えることができた測定日数の割合

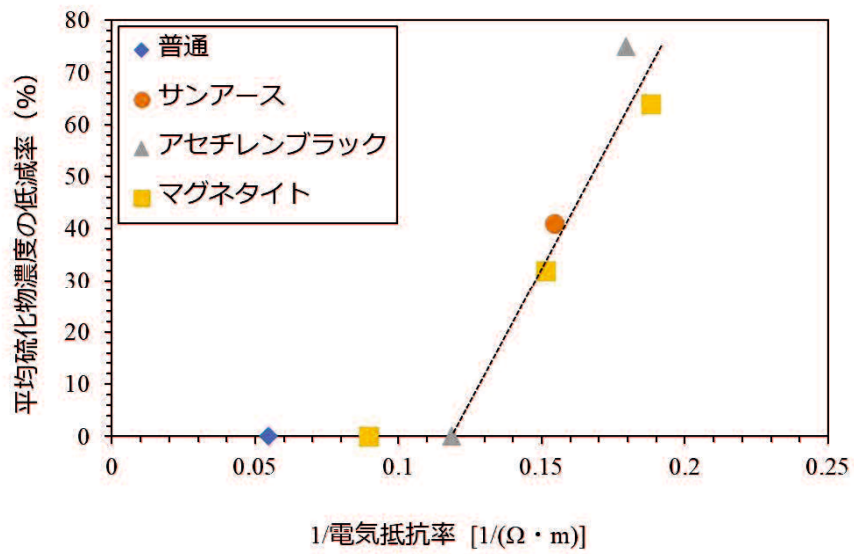


図 4-33 コンクリートの導電性と普通ポルトランドセメントに対する硫化物の低減率の関係

## 参考文献

1. Wu, M., Wang, T., Wu, K. & Kan, L. Microbiologically induced corrosion of concrete in sewer structures: A review of the mechanisms and phenomena. *Constr. Build. Mater.* **239**, 117813 (2020).
2. Li, W., Zheng, T., Ma, Y. & Liu, J. Current status and future prospects of sewer biofilms: Their structure, influencing factors, and substance transformations. *Sci. Total Environ.* **695**, 133815 (2019).
3. Shi, X., Sang, L., Wang, X. C. & Jin, P. Pollutant exchange between sewage and sediment in urban sewer systems. *Chem. Eng. J.* **351**, 240–247 (2018).
4. Jiang, G. *et al.* Wastewater-Enhanced Microbial Corrosion of Concrete Sewers. *Environ. Sci. Technol.* **50**, 8084–8092 (2016).
5. Jiang, G., Keller, J. & Bond, P. L. Determining the long-term effects of H<sub>2</sub>S concentration, relative humidity and air temperature on concrete sewer corrosion. *Water Res.* **65**, 157–169 (2014).
6. Lin, H. W. *et al.* Simultaneous use of caustic and oxygen for efficient sulfide control in sewers. *Sci. Total Environ.* **601–602**, 776–783 (2017).
7. Zhang, L. *et al.* Chemical and biological technologies for hydrogen sulfide emission control in sewer systems: A review. *Water Res.* **42**, 1–12 (2008).
8. Liu, J., Zhang, B., Qi, W. H., Deng, Y. G. & Misra, R. D. K. Corrosion response of zinc phosphate conversion coating on steel fibers for concrete applications. (2020). doi:10.1016/j.jmrt.2020.03.117
9. Xiao, Z., Liu, Y., Wang, Y. & Shi, J. TA/Fe(III) anti-chloride coating to protect concrete. *J. Clean. Prod.* **259**, 120922 (2020).
10. Jiang, G., Sun, J., Sharma, K. R. & Yuan, Z. Corrosion and odor management in sewer systems. *Curr. Opin. Biotechnol.* **33**, 192–197 (2015).
11. Grengg, C. *et al.* Advances in concrete materials for sewer systems affected by microbial induced concrete corrosion: A review. *Water Research* **134**, 341–352 (2018).
12. 福島聖人, 竹内彩結実, 鈴木祐麻, 今井剛, 佐久間啓, 人見隆. 導電性コンクリートを用いた下水管内における 硫化水素の抑制技術の開発. **75**, 1–10 (2019).
13. Vasieva, O., Sorokin, A., Szydowski, L. & Goryanin, I. Do Microbial Fuel Cells have Antipathogenic Properties? Computer Science & Systems Biology Do Microbial Fuel Cells have Antipathogenic Properties? *J. Comput. Sci. Syst. Biol.* **12**, 57–70 (2019).
14. Ng, I. S., Hsueh, C. C. & Chen, B. Y. Electron transport phenomena of electroactive bacteria in microbial fuel cells: a review of *Proteus hauseri*. *Bioresour. Bioprocess.* **4**, (2017).
15. Kiely, P. D., Regan, J. M. & Logan, B. E. The electric picnic: Synergistic requirements for exoelectrogenic microbial communities. *Curr. Opin. Biotechnol.* **22**, 378–385 (2011).

16. Sun, M. *et al.* Microbial communities involved in electricity generation from sulfide oxidation in a microbial fuel cell. *Biosens. Bioelectron.* **26**, 470–476 (2010).
17. Sun, M. *et al.* Microbe-assisted sulfide oxidation in the anode of a microbial fuel cell. *Environ. Sci. Technol.* **43**, 3372–3377 (2009).
18. Zhao, F. *et al.* Activated carbon cloth as anode for sulfate removal in a microbial fuel cell. *Environ. Sci. Technol.* **42**, 4971–4976 (2008).
19. Pfeffer, C. *et al.* Filamentous bacteria transport electrons over centimetre distances. *Nature* **491**, 218–221 (2012).
20. Gorby, Y. A. *et al.* Electrically conductive bacterial nanowires produced by *Shewanella oneidensis* strain MR-1 and other microorganisms. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **103**, 11358–11363 (2006).
21. Dilushani, P. D. R., Nawodani, W. R. N. & Bambaravanage, T. Soil Resistivity Analysis and Earth Electrode Resistance Determination. **15**, 26–35 (2020).
22. Sugnaux, M., Savy, C., Cachelin, C. P., Hugenin, G. & Fischer, F. Simulation and resolution of voltage reversal in microbial fuel cell stack. *Bioresour. Technol.* **238**, 519–527 (2017).
23. Gunasekaran, G., Chongdar, S., Naragoni, S., Rodrigues, P. V. & Bobba, R. Microbial fuel cell constructed with micro-organisms isolated from industry effluent. *Int. J. Hydrogen Energy* **36**, 14914–14922 (2011).
24. Rahimnejad, M., Najafpour, G. D., Ghoreyshi, A. A., Shakeri, M. & Zare, H. Methylene blue as electron promoters in microbial fuel cell. *Int. J. Hydrogen Energy* **36**, 13335–13341 (2011).
25. Patel, R. & Deb, D. Parametrized control-oriented mathematical model and adaptive backstepping control of a single chamber single population microbial fuel cell. *J. Power Sources* **396**, 599–605 (2018).
26. Choudhury, P. *et al.* Performance improvement of microbial fuel cells for waste water treatment along with value addition: A review on past achievements and recent perspectives. *Renew. Sustain. Energy Rev.* **79**, 372–389 (2017).
27. Zhou, W., Imai, T., Ukita, M., Sekine, M. & Higuchi, T. Triggering forces for anaerobic granulation in UASB reactors. *Process Biochem.* **41**, 36–43 (2006).
28. T. H. Jacobsen (越智孝敏, 田中修司, 田中直也, 三品文雄, 森田弘昭訳) : 下水道管渠内反応～生物・化学的処理施設として～, 技報堂出版, 2004.
29. De, S. L., Rabaey, K., Boechx, P., Boon, N. & Verstraeye, W. Outlook for benefits of sediment microbial fuel cells with two bio-electrodes. *Microbial Biotechnology.* **1**, 446–462 (2008).
30. Lihong, L., Olga, T., Duu, J. L., Ay, S., Jo. S. C., Aijie, W., & Nanqi, R. Anodic biofilm in single-chamber microbial fuel cells cultivated under different temperatures. *Hydrogen Energy.* **37**, 15792–15800 (2012).
31. Owen, R. *et al.* Electricity producing property and bacterial community structure in microbial fuel

cell equipped with membrane electrode assembly. *Bioscience and Bioengineering*. 1, 116, 106-113 (2013).

## 第 5 章 結論



本研究の結論を以下に示す。

- ・導電性コンクリートは硫化水素の発生抑制に有効であり，硫化水素の抑制効果が実証された。
- ・硫化水素の主な抑制メカニズムは電子放出菌による生物学的酸化の寄与が大きい。
- ・導電性コンクリートへの電子放出菌の植菌により硫化水素は低減され，硫化水素が電子放出菌により生物学的に酸化されていることを確認した。
- ・導電性コンクリートによる電子伝達経路の提供により，電子放出菌の集積が確認された。
- ・新規導電性コンクリートによる硫化水素の低減効果では，サンアース(市販の導電性コンクリート)より，アセチレンブラック 10 wt.%，マグネタイト 50 wt.%の配合により硫化水素の低減効果が促進された。

#### 今後の課題

本研究により，硫化水素の抑制に導電性コンクリートが有効であることが分かり，その主な抑制メカニズムを検討すると，電子放出菌による生物学的酸化による寄与が大きいことが分かった。そして，導電性コンクリートによる電子伝達経路の提供によりコンクリート近傍付近に電子放出菌の集積が確認され，硫化水素の低減効果に関与していることが示唆された。また，電子放出菌による生物学的酸化を酸化する新規導電性コンクリートの開発及び，硫化水素の低減効果の評価では，新たな導電性物質としてマグネタイト，アセチレンブラックの2種類が低減効果が市販の導電性コンクリートよりも高い導電性，低減効果を示した。今後の課題としては，実用化に向けて本研究で開発した新規導電性コンクリートの強度の測定，製造コストの試算，硫化水素の低減メカニズムに基づくより安価で高い低減効果を示す新たな導電性材料の探索，実際の下水を用いた長期間の実証実験が挙げられる。

## 謝辞

本研究を博士論文として執筆するにあたり、数多くの方のご協力に対する感謝の気持ちと御礼を申し上げたく、ここに謝辞とかえさせていただきます。

指導教官である山口大学 大学院 創成科学研究科 環境共生系専攻 今井剛教授には、私が研究室へ配属した頃にわたり研究の基礎的な技術や考え方に関する多数のご指導を賜りました。水環境工学に関する基礎から応用まで、広い視野からのご意見をいただきました。また、実験結果が思うようにいかないときや大きな挫折に直面した時も、あたたかいご指導と激励を賜りました。右も左も分からなかった私を、ここまで導いていただき、心より深く感謝申し上げます。今後もこれらの経験を生かし、精一杯励んで参る所存です。

山口大学 大学院 創成科学研究科 環境共生系専攻 関根雅彦教授，山口大学 大学院 創成科学研究科 環境共生系専攻 新苗正和教授，山口大学 大学院 創成科学研究科 環境共生系専攻 樋口隆哉教授，山口大学 大学院 創成科学研究科 環境共生系専攻 鈴木祐麻准教授には副査として学位論文審査において貴重なお時間をいただき、ご助言、ご指導をいただきました。心より感謝いたします。

共同研究企業の TNK 水道コンサルタント(株) 田中修司様，中川ヒューム管工業(株)人見隆様，佐久間啓様には研究するにあたり協力して頂き，深く感謝申し上げます。

群馬大学 大学院 理工学府 物質・環境類 渡邊智秀教授，群馬大学 大学院 理工学府 物質・環境類 窪田恵一助教授には，私が博士後期課程へ進学後，微生物燃料電池，電気化学測定手法に関しましてのご教授をしていただき，心より感謝申し上げます。

タイ，Thaksin 大学 Kanathip Promnuan (Mo さん)には，ゲノム解析において特にご指導賜りました。また，微生物の培養方法に関しましてご教授をして頂きましたことを心より感謝申し上げます。

本研究のとりまとめにあたって，終始懇切丁寧に数多くのご指導と常に温かい励ましをいただきました山口大学 大学院 創成科学研究科 環境共生系専攻 環境衛生工学研究室の関根雅彦教授，樋口隆哉教授，山本浩一准教授，神野有生准教授には心から感謝申し上げます。

私が在籍いたしました環境計画学研究室の皆様には数多くの意見やサポートをしていただきました。特に大学院 修士課程での同期の佐伯英哉さん(2019 年度修了)，本橋陸さん(2019 年修了)，ともに研究を行ったタイの留学生 Dr. WARUNNYUWONG PASSAWORN (Art さん)，修士課程の竹内彩結実さん，前野純一さん，学部生の安井美智(2020 年度卒業)さんには大変お世話になりました。心より感謝申し上げるとともに，皆様のこれからのご活躍を心よりお祈り申し上げます。

研究活動・執筆活動を陰で支えてくれた家族により心より感謝申し上げます。

最後になりますが，研究を進めるにあたりご支援ご協力を頂きながらここにお名前を記すことができなかった多くの方々に心より感謝申し上げます。