#### 研究成果報告書 科学研究費助成事業

今和 4 年 6 月 10 日現在

機関番号: 32665

研究種目: 基盤研究(C)(一般)

研究期間: 2019~2021

課題番号: 19K04672

研究課題名(和文)堆積物微生物燃料電池の害虫抑制機構及び金属溶離機構の解明と応用

研究課題名(英文)Elucidation of mechanism of suppressing occurrence of Psychodidae by sediment microbial fuel cells

研究代表者

中野 和典 (NAKANO, Kazunori)

日本大学・工学部・教授

研究者番号:30292519

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 3.300.000円

研究成果の概要(和文):本研究では下水汚泥の脱水と発電を同時に行う堆積物燃料電池において観察された不快害虫であるチョウバエの発生が抑制される現象の解明を試みた。その機構として下水汚泥に含まれる鉄等の金属が発電条件下で遊離してチョウバエの卵が孵化する段階を抑制することにより起きていることが浮き彫りとなった。一方、導電性が低い場所にチョウバエが産卵できる環境では、発電条件下でもチョウバエの発生が抑制さ れないことが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義 堆積物微生物燃料電池をチョウバエのような害虫の抑制に活用した事例はなく、ミリボルトレベルの微弱な電気 で害虫を抑制する手法の報告例も見当たらない。本研究成果は、微生物燃料電池の応用性を広げ、薬剤に頼らない新しい害虫抑制手法の可能性を提案するものであり、下水汚泥に限らず有機物と金属を含有する様々な環境に おいて薬剤を使用せずに害虫を抑制する可能性を明らかにした点に意義がある。

研究成果の概要(英文): In this study, the mechanism of suppressing occurrence of Psychodidae by sediment microbial fuel cells was elucidated. The results revealed that metal components included in sewage sludge were ionized and released with generating electricity by sediment microbial fuel cells. Since it was found that some of metal components affect hatching process of Psychodidae, the phenomenon of suppressing occurrence of Psychodidae is likely caused by metal release from sewage sludge used for fuel in sediment microbial fuel cells. This phenomenon would be applicable at environment where Psychodidae spawns and metal release with generating electricity by sediment microbial fuel cells occurs.

研究分野: 環境生態工学

キーワード: 害虫発生抑制 チョウバエ 堆積物燃料電池 下水汚泥 金属

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等に ついては、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

#### 1.研究開始当初の背景

下水汚泥は不快害虫であるチョウバエの卵を含むことが多く、チョウバエの発生源になる。しかし、下水汚泥を燃料源とした堆積物燃料電池において、発電が起きている期間はチョウバエが発生しない。一方、堆積物燃料電池による発電を中止するとチョウバエが発生する(図-1)。本研究計画は、このようなチョウバエの発生が堆積物燃料電池の発電時に抑制される現象に基づいたものである。

本研究における学術的「問い」は、「堆積物燃料電池では、なぜ生命力が強いチョウバエの発生が抑制されるのか?」である。ミリボルトレベルの微弱な電気条件での殺虫・防虫の報告例はなく、そのような微弱な電気による抑制効果は、数百ボルトの高電圧による電気ショックを利用する電撃殺虫とは対照的であり、新しい殺虫・防虫機構を秘めている。

一方、発電と同時に脱水処理を行うタイプのろ過濃縮型の堆積物燃料電池において、下水汚泥からの金属の溶離が生じていることが分かっている。溶離した金属の中に銅、亜鉛、鉛等の細胞毒性を有する金属が含まれているとすれば、本研究の学術的「問い」に対する答えのひとつとして、「下水汚泥に含まれる金属が脱水と発電に伴って溶離することで生体毒性を発揮し、チョウバエの発生を抑制している」という仮説が考えられる。

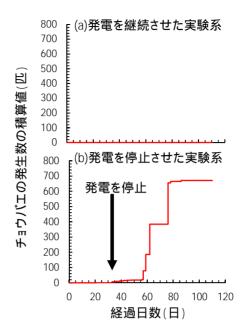


図-1 下水汚泥を燃料源とした微生物燃料電池におけるチョウバエ発生数の比較。発電を継続させた条件(a)ではチョウバエの発生が抑制されるのに対し、発電を途中で停止した条件(b)ではチョウバエが発生した。

以上の背景により本研究では、下水汚泥の脱水と発電を同時に行うろ過濃縮型の堆積物燃料電池において観察されるチョウバエの発生抑制現象と下水汚泥中の金属の関係を解明することを目指した。

#### 2.研究の目的

下水汚泥の脱水処理と発電を同時に行う堆積物燃料電池で見出されたチョウバエの発生抑制 現象と、ろ過濃縮型の堆積物燃料電池で確認された下水汚泥からの金属溶離現象に基づき、堆積

物燃料電池を応用した薬剤フリー防虫法の確立を目指すとともに、その学理を究明することが本研究の目的である。

# 3.研究の方法

(1)堆積物燃料電池のチョウバエ抑制作用に 及ぼす金属の効果の検証

下水汚泥には金属が含まれるため、特定の 金属の効果を評価する際には障害となる。 そ

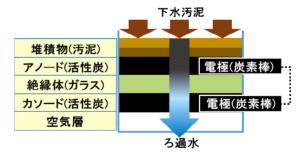


図-2 ろ過濃縮型の堆積物燃料電池の概要

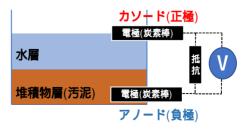


図-3 通常の堆積物燃料電池の概要

のような元来下水汚泥に含まれている 金属の影響を低減するため、下水汚泥は 10 倍希釈して使用することにした。希釈 により発電に必要な有機物は不足する。 そこで有機物不足を補うため、ミートペ プトンとグルコースをそれぞれ 0.7g/L 含む人工排水を下水汚泥の 10 倍希釈に 用い、所定条件の金属成分を添加した条 件でチョウバエ抑制試験を実施した。

チョウバエ抑制試験の手順を図-4 に示す。扱いが容易な蛹を堆積物微生物燃料電池に投入して発電が生じない開回路条件下でチョウバエを発生させ、チョウバエが産卵するまでを条件調整期間とした。1 世代目のチョウバエの産卵を確認後の2世代目のチョウバエの発生の有無によりチョウバエ抑制効果を判定した。

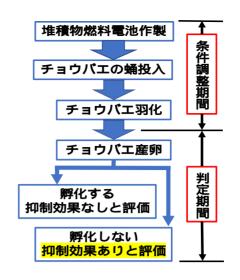


図-4 チョウバエ抑制試験の手順と抑制効果の判定

### (2) 下水汚泥を使用しない堆積物燃料電池を用いたチョウバエ抑制作用機構の検証

希釈した下水汚泥でも微量な金属が含まれるため、金属の影響を排除したことにはならない。チョウバエ抑制作用への発電による影響と金属による影響を区別するには、下水汚泥を含まない系でそれぞれの効果を検証する必要がある。

そこで下水汚泥に代わるチョウバエの餌として生酵母、酵母を母体とした飼料(テトラミンベビー)及び乾燥酵母を母体とした薬剤(エビオス)でチョウバエの完全培養を試みる実験を行い、下水汚泥に代わるチョウバエの餌を選定した。

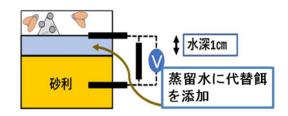


図-5 下水汚泥を使用しない堆積物燃料電池による チョウバエ抑制作用試験系の概要

下水汚泥を含まない系で堆積物燃料電池のチョウバエ抑制作用を検証するためには、下水汚泥に代わるチョウバエの餌を燃料源として安定した発電を生じさせる必要がある。そこで下水汚泥に代わるチョウバエの餌候補とした生酵母、テトラミンベビー及びエビオスを使用した発電試験を行い、上記試験の結果と併せて下水汚泥に代わる燃料源を選定した。

上記の下水汚泥代替材の選定実験を経て、下水汚泥を使用しない堆積物燃料電池によるチョウバエ抑制作用試験系を確立した。その概要を図-5 に示す。水深がチョウバエの生育に適した約 1cm になるように砂利を敷き詰め、チョウバエの産卵場所となるろ紙を設置した。負極の炭素棒の位置は砂利中とし、正極の炭素棒の位置は水面とした。発電のない開回路と発電のある閉回路の2系列の装置を準備し、閉回路の系では 1M オームの抵抗とつなぎ、データロガーで 30分毎に電圧を記録した。それぞれの装置にチョウバエの幼虫15匹を投入し、上記で選定した餌と所定濃度の金属を与え、チョウバエの生態状況を観察し、図-4 に示す手順に従いチョウバエ抑制効果を判定した。

## 4. 研究成果

(1) 堆積物燃料電池のチョウバエ抑制 作用に及ぼす金属の効果の検証

下水汚泥に含まれる金属の中で鉄の含量が最も高いことから添加する金属として鉄を選択し、金属がチョウバエ抑制作用に及ぼす効果を検証した。4系列(開回路 Fe³+添加、閉回路纤無添加、閉回路 Fe²+添加、閉回路 Fe²+添加)の堆積物燃料電池を作製し、鉄添加系では鉄濃度を 100mg/L(0.370mM)とし、チョウバエの蛹をそれぞれ 5 匹ずつ投入して発生抑制試験を実施した。電圧が発生しない開回路 Fe³+添加系を

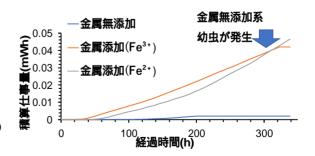


図-6 鉄を添加した堆積物燃料電池における発電 経過とチョウバエ発生との関係

除く 3 系列で得られた発電量 (積算仕事量 )を図-6 に示す。鉄添加系では鉄の価数の違いに関わらず積算仕事量は 300h で 0.04mWh に達し、チョウバエの発生は抑制された。これに対し開回路  $Fe^{3+}$ 添加系では、試験開始後 250h で孵化した幼虫が確認され、同濃度の鉄が存在していても発

電が伴っていなければ抑制効果は発揮されないことが明らかになった。一方、閉回路鉄無添加系では発電が継続せず、電圧が低下し310hに幼虫の発生が確認された。したがって、鉄無添加条件でも発電中は抑制効果が得られるが、金属濃度が低いと発電は持続せずチョウバエ抑制効果も持続しないことが示唆された。鉄の存在は発電性能に直接的な影響を与え、チョウバエの発生抑制には間接的な影響を与えていることが示された。

下水汚泥に含まれる金属の中で鉄に次いで濃度の高い金属を 5 種類選択し、金属がチョウバエ抑制作用に及ぼす効果を検証した。閉回路とした堆積物燃料電池を 6 系列作製し、それぞれ異なる 6 種類の金属 (Fe、Cu、Zn、Ni、Cr、Na)を 5mM となるように添加し、チョウバエの蛹をそれぞれ 4 匹ずつ投入して発生抑制試験を実施した。800h で得られた積算仕事量を図-7 に示す。

Fe 添加系では積算仕事量が 0.12mWh に達しチョウバエの発生が抑制された。Cu、Zn、Ni、Cr 添加系での積算仕事量は 0.01mWh に過ぎず低い値であったが、チョウバエの発生は抑制された。これに対し、Na 添加系では発電は持続せず 500h に幼虫の発生が確認された。Cu、Zn、Ni、Cr 添加系は、Fe 添加系と異なり発電性能は低く積算仕事量も低いが、抑制効果を確認よりも事量も低いが、抑制効果を確認よりも響によってチョウバエ抑制作用を与えている可能性が示された。

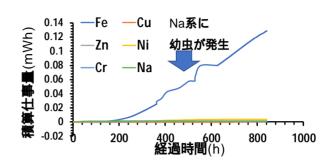


図-7 異なる金属種を添加した堆積物燃料電池に おける発電経過とチョウバエ発生との関係

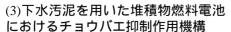
# (2)下水汚泥を使用しない堆積物燃料電池を用いたチョウバエ抑制作用機構の検証

下水汚泥に代わるチョウバエの餌として生酵母、テトラミンベビー及びエビオスでチョウバエの培養を試みた結果、生酵母を餌とした場合には、チョウバエは5日以内に死滅した。これに対しテトラミンベビー及びエビオスを餌とした場合には、2世代目のチョウバエの成虫が60匹ほど確認できた。餌を追加すると3世代、4世代目のチョウバエも確認できたことから、チョウバエのライフサイクルの評価が可能な完全培養系を確立することができた。

一方、汚泥に代わる堆積物燃料電池の燃料として使用した生酵母、テトラミンベビー及びエビオスのすべてで発電を確認することができた。中でもエビオスを燃料とした場合に安定した発電が得られたため、以後の下水汚泥を含まない系での堆積物燃料電池のチョウバエ抑制作用試験系では、エビオスを使用することとした。

エビオスを燃料源かつチョウバエの餌として使用した堆積物燃料電池により、チョウバエ抑制作用への発電の効果を検証した結果を図-8 に示す。開回路と閉回路のどちらの回路でもチョウバエの発生が3世代以上継続する結果となった。閉回路では発電が生じていたことから、金属を含まない条件下では、発電条件下でもチョウバエ抑制作用が働かないことが明らかとなった。

上記の結果より、発電がチョウバエ 抑制作用に直接的な影響を与えてい ない可能性が示されたことから、改 めて鉄の濃度とチョウバエ抑制作用 の関係をより低濃度条件で検証した ところ、5 及び 0.5mM の 2 条件にお いてチョウバエの蛹の羽化は確認で きたが、孵化や幼虫の蛹化は確認で きなかった。0.1mM の条件ではチョ ウバエの継代が確認できたことか ら、発電がなくても 0.5mM 以上の鉄 が存在するとチョウバエの抑制作用 が働くことが明らかとなった。さら に、鉄はチョウバエのライフサイク ルの中で卵と幼虫に影響を与えるこ とが明らかとなった。



(1)(2)の研究成果から、堆積物燃料電池の燃料源やチョウバエの生育

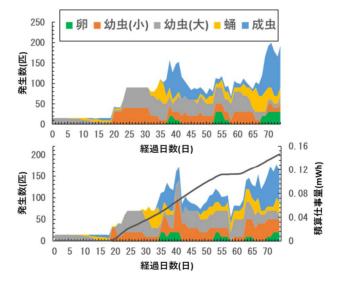


図-8 下水汚泥を含まない堆積物燃料電池における 発電経過とチョウバエ発生との関係

環境によってチョウバエ抑制作用が異なることが明らかとなった。(1) の検証実験ではチョウバエの産卵は下水汚泥中であったのに対し、(2) の検証実験では導電性の低いろ紙上であった。つまり発電の影響を受けない環境でチョウバエが産卵した場合には抑制作用が働かないことが明らかとなった。さらに(2) の検証実験により、発電の有無に関わらず 0.5mM の鉄濃度でチョウ

バエの発生が抑制されることが明らかとなった。これらの結果を総合すると、ろ過濃縮型の堆積物燃料電池では発電条件下で汚泥中の金属の溶離が生じ、例えば鉄であれば、0.5mM 程度の濃度で鉄が溶離するとチョウバエの卵の孵化が抑制されるが、発電がない条件下では鉄が溶離せず、孵化の抑制作用がなくなるといった作用機構が浮き彫りとなった。

#### 5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

4 . 発表年 2021年

(兴人少丰)	計3件(うち切待護演	0件 / 5 七国欧兴人	0/4- >

【子芸完衣】 aT3件(つら指付講演 U件/つら国際子芸 U件 <i>)</i>
1.発表者名
矢部一大、中野和典
2 . 発表標題
堆積物燃料電池のチョウバエ抑制作用機構の検証
3 . 学会等名
一 令和2年度土木学会東北支部技術研究発表会

1	. 発表者名
	井上 敬太、中野和典
2	. 発表標題
	<b>佳積物燃料電池に添加する金属が発電性能に与える影響</b>

- 3.学会等名 令和元年度土木学会東北支部技術研究発表会
- 4 . 発表年 2020年
- 1.発表者名 菊池 宏明、中野和典
- 2 . 発表標題 堆積物燃料電池によるチョウバエ抑制作用に及ぼす金属の効果
- 3 . 学会等名 令和元年度土木学会東北支部技術研究発表会
- 4 . 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計0件

〔取得〕 計1件

産業財産権の名称	発明者	権利者
生物発生抑制装置	中野和典	日本大学
産業財産権の種類、番号	取得年	国内・外国の別
特許、第7025752号	2022年	国内

〔その他〕

6.研究組織

٠.	• H/1 / UNIL MICK		
	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

# 7.科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------