

令和 5 年 6 月 26 日現在

機関番号：12301

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20H03096

研究課題名（和文）生物学的電気化学技術を利用した汚染底質の改善メカニズムの解明とその応用技術の創成

研究課題名（英文）Investigation of remediation characteristics of pollutant sediment using bioelectrochemical systems and construction of these application technologies

研究代表者

窪田 恵一（KUBOTA, Keiichi）

群馬大学・大学院理工学府・助教

研究者番号：50707510

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,800,000円

研究成果の概要（和文）：本研究は、生物電気科学技術による新規の底質改善環境技術の確立に向けて、堆積物微生物燃料電池による底質改善メカニズムの解明とともに底質性状の違いによる性能への影響などの検討を行った。結果として、生物電気化学技術による底質改善では、底質に存在する鉄が酸化形態に変化するという無機的な変化が生じることで、栄養塩類の溶出抑制が生じている可能性が示唆された。また、堆積物微生物燃料電池の性能は底質性状に大きく左右され、特に汚濁が進んでいる底質ではアノード周辺で発電微生物の存在割合が大きく増加しており電極表面での電子授受が活発化することで底質改善効果が発揮される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

本研究では、堆積物微生物燃料電池の適用によって、有機体窒素の分解とともにアンモニアの酸化が生じることで底質内の窒素除去が促進されることや底質内の鉄形態の変化など底質内部で生じる詳細を明らかにし、実環境での実証も行った。これらの知見は堆積物微生物燃料電池ひいては生物電気科学技術の底質改善技術としての利用の実現性を示したことに社会的意義がある。また、本研究は底質のような湿潤系の環境サンプルに対して透過法での放射光分析を適用した。これは放射光分析の適用範囲拡大に寄与する学術的意義も有する。

研究成果の概要（英文）：This research revealed the sediment bioremediation characteristics of sediment microbial fuel cells as bioelectrochemical technology and investigated the effect of the difference in sediment characteristics on its performance. As a result, by applying the bioelectrochemical technology in the sediment, the iron contained in the sediment is changed into a more oxidation form so that it might contribute to suppressing nutrient release from sediment into the water. Sediment composition, such as the concentration of organic matter and Fe, significantly affects the performance of sediment microbial fuel cells. Especially in high organic matter containing sediment, electrogenic bacteria was increased around the anode electrode.

研究分野：水環境工学

キーワード：堆積物微生物燃料電池 底質改善 放射光分析

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

閉鎖性が高い湖沼・海洋では、環境負荷の上昇によってアオコや赤潮などが頻繁に発生し、結果として底質に多量の汚濁物質が供給されている。これにより底層周辺では溶存酸素が枯渇する貧酸素水塊が夏場に形成し、硫化水素の生成など底生生物に多大な悪影響が生じている。また、汚染底質内の汚濁物質が水中へと回帰(再溶出)することで生じる負荷によりアオコや赤潮の発生が促進され、更なる汚濁物質が底質へと供給される悪循環が生じている。閉鎖性水域の環境改善には、この汚染底質に対する対策が必要不可欠であり、底質の汚染状況を改善し、再溶出などの悪循環を断ち切ることが可能な底質改善技術が必要である。

2. 研究の目的

堆積物微生物燃料電池 (SMFC : Sediment Microbial Fuel Cell) は、底質中に存在する発電微生物を利用することで汚染底質の改善とともに電気として環境中からエネルギーが回収可能な技術である。SMFC の適用により、底質環境では通常環境に比べて様々な変化が生じることが報告されており、結果として様々な底質改善効果をもたらす、閉鎖性水域での内部負荷の低減に寄与することが期待されている。これまでに、底質内の窒素やリンの水中への再溶出の抑制や底質内での硫化水素濃度の抑制といった効果が確認されているが、実際に底質内部で生じている変化の詳細やそのメカニズムは未解明のままであり、実用化における障害になっている。

本研究は SMFC の底質改善技術としての実用化を目的として、(1) 底質性状の違いが SMFC の諸性能に及ぼす影響と(2) アノード近傍の底質内部で起きる種々の変化の解明の把握を行い、SMFC の底質改善メカニズムとその効果の見積もりを試みた。また、(3) SMFC のスケールアップに伴う性能への影響の把握を行った。

3. 研究の方法

(1) 底質性状の違いが SMFC の諸性能に及ぼす影響

実験装置概要

底質性状が SMFC の底質改善並びに発電性能に与える影響を把握することを目的として、性状の異なる底質を北関東圏内の湖沼(底質 T、底質 M、底質 K)より採取し、それぞれ SMFC を構築した。その初期性状を表 1 に示した。いずれの底質も酸化還元電位 (ORP) は低く嫌気的な底質であり、特に底質 M は強熱減量 (IL) や炭素量 (C) が他の底質に比べ高く、有機物濃度が高い底質であった。

実験に使用した SMFC を図 1 に示した。長さ 94 mm × 奥行き 96 mm × 高さ 198 mm の直方体のアクリル容器を用い、上記の底質を深さ 80 mm になるように、水深 90 mm となるように直上水をそれぞれ充填した。直上水には、大学周辺の河川より採取し濾過した河川水を使用した。アノードは 80 × 90 mm のカーボンフェルトを使用し、アノードからの距離の影響を把握するため、装置の 1 側面に接するように 1 枚、底質に埋設した。カソードは、50 × 90 mm のカーボンフェルトを用い、一部が水面から露出するように 6 枚、並列に設置した。アノード近傍での底質内の水質変化を把握するために、底質部分には間隙水採水孔を設置した。採水位置はアノードからの水平距離および底質表層からの深さの異なる 4 箇所とした。外部抵抗は 1,000 Ω を接続し、25 °C に制御された恒温槽内で運転を行った。また、SMFC の発電の有無による影響を評価するため、同形状で電気回路の接続を行なわない対照系もそれぞれの底質で同時に運転した。

分析・評価方法

SMFC は、電位差を 30 分おきにデータロガーで記録した。間隙水採水孔より定期的に間隙水を採水し、溶存態の全有機態炭素 (DOC) や全窒素 (DTN)、陰イオン (NO_3^- 、 NO_2^- 、 PO_4^{3-} 、 SO_4^{2-})、アンモニウムイオン (NH_4^+) を測定した。それぞれの水質の経時変化より底質ごとの底質改善効果への影響ならびにアノードからの距離による影響を評価した。

底質改善試験終了後の底質に対して、強熱減量 (VS/TS) の測定と、底質中の鉄形態について放射光分析 (XAFS (X-ray absorption fine structure) 測定) を行った。測定は、KEK 物質構造科学研究所フォトンファクトリー BL-12C および BL-9C で実施し、透過法にて Fe の K 吸収端の XAFS スペクトルを測定した。得られたスペクトルの解析には XAFS スペクトル解析ソフトウェアの Athena を使用した。SMFC と開回路系のスペクトルの違いより、鉄形態の変化を評価するとともに、標準試料との比較により鉄形態の推定を行った。また、試験終了後のアノードから

表 1: 各底質の初期性状

	ORP [mV]	IL [%]	C [%]	N [%]	Fe [mg/g]
底質 T	-230	7.3	2.7	0.34	60.1
底質 M	-210	12.8	6.5	0.52	34.7
底質 K	-160	8.0	3.3	0.38	53.6

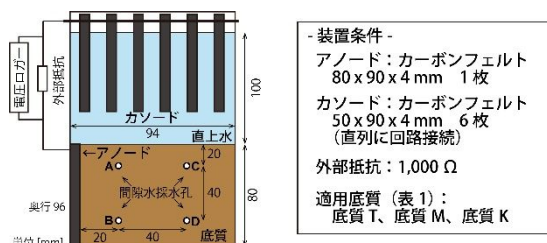


図 1: SMFC 装置の概要

DNA を抽出し 16S rRNA 遺伝子を標的とした次世代シーケンスによる菌相解析を行った。

(2) アノード近傍の底質内部で起きる種々の変化の解明

実験装置概要

電極からの距離に応じた間隙水水質の変化は、(1)の装置の間隙水の水質変化より検討を行った。また、この装置とは別に、微小電極による底質表面のイオンの変化を把握することを目的として、全容積 0.8L の SMFC 装置を作製した。底質には関東圏で採泥した底質を用い、直上水には大学周辺の河川水を濾過したものを使用した。底質が高さ 70 mm、直上水が高さ 100 mm となるように充填した。アノードは表面積が 54 cm² のカーボンフェルトを 2 枚使用し、装置の両側面にそれぞれ設置した。カソードは表面積が 45 cm² のカーボンフェルトを 4 枚使用し、その一部が露出するように直上水中設置した。アノードとカソードは、チタン線により 1,000 Ω の外部抵抗と接続し運転を行った。また、対照系として閉回路と同形状で回路接続を行わない開回路条件の運転も行った。各装置は恒温槽を用いて 25 °C の暗所にて運転を行った。

分析・評価方法

微小電極による測定は、微小電極測定用の SMFC 装置の運転開始から約 12 週目に行った。微小電極の測定には Satoh ら (Satoh *et al.*, (2017) *Analytical Sciences*, 33, 825-830.) の方法により作製した HPO₄²⁻ センサーと Unisense 社の pH センサーで、底質表面から 24 mm 深さまで測定を行った。pH の値より、HPO₄²⁻ センサーの結果を補正して PO₄³⁻ 濃度の算出を行った。

(3) SMFC のスケールアップに伴う性能への影響

実験装置概要

SMFC のスケールアップによる性能への影響を把握することを目的として、実環境に SMFC を設置した。大学周辺の淡水系の湖沼に約 5 ヶ月間設置した。アノードは 500 x 500 mm のカーボンフェルトを用い、現地底質に直接埋設した。カソードは合計の表面積が 5,400 cm² のカーボンフェルトを塩ビパイプに巻き付けて水面上に浮かぶように設置した。カソードは流出しないように固定した。外部抵抗は開始時は 1,000 Ω を接続し、途中 249 Ω に変更した。比較のため、アノードと同じ寸法のカーボンフェルトを埋設し、対象系として底質内の水質変化を評価した。また発生した電力の回収を目的として、並列接続したコンデンサへの蓄電を試みた。使用したコンデンサは、2.5 V 1 F の電気二重層コンデンサを 8 個用いた。

分析・評価方法

SMFC は、電位差を 30 分おきにデータロガーで記録した。また、分極曲線の作成を行い、得られた結果より、最大電力密度や内部抵抗、開回路電圧の算出を行った。定期的の間隙水を採水し、溶存態の全有機態炭素 (DOC) や全窒素 (DTN)、陰イオン (NO₃⁻、NO₂⁻、PO₄³⁻、SO₄²⁻)、アンモニウムイオン (NH₄⁺) を測定した。SMFC と対象系の底質間隙水の水質変化より底質改善効果の評価を行った。コンデンサへの蓄電は、電圧計を用いてコンデンサの電圧を計測することでを行い、0.4 V 付近までの蓄電時間の計測を行った。

4. 研究成果

(1) アノード近傍で生じる変化と底質性状による影響の把握

発電性能の変化

図 2 に 150 日目までの各 SMFC の電位差の経時変化を示した。底質ごとに傾向が大きく異なり、底質 T が最も早く電位の上昇が観察された。最も有機物濃度が高かった底質 M は電位の上昇は緩やかであり、実験開始より 60 日目以降に約 210 mV を発揮した。SMFC の電位の上昇速度は、底質の汚濁状況が高いほど速くなる傾向にあることが報告されているが、本結果では異なった。底質 T は、鉄濃度が高く、鉄還元細菌の様な発電微生物の活性が上昇しやすく発電が早期に観察された可能性が示唆された。いずれの条件においてもある日にちで電位差のピークを發揮し、その後徐々に減少していく傾向にあった。

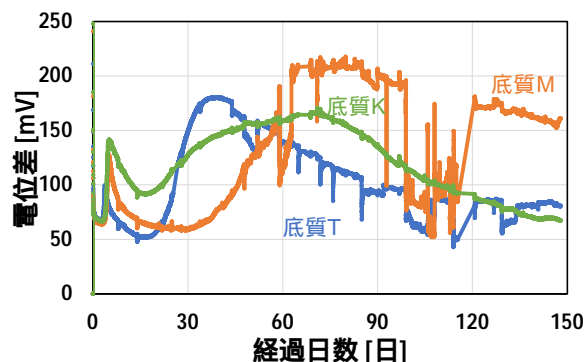


図 2：電位差の経時変化

底質改善効果

図 3 に底質間隙水の DOC 濃度と DTN 濃度、NH₄ 濃度の経時変化を示した。なお、今回は代表値としてアノードから水平距離で 20 mm、底質表面より 40 mm の位置の間隙水採水孔より採取した間隙水の水質を示した。間隙水中の DOC 濃度は、SMFC を適用することで対照系よりも若干低下しており、有機物分解促進効果がいずれの底質でも得られることを確認した。特に底質 M ではその減少量が大きく、特に 90 日目以降でその傾向が顕著であった。間隙水中の DTN や NH₄ 濃度も同様に、SMFC を適用することで減少傾向にあり、底質のような嫌気的な環境下においても窒素除去が可能であった。特に DTN や NH₄ に関しては、SMFC の発電性能が大きく上昇

したタイミングで対照系に対する濃度減少が開始した傾向が見られ、発電が深く寄与していることが示唆された。特に底質 M の SMFC 系では 60 日目付近から大きな DTN の減少が確認された。またこのとき、NH₄ の濃度に大きな変化はなく、有機態窒素が減少していた。これに対し対象系では、有機態窒素の減少とともに NH₄ 濃度が増加していた。このことより SMFC 系では間隙水中の有機態窒素の分解による NH₄ の生成と NH₄ 分解の分解が平衡しており、結果として DTN 濃度の減少が生じたと考えられ、底質内部のような嫌気的環境においてもアンモニア酸化が生じていると考えられた。間隙水中のリン酸は、底質 T の開回路系でわずかに観察されたものの、それ以外の条件ではほとんど観察されなかった。

SMFC 適用による間隙水中の DOC や DTN、NH₄ の減少は、間隙水中の濃度が高かった底質 M で最も高かった。このことから SMFC の底質改善効果は濃度依存性があることが考えられ、これら汚濁成分の間隙水中濃度が高い底質、すなわち汚濁の程度が高い底質ほど SMFC による底質改善効果が得られることが示唆された。

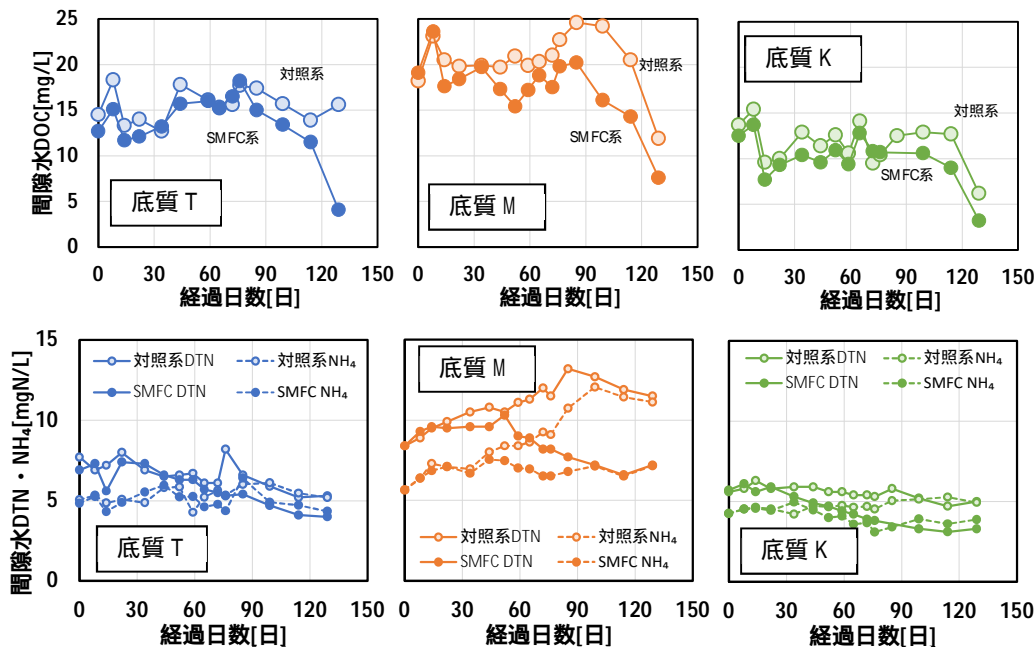


図 3：底質間隙水の水質の経時変化（上：DOC 濃度、下：DTN および NH₄ 濃度）

アノード周辺の各種イオンの変化の解明

底質 M の SMFC 系で DTN の減少が始まった実験開始から 59 日目の間隙水分析では、SMFC 系において、電極に近いところ（20 mm）では、対象系に比べて DTN 濃度が低くなるのが観察されたが、電極より 60 mm 離れた地点では、逆に DTN 濃度が増加する傾向にあった。実験を継続した 129 日目では、電極からの距離によらず DTN 濃度が対象系より小さくなることを観察したが、減少量はアノードに近い 20 mm 地点で低かった。59 日目では、電極近傍ではアンモニアの分解が、遠方では SMFC 適用による固形性の有機物の分解による DTN の生成が生じていた可能性が示唆された。一方、129 日目では電極からの距離によらず DTN の分解が優先し、特に電極近傍で分解速度が高い可能性が示唆された。このことより、SMFC 適用時には、最初 DTN 濃度の生成が行われ、その後 DTN 分解が開始すると考えられ、その効果は電極近傍より生じ、周囲に及ぶ可能性が示唆された。硫酸塩濃度は、電極近傍にて一時的に増加することが確認された。この増加時期は SMFC の発電性能がピークに達する前後で生じており、発電との関連性が示唆された。発電のピーク後は、硫酸塩濃度は再び減少に転じていた。

微小電極により測定した底質表層での PO₄³⁻濃度の変化は、対象系では底質表面付近および 15 mm より深い所で PO₄³⁻濃度が増加するといった傾向が見られたが、SMFC 系では表層付近の PO₄³⁻濃度は今回測定した範囲（表層～25 mm）では全体的に濃度が低くなっており、特に表面付近でほぼリン酸濃度はゼロとなっていた。表面付近のリン酸濃度の大幅な減少が直上水中への PO₄³⁻の溶出抑制に寄与している可能性が示唆された。

微生物菌相の変化

表 2 に、SMFC 系と開回路系との間で大きく存在割合が異なった代表的な微生物群を示した（門レベル）。底質 K と底質 M では SMFC 適用の有無によって菌相が特に大きく変化しており、SMFC を適用することで古細菌の割合が大幅に増加していた。これらはメタン酸化脱窒細菌である可能性が示唆されており、底質 M と K で間隙水の窒素成分の除去にこれらの微生物が深く関与している可能性が示唆された。一方で、底質 T では Nitrospirota 門の割合が対照系である開回路系に比べ大きく増加していた。Nitrospirota 門は亜硝酸酸化細菌が多く属する門であり底質 T では SMFC の適用により亜硝酸の生成が促進された可能性が示唆された。一方で、底質 K や M では Nitrospirota 門は、SMFC 適用時に開回路条件に比べ存在割合が減少していたことから、底

質 T では他の底質に比べて窒素除去のメカニズムが異なる可能性が示唆された。また、底質 T では Desulfobacterota 門は、底質 K、M では開回路系に比べ SMFC では開回路系と比べ、その割合が非常に低かったものの、底質 T では SMFC 系、開回路系でほとんど変らなかった。Desulfobacterota 門は、硫酸塩還元細菌が属する門であり、底質 T では、SMFC 系でも硫酸塩還元反応が活発に生じていた可能性が示唆された。

表 2：各底質の SMFC、開回路間で割合が大きく異なった微生物群（門レベル）

門	底質T	底質T	底質M	底質M	底質K	底質K
	開回路	SMFC	開回路	SMFC	開回路	SMFC
Gammaproteobacteria (Proteobacteria)	11.17	<u>7.77</u>	12.99	<u>2.53</u>	9.36	<u>3.27</u>
Desulfobacterota	10.86	10.95	17.27	<u>4.80</u>	11.07	<u>2.31</u>
Nitrospirota	7.69	11.39	6.02	<u>4.42</u>	5.19	<u>2.95</u>
Acidobacteriota	5.24	4.67	4.37	5.86	6.64	<u>3.50</u>
Patescibacteria	1.89	2.43	1.32	7.24	0.85	9.50
Firmicutes	2.47	2.21	2.22	1.87	19.71	<u>12.89</u>
Halobacterota (Archaea)	1.94	1.73	0.73	23.63	1.84	33.66

※SMFC系では、開回路の存在割合に対して8割以下だったものに下線を、1.2倍以上となったものを強調表示とした

底質内の鉄形態の変化

表 3 に各底質の Fe の K 吸収端の XANES 領域での SMFC 系と開回路系間の相違性(R ファクター)を示した。R ファクターは二つのスペクトルの差異を評価するもので、この値が高いほど、両者間で異なる形態で鉄が存在していることを示唆している。結果として底質中の鉄含有量が多いものほど R-factor が高くなる傾向にあったが、底質 T では特に高い値となっており、SMFC による鉄形態への影響が大きいことが示唆された。この要因として、微生物菌相において、他の底質では古細菌の割合が大幅に増加していたのに対し、底質 T ではその傾向が全くなかったことから微生物菌相がこれら鉄形態の変化に影響を与えていた可能性が示唆された。

表 3：放射光分析による SMFC と開回路系の比較

	R-factor [-]
底質T	0.268
底質M	0.015
底質K	0.050

また、得られた波形について、標準物質との波形とフィッティングを行い、各試料中の存在する鉄形態の推定を行ったところ、SMFC を適用した条件では、FeO(OH)の存在割合が高くなる傾向があり、特に底質 T では 4 割近くが FeO(OH)の形態で存在している可能性が示唆された。FeO(OH)は、リン酸を吸着しやすいことが報告されており、これが水中へのリンの溶出を抑制可能としたことが示唆された。しかしながら今回、完全なフィッティングには至っておらず、さらなる標準物質のスペクトルデータの収集が必要であった。

(2) SMFC のスケールアップに伴う性能への影響

スケールアップ化した SMFC では、最大電力密度約 2 mW/m² (アノード面積あたり)、内部抵抗約 250 Ω、開回路電圧約 750 mV を発揮した。これらの値はラボスケールの装置に比べても優れており、淡水系の湖沼への SMFC の適用においてもスケールアップによる発電性能への悪影響はなかった。

底質改善性能では、間隙水中の DOC 濃度は、SMFC で対照系よりもやや低い状況にあったが、有意な差はなく SMFC による有機物分解促進効果の有無は判断できなかった。また、間隙水中のリン酸は、適用環境のリン酸濃度が十分に低いことから SMFC 適用による影響評価が困難であった。図 4 に間隙水中の DTN 濃度の変化を示した。DTN 濃度は、SMFC 系で 20%程度低くなっており、ラボスケールの SMFC と同様に、アンモニア態窒素の除去が進んでいた。このことから、窒素除去に関しては、スケールアップしてもラボスケールと同様の効果が期待できた。

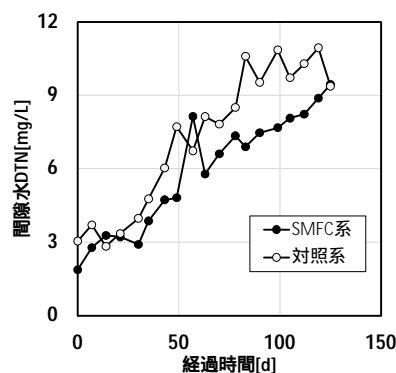


図 4：間隙水 DTN の変化

SMFC より得られた電力をコンデンサに蓄電を試みたところ、本装置では、最初 0.3 mA の電流をコンデンサに供給可能であった。目標としたコンデンサの電圧 0.4 V までは、約 20 分程度必要であった。コンデンサを直列接続へと切り替えることで LED の点灯が可能であったもののその維持期間は 90 秒程度であった。LED 点灯後のコンデンサに再び 0.4 V まで充電するには 390 秒を要した。今回は敷設面積が 50 cm x 50 cm 程度のアノードを用いた SMFC の結果である。大型化しても SMFC の発電性能は影響を受けにくいことから、より広範囲に設置することで淡水系の湖沼の底質からでも、ある程度の規模の電力を回収できる可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 窪田 恵一, 柴田 陽平, 竹村 泰幸, 高津 文人, 渡邊 智秀, 珠坪 一晃	4. 巻 76
2. 論文標題 堆積物微生物燃料電池の適用が底質の窒素に与える影響とその影響範囲の評価	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 土木学会論文集G (環境)	6. 最初と最後の頁 111_503 ~ 111_510
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2208/jscej.76.7_111_503	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 窪田恵一、中村航大、見島伊織、珠坪一晃、竹村泰幸、松浦哲久、渡邊智秀
2. 発表標題 底質性状の違いが及ぼす堆積物微生物燃料電池の発電・底質改善効果への影響
3. 学会等名 第56回水環境学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 見島伊織、窪田恵一、渡邊智秀
2. 発表標題 XAFS 分析のための鉄含有汚泥の前処理方法の検討
3. 学会等名 第56回水環境学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 竹村泰幸、珠坪一晃、水落元之、窪田恵一
2. 発表標題 底泥からのリン溶出抑制技術としての堆積物微生物燃料電池のパイロット試験による評価
3. 学会等名 第24回水環境学会シンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 佐藤郁、渡辺智秀、見島伊織、竹村泰幸、珠坪一晃、窪田恵一
2. 発表標題 堆積物微生物燃料電池が底質内のリンや鉄に及ぼす影響
3. 学会等名 第55回水環境学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 窪田恵一、渡邊智秀、竹村泰幸、珠坪一晃
2. 発表標題 底質環境改善技術としての堆積物微生物燃料電池の特徴
3. 学会等名 第23回日本水環境学会シンポジウム
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

渡邊窪田研究室HP https://environ.ees.st.gunma-u.ac.jp/ https://research.st.gunma-u.ac.jp/ees_kubota/

6. 研究組織

	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
研究分担者	見島 伊織 (MISHIMA Iori) (00411231)	埼玉県環境科学国際センター・水環境担当・専門研究員 (82405)	

6. 研究組織（つづき）

	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
研究分担者	渡邊 智秀 (WATANABE Tomohide) (60251120)	群馬大学・大学院理工学府・教授 (12301)	
研究分担者	珠坪 一晃 (SYUTSUBO Kazuaki) (80293257)	国立研究開発法人国立環境研究所・地域環境保全領域・副領域長 (82101)	
研究分担者	松浦 哲久 (MATSUURA Norihisa) (90771585)	金沢大学・地球社会基盤学系・准教授 (13301)	

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