

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 3月29日現在

機関番号：52601
 研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2010～2012
 課題番号：22560127
 研究課題名（和文） 環境応用のための微細表面の凹凸形状による紅色光合成細菌
 バイオフィルムの形成制御
 研究課題名（英文） Formation control of purple phototrophic bacteria bio-film
 by micro fabrication for environmental application
 研究代表者
 角田 陽（KAKUTA AKIRA）
 東京工業高等専門学校・機械工学科・准教授
 研究者番号：60224359

研究成果の概要（和文）：

バイオフィルムは、細菌が固体表面上で増殖して細菌膜構造を形成した状態をいう。燃料電池や光合成促進など環境分野での応用が期待できる。本研究では、紅色光合成細菌を例に、微細表面凹凸形状を施した固体表面を用いることで、同細菌によるバイオフィルムの形成制御とその応用をめざした。具体的には、培養基板材質や表面微細加工が紅色光合成細菌培養面に及ぼす影響を調べた。また、実際の光合成型燃料電池実験を実施し、培養面形成状態と光合成能力の関係を実験的に明らかにし、光合成能力の高効率化が図れる培養面形成状態を検討した。

研究成果の概要（英文）：

Bio-film is the film structure of bacteria which proliferates on the solid surface. This film is expected to be able to apply to the fuel cell and the photosynthesis promotion, etc in the environmental field. In this study, it aimed to the formation control and the application of bio-films of the purple phototrophic bacteria by using the surface of the solid with micro fabrications. It is investigated that the material properties and the surface micro fabrication effect on the purple phototrophic bacteria culture. It was clarified experimentally the relationship between the state of the bio-film formation on the bacteria culture and the photosynthesis ability by using direct photosynthesis type fuel cell. This study examined the bio-film state to make the photosynthesis ability highly effective.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2011年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2012年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：工学

科研費の分科・細目：機械工学，生産工学・加工学

キーワード：紅色光合成細菌，微細凹凸形状

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

1. 研究開始当初の背景

バイオフィームは、固体表面上に付着した細菌が粘液で体を囲みながら増殖を始め、細菌構造膜を形成した状態をいう。歯垢や排水管のヌメリなどもその一例であり、地球上のあらゆる場所に存在し、人間にとっては有害となることが多い。しかし、水の浄化システムへの応用などの有効利用もなされている。バイオフィームは粘性があり保護力のある組織であるため、免疫システムや抗生物質の攻撃を防御するのと同様のメカニズムで廃棄物や廃液を分解できるからである。現在の地球環境問題の深刻化から、廃棄物や汚染の処理、発電、燃料電池、炭酸ガスを高効率で吸収する光合成促進といった地球環境への負荷が少ない応用についても期待され始めている。

上述のバイオフィームの有害性から、これまでの研究は、その発生と増殖の抑制ならびに除去が中心であった。表面の材質によらず形成されることが多く、例えば固体表面を抗菌処理するなど、化学的な処理によって発生を抑制する手法がほとんどであった。しかし、抗菌材に対する耐性が発現する結果として、多量の薬剤を要したり、新たな薬剤の開発が必要になるという問題が生じやすい。さらには、抗菌剤自体が人体に有害の場合もあるなど、手法の限界が現れている。

ところで、紅色光合成細菌は、いわゆる「光合成反応」すなわち光エネルギーにより炭酸ガスの吸収固定の反応をする。したがって、紅色光合成細菌のバイオフィームを応用することで、光合成反応を最適化・高効率化できれば、炭酸ガス類を削減する手法の候補のひとつとなる。

さらには、光合成反応における電子を金属に渡すという機能発現の応用も考えられている。例えば細菌表面から陽極となる金属に電子が送られることを原理とした、新たな燃料電池としての応用が考えられている。こうした応用の実現は、地球環境問題が最重要課題である現在、その解決策候補のひとつとなりうる。

しかし、現状では例えば発電電流が十分ではないなど、実用化には光合成反応の高効率化等の課題がある。これは、バイオフィーム形成がランダムであり、効率的な反応を実現する適切なフィルム形成が可能となっていないことも一因と考えられる。すなわち、その解決策のひとつとしては、同細菌のバイオフィームを適正形成し、高効率な光合成を実現することがあげられる。

バイオフィームの発生や増殖の抑制は、逆にいえば、形成制御となりうるが、上記の従

来研究の中心は固体表面全体への検討がほとんどであり、任意形状・構造の形成制御への応用を図るには十分ではない。

そうした中で、本研究の研究代表者らは、従来開発してきた精密微細加工技術を応用し、固体表面上に幅や深さが異なる微細凹凸形状を形成し、その表面上で紅色光合成細菌の培養の基礎実験を行い、バイオフィーム形成状態が凹凸形状に影響されることを明らかにしている。例えば、凸部幅が細菌の大きさと同程度以下の場合、細菌が増殖しにくくなる傾向となっている。

これは、細胞サイズの微細形状を加工した表面では、細胞の付着や増殖が抑制あるいは促進されることを示唆しており、細胞の増殖やバイオフィームの形成制御の可能性を示している。

2. 研究の目的

本研究では、さまざまな微細凹凸形状を施した固体表面を用いることによって、固体表面形状と紅色光合成細菌の増殖とバイオフィーム形成メカニズムの関係を定量的に解明し、細菌の増殖およびバイオフィーム構造の制御を実現することを最終的な目的とする。さらに、同フィルムにおける環境改善効果の一例として光合成反応を最適化する微細形状の設計指針を確立することをめざす。

具体的には、精密微細加工技術によって固体表面上に形状と寸法が異なるさまざまな微細凹凸形状を形成し、紅色光合成細菌の培養実験を行い、それらの形状と培養状態の関係を調べる。さらにそれらの各バイオフィームについて統一的な条件下での光合成反応実験を行い、高効率な反応をおこすバイオフィームを見いだすための基礎実験を行う。

3. 研究の方法

培養面材料の検討

表面への微細加工が可能であり、細菌に悪影響を及ぼさない（死滅させない）ことならびに直接光合成燃料電池の部品要素とした場合を考慮して電気伝導率が高いこと（発電効率を高めると予測）を兼ね備えていることを条件とし、本研究ではCu, Ti, Al, Zn, Fe, SUS304を培養面材料の候補として選択した。まず、選択した材料が細菌に悪影響を及ぼさないことを確認する実験を行った。培養においては、高温高圧の飽和水蒸気により滅菌を行うオートクレーブ処理が必要で、培養面材料への影響もありうるので、培養面材料を培地に投入するタイミングをオートクレーブ処理の前後に分けて合計7種類の実験を行った。

培養材料表面への微細加工

Al 薄板表面に微細加工を施す場合を例にして説明する。フォトリソグラフィを用いて表面にパターン転写を行い、塩化第二鉄を用いてウェットエッチングを行うことで10mm四方の微細加工を施した。溝、穴、格子形状を設定し、細菌が凹部に効率良く整列することを期待して設計した。

光合成発電実験

光合成発電実験装置として、直接光合成バイオ燃料電池の組み立てやすさ、細菌の注入のしやすさを考慮して設計、試作した。図1に製作した実験装置の概要を示す。

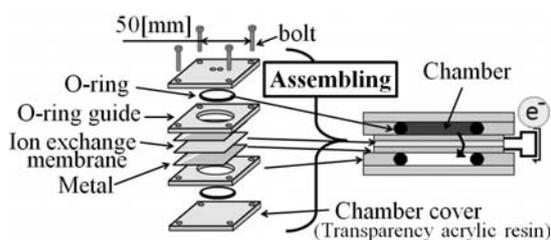


図1 光合成発電実験装置の概略

発生した電圧、電流などはデジタルマルチメータを用いて測定する。電流は測定回路に1kΩの抵抗を接続して測定する。

4. 研究成果

培養面材料を培地に投入するタイミングをオートクレーブ処理の前後に分けて合計7種類の実験を行った結果、すべての材料や条件において、オートクレーブ処理にかかわらず、細菌を培養することができた。

微細加工を培養材料に付与した一例を図2ならびに3に示す。各図の左側が仕様図、右側がSEM観察画像の一例を示す。

溝形状、穴形状はパターンの転写が行えたが、稜線はやや丸みを帯びた形状となった。

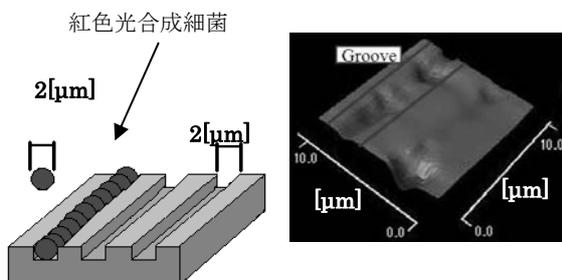


図2 微細形状付与結果の一例（溝形状）

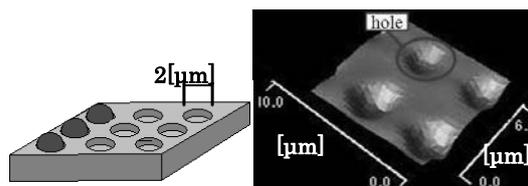


図3 微細形状付与結果の一例（穴形状）

図は示さなかったが、格子形状に関しては、溝の深さが全体的にほぼ一定(2.2μm)になっており、良好な加工を施すことができたと考えられる。

電極材料などの違いによる発電能力の変化を確認するため、微細加工を施していない各電極材料を使用し発電実験を行った。

電池のアノード側チャンバーに紅色光合成細菌を約1mlと、メディエータとしてメチレンブルーを0.5ml投入した。

電圧の測定は30minごとにデジタルマルチメータを用いて行い、発電開始から8時間のデータをPCに転送して記録した。なお、実験環境は室温(26℃)とした。光源として電池の上部(600mm離している)に全光束1520lmの白熱灯を設置し実験中は光を当て続けた。3回の測定を行い、ばらつきはあったものの電圧の時間的変化は金属ごとに傾向が一致していた。3回の測定の平均電圧の推移を図4に示す。

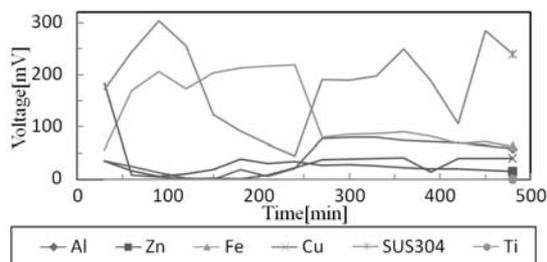


図4 材料による直接光合成発電結果の違い

同図より、本実験条件内ではSUS304が他の金属と比較して優れた電圧持続性を示していることがわかる。Feと比較すると約120~270minの間は、電圧はFeの方が高くなっている。それ以外の時間では電圧はSUS304の方が高くなっており、特に後半の電圧の持続力は他の電極材料を上回る結果となっている。また、Alは後半から電圧が上昇する傾向が見受けられる。

電極の表面付加形状の違いによる発電能力の変化を確認するため、微細加工を施した

電極で発電実験を行った。

実験は細菌およびメチレンブルーの投入量を細菌 0.1ml, メチレンブルー 0.05ml に変更した以外は先述の実験と同じ条件で行った。格子, 穴形状の電極はそれぞれ同条件で 2 個製作し, それぞれ No. 1, No. 2 と設定して実験を行っている。3 回実験を行い, 測定値のばらつきはあったが, 電圧の時間的変化は表面形状により一定の傾向を示していた。3 回の測定の平均電圧の推移を図 5 に示す。

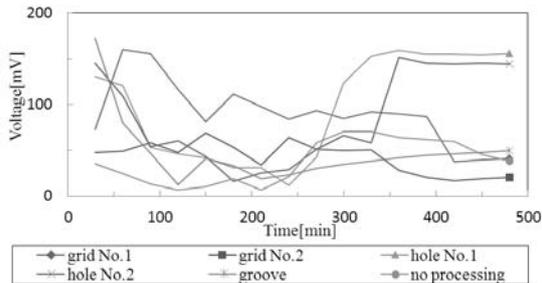


図 5 微細形状による直接光合成発電結果の違い

同図より, 格子形状が最も電圧持続性が高いという結果が表れた。また, 溝形状は電圧の低下が早いものの電圧が比較的安定している。穴形状は無加工の電極と同じような性質を示していた。

これらの結果は表面に付加する微細形状によってバイオフィルムの形成状態が変わり, そのために発電性能が変わってきているといえる。このことは逆に, 微細形状によってバイオフィルムの形成状態が制御できることを示している。

バイオフィルムの形成状態の直接的な観察は困難であるが, 光合成発電実験結果からある程度は推察できる。穴形状はバイオフィルムが十分に形成されない形状と思われる, 今後の詳細な検討が必要である。

5. 主な発表論文等

[学会発表] (計 2 件)

(1) 角田陽, 館野寿丈, 光合成型燃料電池の性能向上に関する研究, 日本機械学会 関東支部第 19 期総会講演会講演論文集, 2013 年 03 月 16 日, 東京

(2) 館野寿丈, 角田陽, 微生物燃料電池の長期発電のための超音波による電極振動に関する研究, 日本機械学会 関東支部第 19 期総会講演会講演論文集, 2013 年 03 月 16 日, 東京

6. 研究組織

(1) 研究代表者

角田 陽 (KAKUTA AKIRA)

東京工業高等専門学校・機械工学科・准教授

研究者番号: 60224359

以上