

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 22 日現在

機関番号：12301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23560639

研究課題名(和文) 脱窒バイオカソードを適用した微生物燃料電池性能の向上と有機物・窒素処理への応用

研究課題名(英文) Attempt of performance upgrade of microbial fuel cells equipped with denitrifying biocathodes and applicability to nitrogen removal

研究代表者

渡邊 智秀 (WATANABE, TOMOHIDE)

群馬大学・理工学研究院・教授

研究者番号：60251120

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円、(間接経費) 1,230,000円

研究成果の概要(和文)：無酸素環境下において生物学的に硝酸イオンが電子受容体として作用するカソード(脱窒バイオカソード)を組み込んだ微生物燃料電池(MFC)について、カソード反応や微生物群集の特徴および装置や操作条件が性能に及ぼす影響等を実験的に明らかにした。脱窒バイオカソードを適用したMFCでは、カソード反応速度が出力性能の主要な制限因子であることがわかった。粒状炭素を用いた充填層電極型MFCを作製し、アノードにおける有機物分解とカソードにおける脱窒とともに730mW/m<sup>3</sup>の出力が得られた。

研究成果の概要(英文)：Fundamental characteristics of microbial fuel cells (MFCs) equipped with denitrifying biocathodes under anoxic condition were experimentally investigated. The characteristics of cathodic reaction, microbial community in cathodic biofilm, the effects of operational condition and electrode configuration on MFC performance were discussed on the basis of the experimental results obtained. Biological nitrate reduction rate on cathode was rate-limiting step for power generation in the MFC equipped with denitrifying biocathodes. The power generation of MFC using a packed bed of granular graphite as electrodes reached 730mW/m<sup>3</sup> with organic matter (acetate) degradation in anode compartment and denitrification in cathode compartment. In cathodic biofilm, autotrophic denitrifying bacteria such as *Paracoccus denitrificans* were predominantly detected.

研究分野：工学

科研費の分科・細目：土木工学・土木環境システム

キーワード：微生物燃料電池 脱窒 バイオカソード 廃水処理 窒素処理 バイオリクター

## 1. 研究開始当初の背景

廃水中の汚濁成分を単なる除去対象でなく、未利用資源と捉えて効果的に回収・利活用することは、資源循環型社会や低炭素社会の形成に重要な視点であると考えられる。近年、電気産生微生物の作用で有機物から直接的に電力を高効率に取り出せる可能性から微生物燃料電池（以下 MFC）が注目されている。しかし、廃水処理への応用へ向けて、カソード触媒としての白金の必要性が非常に大きな課題のひとつとなっている。

MFC に関わる最近の多種多様な取り組みの中で、カソード槽を硝酸イオンと微生物が共存する無酸素環境条件とした二槽式 MFC において電力生成することが Clauwaert らにより 2007 年に初めて実証された。これは、有機物除去および脱窒と電力回収を同時に達成する可能性や生物学的硝化プロセスとの組み合わせで電力の直接回収が可能な含窒素有機性廃水処理プロセスへの発展性を有する。しかし、研究の緒がついたばかりで取り組みが浅く、基本特性や機構等の基礎に加え、性能向上に関わる工学的因子も現状ではほとんど明らかになっておらず、関連する知見の集積が求められている。

## 2. 研究の目的

本研究の最終目標は、生物学的脱窒作用により硝酸イオンが電子受容体となるカソード（脱窒バイオカソード）を組み込んだ新規な微生物燃料電池（MFC）を応用し、電力の直接回収が可能な廃水の有機物・窒素処理プロセスを開発することである。そのためのステップとして、本研究課題では第一に、脱窒バイオカソードを適用した MFC の基本特性を把握し、その高性能化のための基礎を与えるカソードでの反応機構と微生物群集の特徴および電極や装置構造等の装置構成の影響に関わる知見を実験的に収集した。これらを踏まえ、含窒素有機性廃水処理を念頭に置き性能向上を図った脱窒バイオカソードを適用した MFC 型連続処理槽を作製し、電力生成や処理に関わる基本特性の知見を収集して、その利用可能性を検討した。

## 3. 研究の方法

### (1) 基本的特性ならびに各種装置条件や

操作条件が性能に及ぼす影響の把握  
電極構造や電極材料等の検討

平板状炭素材を電極とし、アノードとカソードの電極間距離やそれぞれの電極面積を変更したラボスケール二槽式 MFC を作製して所定条件下で回分操作を行い、着目成分濃度や電極間電位差の経時変化等から基本的特性を把握するとともにこれらの出力性能への影響を比較検討した。また、電極比表面積の増大を念頭に置いて粒状炭素およびフェルト状炭素を充填した二槽式 MFC を作製し、着目成分濃度や電極間電圧の経時変化や連続通水での状態から電極構造の影響を実

験的に検討した。さらに二槽間の隔膜による影響も検討した。

カソードへの植種や立ち上げ方法の検討

粒状炭素充填層電極型 MFC を用いた電極材質の出力への影響の検討に合わせ、予め従属栄養環境条件下で培養した脱窒汚泥および水素ガスを電子供与体として独立栄養環境下で培養した脱窒汚泥をカソードへの植種に用い、植種源の相違が及ぼす影響の有無を実験的に検討した。また、カソードのスタートアップに対する電位の印加効果についても別に印加装置を作製して検討した。

操作条件の影響

スタートアップ期間を経て安定的な出力得られることが確認された MFC 実験装置に対し、回分操作の場合には、カソード液の初期硝酸イオン濃度およびアノード液の初期酢酸濃度を徐々に変更した場合の酢酸や形態別窒素濃度および電氣的出力の経時変化を測定した。連続操作では、各槽への流入濃度や通水速度で流入負荷を変更し、定常状態における酢酸ならびに形態別窒素濃度や分極特性を含む出力を測定し、着目成分の減少速度や各種効率ならびに出力密度等を指標としてそれらの影響を評価した。

長期安定性

粒状炭素充填層電極型 MFC 実験装置を長期に連続操作して、着目成分濃度や電位差等のデータを収集し、長期運転に伴う性能への影響因子の抽出や改善についての知見を実験的に集積した。

### (2) カソード反応の特性

電気化学的特性の把握

安定的に運転されている MFC のカソードを作用極として硝酸イオン共存下におけるサイクリックボルタンメトリー(CV)を行い、生物膜形成がない無生物の炭素電極や白金電極等を作用極とした場合の CV と相互に比較検討した。また、必要に応じて植種浮遊系や運転中の MFC のカソード槽内液を試験溶液での測定も行った。加えて、硝酸イオンの有無の影響を把握し、カソード反応に対する生物膜や硝酸イオンの役割を推定した。

微生物群集の把握

運転中の MFC のカソードに形成された生物膜やカソード液中の浮遊汚泥から抽出した DNA を試料とし、主として真正細菌の 16SrRNA 遺伝子を対象としたプライマーを用いた PCR-DGGE 法を適用し、増幅された DNA 断片の塩基配列に基づいて系統解析を行った。この情報と MFC の運転状況や操作条件ならびに電気化学測定結果等を総合的に踏まえてカソード反応に関与する微生物群の構造や特徴を調査した。

## 4. 研究成果

### (1) カソード反応の特性

硝酸イオンと生物膜の必要性

安定的な出力が得られる状態の MFC 実験

装置では、回分操作でアノード液とカソード液を交換すると電位差が直ちに上昇した後、概ね一定となってから徐々に低下し、この間カソード液の硝酸イオン濃度は徐々に減少した。これに対して、硝酸イオンだけ含有しないカソード液に交換した場合には実質的に電位差は生じず、カソード反応には硝酸イオンが必須であることが確認された。

運転中の MFC 実験装置から取り出したカソードを作用極、硝酸イオン含有液を試験溶液とした CV で明確な還元電流のピークが生じたのに対し、MFC の電極として用いた炭素材そのものや白金線では認められなかった。すなわち、硝酸イオンの還元において微生物が生物膜として直接的に電極と接触していることが必要であることが示唆された。

良好な状態で連続操作されている MFC 実験装置の定常状態におけるカソード槽では、得られた電流の実測値と硝酸イオンが窒素ガスへ完全脱窒すると仮定した脱窒反応の化学量論に基づいて推算した硝酸イオン減少量がカソード槽での硝酸イオン減少量の 90% 程度を占め、後述のプロトン交換膜 (PEM) を介した透過の影響は数%であった。また、開回路と閉回路でそれぞれ運転した MFC の硝酸イオン減少量の差は、上記の総括反応の化学量論に基づく推算値と概ね一致した。すなわち、本研究での MFC のカソード槽では、完全脱窒に伴い電気的出力が生じていることが示唆された。しかし、亜酸化窒素の生成等の不完全脱窒となる報告もなされていることから影響因子等の詳細について今後検討が必要である。

#### カソード微生物群集の特徴

カソード槽への植種性状の相違が MFC の性能へ与える影響を検討するために準備した 2 種類の植種のうち、従属栄養条件下において酢酸で培養した脱窒汚泥では、酢酸資化性の脱窒細菌の *Thauera* 属細菌が主として優占化していた。もう一方の独立栄養条件下において水素ガスで培養した脱窒汚泥では、水素資化性の *Paracoccus denitrificans* や *Paracoccus pantotrophus* に近縁な脱窒細菌が主として検出された。酢酸で培養された脱窒汚泥を植種して長期間運転されている MFC のカソードから採取した生物膜には、植種には存在が明確でなかった *Paracoccus* 属細菌が検出され、*Thauera* 属細菌は相対的に少なくなった。これに対し、水素ガス培養脱窒汚泥が植種された系のカソードでは、植種と同様な水素資化性脱窒細菌群が引き続き検出される傾向が認められた。使用した PEM は酢酸のクロスオーバーが非常に小さく、MFC のカソード槽は、実質的に無機栄養条件となっていると考えられる。すなわち、そのような環境で馴致が可能な脱窒細菌の中にカソードを電子供与体とした脱窒というカソード反応を担っていることが示唆された。なお、この傾向は連続操作をした充填

層電極型 MFC だけでなく、平板型電極を使用した MFC 等でも同様であった。

#### (2) 装置条件や操作条件等の影響

##### 電極間距離と液組成

液組成と PEM が同一で平板状電極のアノードとカソード間距離を変更した二槽式 MFC で得られた電力・分極曲線の例を図 1 に示す。PEM で隔てられた電極間距離が約 20mm (MFC\_20) の系に比べ、PEM に電極を密着した (MFC\_0) では、最大電力密度が約 10%、最大電流密度が約 30% 増大した。また、見かけの内部抵抗は、MFC\_0 の系は、MFC\_20 の系の 1/2 となった。なお、カソード液の主要な電解質成分であるリン酸イオン濃度を 60mM まで増大させると得られる電力密度も比例的に大きくなった。これらから、電解質濃度に依存するものの、電極間隔の低減は出力性能向上に重要な因子の一つであることがわかった。

##### 電極面積

電極間距離とアノード面積が同一でカソード面積が異なる MFC における分極・電力曲線の例を図 2 に示す。1.7 倍のカソード電極面積を有する MFC\_5.3 では、最大電力密度 (アノード面積基準) が約 2.3 倍、最大電流密度は約 1.4 倍大きく、概ねカソード面積の増大に対応して変化する傾向が認められた。つまり、カソード反応速度が出力の主要な決定要因となっていることが示唆された。なお、面積の増大により槽容積基準のカソード反応速度が大きくなったことに対応して、アノード性能の向上も認められ、相乗的な性能向上の可能性も示唆された。

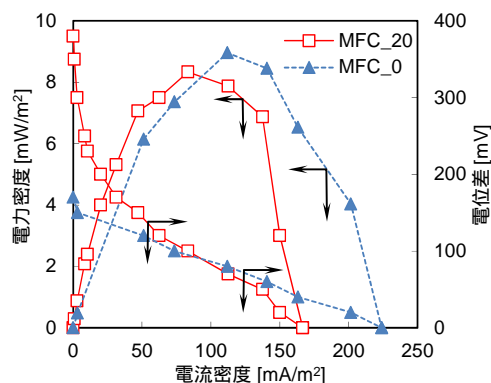


図 1 出力への電極間距離の影響

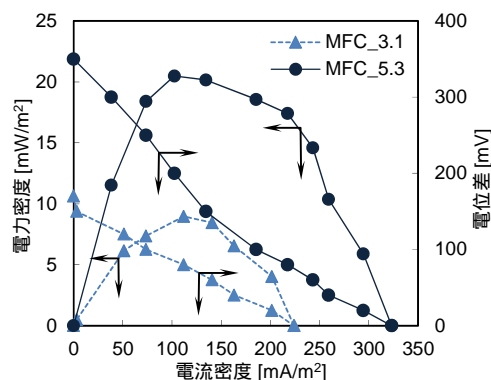


図 2 出力へのカソード面積の影響

### 濃度依存性ならびに流入負荷の影響

回分操作されている MFC のアノード槽の初期酢酸濃度は一定とし、カソード槽の初期硝酸イオン濃度を 50~400mgN/L の範囲で変化させた場合、得られた電流密度に初期硝酸イオンへの濃度依存性が明確に認められた。しかし、初期硝酸イオン濃度が 50mgN/L から 400mgN/L へ 8 倍変化したことに伴う電流密度、カソード槽での硝酸イオン減少速度およびアノード槽での酢酸減少速度の増加率は、図 3 に示したように、電流密度が約 1.3 倍の変化に留まっているのに対し、硝酸イオン減少速度は約 3.2 倍、酢酸減少速度では約 1.6 倍増大し、見かけのカソード反応速度の増したことに対応した電流が生じていないことが示唆された。生物反応の基質親和性に関わる濃度レベルに比して高濃度域での濃度依存性であることを勘案して実施した PEM の透過試験から、硝酸イオンの膜透過フラックスの濃度依存性が主として影響していることがわかった。使用した PEM は、400mgN/L で膜透過フラックスが約  $1.6 \text{ gN m}^{-2} \text{ d}^{-1}$  に達した。なお、本系の MFC のアノード槽では、硝酸イオンや亜硝酸イオンはほとんど検出されなかったことから、カソード液から透過した硝酸イオンは、アノード槽で酢酸を利用した脱窒で消費されており、酢酸の無効消費を招いて電荷収率が低下する原因のひとつになることが示唆された。

同一素材で膜が厚く硝酸イオン透過フラックスが約 1/3 の PEM へ交換すると、硝酸イオン消費速度が約 20%、アノード槽における酢酸消費速度も約 30% 減少した。また、得られた電流密度の最大値は交換前後で大きな差異はなかったものの、電気生成が長時間に及ぶ傾向が認められた。すなわち、本系で使用する PEM には、できるだけ小さい硝酸イオン透過性が求められる。

連続操作されている充填層電極型 MFC のカソードへの流入硝酸イオン負荷を流入濃度で変更させた場合、図 4 のように流入濃度の上昇に伴って硝酸イオン消費速度は増大したものの、得られた最大電流密度は概ね一定であった。これは、流入負荷の増大により、カソード槽の残留硝酸イオン濃度が高くなって PEM からの硝酸イオン透過フラックスが大きくなったため、回分操作の場合と同様と考えられた。

一方、流入硝酸イオン濃度を 100 mg-N/L で一定とし、カソード槽への通水速度により流入負荷を変更した場合、図 5 に示したように、実験した HRT の範囲で硝酸イオン減少速度や平均電流密度は概ね一定であった。

### 長期安定性への影響因子

充填層電極型 MFC の連続操作を継続したところ、装置ごとに多少の差異はあるものの、図 6 に示したように、5 ヶ月程度までに得られる電力密度が大きく低下するとともに硝酸イオン消費速度も低下する傾向があった。

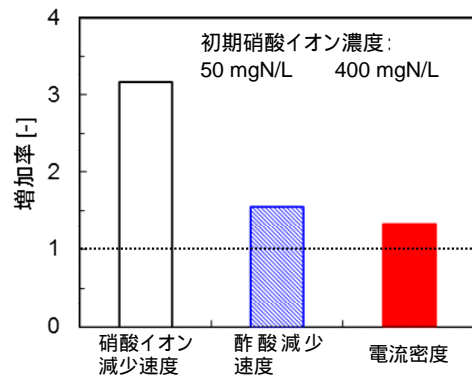


図 3 初期硝酸イオン濃度による各種速度変化

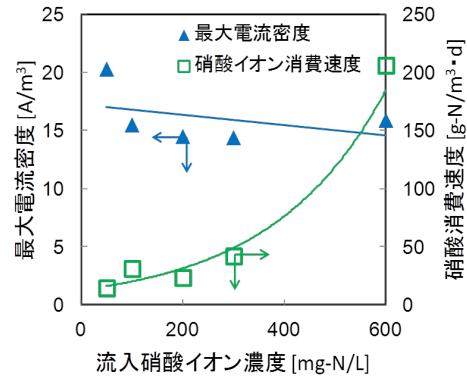


図 4 流入硝酸イオン濃度と出力・消費性能の関係

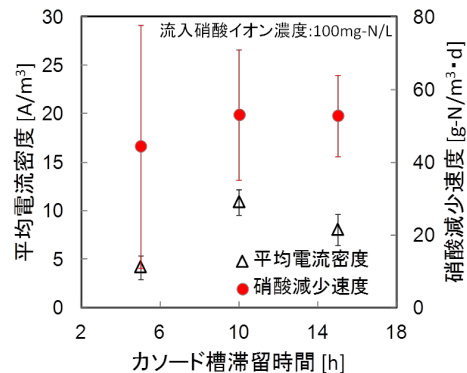


図 5 滞留時間と出力・消費性能の関係

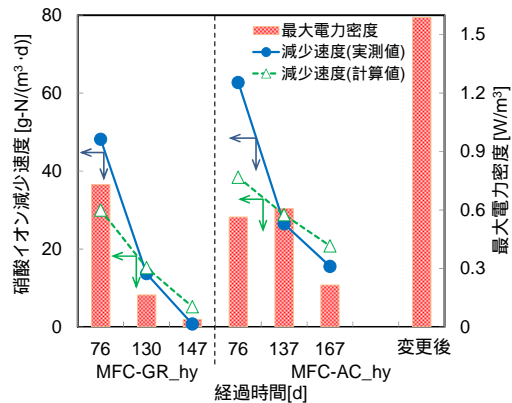


図 6 長期運転に伴う性能変化と改善効果

装置を解体してカソード槽内を観察すると、PEM のカソード側表面および粒状炭素電極の表面を覆うように薄黄色のスケールが形成されており、集電体および電極材間の接触

状態や電極材表面の生物膜の形成状況が悪化して、性能が低下した可能性が示唆された。カソード槽への供給液中に含有させた Ca 塩や Fe 塩の濃度と存在状態の影響が懸念されたため、これらの溶解状態が維持される濃度へ低減するとともに電極材や PEM を交換して再稼働したところ出力の大幅な改善が認められた。このことから、実廃水処理への展開に対し、スケール形成の原因となる無機成分濃度に留意する必要性が示唆された。

### (3) 充填層電極型 MFC における電極材と植種の影響

脱窒バイオカソードを適用した MFC でカソード反応速度が出力の主たる制限因子となっていることが判明したこと受け、槽容積あたりの比表面積によりその改善が期待できる電極構造の一つとして、充填層電極型 MFC を作製した。

カソードへの植種とカソード材の組み合わせを変えた粒状活性炭 - 酢酸培養脱窒汚泥(AC\_ace)、粒状活性炭 - 水素ガス培養脱窒汚泥(AC\_hy)および粒状グラファイト - 水素培養脱窒汚泥(GR\_hy)の 3 つの系で得られた典型的な分極・電力曲線を図 7 に示す。カソード材は同一で植種の異なる AC\_ace と AC\_hy で比べると、水素ガス培養脱窒汚泥を植種した AC\_hy では、最大電力密度が約 6.5 倍、最大電流密度が約 3.6 倍大きかった。また、分極曲線から推算される内部抵抗は 29 Ω で AC\_ace の約 1/2 であった。また、AC\_hy や GR\_hy では出力が得られる状態となるまでの期間が短い傾向が見受けられたことから、水素ガスを利用し独立栄養条件下で集積培養された脱窒汚泥にはカソード反応へ有効に寄与する微生物が多く存在している可能性が示唆された。

電極材の物性に着目すると、GR\_hy の最大電力密度は AC\_hy に比べて約 1.3 倍大きく、3 つの系で最大の約 730mW/m<sup>3</sup> に達した。粒状グラファイトは粒状活性炭に比べて導電性に優れるものの、BET 比表面積は約 1/650 であった。粒状活性炭は多孔性であるものの、ほとんどがミクロ孔の細孔構造であり、微生物が細孔内へ到達して生物膜を形成できないことが見かけの比表面積で劣る粒状グラファイトの充填層電極で高出力が得られたものと考えられた。

実質的に細孔内の面が有効に作用していないことを考慮し、みかけの外表面積を用いて AC\_hy および GR\_hy におけるカソード電極面積基準の最大電流密度を算出するといずれも 20mA/m<sup>2</sup> に満たなかった。一方、平板状炭素電極を使用した MFC 実験で得られたカソード電極面積基準の最大電流密度は約 320 mA/m<sup>2</sup> に達し、性能改善の余地は大きい。充填層電極では、電極材表面における生物膜の形成状態、電極材間の接触、電極材と集電体の接触および充填層内空隙における液流れや混合といった複数の因子が相互

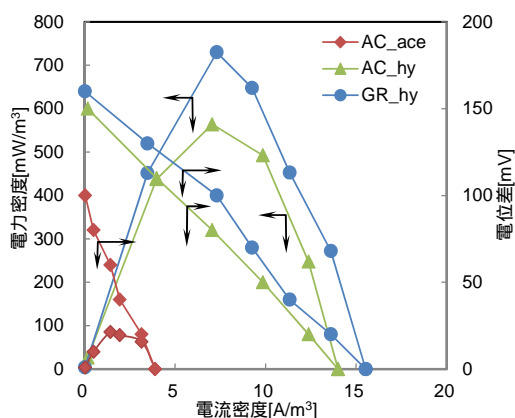


図 7 充填層電極型 MFC における電極材と植種が出力へ及ぼす影響

に複雑に関連して影響している可能性を示唆する知見が得られている。今後、その詳細を検討して改善を図ることが必要である。なお、フェルト状炭素を充填した系も試したが、実験の範囲では粒状炭素充填層電極型 MFC に比べ低出力で、繊維状炭素が密に重なり合う構造やガス生成を伴うことがフェルト内部の有効活用を制限していると考えられた。なお、カソードへの植種の際に適度な負電位を与えることにより、MFC として運転を開始してから出力が得られる状態になるまでのスタートアップ期間が大幅に短縮されることがわかった。

## 5. 主な発表論文等

〔学会発表〕(計 14 件)

佐藤和紀, 窪田恵一, 渡邊智秀: エアカソードを用いた微生物燃料電池における窒素処理のための基礎的研究, 第 48 回日本水環境学会年会, 2014 年 3 月 17-19 日, 東北大学(仙台市)

石原佑樹, 窪田恵一, 室井文篤, 粕谷健二, 渡邊智秀: 硝酸イオンを電子受容体とした MFC におけるカソード反応の特性, 第 48 回日本水環境学会年会, 2014 年 3 月 17-19 日, 東北大学(仙台市)

木元貴紀, 窪田恵一, 渡邊智秀: 一槽式 MFC の出力に及ぼすエアカソードからの酸素透過の影響, 第 48 回日本水環境学会年会, 2014 年 3 月 17-19 日, 東北大学(仙台市)

窪田恵一, 石原佑樹, 木元貴紀, 渡邊智秀: エアカソードの拡散性能変化による微生物燃料電池への影響評価, 第 50 回環境工学研究フォーラム, 2013 年 11 月 19-21 日, 北海道大学(札幌市)

石原佑樹, 窪田恵一, 粕谷健二, 渡邊智秀: 充填層型脱窒バイオカソードを適用した MFC 性能への影響因子, 第 50 回環境工学研究フォーラム, 2013 年 11 月 19-21 日, 北海道大学(札幌市)

渡邊智秀, 窪田恵一: 微生物燃料電池の今後の展開, 第 16 回日本水環境学会シン

ポジウム, 2013年11月9-11日, 琉球大学(沖縄県西原町)

石原佑樹, 渡邊智秀: カソードからの酸素透過が一槽式MFCの性能へ及ぼす影響, 第47回日本水環境学会年会, 2013年3月11-13日, 大阪工大(大阪市)

田中千穂, 粕谷健一, 渡邊智秀: 充填層型脱窒バイオカソードを用いた微生物燃料電池の特性, 第47回日本水環境学会年会, 2013年3月11-13日, 大阪工大(大阪市)

石原佑樹, 赤峰康人, 渡邊智秀: カソードが一槽式微生物燃料電池の性能に及ぼす影響, 第49回環境工学研究フォーラム2012.11.28-30, 京都大学(京都市)

田中千穂, 渡邊智秀: 充填層型カソードを用いた微生物燃料電池におけるカソード反応と出力の特性, 第49回環境工学研究フォーラム, 2012年11月28-30日, 京都大学(京都市)

赤峰康人, 太田直希, 渡邊智秀: 微生物燃料電池の性能に及ぼす影響因子の検討, 第46回日本水環境学会年会, 2012年3月14-16日, 東洋大学(東京都文京区)

田中千穂, 赤峰康人, 粕谷健一, 渡邊智秀: 脱窒バイオカソードを用いた微生物燃料電池に及ぼす操作条件の影響, 第46回日本水環境学会年会, 2012年3月14-16日, 東洋大学(東京都文京区)

田中千穂, 赤峰康人, 渡邊智秀: MEAを用いた脱窒バイオカソード型微生物燃料電池の特性, 第48回環境工学研究フォーラム, 2011年11月25-27日, 大同大学

(名古屋市)

T. Watanabe, K. Shinogi and Y. Akamine: Nitrate reduction and power generation in a microbial fuel cell equipped with denitrifying biocathode, The 4th IWA-ASPIRE Conference & Exhibition, 2011年10月2-6日, 東京国際フォーラム(東京都千代田区)

〔図書〕(計1件)

渡邊一哉, 石崎創, 岡部聡, 寺原猛, 山口隆司, 井上謙吾, 渡邊智秀 他計37名:(株)エヌ・ティー・エス, 微生物燃料電池による廃水処理システム最前線, 2013, 234(172-180)

〔その他〕

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

渡邊 智秀(WATANABE TOMOHIDE)  
群馬大学・理工学研究院・教授  
研究者番号: 60251120

### (2) 研究分担者

粕谷 健一(KASUYA KEN-ICHI)  
群馬大学・理工学研究院・教授  
研究者番号: 60301751

### (3) 連携研究者

該当なし