

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 6 月 21 日現在

機関番号：12605

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2016

課題番号：15K14826

研究課題名(和文) 微生物電池の電子伝達を利用するメタン発酵液消化制御技術

研究課題名(英文) Control technology for methane fermentation by using electron transfer in microbial fuel cell

研究代表者

東城 清秀 (TOJO, Seishu)

東京農工大学・(連合)農学研究科(研究院)・教授

研究者番号：40155495

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究で取り上げた酪酸とプロピオン酸は基質消費率が比較的高いものの、微生物電池の電力密度が低いことから、アノード電極における電子授受と基質消費の係わりが小さいことが分かった。有機酸の高度な制御を行うためには、微生物源とバイオフィーム培養法の再検討が必要である。アノード電極をカーボンブラシに代えたことにより、電子授受の速度を増大することができたが、カソード反応の方が律速となることから、カソード電極の電子授受速度も同時に改善することが必要であり、1槽式微生物電池の改善課題である。

研究成果の概要(英文)：Most of organic acid such as butyrate and propionate contained highly in the methane fermentation liquor were consumed with a microbial fuel cell fabricated as one tank cell. Since electricity densities of MFC output with these organic acid substrate were low, numbers of electrons transferred to the anode were also small. A revisional study on the biofilm formed in the anode is necessary to control the consumption of organic acids with a MFC. A carbon brash type anode increased the output electricity from MFC. However, the reaction in the cathode was a rate controlling factor when a carbon brash was used as anode electrode. Improvement of a cathode is one of challenges in this project.

研究分野：農業環境工学

キーワード：メタン発酵 有機酸 微生物電池 電子伝達 バイオフィーム 電力密度 カーボンブラシ アノード

### 1. 研究開始当初の背景

メタン発酵は高含水率の有機性廃棄物を原料にしてメタンガスを取り出す技術として普及してきた。しかし、小規模のメタン発酵では負荷変動に対して不安定になりやすく、ときに酸敗して槽内の発酵液を全交換する事態も発生する。このような事態を回避し、発酵を安定化する仕組みとして、発酵槽を水素・メタンの2段階発酵にするなどの検討が進められてきた。本研究で提案する消化制御リアクタは、微生物燃料電池をコアとする消化補助装置であり、メタン発酵で生じる過剰な有機酸等を速やかに消化し、発酵を安定・加速させるためのものである。

メタン発酵は含水率の高い泥状のバイオマスからエネルギーを取出したり、残渣を液肥として利用できるなど、幾つもの利点を有する処理技術である。しかし、外部の温度変動や原料の変化によって発酵が影響を受けやすいという欠点もある。微生物電池(MFC)は、バイオマスが分解される過程で排出される電子を電極で拾い上げ、他方の電極で消費する構造である。本研究では、メタン生成菌が基質としてにくい有機酸をMFC微生物群集が基質として消費することに着目した。有機酸分解で生じる電子をメディエータと呼ばれる細菌群を介してアノード電極で取り上げることで、酸化還元電位を低く維持し、嫌気性を保つことが可能となることも、本研究の斬新なところである。電子の移動量は外部電気抵抗の大きさを変えることで調節できる。電子の授受に関わる *Shewanella* 属などの菌叢をアノード電極にどのように保持するか、菌叢の保持と有機酸消費速度を外部電気抵抗によってどのように制御するかが、本研究の中核部分であり、そのアルゴリズムと具体的な手法を確立することが本研究の目標である。

今まで、不調になったメタン発酵では、発酵液を取替えたり、投入原料を水で希釈して低濃度にするなどの措置がとられてきた。本提案によるメタン発酵の発酵液の調整が成功すれば、原料の調整に要する労力やコストが節減でき、安定発酵により、一定したバイオガス生産が見込まれる。また液肥として利用される消化液の質の安定化も図られる。MFCが単なる発電装置としてではなく、有機物分解時の電子の流れを調節し、微生物叢の優占化や活性の制御装置として利用される道を開くこととなる。

### 2. 研究の目的

微生物燃料電池(MFC)は多様な有機物を原料として、直接電気を取り出せることから次世代のエネルギー変換装置として期待されているものの、発電装置とするためには二桁以上の性能向上が必要とされている。本研究は、MFCをメタン発酵の基質制御装置として機能させることで、有機物からの物質生産とエネルギー生産の総合的な利用性の向

上を目指すものである。

メタン発酵では、易分解性の原料やTS濃度の変動によって、発酵液の有機酸が蓄積してpHが低下し、酸敗に至ることがある。pH6より低下するとメタン生成細菌の活動は著しく低下し、有機酸をメタンに資化することができなくなる。有機酸の中でも酢酸は基質として利用されるが、プロピオン酸の利用性は低く、乳酸はほとんど資化されない。一方、MFCは基質として酢酸の他に、プロピオン酸や酪酸も利用できることが報告されている。また、申請者らの予備実験によれば、有機酸を基質にした場合、微生物燃料電池の外部電気抵抗を変えることで、有機酸の消費速度を変えること可能であることが分かった。

本研究の目的は、MFC電極に形成される微生物群集、外部電気抵抗と有機酸消費速度および電子移動量(起電力)の関係を調べ、具備すべき電極等の特徴を明らかにすることである。また、提案する消化制御リアクタをメタン発酵液の調節装置として利用するための制御手法を確立することである。

### 3. 研究の方法

#### (1) 実験1: 有機酸の消費特性に関する実験 微生物電池

実験1では、カーボクロスをアノード電極とし、図1のようなカーボクロスをPTFE処理を施し、Pt粉を塗布して試作したカソード電極を用いて1槽式微生物電池(反応容積26ml)を6台製作した(図2)。

微生物電池のアノード電極に形成する微生物群集(バイオフィーム)については、酢酸ナトリウム標準培地(PBS-SA培地)に微生物源として牛糞原料のメタン発酵消化液を体積比1:1で加えた混合液を培地として、30日のインキュベータ内でバイオフィームの馴養を行った。混合液の培地は毎日交換し、出力電圧の安定した時点で、アノードのバイオフィーム形成が完了したと判断した。なお、PBS-SA培地は下記の構成で作成した。  
NH<sub>4</sub>Cl:0.31g/L, KCl: 0.13 g/L, Sodium Acetate 1.0 g/L, MEM Vitamin Solution: 5.0mL/L, Buffer (total 50mM, pH7.0): K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>: 5.02 mL/L, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>: 2.88 mL/L。

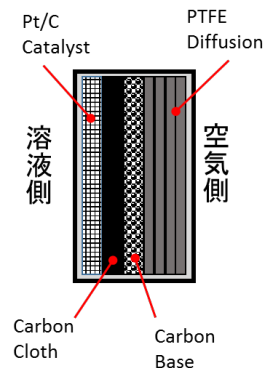


図1 試作カソード

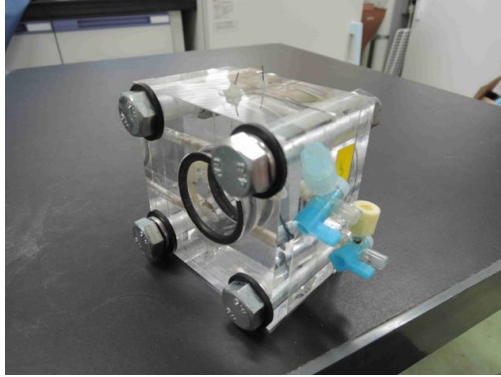


図2 製作した微生物電池反応槽

#### 供試材料

実験1では、微生物電池による有機酸消費特性を調べるため、対照区の有機酸基質として酢酸（濃度 1.0 g/L）を使用し、また、実験区の有機酸濃度としてPBS-SA培地の酢酸ナトリウムを酪酸ナトリウム（濃度 1.34 g/L）及びプロピオン酸ナトリウム（濃度 1.17 g/L）に置き換えたものを供試した。

#### 実験方法

微生物電池の電気抵抗は、開回路から順次 1000Ω、510Ω、240Ω、100Ω、51Ω と変化させ、各抵抗における出力電圧を得た。基質として供試した培養液の有機酸濃度は実験前後に HPLC で分析した。

#### 実験結果

実験結果は図3に示すように、基質消費率は酢酸が97%、酪酸が63%、プロピオン酸が88%であった。実験結果にバラツキがある者の、傾向は同じであった。一方、起電力から産出される最大電力密度は図4に示すように、酢酸が 524 mW/m<sup>2</sup>、酪酸は 1.9 mW/m<sup>2</sup>、プロピオン酸が 46 mW/m<sup>2</sup>であった。このことから、酪酸は消費されても起電力は得られないことが判明した。また、内部抵抗は酢酸が 198Ω に対して、酪酸が 4336Ω、プロピオン酸が 1899Ω と計算された。

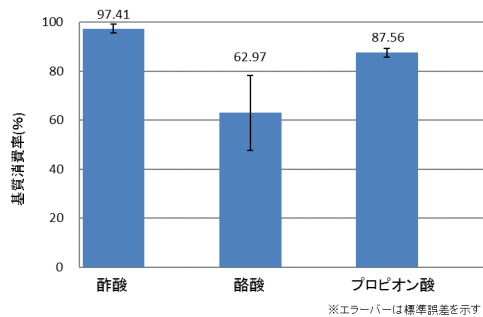


図3 有機酸の消費率

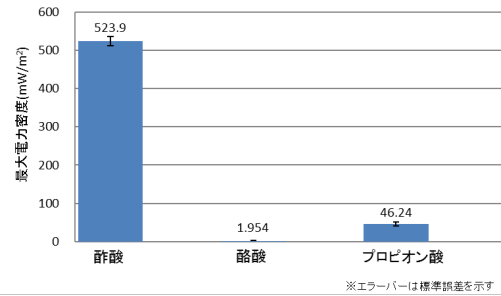


図4 有機酸ごとの最大電力密度

#### (2) 実験2：発酵液の pH に関する実験 微生物電池

実験2では、新たにカーボンブラシをアノードとする1槽式微生物電池（容量 30mL）を8台製作した。カソードは実験1と同様とした。また、アノードと発酵液との電位差を調べるため、参照電極を取り付けた。実験1と同様に、微生物源として牛糞由来メタン発酵消化液を供試して、メタン発酵消化液と酢酸ナトリウムを基質としたリン酸緩衝液合成培地（PBS培地）を混合してバイオフィルムの形成に使用した。

#### 供試材料

発酵液に含まれる有機酸の pH 条件を変えて、微生物電池の有機酸基質による発電特性を調べた。基質条件の対照区として、酢酸（0.28g/L）、酪酸（0.85g/L）をリン酸緩衝液に溶解させて作成した合成発酵液（pH7.0）とグルコースを発酵させて得た対照区と同濃度の酢酸と酪酸を含有する発酵液の pH を pH7.0 及び pH5.0 に調整した2実験区を準備した。

#### 実験方法

実験1と同様に実施した。

#### 実験結果

最大電力密度は図5に示すように、合成区で 962 mW/m<sup>2</sup>、pH7.0 区で 1042 mW/m<sup>2</sup> となり、pH5.0 区は 307mW/m<sup>2</sup> と他の2区に比べ3割程度の出力であった。pH を調節した合成区と pH7.0 区では、基質濃度に応じて高い起電力が得られ、出力も大きくなった。また、内部抵抗は図6に示すように、合成区で 162Ω、pH7.0 区で 140Ω であったが、pH5.0 区で 1075Ω と pH7.0 区と比較して約 7.7 倍であった。アノードをカーボンブラシに代えたことで、内部抵抗値はカーボンブラシに比べて2割程度低減した。低 pH の有機酸基質を与えるとバイオフィルムの活性が失われるが、pH が中性であれば長期間運転しても電子の授受は維持されることが分かった。

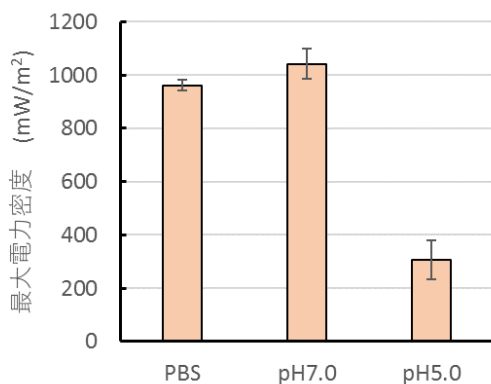


図5 有機酸基質の pH 条件と最大電力密度

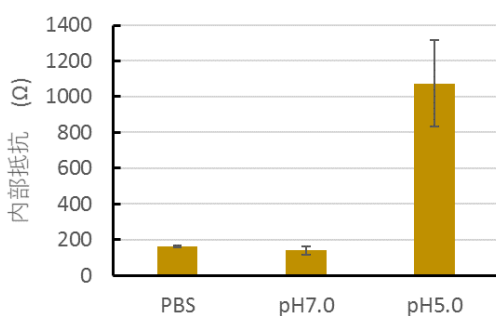


図6 有機酸基質の pH 条件と内部抵抗

#### 4. 研究成果

上述の実験結果から、酪酸とプロピオン酸は基質消費率が比較的高いものの、電力密度がともに低いことから、微生物電池の電子授受と基質消費の係わりは少ないと判断された。高度な制御を行うためには、微生物源とバイオフィルム培養法の再検討が必要である。ただし、発酵液のような複数の有機酸が混在する状態で pH が低くなければ、酪酸も基質として消費され、電子授受にも関わっていると考えられた。したがって、酪酸やプロピオン酸等の有機酸を微生物電池により消費し、その濃度を制御するためには、pH を中性域に維持することが重要であることが分かった。

アノード電極をカーボンブラシに代えたことにより、電子授受速度が増加し、起電力が大きくなった。参照電極を用いた解析から、カソードの方がアノードよりも内部抵抗が大きく、MFC の電力密度に大きな影響を与えていると考えられた。アノードでの電子の授受が速くなり、電流が増大したものの、カソード反応の方が律速となったと判断された。アノードだけでなく、カソードも同時に改善することが必要であり、このことは 1 槽式微生物電池を用いた発酵時の有機酸制御の課題である。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者に

は下線)

(学会発表)(計4件)

Megumi Ueda, Takayuki Ichioka, Tadashi Chosa, Seishu Tojo. Electricity Generation Characteristics of Microbial Fuel Cell Using Substrate of Volatile Fatty Acids from Hydrogen Fermentation. 8th International Symposium on Machinery and Mechatronics for Agricultural and Biosystems Engineering (ISMAB 2016), Toki Messe, Niigata, Japan. 23-25 May, 2016.

上田恵, 市岡隆幸, 鹿島裕之, 帖佐直, 東城清秀. 水素発酵残渣の基質 pH が微生物燃料電池の発電特性に及ぼす影響. 農業環境工学会関連5学会2015年合同大会・農業環境工学会関連5学会2015年合同大会講演要旨集, P226. 2015年9月17日、岩手県盛岡市

小林薫, 帖佐直, 東城清秀. 三次元励起蛍光スペクトルによる嫌気性消化汚泥の特性評価. 農業環境工学会関連5学会2015年合同大会・農業環境工学会関連5学会2015年合同大会講演要旨集, C201. 2015年9月15日、岩手県盛岡市

上田恵, 市岡隆幸, 鹿島裕之, 帖佐直, 東城清秀. 水素発酵残渣を基質とする微生物燃料電池の発電特性. 2015年度農業食料工学会関東支部年次大会・第51回年次報告, 16-17. 2015年8月5日、神奈川県藤沢市.

#### 6. 研究組織

##### (1)研究代表者

東城 清秀 (TOJO Seishu)  
東京農工大学・大学院農学研究院・教授  
研究者番号: 40155495

##### (2)研究分担者

帖佐 直 (CHOSA Tadashi)  
東京農工大学・大学院農学研究院・准教授  
研究者番号: 10355597

##### (3)研究協力者

堺 健太郎 (SAKAI Kentaro)  
上田 恵 (UEDA Megumi)  
小林 薫 (KOBAYASI Kaoru)