

平成 30 年 6 月 19 日現在

機関番号：15501

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2017

課題番号：16K14332

研究課題名(和文)底質中の電子授受機能の強化による閉鎖性内湾の貧酸素化抑制手法の開発

研究課題名(英文)Development of hypoxia control method in closed bay by enhancing transfer function of electron in bottom sediment

研究代表者

今井 剛 (IMAI, Tsuyoshi)

山口大学・大学院創成科学研究科・教授

研究者番号：20263791

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は閉鎖性海域における貧酸素水塊の対策手法として底質内の電子授受機能の強化，すなわち堆積物微生物燃料電池(SMFCs)に着目した。実験結果から，SMFCsによる発電は全体の95%が微生物の代謝に，5%が底質中の無機物に由来した。SMFCsを90日間設置して通電と非通電を比較した結果，通電時は酸素消費速度が約24%減少した。非通電時と比べ通電時のORPは極めて高い値を示したことから，SMFCsの設置により底質中の嫌気環境が大幅に改善できることが明らかとなった。適切な量のマグネタイトの添加により，浄化範囲の拡大が示唆された。以上より，本研究の目的が達成できたと考えられる。

研究成果の概要(英文)：In this study, sediment microbial fuel cells (SMFCs) were focused as the hypoxia control method in closed bay by enhancing transfer function of electron in bottom sediment. As the experimental results, it is showed that 95% of electric generation of SMFCs came from the metabolism of the microorganisms and 5% of that came from an inorganic matter in bottom sediment. SMFCs were operated for 90days with turn-on or turn-off the electricity line, oxygen utilization rate of sediment was decreased 24% in turn-on condition compared with turn-off condition. Additionally, as the ORP value is extremely high in turn-on condition compared with turn-off condition, it is clearly showed that anaerobic condition in bottom sediment can be improved by introduction of SMFCs. And it is showed the possibility that the purification area in bottom sediment can be expanded by mixing/spreading of an appropriate amount of magnetite. As stated above, the main objective of this study was accomplished.

研究分野：環境工学、衛生工学

キーワード：電子授受機能 堆積物燃料電池 底質 閉鎖性水域 貧酸素化抑制手法

1. 研究開始当初の背景

内湾における貧酸素水塊の発生や酸揮発性硫化物 (AVS) の増加が内湾の生物生息環境に与える影響は極めて大きく、東京湾、瀬戸内海、有明海を始め各地で貧酸素水塊が発生している。米国のチェサピーク湾を始め、海外においても同様である。特に東南アジアなどの発展途上国の人口密集地域に隣接する内湾ではその発生が甚だしい。湖沼では通年貧酸素水塊が存在する網走湖のような例もあるが、我が国の内湾では通常夏季にのみ貧酸素水塊が発生する。

これまでの貧酸素水塊発生に対する対策としては、下水道の整備、農業集落排水施設の整備、合併処理浄化槽の設置等による流入負荷削減によるものが行われてきたが、これまでに長い年月をかけて蓄積した堆積物に対する対策については、現状では浚渫等の堆積物を物理的に除去するというような極めて高コストな対策しかないために、ほとんどなされていないのが現状である。

以上の背景から、貧酸素水塊に対する抜本的な対策が必要とされている。特に、閉鎖性の高い内湾や特に途上国においてはその対策が急務である。

2. 研究の目的

そこで、本研究では、「微生物を“電池”として利用可能なシステムを構築し、その電極間をショートさせること、すなわち堆積物微生物燃料電池により、底質 (堆積物) 中の酸化還元電位を上昇させ、貧酸素水塊の抑制につなげること」により、底質の浄化を行うことのできるシステムの開発を行うことを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 堆積物微生物燃料電池について

堆積物微生物燃料電池は、水中に設置した Cathode 電極および底質中に設置した Anode 電極を導線でつないだ回路で構成される。嫌気環境中の Anode 電極から回収した電子を好気環境中の Cathode 電極上で利用することができるため、底質中の有機物や還元性物質を好氣的に酸化することができる。そのため、底質の改善技術として活用することができる。堆積物微生物燃料電池の反応機構を図-1 に示す。Anode 電極への電子伝達機構は大きく分けて3つに分類される<sup>1), 2)</sup>。

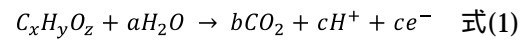
1 つ目は、発電菌 (*Shewanella* など) による電子授受である。この機構は、有機物分解の際に生じる電子を、イオン等の仲介物質 (Mediator) を介さず、直接 Anode 電極へと伝達することで電子授受を行う機構である。Anode 電極周辺で微生物によって形成されるナノワイヤー等の物質を介して電子授受

が行われる (図-1, )。における Cathode 電極、Anode 電極での反応式を式(1)、式(2)に示す。

2 つ目は、 $Mn^{2+}$ 、 $S^{2-}$ 、 $Fe^{2+}$ 等の電子供与体 (ED: Electron Donor) が、電子伝達を仲介する物質 (Mediator) として働く機構である (図-1, )。表-1 に有機物の無機化反応と電子受容体の還元化反応の例を、表-2 に Anode 電極で起こると考えられる底質中の代表的な還元物質の酸化の例を示す。

最後に3つ目は、電子シャトルによる電子伝達である。電子伝達物質 (例えば  $Fe^{2+}$ 、 $Mn^{2+}$ ) が電子シャトルとなって、Anode 電極から離れた位置から電子輸送が行われ、Anode 電極で電子供与体から電子受容体 (EA: Electron Acceptor) へと変化する酸化反応による電子授受が行われる。

Anode 電極での反応式



Cathode 電極での反応式

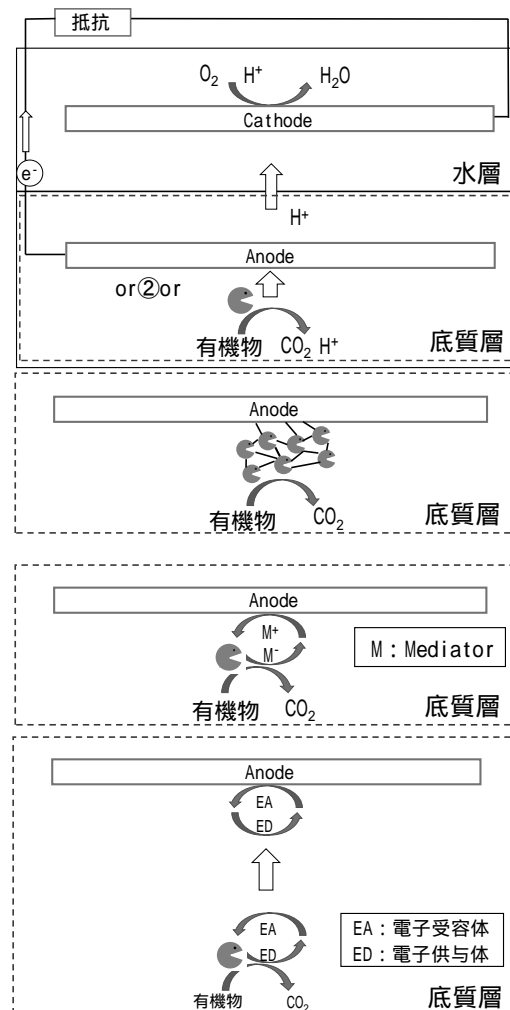
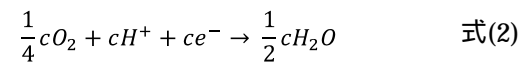


図-1 堆積物微生物燃料電池の反応機構

表-1 各電子受容体による有機物の無機化反応と電子受容体の還元化反応の例

マンガン還元 ( $Mn^{4+}$ → $Mn^{2+}$ ) ( $CH_2O$ ) <sub>x</sub> ( $NH_3$ ) <sub>y</sub> ( $H_3PO_4$ ) <sub>z</sub> +2xMnO <sub>2</sub> + (4x+y)H <sup>+</sup>  xCO <sub>2</sub> + 2xMn <sup>2+</sup> +yNH <sub>4</sub> <sup>+</sup> +HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> +2H <sup>+</sup> +3xH <sub>2</sub> O
鉄還元 ( $Fe^{3+}$ → $Fe^{2+}$ ) ( $CH_2O$ ) <sub>x</sub> ( $NH_3$ ) <sub>y</sub> ( $H_3PO_4$ ) <sub>z</sub> +4xFe(OH) <sub>3</sub> + (8x+y)H <sup>+</sup>  xCO <sub>2</sub> + 4xFe <sup>2+</sup> +yNH <sub>4</sub> <sup>+</sup> +HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> +2H <sup>+</sup> +11xH <sub>2</sub> O
硫酸還元 ( $S^{6+}$ → $S^{2-}$ ) ( $CH_2O$ ) <sub>x</sub> ( $NH_3$ ) <sub>y</sub> ( $H_3PO_4$ ) <sub>z</sub> + $\frac{1}{2}$ xSO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> + ( $\frac{1}{2}$ x+y)H <sup>+</sup>  xCO <sub>2</sub> + $\frac{1}{2}$ xΣ H <sub>2</sub> S+yNH <sub>4</sub> <sup>+</sup> +HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> +H <sup>+</sup> +xH <sub>2</sub> O

表-2 底質中の代表的な還元物質の酸化

鉄酸化 ( $Fe^{2+}$ → $Fe^{3+}$ ) 2Fe <sup>2+</sup> +3H <sub>2</sub> O → Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> +6H <sup>+</sup> +2e <sup>-</sup>
硫化物酸化 ( $S^{2-}$ → S)
HS <sup>-</sup> → S+H <sup>+</sup> +2e <sup>-</sup>
硫化物酸化 ( $S^{2-}$ → $S^{6+}$ )
HS <sup>-</sup> +4H <sub>2</sub> O → SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> +9H <sup>+</sup> +8e <sup>-</sup>

(2) 発電因子の把握に関する実験方法

山口湾の底質を用いて、堆積物微生物燃料電池を設置することで、Anode 電極から Cathode 電極への通電を確認したが(データ非表示), 電流が底質中の無機物からの電子伝達によるものか, 微生物の代謝による電子伝達によるものなのかは明らかでない。そこで, Anode 電極への電子伝達のメカニズムを明らかにすることを目的として以下の実験を行った。有機物量が多く, 想定される適用対象の1つである有明海, 東与賀(北緯 33 度 11 分 58.3 秒, 東経 130 度 15 分 23.5 秒)の底質を採取した。採取時の底質の性状を表-3 に示す。この実験では, 滅菌処理なしの電池および底質の滅菌処理ありの電池を設置し, 通電期間中の電流密度を比較した(図-2)。採取した底質を均一に混合後, 表-4 に示す実験条件で堆積物微生物燃料電池を作成した。堆積物微生物燃料電池の設置には, 1,013cm<sup>3</sup> (縦 9cm×横 9cm×高さ 12.5cm)の容器を使用し, 容器の高さ 3cm の位置に Anode 電極を設置した後, 容器の高さ 6cm まで底質を投入した。Anode 電極と Cathode 電極には面積 49cm<sup>2</sup> の Carbon cloth(縦 7cm×横 7cm)を用い, 容器の高さ 10cm まで表層水として人工海水を加えた。外部抵抗には 100Ω の抵抗を用いて, 設置期間は 50 日間とした。滅菌処理にはオートクレーブ(HIRATYAMA HA-300M)を 130 で 1 時間稼働させ, 底質の中心温度が

表-3 採取時の底質の性状

強熱減量値 [%]	pH	ORP(vs. SHE) [mV]
10.7	7.68	-198

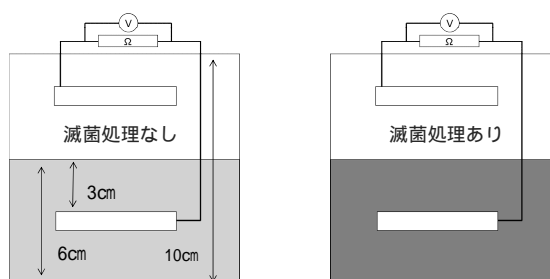


図-2 各装置の概略

約 100 になったことを確認した。また添加する人工海水は, オートクレーブを 121 で 20 分稼働させ, 滅菌処理を行った。電圧値の測定は, 閉回路の抵抗区間の電圧をデータロガー(midi LOGGER GL240)で測定し, オームの法則と電極面積から, 通電期間中の電流密度を算出した。

表-4 実験条件

各装置の種類	滅菌処理なし, 滅菌処理あり
容器体積 [cm <sup>3</sup> ]	1,013 (縦9cm×横9cm×高さ12.5cm)
電極面積 [cm <sup>2</sup> ]	49 (縦7cm×横7cm)
電極素材	Carbon cloth
外部抵抗 [Ω]	100
表層水	人工海水
実験期間	50日間
測定項目	電圧値

(3) 有機物分解促進の評価及び嫌気環境改善効果の評価

汚染された底質環境においては, 含有する有機物量に対して, その分解に必要な酸素等の電子受容体が圧倒的に不足しており, その供給も制限されていることから有機物分解が非常に緩慢となっている。汚染の進んだ環境下に堆積物微生物燃料電池を設置することで, 底質中の電子を酸素等の電子受容体が豊富な Cathode 電極上で利用できることから, 嫌気環境下の底質中の有機物を好氣的に分解でき, 底質中の有機物分解を促進させることができる。このような考えに基づき, 以下の実験では, 堆積物微生物燃料電池の設置による有機物分解促進の評価及び嫌気環境改善効果の評価を目的として室内実験を行った。実験条件を表-5 に示す。対象とする底質は(2)で使用したものと同様の有明海, 東与賀にて採取した底質である。通電した場合(閉回路)と通電しない場合(開回路)を比較し, あらかじめ決めた期間が経過した後に両回路を解体して底質の分析を行った。閉回路と開

表-5 実験条件

容器体積 [cm <sup>3</sup> ]	19,430 (縦17cm×横45cm×高さ25.4cm)
電極面積 [cm <sup>2</sup> ]	520 (縦13.3cm×横39.3cm)
電極素材	Carbon cloth
外部抵抗 [Ω]	100
表層水	人工海水
実験期間	20日間, 40日間, 90日間
測定項目	ORP, pH, IL <sub>600</sub> , SOD

回路を1セットとし、測定期間別に3セット設置した(図-3)．設置した容器の体積は、 $19,430\text{cm}^3$  (縦  $13.3\text{cm}$ ×横  $39.3\text{cm}$ ×高さ  $25.4\text{cm}$ )で、容器の高さ  $6\text{cm}$  の位置に Anode 電極を設置し、容器の高さ  $12\text{cm}$  まで底質を投入した．Anode 電極と Cathode 電極には面積  $520\text{cm}^2$  の Carbon cloth(縦  $13.3\text{cm}$ ×横  $39.3\text{cm}$ )を用い、容器の高さ  $22\text{cm}$  まで表層水として人工海水を加えた．外部抵抗には  $100\Omega$  の抵抗を用いた．通電期間は 20 日間, 40 日間, 90 日間とし、通電終了後に閉回路と開回路の堆積物微生物燃料電池を解体し、電極下部  $3\text{mm}$  内の底質の分析を行った．測定項目は ORP, pH, 強熱減量(IL: Ignition Loss), 酸素消費速度(SOD: Sediment Oxygen demand)とした．ORP は、ORP 計(HORIBA 製 D-72)を直接底質中に挿入し測定を行った．次に、遠心分離器(KOKUSAN H-103N)を用いて固液分離することで得た上澄みを、pH 計(HORIBA 製 D-51)を用いて測定した．IL<sub>600</sub> はマッフル炉(ISUZU ETR-16K)で乾燥試料を  $600^\circ\text{C}$  で 2 時間燃焼し、燃焼前と燃焼後の減量値から算出した．さらに、酸素消費速度は、曝気したる過海水に湿泥  $2\text{g}$  を  $200\text{ml}$  フラン瓶に添加後、密栓して攪拌を行い、4 時間後の DO の濃度変化をもとに、経過時間と添加した底質の乾燥重量とで除すことで算出した．DO は DO 計(HORIBA 製 OM-51)によって測定した．

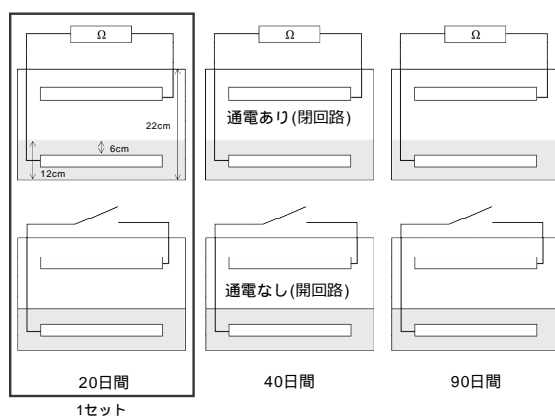


図-3 設定期間ごとに設置した閉回路と開回路の概略

#### (4)導電性酸化鉄の添加による浄化範囲拡大の検討に関する実験方法

上述の結果より、堆積物微生物燃料電池が底質の浄化に有効であることが確認できた．しかし、堆積物微生物燃料電池による影響範囲は最大でも約  $12\text{mm}$  程度であることが報告されており<sup>3)</sup>、堆積物微生物燃料電池による浄化範囲は極めて狭い．そのため、実地への適用には、浄化範囲の拡大が課題となる．橋本ら<sup>4)</sup>は、水田土壌を微生物源とした培養液中に導電性酸化鉄を添加することで、電極か

ら遠く離れた発電菌からも電子を電極へ伝達できることを報告している．この結果は、底質に導電性酸化鉄を添加することで、電極から遠く離れた発電菌からの電子回収が可能となることを示唆している．そこで本実験では、底質にマグネタイト( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ )を添加することで、堆積物微生物燃料電池の浄化範囲を拡大することを目的とした．実験条件を表-6 に示す．底質は(2)で使用したものと同様の有明海、東与賀にて採取した底質を使用した．添加する導電性酸化鉄は、マグネタイト( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ , 粒径  $45\mu\text{m}$  以下)を使用し、 $0.06\text{vol}\%$ ,  $1\text{vol}\%$ ,  $10\text{vol}\%$ ,  $20\text{vol}\%$ ,  $40\text{vol}\%$ となるように底質と混合した(図-4)．装置の設置条件および電圧の測定は(2)と同様に行った．

表-6 実験条件

添加する酸化鉄	マグネタイト ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ , 粒径 $45\mu\text{m}$ 以下)
各装置の種類	無添加, $\text{Fe}_3\text{O}_4$ $0.06\text{vol}\%$ 添加, $\text{Fe}_3\text{O}_4$ $10\text{vol}\%$ 添加, $\text{Fe}_3\text{O}_4$ $20\text{vol}\%$ 添加, $\text{Fe}_3\text{O}_4$ $40\text{vol}\%$ 添加
容器体積 [ $\text{cm}^3$ ]	1013 (縦 $9\text{cm}$ ×横 $9\text{cm}$ ×高さ $12.5\text{cm}$ )
電極面積 [ $\text{cm}^2$ ]	49 (縦 $7\text{cm}$ ×横 $7\text{cm}$ )
電極素材	Carbon cloth
外部抵抗 [ $\Omega$ ]	100
表層水	人工海水
実験期間	30日間
測定項目	電圧値

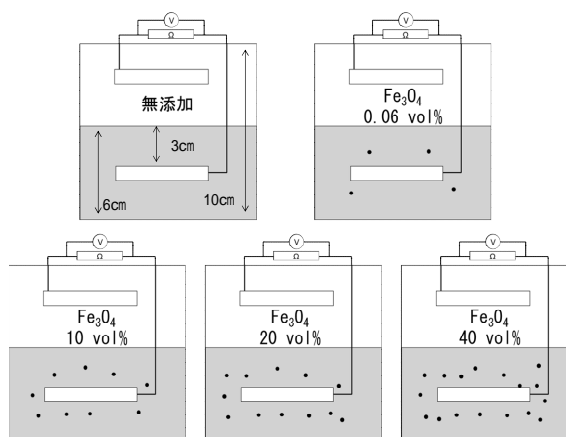


図-4 比較実験の概略

## 4. 研究成果

### (1)発電因子の把握

電流密度の経時変化を図-5 に示す．滅菌を行わなかった場合は電流密度が上昇したのに対し、滅菌を行った場合は通電期間を通して電流密度が低かったことがわかる．図-6 から滅菌することにより総電流量が約  $95\%$ 減少したため、電流密度の上昇は微生物の代謝に起因するものであると考えられた．堆積物微生物燃料電池において、Anode 電極表面に発電菌がバイオフィームを形成していたことが報告されており、今回の電流密度の上昇は発電菌の集積によるものであると考えられる．これらの実験結果から、堆積物微生物

燃料電池の電子回収には、微生物の代謝が主に  
 関与していることが明らかとなった。

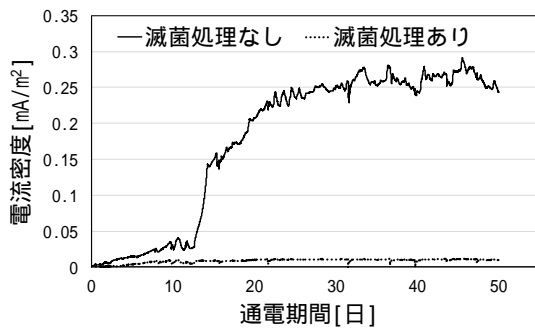


図-5 滅菌が電流密度に与える影響

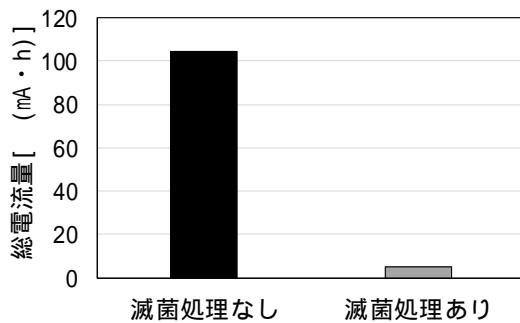


図-6 滅菌が総電流量に与える影響

(2) 有機物分解促進の評価及び嫌気環境改善  
 効果の評価

有機物分解促進の評価

閉回路と開回路の強熱減量値の比較を図-7  
 に示す。強熱減量値は、閉回路と開回路の比  
 較において差がほぼみられなかった。この理  
 由としては、強熱減量値が底質中の易分解性  
 および難分解性を合わせた全有機物量を示  
 す指標であるためと考えられる。微生物が基  
 質とする有機物は易分解性であるため、堆積  
 物微生物燃料電池の設置による有機物分解  
 促進の影響は、易分解性の有機物量の変化に  
 顕著に反映されると考えられる。そのため、  
 難分解性の有機物を多く含む底質を対象と  
 した強熱減量値には大きな差がみられなか  
 ったと考えられる。

図-8に堆積物微生物燃料電池の設置から90  
 日後の底質を懸濁させた場合の酸素消費速  
 度の測定結果を示す。この酸素消費速度は、  
 数値が高いほど、底質が酸素を消費する物  
 質、つまり易分解性の有機物を多く含んで  
 いることを示す。閉回路と開回路を比較  
 すると閉回路の酸素消費速度が約24%低  
 い結果となった。このことから、堆積物  
 微生物燃料電池の設置により、底質中  
 における酸素消費量が減少することがわか  
 った。酸素消費量が減少した理由は、堆積  
 物微生物燃料電池による底質からの電子  
 回収にあると考えられる。上記(1)の結果  
 から、電子回収は主に微生物による有機物

分解に起因することが明らかになっている。  
 この結果から、電子回収による酸素消費  
 量の減少は、堆積物微生物燃料電池の設  
 置による底質中の易分解性の有機物の分  
 解によるものと考えられる。

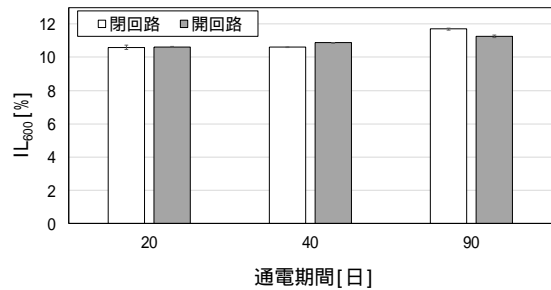


図-7 閉回路と開回路の強熱減量値の比較

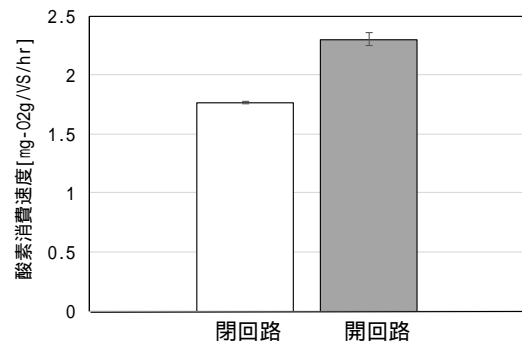


図-8 通電90日後の底質の酸素消費速度

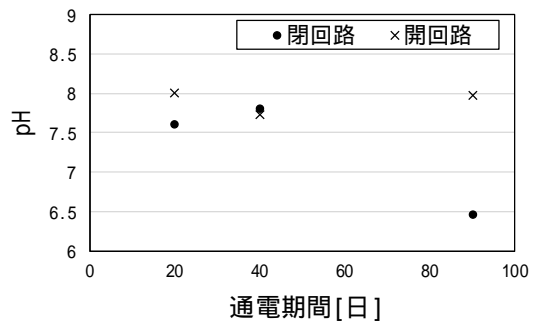


図-9 実験後のpH値

図-9に閉回路と開回路のpH値の比較を示  
 す。40日後までは通電の有無に関わらずpH  
 は7.5から8.0に保たれていたが、90日後  
 では閉回路において、pHは6.5にまで低下  
 していたことがわかる。このpHの低下は  
 有機物の分解を示した式(1)から予想され  
 るpH変化と一致しており、上述の考察を  
 支持する結果となっている。

嫌気環境改善効果の評価

図-10に閉回路と開回路のORP値の比較  
 を示す。ORP値は、溶液の酸化還元状態  
 を示す指標であり、数値が高いと酸化  
 的であることを示し、数値が低いと還元  
 的であることを示す。結果から、各期間  
 において、開回路より

閉回路の ORP 値が極めて高い値を示した。このことから、堆積物微生物燃料電池により底質の嫌気環境が大幅に改善されたことがわかる。この理由としては、底質から底質外への電子輸送により、底質中の有機物等の電子供与体が減少し、還元的な環境から酸化的な環境へと変化したことによると考えられる。なお、開回路においても ORP 値の上昇がみられたが、この原因として、酸素が実環境よりも底質へ流入しやすい実験系であったため、底質中の還元物質が酸化され、ORP 値が上昇したと考えられる。

これらの結果から、堆積物微生物燃料電池による電子回収により、底質中の有機物分解の促進による酸素消費量の減少、および嫌気環境の改善が可能であることが示された。

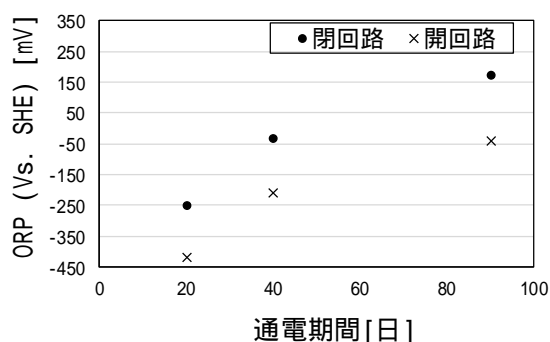


図-10 実験後の ORP 値

### (3) 導電性酸化鉄の添加による浄化範囲拡大の検討

マグネタイトの添加割合が総電流量に与える影響を図-11 に示す。マグネタイトを 0.06vol% 添加した場合は、無添加の場合に比べて総電流量の増加がみられたが、10vol% 以上の添加では総電流量が低下した。このことから、適切な量のマグネタイトの添加は、浄化範囲を拡大する手法となり得る可能性が示された。一方で過剰な添加は負の影響を与えることがわかった。マグネタイトの過剰な添加によって総電流量が低下する要因は、微生物の代謝の低下にあると考えられるが、詳しいメカニズムの解明は今後の課題である。

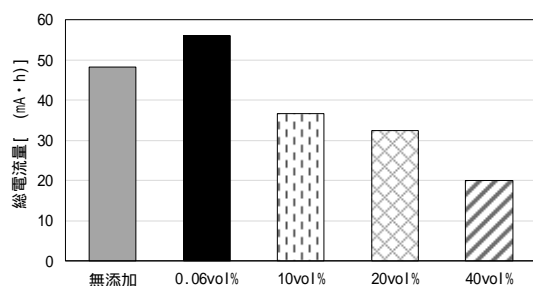


図-11 マグネタイトの添加割合が総電流量に与える影響

### (4) まとめ

SMFC による発電は、全体の約 95 % が微生物の代謝に由来し、約 5 % が底質中の無機物に由来することが明らかとなった。また、堆積物微生物燃料電池を 90 日間設置した結果、非通電時と比べて酸素消費速度が約 24% 減少した。底質中の酸素消費量の減少は堆積物微生物燃料電池の設置による底質中の易分解性の有機物の減少によるものと考えられる。非通電時と比べ、通電時の ORP は極めて高い値を示したことから、堆積物微生物燃料電池の設置により、底質中の嫌気環境が大幅に改善できることが明らかとなった。そして、適切な量のマグネタイトを添加することにより、浄化範囲が拡大される可能性が示唆された。

以上より、本研究の目的である、貧酸素水塊の抜本的な対策として「微生物を“電池”として利用可能なシステムを構築し、その電極間をショートさせることにより底質（堆積物）中の酸化還元電位を上昇させ、貧酸素水塊の抑制につなげること」により、原位置にて底質の浄化を行うことのできる全く新しいシステムの開発に資する基礎的知見の蓄積ができたと考えられる。

### < 引用文献 >

- 1) 池田篤治：バイオ電気化学の実際，シーエムシー出版，2007。
- 2) 高妻篤史，宮原盛夫，渡邊 一哉：微生物燃料電池の可能性，化学と生物，3号，pp. 150-152，2012。
- 3) Nielsen L. P., Rigaard-Petersen N., Fossing H., Christensen P. B., Sayama M. : Electric currents couple spatially separated biogeochemical processes in marine sediment, *Nature*, Vol. 463, pp. 1071-1074, 2010.
- 4) 橋本和仁，中村龍平，甲斐文祥，渡邊一哉，加藤創一郎，微生物燃料電池，WO2009119846，2009.

### 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)

#### [ 雑誌論文 ] (計 1 件)

今井 剛・福島 聖人・樋口 隆哉・神野 有生・山本 浩一・関根 雅彦：堆積物微生物燃料電池による底質浄化機構に関する基礎的研究，環境工学研究論文集，査読有 (投稿中)

### 6. 研究組織

#### (1) 研究代表者

今井 剛 (IMAI, Tsuyoshi)

山口大学・大学院創成科学研究科・教授

研究者番号：20263791