

令和 4 年 6 月 28 日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K22919

研究課題名(和文) バイオカソード型MFCを利用した新規脱窒プロセスに関する挑戦的研究

研究課題名(英文) Challenging for a new denitrification process using biocathode type MFC.

研究代表者

井上 千弘 (Inoue, Chihiro)

東北大学・環境科学研究科・教授

研究者番号：30271878

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究ではカソード反応に硝酸イオンの還元反応(脱窒反応)を用いる系に着目し、カソードでの電流消費反応にも微生物を用いた新たなバイオカソード型微生物燃料電池(MFC)を構築し、富栄養化の原因物質である硝酸イオンを処理することを可能とする新しいMFCシステムの基本系を作成した。作成したMFCにより、アノード側で酢酸を分解し、同時にカソード側で硝酸イオンを還元することが達成された。またカソードの印可電圧を-200mVに制御することで、亜硝酸イオンの蓄積なしで硝酸イオンを窒素ガスに変換でき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

現在のMFC研究の主流は、アノードで微生物による有機物の分解、カソードでは白金触媒を利用した水の電気分解を利用したものである。本研究で基本系を開発したバイオカソード型MFCは、アノードで有機物の分解、カソードで微生物反応により硝酸の脱窒を行わせるものであり、アノードとカソードの両側で水中の汚染物質の分解を行いながら電気を得ることができるため、汚染物質の処理と電気の産生を同時に可能とする新たなシステムを提案するものである。

研究成果の概要(英文)：In this study, a biocathode type microbial fuel cell (MFC) system that uses a nitrate ion reduction reaction (denitrification reaction) by denitrifying bacteria for the cathode reaction is investigated. A basic system for a new MFC system that enables the treatment of nitrate ions, which are the causative agents of eutrophication, even on the cathode side was created. With the prepared MFC, it was achieved to decompose acetic acid on the anode side and at the same time reduce nitrate ions on the cathode side. It was also clarified that by controlling the applied voltage of the cathode to -200 mV, nitrate ions can be converted to nitrogen gas without accumulating nitrite ions.

研究分野：生物による環境修復

キーワード：微生物燃料電池 脱窒反応 カソード反応 排水処理 電流消費菌 電流産生菌 電極の表面構造 処理構造

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

近年、有機性廃棄物の処理と電気の生産を同時に行うことのできるシステムとして微生物燃料電池(Microbial Fuel Cells、以下MFCと表記する)が注目を集めており、排水処理や水質浄化を行いつつ発電を行うシステムや、海底沈殿物からエネルギーを回収するシステムとしても研究が行われている。現在のMFC研究の主流は、有機物を酸化して電子を放出する電流産生菌をアノードに用いた系であり、カソードでの電流消費反応には白金などの化学触媒を利用している。一方、微生物の中には細胞外から直接電子を取り込み、化学物質を還元する細菌(電流消費菌)の存在が知られている。このような細菌を用いることによって、カソードでの電流消費反応にも微生物を用いたバイオカソード型MFCを構築することが可能である。バイオカソード型MFCの特徴は、カソード反応に必要な高価な触媒が不要になる他、カソードでも硝酸イオンなどの有害物質の分解が可能になることが挙げられる。しかしながら、実際にバイオカソード型MFCの研究例は少なかった。

2. 研究の目的

本研究ではカソード反応に硝酸イオンの還元反応(脱窒反応)を用いる系に着目し、この反応を行う脱窒菌を用いることによって、図1に示すようなカソードでの電流消費反応にも微生物を用いたバイオカソード型MFCを構築し、カソード側でも微生物反応を利用して富栄養化の原因物質である硝酸イオンを処理することを可能とする新しいMFCを開発することを目的とした。

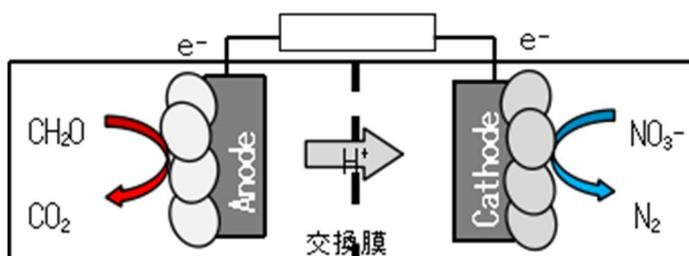


図1 バイオカソード型MFCの概略図

3. 研究の方法

内容量 30mL のアノード槽とカソード槽を水素イオンを透過させるためのイオン交換膜を介して配置し、電極には厚さ1mmのグラファイトプレートを用いた。起電力のデータはアノードに対するカソードの電位を電圧データロガーで定期的に記録した。カソード槽にはAg/AgCl参照電極を設置し、カソード電位を測定した。アノード槽には酢酸を加えた培地、カソードには硝酸イオンを加えた培地を入れ、それぞれ電流産生菌と電流消費菌を加えて、MFC反応を開始させた。電流産生菌としては*Geobactor sulfurreducens*を用い、電流消費菌としては*Thiobacillus denitrificans*を用いた。また、カソード側を単独で用いることにより、電気培養を行った。

4. 研究成果

4.1 *Thiobacillus denitrificans*の嫌気培養

*T. denitrificans* に電子供与体としてチオ硫酸を与え、さらに電極材料として使用するカーボンフェルトを加えて嫌気培養を行った。*T. denitrificans* は30℃の恒温室にて20日間嫌気的条件下で静置培養し、サンプルは、通常の培地で材料を入れずに培養を行ったもの(Free cell)、通常の培地に薄いカーボンフェルトを沈めたもの(CF-0.5)、通常の培地に厚いカーボンフェルトを沈めたもの(CF-5.0)、および対照実験としてチオ硫酸を除いた培地で培養を行ったものの4種類を用意した。

結果を図2に示す。この図より硝酸イオンは、通常の培地で培養した3つのサンプルで最終的には同程度消費されていることが分かる。材料なしのサンプルでは硝酸イオンの減少も最も早い段階から始まっており、実質10日間で硝酸イオンの還元が完了している。その間の硝酸イオン除去速度を、4日目と8日目の硝酸イオンの濃度差を日数で割った値として計算すると4.05 mM/dayとなった。また、厚さ0.5mmのカーボンフェルトを入れて培養した場合(CF-0.5)、硝酸イオンの濃度減少開始時期に遅れが生じるが、濃度減少

が始まった以降の減少速度の最大値は、カーボンフェルトを入れない場合とほとんど変わらないことが分かる。CF-0.5 における硝酸イオン除去速度は 8 日目から 12 日目までが最大となり、3.19 mM /day であった。一方 CF-5.0 では、硝酸の減少が終始穏やかに進んでおり、これは浮遊菌の比率が低いことに起因すると考えられる。細胞あたりの脱窒反応の速度がカーボンフェルトに付着している場合と培地中で浮遊している場合で違いがないと仮定すると、カーボンフェルトを添加した場合に硝酸イオンの濃度減少開始時期に遅れが生じるのは、材料表面に付着した際に *T. denitrificans* の増殖に誘導期が発生するためと考えられる。CF-5.0 における硝酸イオン除去速度は 8 日目から 12 日目までが最大であり、2.22 mM /day であった。各サンプルにおける硝酸イオンの最終的な変化量は、材料なしのサンプルで 18.4 mM、CF-0.5 のサンプルで 19.9 mM、CF-5.0 のサンプルで 18.2 mM であった。また、各サンプルの硝酸イオン除去率は、89.6 %、98.2 %、93.2 % であり、材料なしで培養したサンプルよりも、カーボンフェルトと共に培養したサンプルの方が硝酸イオンの除去率が高くなっていった。

*T. denitrificans* が行う脱窒反応では 8 分子の硝酸イオンが反応して 10 分子の硫酸イオンが生成するから、 $|\text{NO}_3^- / \text{SO}_4^{2-}|$  の値の理論値は 0.8 となる。本研究の結果ではいずれの場合も理論値をやや下回っており、硝酸イオンが完全に窒素まで還元されておらず、一部が NO や N<sub>2</sub>O までしか還元されていない可能性が考えられる。

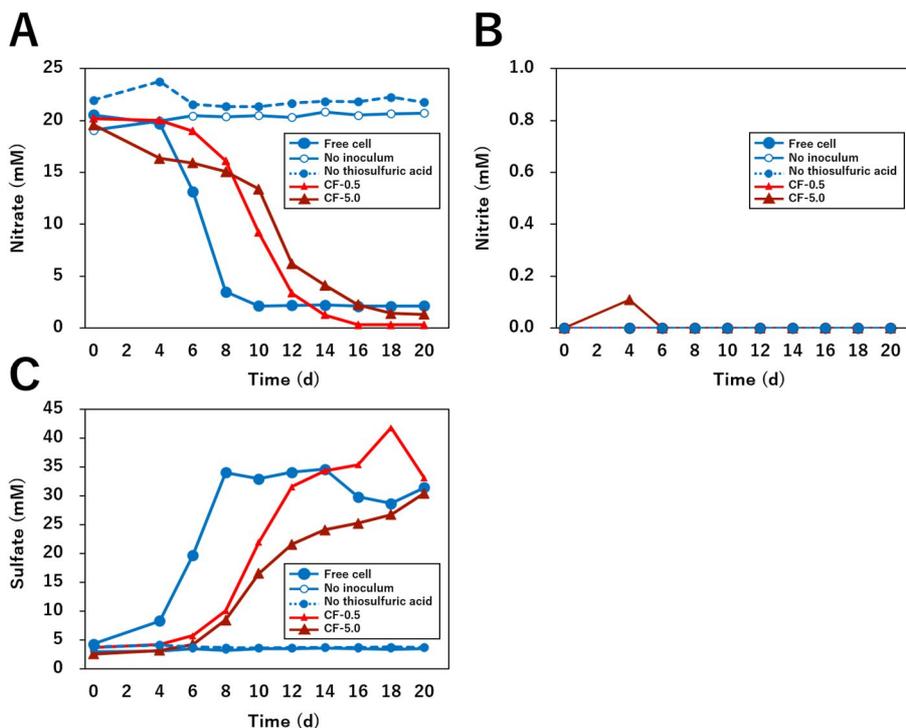


図2 *Thiobacillus denitrificans* の嫌気培養

#### 4.2 *Thiobacillus denitrificans* の電気培養

*T. denitrificans* に電子供与体として外部電源から電圧を与え、電気培養を行った。*T. denitrificans* が入ったセルを 30 ℃ の恒温室に静置し、14 日間 一定の電圧 (-100 mV、-200 mV、-300 mV) の電圧を与えた。

結果を図 3 に示す。電気培養によって電極経路から獲得した電子を使用して還元されたと考えられる硝酸イオンの変化量は、-200 mV で変化量が最も大きく、-100 mV、-300 mV でほとんど同じ値を示した。このことから、*T. denitrificans* が行う硝酸イオンの還元には -200 mV 付近の電圧が最適であると考えられる。また、本研究の -200 mV における電極回路での硝酸イオンの減少量は、電極の表面積も加味して計算すると、-75.91 mmol NO<sub>3</sub>-N (L<sup>-1</sup>·day<sup>-1</sup>·m<sup>2</sup>) となり、先行研究で Yu らが達成した -21.12 mmol NO<sub>3</sub>-N (L<sup>-1</sup>·day<sup>-1</sup>·m<sup>2</sup>) より多くの硝酸イオンを消費させることに成功した。亜硝酸イオンについて、-300 mV では蓄積が確認された一方で、-100 mV、-200 mV では蓄積していないことから、電極上で完全な脱窒を進行させるために必要な条件のひとつを導くことができた。

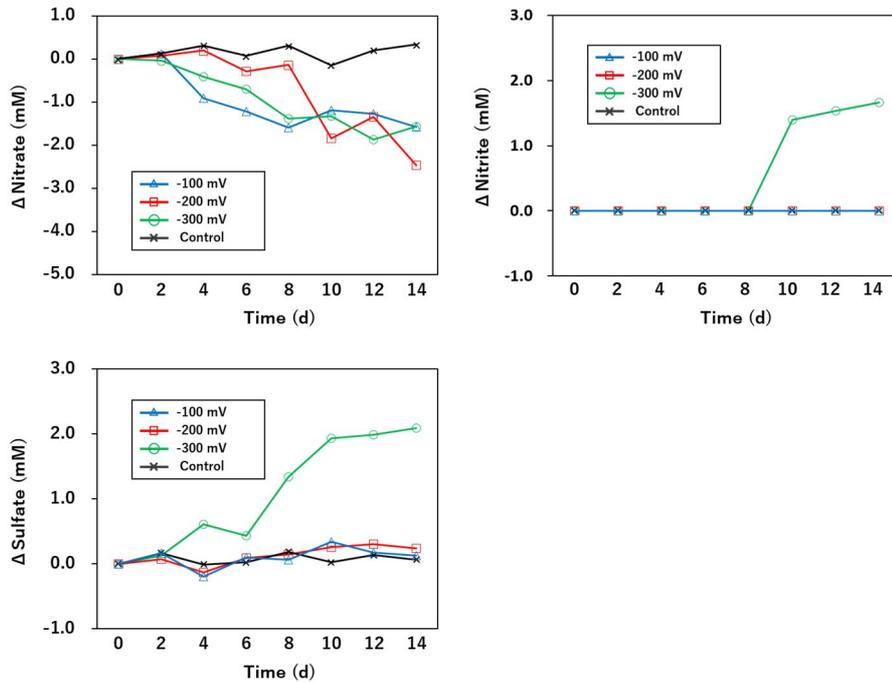


図3 *Thiobacillus denitrificans* の電気培養の結果

#### 4.3 バイオカソード型 MFC による両極での微生物反応

アノードに電流産生菌として *G. sulfurreducens* を用い酢酸を加えた培地、カソードに電流消費菌としては *T. denitrificans* を用い硝酸イオンを加えた培地をそれぞれ入れて、MFC 反応を行った。

結果を図4に示す。0日目から4日目までにかけてアノード、カソード両極において急速に基質の消費が行われ、4日目以降は緩やかに消費が行われた。カソード側では硝酸イオンとともに亜硝酸イオンが消費されて窒素ガスが発生していることが確認できるが、電気培養の場合と比較すると亜硝酸イオンの残存が多くなってしまっている。この原因としては、運転期間中のカソード側の電位差が $-50\text{mV}$ となってしまう、窒素ガスへの変換が起こりやすい領域からずれてしまった可能性が推定され、今後適切な抵抗の追加等によりその改善を行う必要があると考えられる。

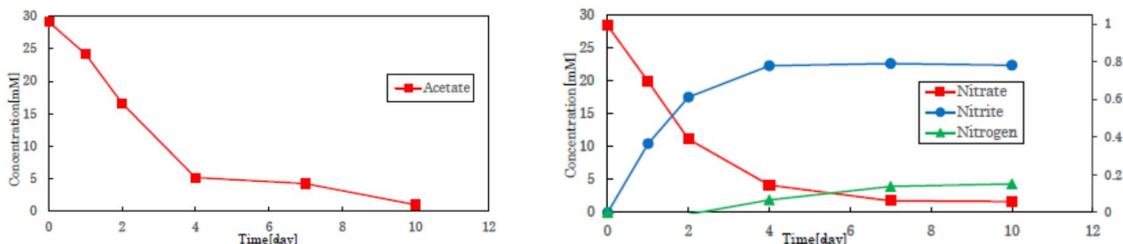


図4 バイオカソード型 MFC による両極での微生物反応の結果

#### 4.4 電極表面の構造の検討

電極への細菌の付着量を増大させるために電極表面の微細構造の検討を行い、孔径が10ミクロン程度のピンクッション状の構造である Pincushion film (PCF) を作製して大腸菌と枯草菌の担持特性を調べたところ、両細菌とも構造内に良く担持されることが示さ、脱窒菌においても同様の効果が期待された。今後、PCF 構造を取り入れたカソード電極による、脱窒反応の効率改善の検討が必要と考えられる。

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 Shimura, R., Abe, H., Yabu, H., Chien, M.-F., Inoue, C.	4. 巻 63
2. 論文標題 Biomimetic antibiofouling oil infused honeycomb films fabricated using breath figures	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Polymer Journal	6. 最初と最後の頁 713～717
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41428-021-00467-1	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2件（うち招待講演 0件／うち国際学会 0件）

1. 発表者名 志村龍之介、阿部博弥、簡梅芳、藪浩、井上千弘
2. 発表標題 油層担持高分子膜のアンチファウリング特性評価
3. 学会等名 第9回CSJ化学フェスタ2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 志村龍之介、荒井雄貴、井上千弘、簡梅芳
2. 発表標題 両極型微生物燃料電池の運転による硝酸性窒素除去能力の評価
3. 学会等名 環境バイオテクノロジー学会2021年度大会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------