

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 15 日現在

機関番号：12301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26420528

研究課題名(和文) 無曝気で有機物・窒素除去と発電が可能な微生物燃料電池型廃水処理法の開発

研究課題名(英文) Development of a microbial fuel cell capable of simultaneous removal of organic matter and nitrogen with generating electric power from nitrogenous organic wastewater

研究代表者

渡邊 智秀 (Watanabe, Tomohide)

群馬大学・大学院理工学府・教授

研究者番号：60251120

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：硝化細菌生物膜が形成されたエアカソード(硝化エアカソード)と粒状炭素充填層に脱窒汚泥を保持させた脱窒バイオカソードの両方を設置したカソード槽、電気産生微生物を保持させたアノードを設置したアノード槽からなる二槽式のハイブリッドカソード型MFCを提案した。アノード槽での有機物分解に併せてカソード槽でのエアカソードから透過した酸素を利用した硝化で生成した硝酸イオンの脱窒バイオカソードでの脱窒による窒素処理が安定的に進行すると同時に、硝化エアカソード-アノード間および脱窒バイオカソード-アノード間で発電可能であることを実験的に実証した。

研究成果の概要(英文)：A novel microbial fuel cell (MFC), capable of removing organic matter and nitrogen from wastewater, was proposed and demonstrated experimentally. The proposed MFC was two-chamber structure and was comprised of anodic compartment and a cathodic compartment equipped with both a denitrifying biocathode and an air-cathode on which nitrifying biofilm was pre-enriched (nitrifying air-cathode). In the cathode compartment, TN removal successfully proceeded through a sequence of biological nitrification by utilizing oxygen passed through the nitrifying air-cathode and autotrophic denitrification on the denitrifying biocathode with utilizing electrons delivered from anode as electron donors. Electric power was generated both between the nitrifying air-cathode and anode and between the denitrifying biocathode and anode during organic matter degradation in the anode compartment and TN removal in the cathode compartment.

研究分野：環境工学

キーワード：廃水処理 微生物燃料電池 硝化脱窒 エアカソード バイオリクター

1. 研究開始当初の背景

低炭素社会の実現に資する要素技術開発への社会的要請も背景として、細胞外電子伝達能を有する微生物により有機物の分解と同時に電力の回収も可能な微生物燃料電池(MFC)の仕組みを応用した有機性廃水処理プロセスの開発に強い関心が寄せられている。一方、有機性廃水は一般に、タンパク質等に由来する窒素が主としてアンモニア態で含有され、富栄養化防止の観点から十分に低濃度まで処理することが不可欠である。従って MFC の特徴を損なうことなく窒素処理を融合できれば、極めて有用となる。

研究代表者らは、有機物処理速度と出力が大きく、カソード槽が不要で省スペースとなる一槽式 MFC のエアカソードの表面に硝化細菌生物膜を形成させることにより(硝化エアカソード) 出力を低下せずに硝化脱窒を経由した窒素処理を系内で完結可能であることを実証した。また、二槽式 MFC のカソード槽において、脱窒汚泥を予め付着させた脱窒バイオカソードを用いると酸素還元反応(ORR)に代えて生物学的な硝酸イオン還元(脱窒)の進行により、発電が可能であることを明らかにして、硝酸イオン汚染水への適用を試みてきた。

2. 研究の目的

本研究の最終的な目標は、含窒素有機性廃水に対して有機性汚濁成分と窒素の処理に合わせてエネルギー獲得も可能な超省エネルギー型廃水処理システムを開発することにある。そこで、硝化エアカソードを用いる方法と脱窒バイオカソードを用いる方法それぞれの強みを相乗的に活かす欠点を補うこれまでにない試みとして、本研究期間では、硝化細菌生物膜を形成させたパッシブ型酸素供給方式のカソードと脱窒バイオカソードを同一槽内へ設置することでハイブリッド化した新規な MFC を提案し、アノードでの有機成分除去とカソードでの窒素処理と同時に発電が可能であることの実証、提案システムの基本的な処理や出力特性の把握および高性能化に関わる知見を得ることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 硝化エアカソード MFC の作製と基本特性の把握

所定の酸素透過能を有するエアカソードを用意し、安定的に運転されている硝化汚泥培養槽へ浸漬して、Pt/C 層表面へ硝化細菌生物膜を形成させた硝化エアカソードを作製した。生物膜のない対照系とともに硝化試験を行い、生物膜の活性や硝化速度ならびに非生物現象の影響を検討した。

電気産生微生物を含む生物膜の形成・馴致で安定した出力が得られるアノードと上記の硝化エアカソードを組み合わせた MFC 実験装置を作製し、硝化速度や出力性能と操作

条件の関係を実験的に検討した。

(2) 脱窒バイオカソードの基本特性の把握

予め出力が得られる状態にしておいたアノードを設置した二槽式 MFC のカソード槽へ脱窒汚泥を植種して所定の条件下で馴致して脱窒バイオカソードを作製した。さらに、有機物や硝酸イオン負荷等の操作条件を変更しながら実験を継続し、脱窒速度や出力性能と操作条件ならびに装置条件との関係を検討した。

(3) ハイブリッドカソード型 MFC の試作・実証・基本特性の把握と高性能化に関わる因子の検討

前年度までの取り組みを踏まえて作製した硝化エアカソードと脱窒バイオカソードを設置したカソード槽、電気産生能を有するアノードを設置したアノード槽およびこれらを隔てる陽イオン交換膜で構成されるハイブリッドカソード型 MFC を試作した。

所定の基質溶液で満たした回分実験を実施して、有機成分や形態別窒素濃度、槽内環境の状態ならびに電位差等を把握した。また、回分実験を繰り返すとともに、電気化学的な分極状況を定期的に測定して、操作条件や装置条件が TN 除去速度、有機物除去速度、最大電力密度、電荷収率等の水処理性能や出力性能へ及ぼす影響を検討した。

(4) 微生物群集の把握

それぞれの実験において、適宜、浮遊汚泥や生物膜試料を採取して冷凍保管した。試料から抽出した DNA を用いて、Bacteria や Archaea の 16S rRNA 遺伝子を対象とした系統解析を行い、カソード上の生物膜や装置内に存在する微生物群集の特徴を調査した。

4. 研究成果

(1) 硝化エアカソード MFC の特性

窒素処理の機構と発電への効果

事前に硝化細菌生物膜を形成させた硝化エアカソードを設置した一槽式 MFC の模擬含窒素有機性廃水による回分操作において、有機性基質として用いた酢酸が液相に共存している期間では、アンモニア性窒素と TN の減少がほぼ一致した。酢酸がすべて消費されるとアンモニア性窒素の継続的な減少に対応して硝酸イオンが蓄積し、TN はほぼ横ばいのままであった。すなわち、エアカソード上に形成されている硝化細菌生物膜において硝化が進行し、生成した硝酸イオンは、電子供与体となる有機物が共存すれば従属栄養性脱窒が生じて TN が除去された。

安定した性能が得られている硝化エアカソード MFC のエアカソードの一時的な交換や対照系等との比較から、系内で生じている硝化に対するエアカソード上の生物膜の寄与は 85%程度であると推算され、エアカソード上に予め形成させた硝化細菌生物膜は、有

機成分が共存する従属栄養条件下で運転を繰り返しても、その機能が維持されることがわかった。また、生物膜試料から抽出した 16S rRNA 遺伝子に基づいた微生物群集解析から *Nitrosomonas* 属やアンモニア酸化細菌および *Nitrospira* 属の亜硝酸酸化細菌が高く検出され、これらが硝化の進行を担っていることがわかった。

硝化エアカソード MFC では、通常のエアカソードを用いた MFC に比べて最大電力密度が大きくなる傾向があった。硝化エアカソードでは、Pt/C 層表面に形成された生物膜での硝化でプロトンが生成するので、出力低下の一因となっている酸素還元反応 (ORR) に伴う Pt/C 層の近傍のアルカリ性化に対して、外部から薬剤等を添加することなく緩和されている効果であると考えられた。

さらに、硝化エアカソード MFC では、通常のエアカソードを用いた MFC に比べて電荷収率が大きくなる傾向があることがわかった。一般にエアカソードを用いた一槽式 MFC の電荷収率を低下させる主要な因子は、系内での好氣的生物分解や嫌氣的なメタン生成による有機成分の消費である。特に前者は、エアカソードを透過したもののカソード反応で残余した酸素が液相へ供給されることが原因で生じる。一方、硝化エアカソード MFC では、カソード反応で残余した酸素の一部または多くは硝化で利用されることになる。このことを踏まえて、有機物の好気分解と硝化脱窒 (完全硝化と従属栄養脱窒) の異化反応の化学量論から、酢酸を例とすると、硝化脱窒を経由した有機物消費のほうが、単なる好気分解に比べて最大で約 40% 小さくなると推定され、硝化に酸素が利用されることで、電気へ変換されない有機物の無効な消費が低減されて効率の向上もたらしていると考えられた。すなわち、硝化エアカソードは、出力と効率の両面において効果を有することがわかった。

操作条件 (アンモニア性窒素濃度) の影響

初期有機物濃度が一定のもとで初期アンモニア性窒素濃度を 0~100mg-N/L の範囲で変化させた場合、生物学的硝化脱窒に伴う TN 除去速度は、初期アンモニア性窒素濃度の増大につれて、概ね比例的に上昇し、約 3g-N/(m²·d) (エアカソード面積基準) に達した。このような比較的高濃度条件下での明確な濃度依存性から、アンモニア性窒素の液本体から生物膜内への拡散等の物質移動が総括硝化速度の律速段階となっている可能性が示唆された。

硝化エアカソード MFC の最大電力密度および電荷収率は、通常のエアカソードを用いた対照系に比べて大きく、初期アンモニア性窒素濃度の増大に伴いそれらの差異が顕著となった。これは、上述したように硝化によるプロトン生成に伴うアルカリ性化の緩和ならびに ORR で残余した酸素による有機物

の電気へ変換されない無効な消費の低減が寄与し、硝化速度の増大に伴いその効果がより顕著となった結果であると考えられた。

装置条件 (エアカソードの酸素透過能および生物膜形成状態) の影響

使用開始前の酸素透過能 (初期酸素透過能) と事前の硝化細菌生物膜の形成状態がそれぞれ異なる硝化エアカソードを設置した MFC を用いて TN 除去速度や出力性能へ及ぼす影響を検討した。初期酸素透過能がほぼ等しく、生物膜形成のための実験室内で運転している生物学的硝化処理槽への浸漬期間が 1 週間または 4 週間のエアカソードをそれぞれ設置した MFC-A および MFC-B、生物膜の事前形成がない対照系の MFC-D、浸漬期間は MFC-B と等しいが、初期酸素透過能が約 1/2 の MFC-C とした。

図 1 に示したように、実験開始直後の各装置における硝化速度は、初期酸素透過能の大小と生物膜の成熟度に硝化能が強く影響を受けた。MFC-A、MFC-B および MFC-D における相違は、事前にエアカソード上へ硝化細菌生物膜を形成させておくことに有効性に加えて、できるだけ成熟した状態にしておくことの重要性を示唆している。ただし、MFC-A と MFC-B の差異は、模擬含窒素有機性廃水を使用した回分操作を繰り返すにつれて小さくなり、7 回目以降はほぼ同等となった。すなわち、不十分な初期状態から発達させることも可能であることがわかった。系内での TN 除去速度の大小関係は、概ね硝化速度の場合と同様であり、最初は MFC-B が最も大きかったが、回分操作の繰り返しの伴い MFC-A が同程度に達し、MFC-C はこれらに比べて小さかった。MFC-B と MFC-C の相違は、エアカソードの酸素透過能が硝化速度を制限していることを意味しており、効果的な TN 除去のために酸素透過能が重要であるといえる。

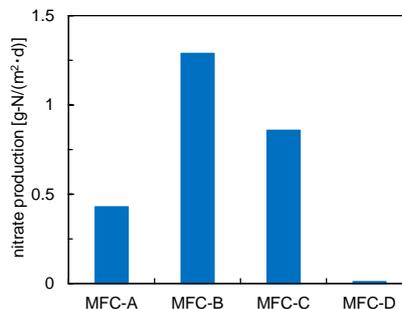


図 1 各 MFC に設置したエアカソードの初期硝化能

初期段階における各装置の最大電力密度と電荷収率の例を図 2 に示す。MFC-A と MFC-B で得られた最大電力密度はほぼ等しいことに加えて、MFC-D に比べて大きかった。これは、先述した硝化に伴う pH 上昇抑制効果に起因すると考えられる。MFC-C では、MFC-B に比べて出力が大きく低下しているものの、電荷収率は逆に大幅に高かった。

エアカソードからの酸素供給が他に比べて少ないため、カソードでの ORR が制限されている一方で、未利用のまま液本体へ浸透していく酸素が大幅に減少して槽内での好氣的有機物分解による無効消費が低減したことによると考えられ、エアカソードの酸素透過能の適切な設定の必要性が示唆された。

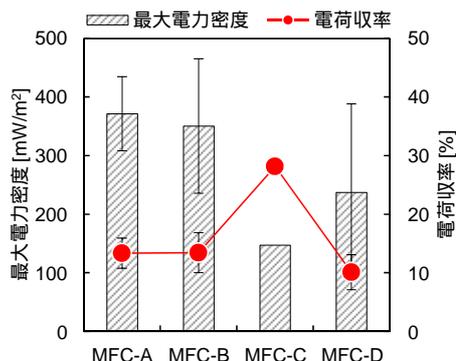


図2 装置条件の相違が出力性能へ及ぼす影響

一定の C/N 比に調整された模擬廃水を用いた回分操作の繰り返しによる長期運転の間に定期的実施した硝化試験での硝酸イオン生成速度の変遷を図3に示す。実験開始から70日程度経過すると両 MFC の硝化速度は急に半減したが、その後は概ね一定であった。一方、MFC-C では、約200日経過後までは、硝化試験において系内での実質的な硝酸イオンの蓄積は認められなかった。初期に比べれば低下するものの、長期にわたり硝化能が失われないことがわかった。

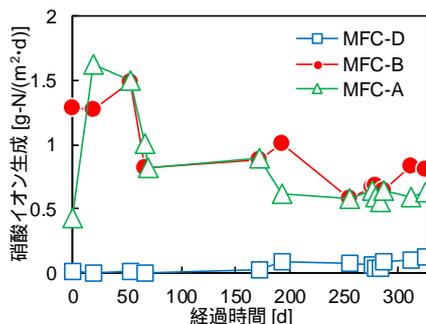


図3 長期運転に伴う硝化性能の変遷

TN 除去速度は、図3に示した硝化能の変化と同様に70日前後で MFC-A と MFC-B はともに同程度に低下してその状態が継続した。

出力の長期的な変遷では、最大電力密度は若干低下傾向を示す程度であったのに対し、電荷収率は、2ヶ月以上経過するとそれ以前の約3倍にまで向上し、その後も概ね一定に保たれた。系内における酸素消費状況の推算から、長期運転に伴う TN 除去速度の低下や電荷収率の向上には、エアカソードの酸素透過能の低下が強く影響し、エアカソードの細孔が微生物に由来する EPS 等により閉塞することが原因の一つとなっている可能性が示唆された。

(2) 脱窒バイオカソード MFC の特性

カソード槽へ見かけの充填率が同等となるようにフェルト状カーボンまたは粒状炭素を電極材として入れ、脱窒汚泥の植種と馴致を経て脱窒バイオカソードとした二槽式 MFC を作製し、アノード槽へ有機性基質含有水、カソード槽へ硝酸イオン含有水をそれぞれ種々の条件で通水しながら連続実験を行った。いずれの系においてもカソード槽における脱窒が生じるとともに電氣的出力が得られることを確認した。平均粒径が数 mm の粒状炭素の充填層をカソードとした系では、フェルト状カーボンを用いた系に比べて、脱窒速度および出力のいずれも優れており、その原因として、フェルト状素材では、槽内液の循環速度等により液混合が十分となるように操作しても内部にある炭素繊維の表面が有効に作用していない可能性が示唆された。一方、粒状炭素充填層の系では、粒子間の間隙が比較的大きいため、槽内の液流れを概ね均一に維持することが可能で、充填層深部の粒子表面も機能していると推察された。なお、粒状炭素充填層をカソードに用いた系では、流入硝酸イオン濃度や滞留時間等の操作条件に応じて、最大で約 20 g-N/(m²·d) の脱窒速度および約 0.4 W/m³ が得られた。また、酸素がカソード槽内へ混入すると、ORR が生じて出力は向上するものの、好気条件となることで脱窒速度が低下することがわかった。本系では、カソード液の電気伝導率が 1~10 mS/cm の範囲では出力へ顕著な影響は認められなかった。

フェルト状素材を有効に活用するための試みとして、集電体となる棒状導電材(炭素やチタン等)の表面を薄く覆うようにフェルト材を設置した電極を試作した。脱窒汚泥を植種し十分に馴致したうえで電気化学的測定をしたところ、硝酸イオン還元能を有していたものの、見かけの脱窒速度は小さく、厚みが大きいため内部が有効に利用しにくだけでなく、空隙率や間隙径等の物理構造や材質を含めて検討する必要性が示唆された。これらの結果を受けて、ハイブリッドカソード MFC での脱窒バイオカソードは粒状炭素充填層形式を選択することとした。

(3) ハイブリッドカソード MFC の特性

試作と実証

事前に硝化細菌生物膜を表面に形成させた硝化エアカソードと事前に別装置で作製した粒状炭素充填層型脱窒バイオカソードを設置したカソード槽、予め安定的に発電可能な状態へ馴致したフェルト状炭素を用いたアノードを設置したアノード槽および両槽を隔てる陽イオン交換膜で構成された二槽式 MFC を試作した。硝化エアカソードは、カソード槽の一側面となるようにした。また、脱窒バイオカソードは粒状炭素充填層の見かけの充填率がカソード槽の空塔容積の約 1/3 となるように設置した。

アノード槽に模擬含窒素有機性廃水、カソード槽に同一濃度のアンモニア性窒素含有水で満たした回分操作での形態別窒素濃度の経時変化の例を図4に示す。実験開始とともにカソード槽内のアンモニア性窒素濃度(C-ammonium)が低下して硝酸イオンが蓄積する一方でTNが減少した。また、カソード槽のアンモニア性窒素濃度とほぼ一致して、アノード槽内のアンモニア性窒素濃度(A-ammonium)も減少した。これは、カソード槽で硝化が生じるとともに脱窒バイオカソードで脱窒が進行してTNが除去されていることを示している。カソード液には有機物共存していないため、アノードで放出された電子が脱窒の電子供与体として作用しているといえる。また、アノード槽でのアンモニア性窒素濃度の減少は、カソード槽への透過によるものであり、最終的に本法では、含窒素有機性廃水をアノード槽からカソード槽を経由させて処理を完結することを想定すると、アンモニア性窒素の陽イオン交換膜を介したカソード槽への移動は窒素処理に対して不都合でなく、処理効率を高める可能性が示唆された。なお、本系の脱窒に関わる作用機構や微生物に利用される電子供与体の形態等は不明であり、それらの解明が今後の課題である。

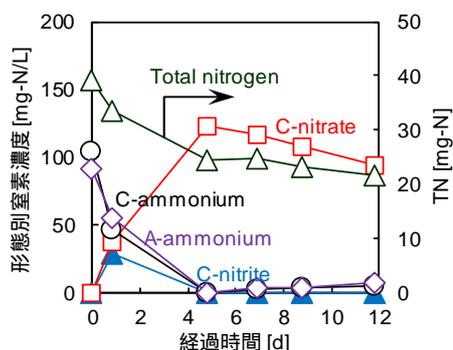


図4 形態別窒素の経時変化の例(回分操作)

ハイブリッドカソードMFCの基本特性

実験開始から約2か月経過後を例として、カソード槽内での硝化速度をハイブリッドカソードMFCで使用開始する直前の硝化エアカソードの硝化能と比較して図5(a)に示す。回分操作を繰り返して概ね安定した状態におけるカソード槽での硝化速度は、約4倍に増大した。これは、エアカソードに形成されている硝化細菌生物膜自体がより発達して能力が向上したことに加えて、後述するように本装置のカソード槽では、酸素のスキャベンジャーとして働く有機物が共存していないため、ORRや硝化で消費されず残ると系内が好気環境となる。そのため、硝化エアカソード以外の装置壁や脱窒バイオカソード表面で徐々に硝化細菌が増殖して機能している可能性がある。

実験開始から約2か月経過後を例としてカソード槽内での脱窒速度をハイブリッドカソードMFCで使用開始する直前の無酸素条

件下で操作された脱窒バイオカソードの脱窒能と比較して図5(b)に示す。回分操作を繰り返して概ね安定した状態におけるカソード槽での脱窒速度は40%程度低下した。本系における酸素収支から、エアカソードを透過した酸素量の最大で約40%がORRや硝化で消費されずに残留した可能性があり、硝化速度の向上とは逆に、無酸素環境下が望ましい脱窒の進行に影響を及ぼしていることが示唆された。このような酸素の残留に伴う硝化と脱窒速度の不均衡が、図4に示したように、カソード槽内における硝酸イオンの蓄積を招いたと考えられ、エアカソードの酸素透過フラックス適正化の必要性が示唆された。これに加えて、単位面積当たりの脱窒能を向上するとともに粒状炭素充填層方式を超えて有効に作用する電極面積を与える電極構造が今後の検討課題である。

従属栄養環境で培養した脱窒汚泥を植種・馴致して作製した脱窒バイオカソードを用いたMFC-1と独立栄養環境で水素を電子供与体として培養した脱窒汚泥を用いて作製した脱窒バイオカソードを用いたMFC-2では、後者のほうが脱窒能は高く、有機物のないカソード槽の環境により適した脱窒細菌群が多く含まれて機能を発揮しやすい可能性が示唆された。

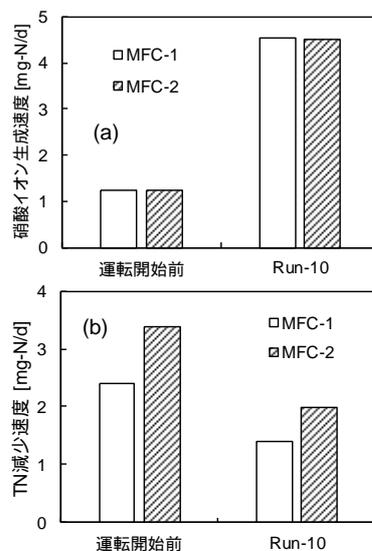


図5 カソード槽での(a)硝化速度と(b)脱窒速度の例

エアカソード - アノード間の最大電力密度は、MFC-1とMFC-3(無生物の粒状炭素充填層が設置されている対照系)でほぼ等しく約0.25 W/m²に達したが、MFC-2は1/2程度であった。しかし、電荷収率が装置によらず40~50%で比較的高い水準で大差がなかったことから、MFC-2の出力が他に比べて小さかったのは、使用したアノードの性能が偶然に劣っていたことに起因しているものと推定された。このことを踏まえると、系内で脱窒が生じることによる硝化エアカソード - アノード間の出力への影響はないものと判断された。

一方、脱窒バイオカソード - アノード間では、脱窒速度の大小関係と同様に MFC-1 に比べて MFC-2 の方が 20%程度大きく、0.9 W/m³であった。脱窒能のない MFC-3 においても約 0.3 W/m³の電力が得られたが、エアカソードでの ORR や硝化で消費されなかった酸素による粒状炭素充填層電極での ORR に伴うものであると考えられた。このことを考慮すると、硝酸イオンがカソード反応の電子受容体となっている MFC-1 や MFC-2 においても、残留酸素による ORR が出力へ部分的に関与しているものと考えられた。

本研究で新たに提案した硝化エアカソードと脱窒バイオカソードを同一の槽に設置したハイブリッドカソード型 MFC において、有機物・窒素の同時的除去に伴い発電可能であることが国内外を通じて初めて実証された。本方式は、窒素処理の過程からも発電が可能で発電効率の向上が期待される。本法の高性能化に向けて、脱窒に関わる作用機構等の現象解明ならびに処理速度を高めつつ硝化と脱窒のバランスを図るエアカソードの酸素透過能の適正化や電極構造等が今後の検討課題である。

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)

[雑誌論文](計4件)

窪田恵一, 玉谷守, 渡邊智秀: 有機酸組成の変化が微生物燃料電池の性能に及ぼす影響, 土木学会論文集 G(環境), Vol. 72(7), III_145-III_152 (2016) 査読有

渡邊智秀, 窪田恵一: 一槽式微生物燃料電池における窒素処理の特性, 用水と廃水, Vol. 58, 736-741 (2016) 査読無

V. H. Cong, Y. Sakakibara, T. Watanabe (他7名, 5番目): Recent developments in electrochemical technology for water and wastewater treatments, *J. of Water and Environ. Technol.*, 14, 25-36 (2016) 査読有

渡邊智秀, 窪田恵一: 微生物燃料電池 (MFC) における窒素処理への展開, *electrochemistry*, 84, 99-103 (2016) 査読無

[学会発表](計13件)

後藤博登, 丹野 峻, 窪田恵一, 渡邊智秀: 異なるカソードを組み合わせた微生物燃料電池による含窒素有機性廃水の窒素処理と出力特性, 第51回日本水環境学会年会, 2017.3.15-17, 熊本大学(熊本市)

T. Watanabe, K. Kubota and W. Takahashi: Factors influencing nitrogen removal in a single chamber MFC using an air cathode with pre-enriched nitrifying biofilm, IWA World Water Congress & Exhibition 2016, Oct. 9-Oct. 13, 2016, Brisbane (Australia)

T. Watanabe, N. Kojima, W. Takahashi

and K. Kubota: Long-term performances of TN removal and power generation in a single chamber MFC using an air cathode with nitrifying biofilm, The 3rd AP-ISMET 2016, Aug. 31- Sept. 2, 2016, Busan (Korea)

小島康伸, 窪田恵一, 渡邊智秀: 一槽式微生物燃料電池を用いた有機物・窒素同時処理の特性, 第50回日本水環境学会年会, 2016.3.16-18, アスティとくしま(徳島市)

高橋航, 窪田恵一, 渡邊智秀: 一槽式微生物燃料電池での窒素処理における影響因子, 第49回日本水環境学会年会, 2015.3.16, 金沢大学(金沢市)

T. Watanabe, K. Kubota and K. Sato: Effect of ammonium concentration on nitrogen removal and power generation in a microbial fuel cell with nitrifying biofilm on the air cathode, 9th IWA-AGRO '2014, Nov. 24-26, 2014, The Crown Palais New Hankyu Kochi (Kochi)

[その他]

ホームページ等

<http://environ.ees.st.gunma-u.ac.jp/index.html>

6. 研究組織

(1)研究代表者

渡邊 智秀 (WATANABE, Tomohide)

群馬大学・大学院理工学府・教授

研究者番号: 60251120

(2)研究分担者

窪田 恵一 (KUBOTA, Keiichi)

群馬大学・大学院理工学府・助教

研究者番号: 50707510