

N-14 微生物燃料電池を用いた牛糞尿からの発電と微生物群集構造解析

○伊藤 寿宏¹・鈴木 祥広²・渡邊 一哉³・井上 謙吾^{4*}

¹宮崎大学大学院工学研究科土木環境工学専攻（〒889-2192 宮崎県宮崎市学園木花台西1-1）

²宮崎大学工学部社会環境システム工学科（〒889-2192 宮崎県宮崎市学園木花台西1-1）

³東京薬科大学生命科学部（〒192-0392 東京都八王子市堀之内1432-1）

⁴宮崎大学IR推進機構（〒889-1692 宮崎県宮崎市清武町木原5200番地）

* E-mail: kinoue@cc.miyazaki-u.ac.jp

1. 緒言

近年、世界的な化石燃料の枯渇や、化石燃料の燃焼に伴う温室効果ガスの放出・増加が懸念される中、再生可能なエネルギーの生産技術の開発が注目を浴びている。特に、我が国において多く発生する畜産系廃棄物などのバイオマス燃料の利用は、廃資源からのエネルギー回収だけでなく、環境問題の観点からも極めて重要であるといえる。宮崎県においても、毎年約 450 万トンもの畜産廃棄物が発生し、攪拌方式によって堆肥化が行われている。しかし、畜産廃棄物の堆肥化には、多くのエネルギーを必要とするほかに、悪臭の発生などが課題となっている。

微生物燃料電池（Microbial fuel cell, MFC）は、微生物が有機物を分解してエネルギーを得る際に発生する還元力を電気として取り出す技術であり（図-1a）、排水処理とエネルギー回収を同時に行うことができる次世代型の排水処理プロセスへの利用が期待されている。MFC は、多くの先行研究によって電気生産能力の高い微生物の選択や、反応槽、ならびに運転条件の最適化などが検討され、この 10 年間で最大電力密度が 10^3 mW/m^2 から 10^5 mW/m^2 まで向上したが、より汎用な実用化にはさらに電力生産効率を高める必要がある¹⁾。

近年、MFC の先行研究では、単一の有機基質から構成されるもののほかに、農場排水や工場排水などの実排水を用いた研究例が多数報告されている。しかし、固形物を含む家畜排せつ物を用いた例は限られており、液体のみの条件と比較して出力が低いことのほかに、固形物を含むことで生じる出力への影響に関する知見は極めて少ないのが現状である²⁾。

そこで本研究では、固形物を含む牛糞尿を燃料とする MFC を構築し、さらなる MFC の出力の向上を目的とし

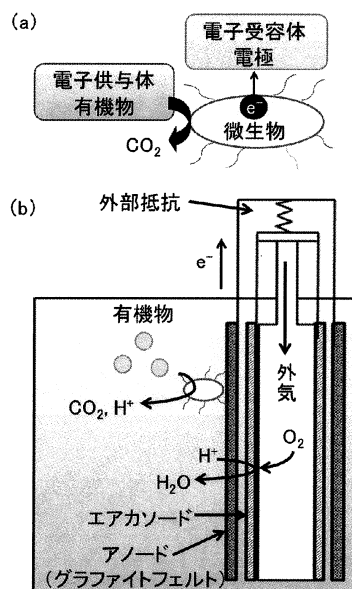


図-1 MFC の電気生産機構

(a) 鉄還元細菌の呼吸様式、(b) カセット電極

て、牛糞尿の効率的な前処理方法の検討も行った。また、発電に関わる微生物を明らかにするため、系内の微生物群集構造についても調べた。

2. 実験方法

(1) MFCの構築・運転

牛糞尿は、宮崎大学住吉フィールドで採取し、超純水で希釈することによって、牛糞尿懸濁液（20 mg-SS/L）を作製した。MFC は、500 mL メスシリンダー（電池としての内容積 550 mL）にカセット型電極（図-1b²⁾）と、牛糞尿懸濁液を入れ密栓し、嫌気ガスでヘッドスペース

を置換した。植種源として、基礎実験で運転している既存の MFC の電解液 4.2 mL を添加した。電解液は、スターラーを用いて連続的に攪拌した。培養温度を 30℃ とし、semi-batch mode (電解液の体積の 1/2 を交換) で運転した。MFC は、導線を用いてデータロガーに接続し、電圧 (V) を自動取得した。外部抵抗は、470 Ω を接続し、電圧 (V) の上昇に伴い段階的に変化させた。電圧 (V) は、外部抵抗の値をもとに電力密度 (W/m^2) に換算して評価した。また、MFC の最大電力密度を評価するために、ポテンシostatを用いて分極曲線、ならびに電力曲線を作成した。

(2) 牛糞尿懸濁液の前処理方法

本実験では、作製した牛糞尿懸濁液 (10 mg-SSL) に各前処理を行い、出力を比較した。牛糞尿懸濁液の前処理方法は、①ブレンダー破碎処理、②オートクレーブ処理、③凍結融解処理、④超音波破碎処理とした。また、本研究において、液体のみの条件との比較を行うために、①を遠心分離した上清を実験に用いた。外部抵抗は、330 Ω で固定した。MFC は、通常培養で運転し、出力が得られなくなると同時に semi-batch mode に切り替えた。

(3) 微生物群集構造解析

牛糞尿、および 2. (1) で運転した MFC (運転開始 49 日目) のアノード電極表面に形成されたバイオフィームから DNA を抽出した。DNA の抽出には、PowerSoil DNA Isolation Kit (MOBIO) を用いて行った。抽出した DNA は、PCR 法によって 16S rRNA 断片の一部が増幅するように設計されたユニバーサルプライマー I-341f (5'-CCTACGGGIGGCICGA-3')、および I-533r (5'-TACCGIIICTICTGGCAC-3') を用いた³⁾。増幅した 16S rRNA 遺伝子断片の塩基配列を決定し、Ribosomal Database Project (<http://rdp.cme.msu.edu>) を用いて系統解析を行った。

3. 実験結果

(1) 牛糞尿懸濁液を用いた MFC

牛糞尿懸濁液を用いた MFC の電気化学的特性を図-2 に示す。運転期間中における電力密度は、6 W/m^2 前後で安定した (図-4a)。また、運転開始 26 日目における分極曲線、ならびに電力曲線から、最大電力密度 163 W/m^2 であった (図-4b, c)。固形物を含む家畜排せつ物を用いた MFC の先行研究における最大電力密度は、0.3~0.6 W/m^2 程度であり、バイオカソードを用いた MFC において 15.1 W/m^2 であった⁴⁾。また、液体の実排水を用いた先行研究例としては、食品工場からの排水を用いた MFC で 9.4 W/m^2 であり、農業排水や家庭雑排水では 1~5 W/m^2 程度である。本研究で得られた最大電力密度は、それらの結果と比較して、固形物を含む条件液体のみならず、液体のみの条件と比較しても同等以上の出力が得られた⁵⁾。

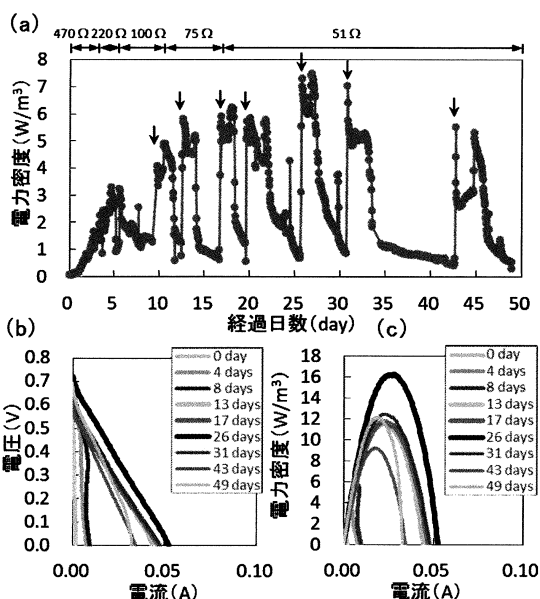


図-2 牛糞尿懸濁液を用いた MFC の電気化学的特性

(a) 電力密度の経日変化 (下矢印: semi-batch 処理)

(b) (c) 分極、電力曲線

(2) 牛糞尿懸濁液の前処理方法の検討

各前処理条件における電力密度の経日変化の結果を図-3 に示す。MFC による発電は、semi-batch mode に切り替えることによってすべての MFC の出力が安定した。出力は、ブレンダー破碎処理した MFC が最も高く、最大電力密度が 1.5 W/m^2 前後で安定した。上清を用いた MFC は、他の固形状の牛糞尿を含む条件と比較して出力が低く、semi-batch 処理後約 10 時間で出力が得られなくなった。これは、上清以外の条件においては、電解液中に固形状の牛糞が含まれることによって、微生物の利用可能な有機物、ならびに VA が持続的に供給されたためと考えられた。また、semi-batch mode 切り替え後では、ブレンダー破碎処理した MFC において、オートクレーブ処理と比較してより持続的に高い出力が得られることが示された。これは、固形状の牛糞を微細に破碎することによって、固形物中の有機物がより微生物に利用しやすい状態に変化したことが考えられた。また、オートクレーブ処理においては牛糞尿の常在菌が死滅するが、ブレンダー破碎処理した MFC では生存する常在菌が固形状の牛糞尿中に含まれるセルロースなどの高分子化合物を分解し、電極へ電子を伝達する微生物と協調的に働くことによって、発電の持続性を高めたことが考えられた。

(3) 微生物群集構造解析

牛糞尿、およびアノードバイオフィームにおける微生物群集構造の解析結果を図-4 に示す。牛糞尿からは *Bacteroides* (26.5%)、*Firmicutes* (23.5%)、*Spirochaetes* (9%) が主要細菌として検出された (図-4a)。また、

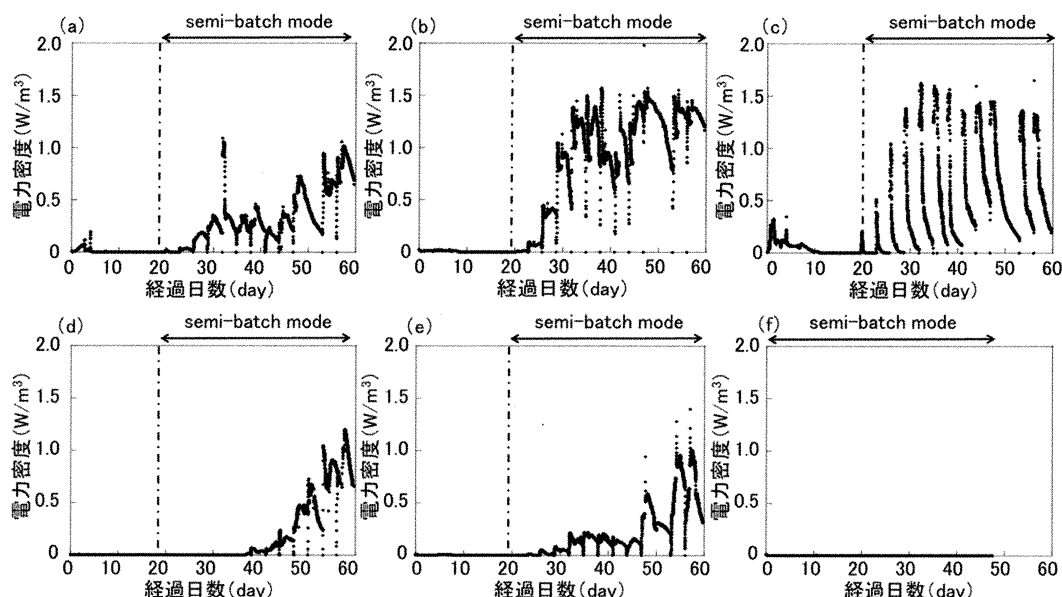
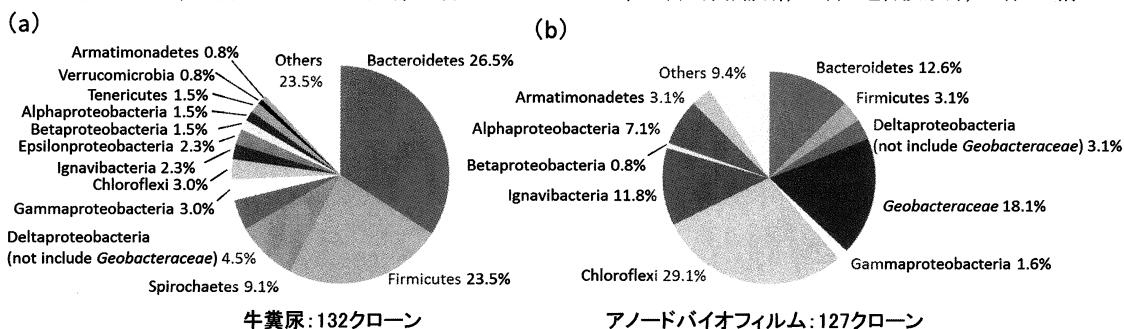


図-3 各前処理条件における電力密度の経日変化

(a) 未処理, (b) ブレンダー破碎, (c) オートクレーブ, (d) 凍結融解, (e) 超音波破碎, (f) 上清



牛糞尿:132クローン

アノードバイオフィーム:127クローン

図-4 微生物群集構造解析 (a) 牛糞尿, (b) アノードバイオフィーム

Firmicutes 門に属する微生物の 80.6%は, *Clostridium* 属に属する微生物であった。*Clostridium* に属する微生物の中には, 嫌気性セルロース分解細菌を含むことが知られており, 本実験系での牛糞尿に含まれるセルロースの分解に寄与したと考えられる⁹⁾。しかし, アノードバイオフィームでは, *Bacteroides*, *Firmicutes* が優占せず (それぞれ 12.6%, 3.1%), *Chloroflexi* (29.1%), *Geobacteraceae* (18.1%) が主要細菌であった (図-4b)。また, その逆も同様に, アノードバイオフィームの主要細菌は, 牛糞尿からほとんど検出されなかった。さらに, 検出された *Geobacteraceae* から, 純粋培養系の MFC で最も高い発電能力を有する株である *Geobacter sulfurreducens* PCA に近縁な微生物が検出された⁷⁾。

4. 結言

本研究により, 牛糞尿懸濁液を用いたMFCからの, 実排水, 液体のみのものを用いた先行研究と比較しても, 遜色のない出力での発電が可能であることが示された。

また, ブレンダー破碎処理した牛糞尿懸濁液を用いることで, 出力と発電の持続性が高まることも明らかとなった。アノードバイオフィームの微生物群集構造解析から, *Chloroflexi* (29.1%), および *Geobacteraceae* (18.1%) が優占種であり, これらの微生物が発電に寄与していることが示唆された。

参考文献

- 1) Logan *et al.* (2009), *Nat. Rev. Microbiol.* **7**, 375-381
- 2) Simoyama *et al.* (2008), *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **80**, 325-330.
- 3) Watanabe *et al.* (2001), *Journal of Microbiol. Methods* **44**, 253-262
- 4) Zang *et al.* (2012), *Biosens. Bioelectron.* **31**, 537-543
- 5) Pant *et al.* (2010), *Bioresour. Technol.* **101**, 1533-1543.
- 6) Lynd *et al.* (2002), *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **66**, 506-577
- 7) Nevin *et al.* (2008), *Environ. Microbiol.* **10**, 2502-2514