

令和3年度博士論文

微生物燃料電池を用いた有機酸廃液の処理と発電利用

Decomposition treatment of organic acids in wastewater and utilization for power  
generation using microbial fuel cells

東京農工大学大学院連合農学研究科

農業環境工学専攻

エネルギー利用学研究室

16954001

上田 恵

# 目次

第1章	序論	4
1.1	研究背景	4
1.1.1	脱炭素社会とバイオマスエネルギー	4
1.1.2	バイオマスからの水素生産とその課題	5
1.1.3	微生物燃料電池の有機酸廃液処理への利用	8
1.2	研究目的	10
1.3	論文の構成	11
第2章	アノード電極菌源の馴養方法が有機酸分解と発電性能に及ぼす影響	12
2.1	実験目的	12
2.2	実験方法	13
2.2.1	MFCリアクタ	13
2.2.2	実験方法	14
2.2.3	積算起電力と培養液の分析方法	18
2.3	結果及び考察	19
2.3.1	基質の分解	19
2.3.2	電気生産	22
2.3.3	リアクタの馴養方法の比較	23
2.4	まとめ	23
第3章	微生物燃料電池の運転条件が有機酸消費と発電性能に及ぼす影響	25
3.1	実験目的	25
3.2	実験方法	25
3.2.1	MFCリアクタ	25
3.2.2	MFCの運転条件	29
3.2.3	試験溶液のサンプリングと分析	31

3.2.4	基質分解モデルとクーロン効率.....	32
3.2.5	微生物群集構造解析.....	33
3.3	結果及び考察.....	34
3.3.1	基質分解モデルと適合性.....	34
3.3.2	基質の分解特性.....	35
3.3.3	発電量と発電効率.....	39
3.3.4	アノードの微生物群集構造解析.....	44
3.4	まとめ.....	48
第4章	多槽式微生物燃料電池による有機酸分解・利用の高効率化.....	49
4.1	目的.....	49
4.2	小型多槽式MFC実験.....	49
4.2.1	実験目的.....	49
4.2.2	実験方法.....	49
4.2.3	結果及び考察.....	53
4.3	大型MFC多槽式実験.....	56
4.3.1	実験目的.....	56
4.3.2	実験方法.....	56
4.3.3	結果及び考察.....	61
4.3.4	まとめ.....	73
第5章	総括.....	74
5.1	本論文のまとめ.....	74
5.2	今後の研究の展望.....	75
引用文献	.....	77
謝辞	.....	84

## 第1章 序論

### 1.1 研究背景

#### 1.1.1 脱炭素社会とバイオマスエネルギー

脱炭素社会とは温室効果ガスの排出を全体としてゼロとする社会のことである。世界では地球温暖化対策やエネルギー問題についてこれまでも議論されてきた。例えば2015年に国連で採択されたSDGs(持続可能な開発目標)の中でも「持続可能な近代的エネルギーの確保(目標7)」「気候変動及びその影響を軽減するための対策(目標13)」の2つの目標として取り上げられており(田中・川上 2020)、また、2015年のパリ協定でも気温の上昇を産業革命前より1.5℃未満までに抑える努力をすることが定められた。これらを受け、日本でも2050年までに脱炭素社会の実現を目指すという宣言が出され、2050年カーボン・ニュートラルに伴うグリーン成長戦略が策定された。中でも再生可能エネルギーは最大限の導入を図ると位置付けられ、2050年までに日本の総発電量の50~60%を再生可能エネルギーで賄うことが検討されている。再生可能エネルギーには太陽光、風力、水力、地熱、バイオマス等があり、2018年の日本の発電電力量に占める再生可能エネルギーの割合は9.2%であり、バイオマスは2.3%とまだ低い(資源エネルギー庁 2020)。

バイオマスは再生可能な生物由来の有機性資源で、化石資源を除いたものである。バイオマスは有機物であるので燃焼すると二酸化炭素を発生させるが、植物の生長過程で大気から二酸化炭素を吸収しているためプラス・マイナス・ゼロとなり、結果として、二酸化炭素の増減に影響を与えないカーボン・ニュートラルの特徴をもつ。

バイオマスは乾燥系バイオマス、湿潤系バイオマス、その他に分類することができる。乾燥系バイオマスは林地残材や農業残渣などが含まれ、含有する水分量が少ないためチップやペレットにして直接燃焼させてエネルギーを回収することができる。一方、湿潤系バイオマスは食品廃棄物、家畜排せつ物、下水汚泥など、水分量の多いバイオマスのことで、直接

燃焼することは困難なため、生物化学的変換によりエネルギー利用される。生物化学的変換とは、微生物を用いた発酵操作によりバイオマスから水素やメタン等のバイオガスやバイオエタノール等を生産する方法である。中でも、水素発酵は微生物を使って水素を生産する技術で、水素は燃焼させても二酸化炭素を排出しないことからクリーン・エネルギーと呼ばれており、脱炭素社会の実現に寄与するものとして期待が寄せられている。

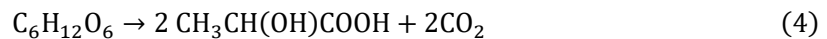
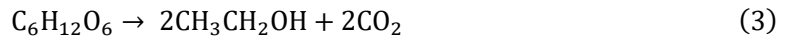
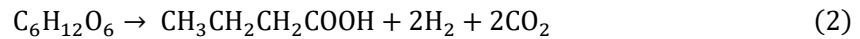
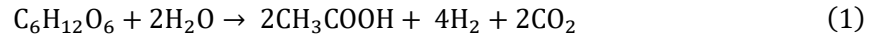
## 1.1.2 バイオマスからの水素生産とその課題

### (1) バイオマスを原料とする水素生産

水素発酵は湿潤系バイオマスから水素をバイオガスとして生産する技術である。発酵プロセスはバイオマスの加水分解過程と加水分解物からの水素生成過程に分けることができる。主な基質として炭水化物が利用され、炭水化物の高分子である各種糖、でんぷん、セルロースなどは、加水分解細菌や水素生成細菌が有する細胞外酵素によってグルコースを中心とした単糖に加水分解される。その後、*Clostridium* 属などの酸生成細菌によって単糖は様々な有機酸(Volatile fatty acids, VFAs)に分解され、その過程で水素が生成される。水素の生産には *Clostridium* 属、*Enterobacter* 属、*Bacillus* 属などの嫌気性の酸生成細菌(水素生成細菌)が関与しており、完全な嫌気状態でのみ発酵が進む(Song et al. 2012; 李ら 2008)。水素生成過程では、最大でグルコース 1 mol から水素 4 mol と酢酸 2 mol が生成され、反応式(1)で表される。また、他の経路としては、酪酸の生成で、グルコース 1 mol から水素 2 mol が生成され、反応式(2)で表される。酢酸と酪酸は水素発酵において、特に重要な分解生成物である(野池 2009)。

単離菌ではなく、環境中に遍在する微生物群集を菌源として行う水素発酵では、上記の酢酸や酪酸が生成される水素生成経路の他に、それと競合する経路の発酵を排除する必要がある。例えば、反応式(3)はエタノール発酵であり、反応式(4)は乳酸発酵であるが、どちらも水素の生成を伴わない経路であり、これらの細菌群が増殖すると水素収率が低下してしまう。したがって、環境中の微生物群集から採取する混合細菌群を水素発酵の菌源とする場

合には、微生物群集構造や発酵装置の pH、温度、水理的滞留時間(HRT)などの運転条件を適切に制御することが求められる。



## (2) 水素発酵の前処理

水素発酵では、水素生産効率を高めるため様々な前処理が検討されてきた。複雑な微生物群集を水素発酵に適する菌源に絞り込む優占化前処理や基質の加水分解を促進する前処理などがある。

### a) 菌源の前処理

水素発酵の菌源として利用する微生物群集の中には水素生成細菌以外に多様な基質競合細菌が存在する。乳酸菌やメタン生成細菌などによる反応では水素を生成しない、あるいは逆に水素を消費してしまうので、発酵前にそれらの細菌群の活性を抑制する前処理が必要となる。一般的な前処理の方法として、熱処理、乾燥処理、エアレーション、酸・アルカリ処理、凍結融解などがある(Pachapur et al. 2019; 李ら 2008)。

### b) 原料の前処理

水素発酵の基質となる廃棄物系バイオマスにはセルロースやヘミセルロース、デンプンなど高分子の炭水化物が含まれる。それらを発酵前の前処理によって単糖まで加水分解することで、その後の水素生成を促進することができる。物理的手法としては原料の粉碎、マイクロ波の照射、ガンマ線、噴霧乾燥、熱分解による微粒化などがある。生物学的手法としては、リグニンやヘミセルロース、セルロースなどを処理できる様々な真菌や酵素を利用し

た分解、化学的手法としては、酸・アルカリ処理、酸化、イオン液体などによる可溶化がある(Solowski et al. 2020)。

### c) 加圧熱水操作による前処理

加圧熱水とは飽和水蒸気圧以上に加圧した液体状態の熱水である。加圧熱水の温度は100 °Cから374 °Cで、圧力は0.1 MPa から22.1 MPa までの範囲である。特徴として、常温水と比べてイオン積が極めて大きく (H<sup>+</sup>とOH<sup>-</sup>の濃度が高い)、酸やアルカリのような作用をもつため、バイオマスを加圧熱水処理することで触媒を使わずに加水分解することができる(折橋 2017)。

Kuribayashi et al. (2017) は、菌源に対して施用した一般的な熱処理と加圧熱水処理を比較して、150 °C-0.5 MPa の加圧熱水処理することで、熱処理よりも3倍多い水素生成量を得たと報告している。また、基質として酒粕を用いた水素発酵で、酒粕を130 °Cで加圧熱水処理すると糖成分が増えて、水素生成量が増加したとの報告がある(Choiron et al. 2020)。菌源と基質に対して、同時に同条件の加圧熱水処理を施すことで、一回の操作で両者の前処理が完了できることになる。

## (3) 水素発酵の課題

水素発酵では、グルコースから反応式(1)及び(2)のように酢酸や酪酸などの有機酸を水素と同時に副産物として生成するため、水素発酵後の発酵液には多量の有機酸が含まれている。熱処理などの前処理を菌源に施して水素生成細菌を優占化すると、有機酸を分解する酢酸生成細菌やメタン生成細菌の活性が抑制されるため有機酸の分解は進まない。したがって、水素発酵で生成される有機酸は、水素発酵後に別途処理する必要がある。一般的には、水素発酵後にメタン発酵の過程を設けて、生成された有機酸を徐々に分解させてメタン等のバイオガスを生成させるが、メタン発酵でこれらの有機酸を消費するには15日から30日程を要するため、設備容量や費用が大きくなるという課題がある。また、メタン発酵では

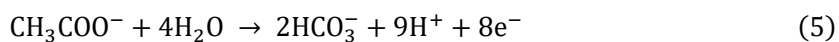
基質となる有機酸がアルカリ度や pH と連動して蓄積するため、発酵が不安定になったり、酸敗することが知られている(李 2005)。メタン発酵では基質濃度が高い場合には分解が進まず、酢酸やプロピオン酸などの有機酸が蓄積されるとの報告もある(重松ら 2009)。

### 1.1.3 微生物燃料電池の有機酸廃液処理への利用

#### (1) 微生物燃料電池による有機酸の利用

微生物燃料電池 (Microbial fuel cell, 以降 MFC と記載) は電気化学活性を持つ細菌である電気生成細菌 (Electrochemically active bacteria, 以降 EAB と記載) を利用して有機物に含まれる化学エネルギーを直接電気エネルギーに変換する技術である(Santoro et al. 2017)。下水汚泥やメタン発酵消化液などに生息する EAB は、基質を消費するときに細胞外に存在する金属化合物などの導電性物質を最終電子受容体として利用する特性をもつ(Xiao and Yu 2020)。MFC はその特性を利用し、EAB の最終電子受容体をアノード電極として利用することで発電している。

MFC では、EAB はアノード電極上に他の微生物群集とともにバイオフィームを形成し、基質を消費し、電子を放出する酸化反応を起こす。酢酸を基質とする発電の反応式を式(5)に示す。酢酸 1 mol が分解されるとプロトン 9 mol と電子 8 mol が体外に放出され、プロトンは溶液中をカソードに移動し、電子は外部回路を通過してカソードに移動し、そこで酸素と化合して水が生成される(反応式(6))(Logan et al. 2006)。



電子を細菌の細胞内から体外の電極に渡す方法は大きく分けて 2 つ知られている。一つは直接電極に着いて電子を渡す方法で、細菌の外膜にあるシトクロム c を介して渡す方法やナノワイヤと呼ばれる細菌が生成する導電性の繊毛を使って細菌と電極をつないで渡す



方法である。もう一つは、仲介物質を介して電極と電子をやり取りする方法である。細菌が自ら作り出した仲介物質があれば、人工的に添加するものもある(Aiyer 2020; Heydorn et al. 2020)。

MFC は酢酸など多様な物質を基質として用いることができる(Freguia et al. 2010; Pant et al. 2010)。水素発酵後の残渣である水素発酵廃液 (Hydrogen fermentation residue, HFR)も基質として利用されることが報告されている(Oh and Logan 2005; Pandit et al. 2014; Wenzel et al. 2017)。しかし、様々な原料を基質とする水素発酵では、水素発酵廃液に酢酸や酪酸ばかりでなく多様な有機酸が含まれているが、それらをどのように利用したら効率よく消費し、電気を生成できるかについては、あまり多くの報告はない。

## (2) 多槽式微生物燃料電池の利用

本研究では、水素発酵に含まれる多様な有機酸の分解速度がそれぞれ異なることに着目し、MFC を多槽式にすることで水素発酵廃液中の有機酸を効率よく分解し電気を生成することができるのではないかと考えた。廃液中の有機酸には、分解の速い酢酸などと分解の遅いプロピオン酸や酪酸などが混在している(Q. Wang et al. 1999)。そこで、それらの有機酸を効率的に分解するために MFC を多槽式にし、各槽で異なる有機酸の分解に適したアノードバイオフィームが形成されるように馴養条件を整える。例えば 1 槽目は分解の速い酢酸がより高速で分解されるような条件で馴養し、2 槽目は分解の遅いプロピオン酸がより速く分解されるような条件で馴養する、といったような状態を実現する(図 1-1)。そうすることで MFC 全体として有機酸を効率的に、より高速で分解することができると思った。

既往研究では多槽式の MFC を作り運転している報告がいくつかあるが(Ledezma et al. 2013; Ren et al. 2014; Zhuang and Zhou 2009)、COD 除去に着目していないことが多く、また槽によって馴養条件や運転条件を変えた例はない。

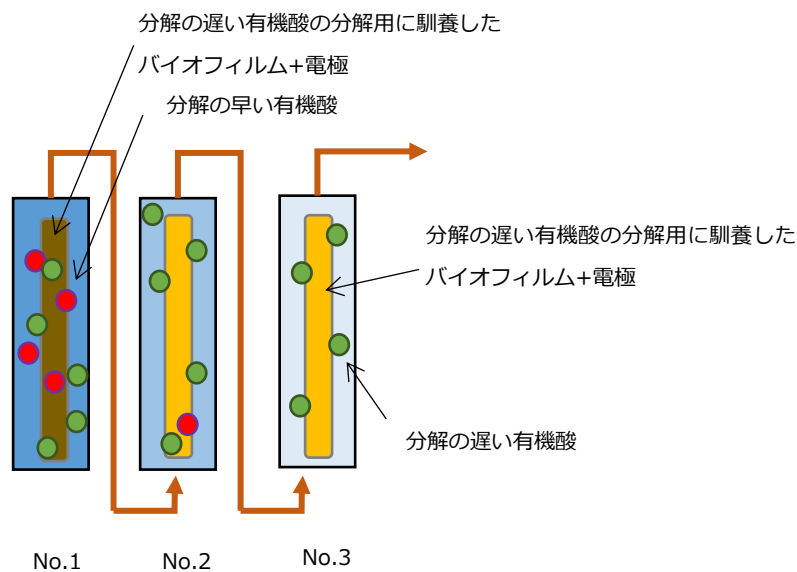


図 1-1 多槽式微生物燃料電池の概念図

### (3) 加圧熱水処理、水素発酵及び微生物燃料電池の組み合わせ

水素発酵の後段に MFC を設けて連続的に運転する場合、水素発酵後に残った固形分が MFC の運転の障害となることがある。MFC はアノード電極上のバイオフィームが基質を分解して発電するという性質上、固形分が多いと物質移動に支障が生じるため (Ruslan and Vadivelu 2019)、あらかじめ固形分を少なくすることが望ましい。前述の通り、加圧熱水処理は、水素発酵に優れる菌源の優占化に有効であるだけでなく、原料バイオマスを加水分解して固形分を少なくすることが同時にできる特徴を有する。加圧熱水処理の温度や保持時間の条件を変えることで、固形分量や糖、有機酸含有量などの質も変えることができるため、MFC による有機酸の分解・利用効率を向上させられると考えられる。

## 1.2 研究目的

本研究では、水素発酵等の発酵残渣である有機酸廃液を処理し、併せて電気を生産する仕

組みとして、多槽式 MFC の導入の検討を目的とした。多様な有機酸廃液に対して、多槽式 MFC の各セル槽の馴養条件や運転条件を整えることで、全体の有機酸の分解処理を高速化し、同時に、発電性能の向上が可能かを検討した。また、加圧熱水処理したバイオマス为原料とする水素発酵の有機酸廃液を用いて、多槽式 MFC の基質分解特性と発電特性を調べ、実用化に向けた改善点を整理することを目的とした。

### 1.3 論文の構成

本論文の構成については次のとおりである。

第 1 章では、湿潤系バイオマスの処理方法としての水素発酵、加圧熱水処理、MFC の研究状況について述べ、多槽式 MFC の利用構想を説明した。

第 2 章では、分解速度が遅い高分子の有機酸を対象として、MFC リアクタのアノード電極における発電細菌群の馴養方法が MFC の有機酸分解特性と発電特性に及ぼす影響について述べた。

第 3 章では、多槽式 MFC を構成する前段階として、異なる MFC の運転条件が有機酸の分解特性と発電特性に及ぼす影響について記載した。

第 4 章では、加圧熱水操作を加えたバイオマスを原料とする水素発酵で得られた発酵残渣を供試して多槽式 MFC を運転して、その有効性を調べるとともに、多槽式 MFC の実用化に向けた改善点を整理した。

第 5 章では、第 2 章から第 4 章までの検討結果を総括して、研究成果をまとめるとともに、残された課題について述べた。

## 第2章 アノード電極菌源の馴養方法が有機酸分解と発電性能に及ぼす影響

### 2.1 実験目的

MFC では、基質の分解と発電のプロセスがリアクタ内のアノード電極上のバイオフィルムで起こる。そのため、多槽式 MFC を構成するにあたり、まず、アノード電極上にどのようにバイオフィルムを形成させるか検討する必要がある。物体の上にバイオフィルムが形成される過程を図 2-1 に示した。バイオフィルムは、まず、基質や細菌細胞などが物体表面に付着し、そして、細菌が細胞外多糖やタンパク質でできたポリマーなどを体外に分泌し、架橋を形成するなどして物体表面に細菌が付着する。そして、細菌が分裂して増殖することで厚みが増していき、バイオフィルムが発達していく (Garrett et al. 2008)。

外部環境要因によってバイオフィルム内の微生物群集の付着や増殖の仕方は変化する。MFC などの EAB が形成するバイオフィルムの場合、電極の素材や基質の濃度・負荷、添加する菌源の微生物群集構造の違い、外部抵抗と還元電位、その他 pH やリアクタ温度などによって EAB のバイオフィルム内での位置関係やバイオフィルム構造は変化し、発電性能や基質の分解特性を変化させる (Saratale et al. 2017)。バイオフィルムの形成方法を外部の環境を調節してコントロールすることで、多様な有機酸の分解に適したバイオフィルムの形成を促すことができる。特に馴養過程での基質は重要である。T.-S. Song et al. 2014 はグルコース、酢酸、プロピオン酸をそれぞれ唯一の基質として馴養した MFC で基質をフェノールに置き換えたときに発電量や分解速度が基質ごとに大きく異なると報告している。また、Park et al. 2017 は生活排水をターゲットにした場合、馴養せず生活排水でバイオフィルムを形成させる区、酢酸で馴養した後生活排水の処理に供試した区、酢酸で馴養後グルコースで馴養したのち生活排水の処理に供試した区で比較したとき、酢酸、グルコース、生活排水の順の馴養方法が最もクローン効率が高かったと報告しており、基質の種類や準用する順番によって発電性能や分解特性に影響を与えることが分かっている。しかし馴養過程での基質を添加する量に関する文献はない。

そこで、本研究ではリアクタの馴養過程における基質の添加方法に着目した。基質濃度が一定で投入される環境条件と徐々に濃度が高くなる環境条件を用意し、アノード電極のバイオフィルムの形成にどのような違いが出るのかを基質の分解特性とMFC発電特性の両面から調査することを目的とした。分解の遅い有機酸である比較的分子量の大きいプロピオン酸を基質として、馴養実験を行った。

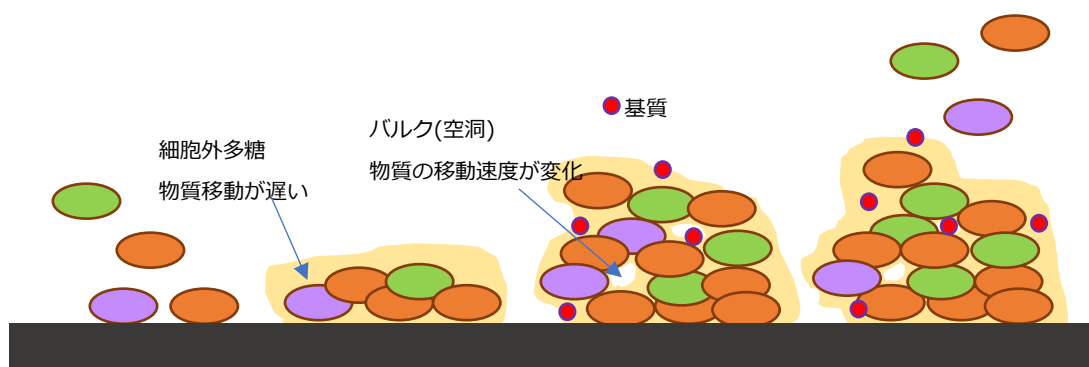


図 2-1 バイオフィルムの形成過程の模式図

## 2.2 実験方法

### 2.2.1 MFC リアクタ

試作したMFCリアクタは図2-2に示すようにアクリル製の単槽型で、内側に内径32 mm、長さ42 mmの円筒室があり、有効容積27 mLである。リアクタには溶液の投入とサンプリングのために2箇所のサンプリングポートと排水用の排水ポートを設けた。

アノード電極には粒状活性炭(粒径1.00-2.36 mm, Kuraray)を用いた。粒状活性炭は前処理として $1 \text{ mol L}^{-1}$  (molar, 以降Mと記載)のHCl、1 MのNaOH、蒸留水で順番に洗浄した後、風乾したものを13 gリアクタに充填した。アノードの電子を集めるため、直径6 mmの炭素棒を粒状活性炭の中に挿入した。カソードは撥水加工したカーボンクロス(EC-CC1-060T, ElectroChem)にプラチナを塗布した触媒層を液面側に、反対側にはPTFEを塗布して拡散層となるようにした。アノードとカソードの間には電極同士の接触を防ぐため厚さ5 mmの

スポンジフィルタ (CFH-13, Strider)を挟んだ。リアクタの液体容積は 12 mL で、リアクタの外側に電気抵抗 100  $\Omega$  (以降、外部抵抗と記載) を取り付けた。すべてのリアクタを温度 30  $^{\circ}\text{C}$  に設定したインキュベータに静置し、外部抵抗に生じる電位差を MFC の出力電圧としてデータロガー(ZR-RX45, Omron)に 30 秒間隔で記録した。

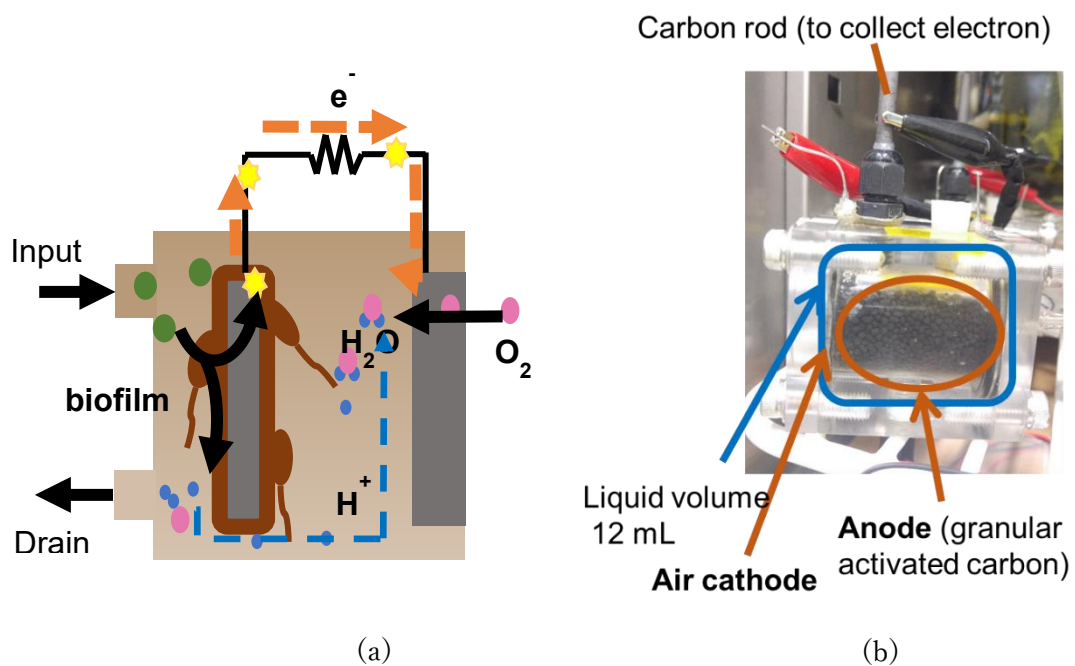


図 2-2 試作した単槽型 MFC, (a)概略図, (b)写真

### 2.2.2 実験方法

菌源は東京農工大学農学部附属フィールドサイエンスセンターFM 本町の水田土壌より採取した試料とした。0.25 mm 目ふるいを通過した水田土壌 150 g と表 2-1 と表 2-2 に示す培地 1000 mL を混合したものを菌液とした。基質として、酢酸ナトリウム及びプロピオン酸ナトリウムを蒸留水に溶解させて使用した。初日の培養液は、この菌液に所定の濃度の基質を添加したものとした。培養液は 24 時間ごとに全量入れ替えたが、馴養 2 日目以降は表

2-1 の培地に基質を添加したものを培養液として用いた。馴養期間は 15 日間で、15 サイクルとした。

表 2-1 MFC の培地組成

試薬	単位	試薬量
NH <sub>4</sub> Cl	g L <sup>-1</sup>	0.31
KCl	g L <sup>-1</sup>	0.13
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	g L <sup>-1</sup>	2.88
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	g L <sup>-1</sup>	5.02
微量金属*	mL	12.5
MEM ビタミン	mL	5
蒸留水	mL	1000

\*微量金属の組成は表 2-2 に示すとおり

表 2-2 MFC 用培地の微量金属の組成

試薬	試薬量 (g L <sup>-1</sup> )
MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	3
MnSO <sub>4</sub> · 4H <sub>2</sub> O	0.5
NaCl	1
FeSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	0.1
CoCl <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O	0.1
CaCl <sub>2</sub>	0.1
ZnSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	0.1
CuSO <sub>4</sub> · 5H <sub>2</sub> O	0.01
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	0.01
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> · 2H <sub>2</sub> O	0.01
NiCl <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O	0.01



アノード電極上にバイオフィルムを形成させるための馴養方法として、図 2-3 に示す条件 A と条件 B の 2 方法を検討した。

条件 A: 基質の濃度を 1.2 mM から 12 mM まで、10 日間かけて毎日 1.2 mM ずつ上昇させていく方法

条件 B: 基質の濃度を馴養開始から一定の 12 mM で与える方法

実験では、MFC の馴養期間 15 日間で 3 期 term I ~ III に分けて、条件を設定した。term I は準培養期間として植菌後 3 日間開回路（外部抵抗  $\infty \Omega$ ）で運転したのち、term II 以降は外部抵抗 100  $\Omega$  をつけて閉回路で運転した。条件 A では term I と II では、基質濃度を徐々に高めて馴養したが、term III では一定の濃度とした。条件 B では、term I から term III まで、一定の基質濃度で運転した。

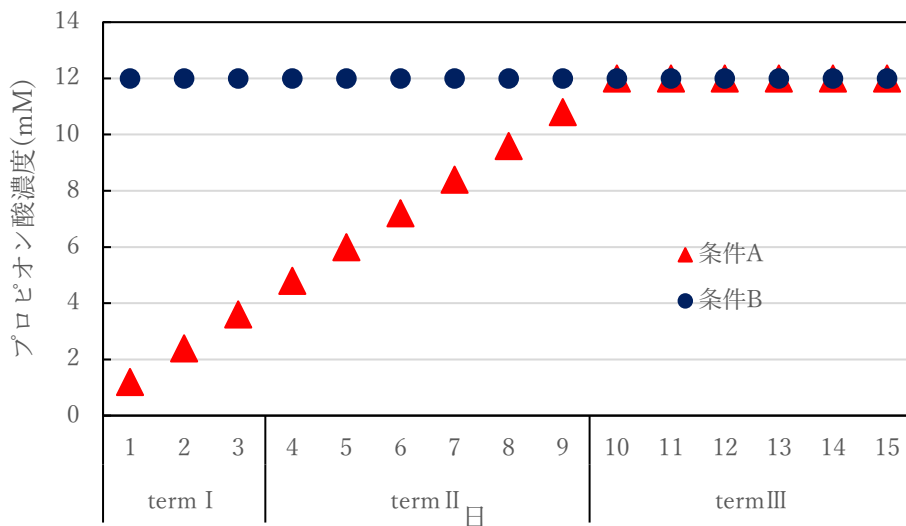


図 2-3 馴養期間の基質濃度と添加方法

### 2.2.3 積算起電力と培養液の分析方法

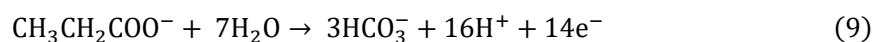
24 時間を 1 サイクルとし、各サイクルで得られた電気エネルギー  $W$  は式(7)で計算した。

$$W = \sum \frac{P}{S} = \sum \frac{V^2 R}{S} \quad (7)$$

ここで、 $W$ : MFC で得られたアノード電極当たりの電力量( $\text{J m}^{-2}$ )、 $P$ : 電力(W)、 $V$ : 出力電圧 (外部抵抗の電位差) (V)、 $R$ : 外部抵抗( $\Omega$ )、 $S$ : アノードの投影面積 ( $674 \times 10^{-3} \text{ m}^2$ )である。クーロン効率  $CE$  は有機酸を分解したときに生成する電子と MFC で電流として回収できた電子の割合で定義されるもので、式 (8) で計算した(Liu et al. 2005)。

$$CE = \frac{\sum I \Delta t}{b F \nu \Delta M} \times 100 \quad (8)$$

ここで、 $CE$ : クーロン効率(%),  $I$ : 電流 (A)、 $\Delta t$ : データのサンプリング間隔 (s)、 $b$ : 基質 1 mol の分解で得られる電子数(mol)である。また、基質の分解で得られる電子数は、酢酸では  $b=8$  であり、プロピオン酸では  $b=14$  である。プロピオン酸の分解を式(9)に示す。



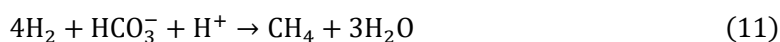
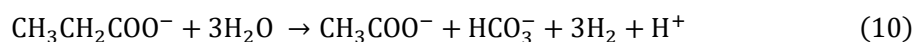
ここで、 $F$ : ファラデー定数 ( $\text{C mol}^{-1}$ ) ( $9.6485 \times 10^4 \text{ C mol}^{-1}$ )、 $\nu$ : リアクタの容積(L) ( $12 \times 10^{-3} \text{ L}$ )、 $\Delta M$ : 24 時間で消費されたプロピオン酸の濃度( $\text{mol L}^{-1}$ )である。

各サイクルの排液に含まれる基質の濃度を HPLC(Prominence, Shimadzu)で分析した。分離カラムは Shim-pack SCR-102H である。移動相には  $5 \text{ mmol L}^{-1}$  の  $p$ -トルエンスルホン酸水溶液を用い、流量を  $0.8 \text{ mL min}^{-1}$ 、カラムオーブンを  $40 \text{ }^\circ\text{C}$  とした。緩衝相は  $5 \text{ mmol L}^{-1}$  の  $p$ -トルエンスルホン酸水溶液と  $100 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  EDTA を含む  $20 \text{ mmol L}^{-1}$  Bis Tris 水溶液を用い、流量を  $0.8 \text{ mL min}^{-1}$ 、温度を  $43 \text{ }^\circ\text{C}$  に設定した。

## 2.3 結果及び考察

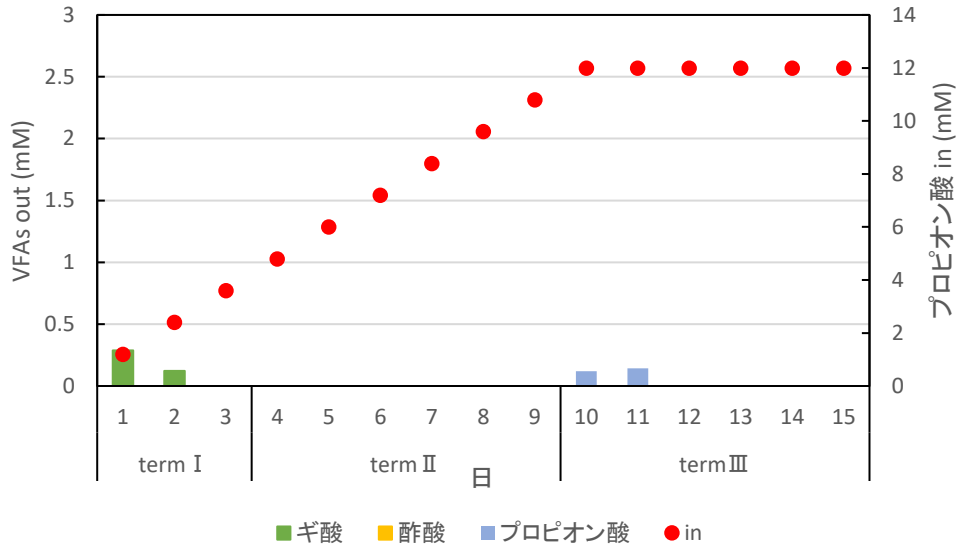
### 2.3.1 基質の分解

24 時間毎に全量の培養液を交換する際に採取した排液中に含まれる有機酸 (VFAs) 濃度の変化について図 2-4 に示した。条件 A では、どちらの MFC も馴養期間 15 日間で残存基質濃度は常に  $0.3 \text{ mmol L}^{-1}$  以下であった。一方、条件 B では term II において消費しきれなかったプロピオン酸が  $0.4 \sim 1.2 \text{ mmol L}^{-1}$  程度残存していた他、term I と term II の前半に酢酸が検出された。酢酸が検出された理由としては、アノード槽内にメタン生成菌の存在があったからと考えられる。メタン生成菌は酢酸生成細菌と共にプロピオン酸をメタンまで分解するので EAB と競合する存在である (Rao Hari et al. 2016)。酢酸が検出された term I 及び term II では、プロピオン酸は式(10)及び式(11)で示す反応によって分解されるが、これはメタン生成菌によるものと考えられる (張ら 1983)。



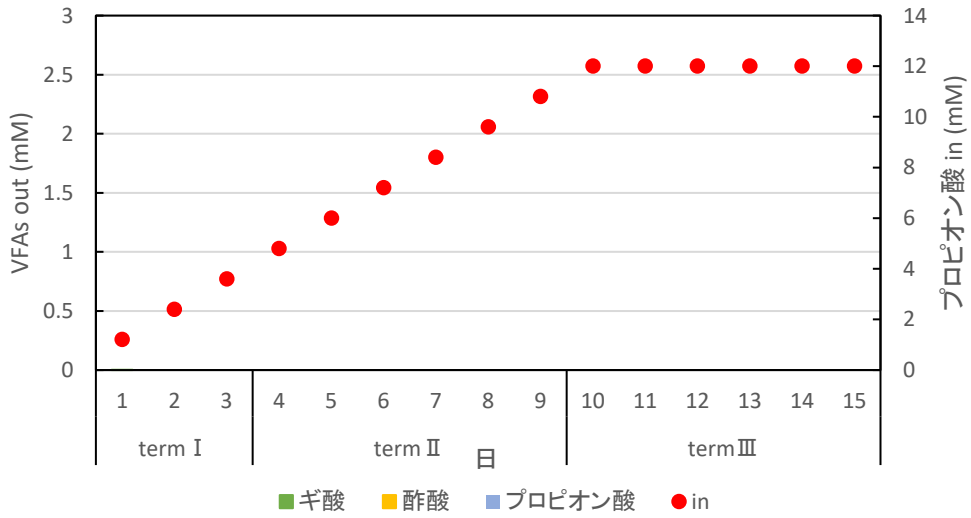
酢酸が検出されなくなり、残存プロピオン酸濃度が減少した term II の後半から term III では  $0.3 \text{ mmol L}^{-1}$  以下しか検出されていない。これはプロピオン酸分解に酢酸生成を伴わない EAB が優占化してきたからであると考えられる。これらのことから、馴養の初期にはプロピオン酸はメタン生成菌によって分解されてメタン生成の経路をたどり、馴養が進みバイオフィームが形成されてくると、プロピオン酸は EAB によって電気生成の経路に移行したのと考えられる。

### 条件A-1

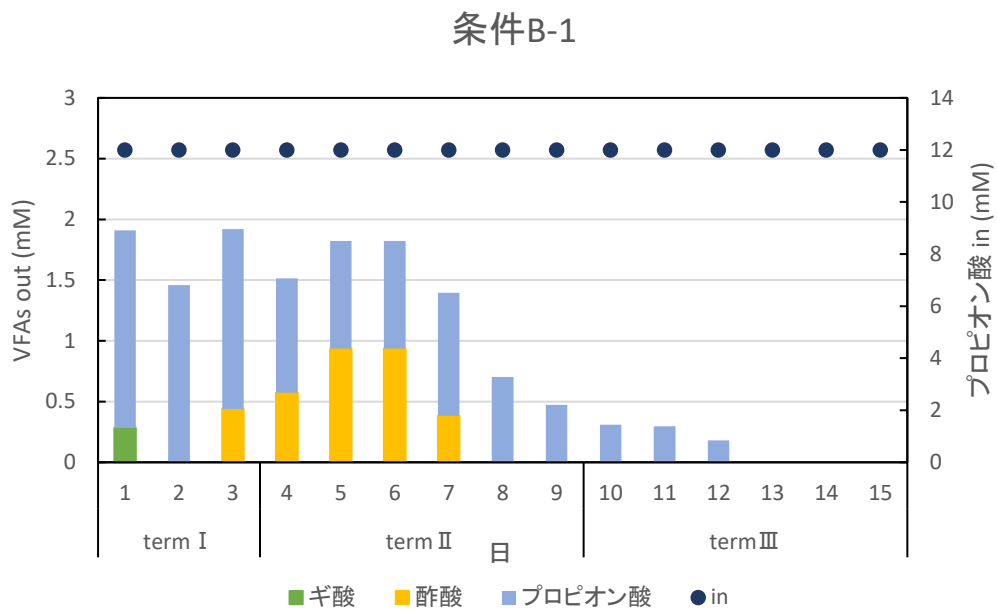


(a)

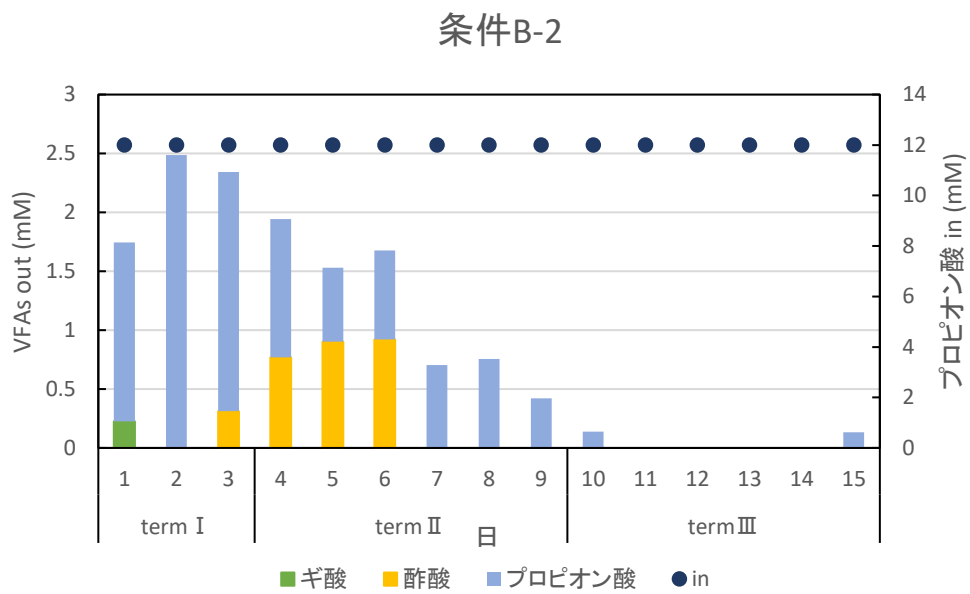
### 条件A-2



(b)



(c)



(d)

図 2-4 プロピオン酸を基質としたときの VFAs 残存濃度の変化, (a)(b): 徐々に基質濃度を上げた場合 (条件 A), (c)(d): 一定濃度の基質を添加した場合 (条件 B)

### 2.3.2 電気生産

各サイクルの発電量（電力量, EE）は、条件 A と条件 B の両方で時間経過とともに増加した(図 2-5)。どちらの条件も植菌は初日にのみ行ったので、そこからバイオフィームが発達し発電量が増加した。条件 A では、電力量が term II で低く推移したのち term III に入ってから増大したのに対し、条件 B では term II から電力量が徐々に伸びた。条件 A と条件 B が同じ基質濃度(12 mmol L<sup>-1</sup> プロピオン酸) になった term III で比較すると、term III における条件 A の平均電力量が 5.97 J m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup> であったのに対して、条件 B では 9.99 J m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup> であり、およそ 4 J m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup> 大きかった。

クーロン効率 (CE) は分解された基質内の電子が MFC でどの位電気に変換されたかを示すものであり、アノード電極上のバイオフィーム内でどの程度 EAB が優占していたかを示唆している。馴養の初期段階では、条件 A のクーロン効率は条件 B よりもおよそ 10% 高かった。しかし、その後に逆転し、条件 B の方が条件 A よりおよそ 10% 高くなった。

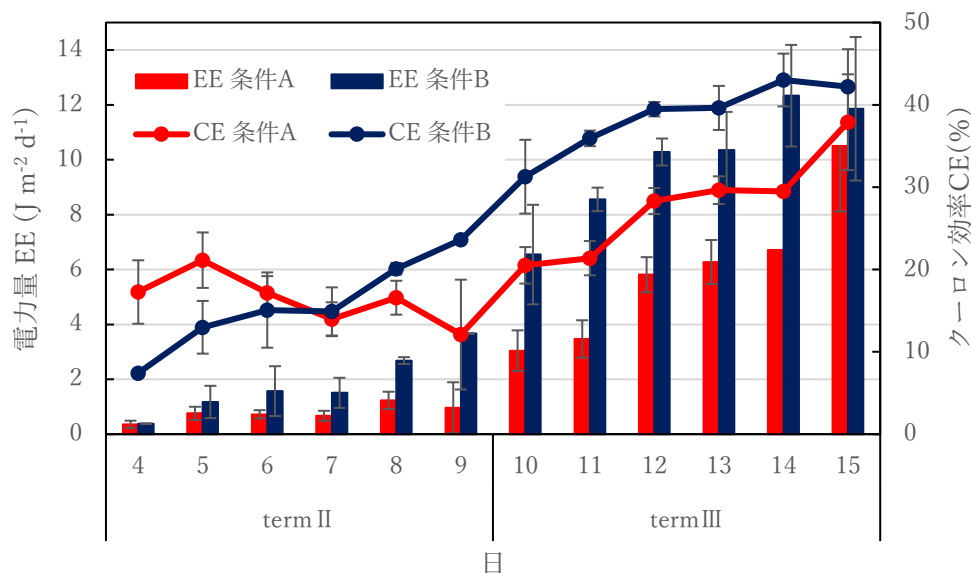


図 2-5 24 時間 1 サイクルで得られた電力量とクーロン効率の推移

### 2.3.3 リアクタの馴養方法の比較

実験期間 termIIIにおけるクーロン効率及びプロピオン酸分解率の平均値を図 2-6 に示した。24 時間ごとのプロピオン酸の分解率は条件 A で 98.9%、条件 B で 95.6%と僅差で、どちらの条件でもほぼすべてのプロピオン酸が分解されたことが分かる。また、クーロン効率は条件 B の方が 27.78 %であり、条件 A の 38.98 %に比べて 10 %以上高かった。これらのことから、条件 B では条件 A に比べて EAB が活性化していて、バイオフィーム内でより多くの電子が回収されて、電極に送られる構造が作られていたと考えられる。

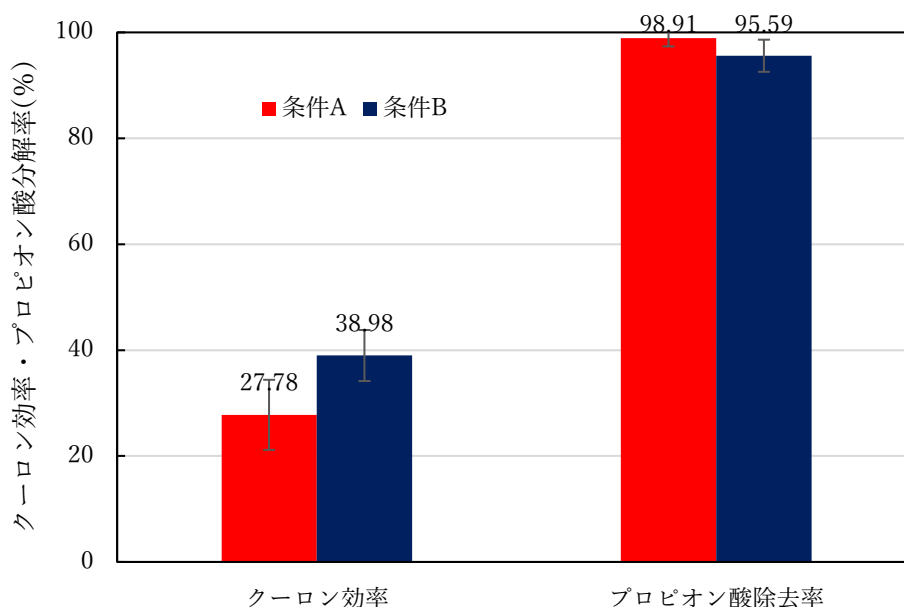


図 2-6 termIIIの平均クーロン効率及び平均プロピオン酸分解率

### 2.4 まとめ

MFC リアクタの馴養培養方法として基質にプロピオン酸を用い、徐々に濃度を上げて培養する方法(条件 A)と濃度を一定として培養する方法(条件 B)とで、基質の分解特性と MFC の電力生産に違いが出るのか比較した。結果として、条件 B の方が条件 A よりも基質の分

解量がわずかに少なかったが、同じ濃度の基質を投入した際の発電量やクーロン効率は条件 B の方がそれぞれ  $4 \text{ J m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ 、10 %大きかった。

以上のことから、初期のアノード電極に形成されるバイオフィルムの構造は培養方法によって変化し、基質の分解特性に影響を与えるということが分かった。



## 第3章 微生物燃料電池の運転条件が有機酸消費と発電性能に及ぼす影響

### 3.1 実験目的

有機酸には分解の速いものと遅いものがある(Aguilar et al. 1995)。多槽式 MFC を構成するにあたり、分解の速さに焦点を当てた運転条件を槽毎に設定することで、各有機酸を効率的に分解することができるのかを調べる必要がある。一般的に、アノード電極のバイオフィルム形成後、MFC において溶液の pH やリアクタ温度、基質の負荷量といった運転条件が発電性能や有機物分解性能に大きく影響を与えることが知られている(Katuri et al. 2011; Larrosa-Guerrero et al. 2010; Oliveira et al. 2013)。しかし、研究報告で用いられる基質は分解しやすい酢酸やグルコースが多く、酪酸やプロピオン酸といった分解に時間のかかる有機酸については混合有機酸を対象としたものがほとんどであり(Freguia et al. 2010; Kubota et al. 2012)、また MFC による発電に着目したものが多く、分解特性や形成される微生物群集に着目したものは少ない。

そこで、分解の遅い有機酸としてプロピオン酸を基質として用いて、分解の速い酢酸を対照にどのような条件で運転する場合が最も有機酸の分解と発電に適しているのかを調べることにした。運転条件として電極素材、外部抵抗、リアクタ温度の3つの条件を変えて、プロピオン酸の分解速度と発電性能への影響について調べた。

### 3.2 実験方法

#### 3.2.1 MFC リアクタ

##### (1) 電極

微生物燃料電池 (MFC) リアクタは第2章で使用したものと同一形式である。リアクタの寸法は直径 32 mm、長さ 40 mm で容積は 27 mL で、上部2箇所にサンプリングポート、底部に排液ポートを設けた。

本章で使用したリアクタでは、図 3-1 に示すようにアノード電極とカソード電極は円筒形

のリアクタの両端に設置した。カソードはテフロン処理 (25 wt.%) したカーボクロス (EC-CC1-060T, ElectroChem) の液面側に高分子電解質膜 Nafion と  $0.5 \text{ mg cm}^{-2}$  のプラチナを塗布した触媒層、反対の空気側に PTFE を塗布した拡散層とした(Cheng et al. 2006)。

アノード電極として使用した材料は、熱処理したカーボクロスとカーボンフェルトである。Feng et al. 2010 らの報告を参考に、前処理として  $450 \text{ }^{\circ}\text{C}$  に設定したマッフル炉で 30 分間熱処理した。カーボンフェルトはカーボン含有率が 99 % であり電気抵抗は熱処理後で  $2 \text{ } \Omega \text{ cm}^{-1}$  であった。カーボクロスはカーボンの含有率が 90 % 以上で、電気抵抗は  $4 \text{ } \Omega \text{ cm}^{-1}$ 、厚さが  $0.25 \text{ mm}$  であった。

熱処理したカーボクロス(CC)及びカーボンフェルト(CF)の SEM 画像 (JSM-7100F, JEOL で撮影) を図 3-2 に示した。カーボクロスは表面に薄い線が入っているが、比較的すべらかな表面であった。一方、カーボンフェルトは表面に深い溝があり、細かい球状の突起がついていた。この球状物は炭素であった。

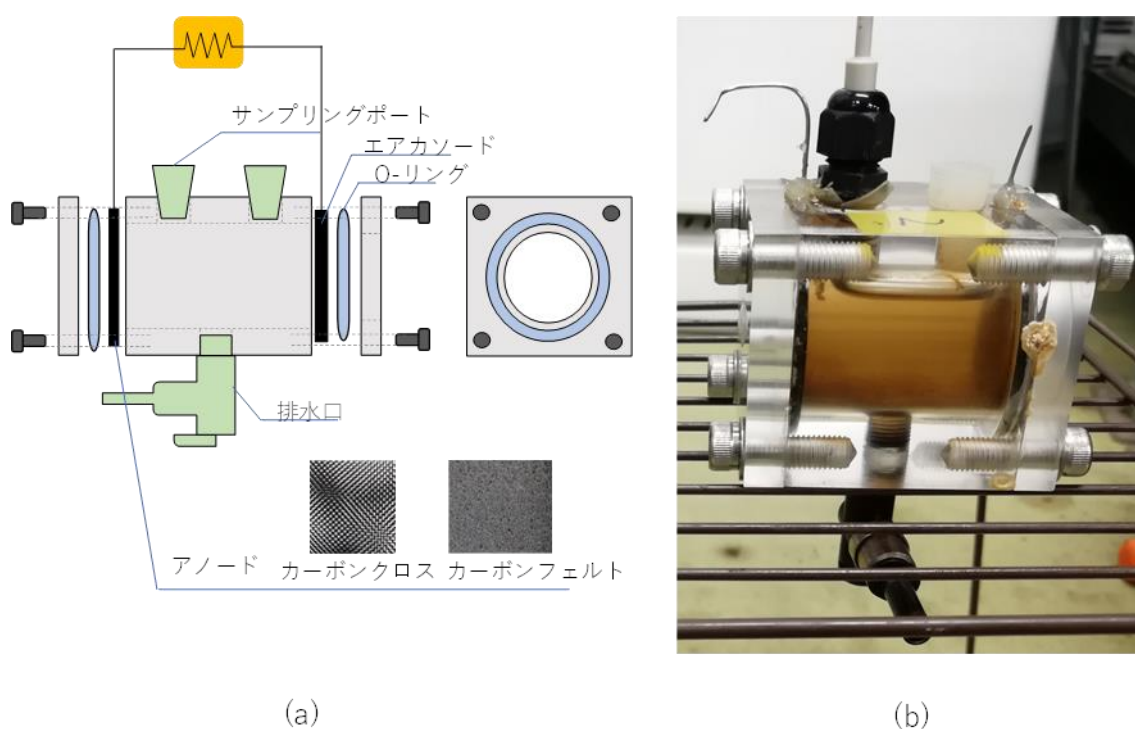
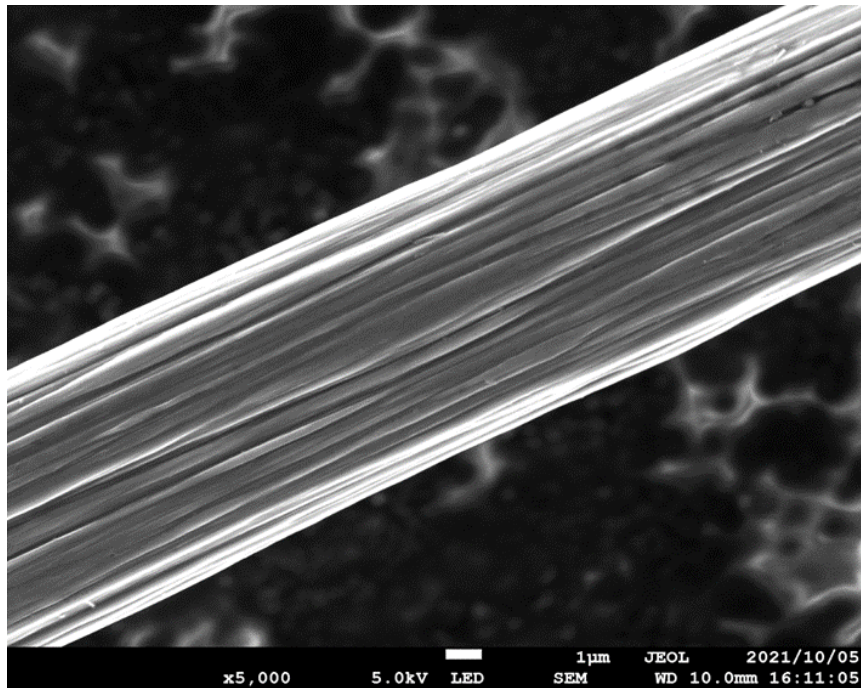
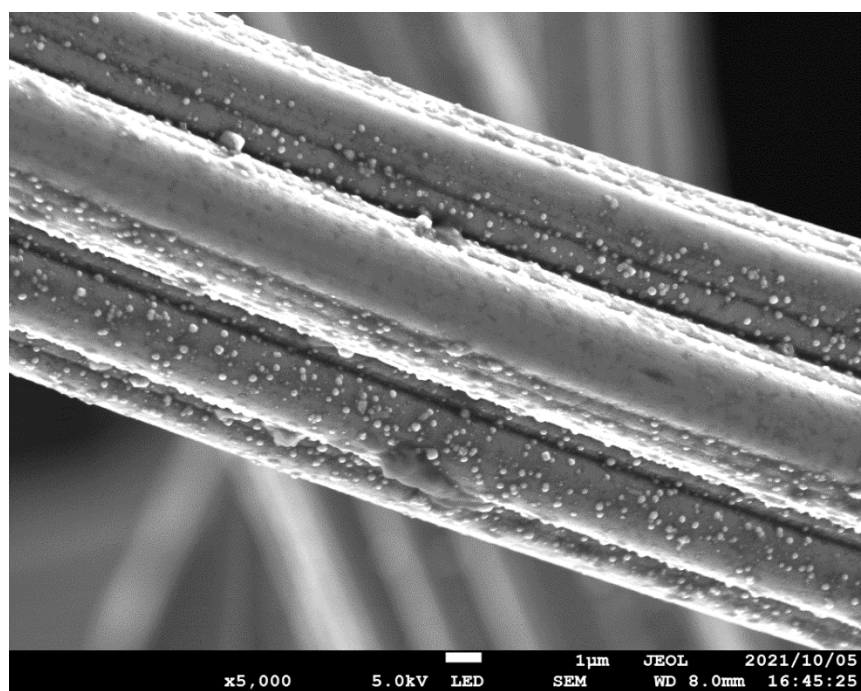


図 3-1 単槽型 MFC. (a)概略図, (b)写真



(a)



(b)

図 3-2 (a)カーボクロス及び(b)カーボンフェルトの SEM 画像

## (2) 電極の電気化学的特性

熱処理したカーボクロス (CC) とカーボンフェルト (CF) の電気化学的特性について、ポテンシostat (EC-Stat 301, EC frontier)を用いて、サイクリックボルタンメトリ (CV) によって特性を測定した。サイクリックボルタンメトリでは、供試材料を作用極とし、参照電極として Ag/AgCl 電極を使用し、対極としてプラチナ線を使用した(Perveen et al. 2017, 2018)。試験電解溶液としては、 $1 \text{ mmol L}^{-1}$  ヘキサシアノ鉄(III)酸カリウムを  $0.2 \text{ mol L}^{-1}$  硫酸ナトリウム水溶液に溶解したものを使用して室温で測定した。スキャン電位を  $-0.2$  から  $+0.8$  V の範囲とし、速度  $25 \text{ mV s}^{-1}$  で走査した。

得られたボルタモグラムを図 3-3 に示した。カーボンフェルトのピーク電流はカーボクロスよりも高く、CV 曲線で囲われた面積も大きかった。これはカーボンフェルトの方がカーボクロスより、電気化学的に活性化された表面積をもっていることを示している(X. Zhao et al. 2020)。

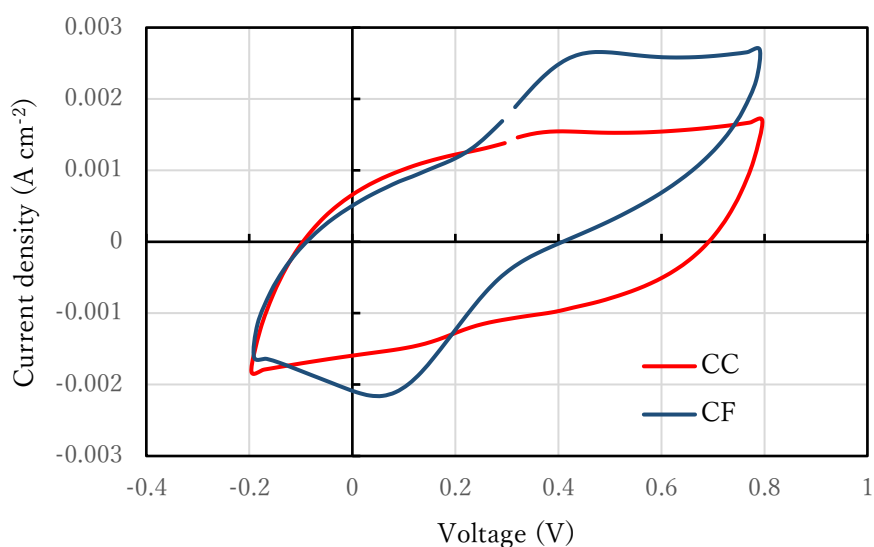


図 3-3 熱処理後のカーボクロス (CC) 及び カーボンフェルト (CF) のサイクリックボルタモグラム

### (3) リアクタの培養方法

菌源は東京農工大学附属フィールドサイエンスセンターFM 府中の牛舎で製造された牛糞堆肥から採取した。採取した牛糞堆肥を水に浸して得られた上澄みを 0.1 mm ふるいにかき、通過したものを種菌源とした。その種菌源を 2 日間エアレーションした後、密封して使用するまで 4 °C で保存した。培地の組成は第 2 章で使用したのと同じである(表 2-1 及び表 2-2 参照)。本章で検討する有機酸の酢酸は酢酸ナトリウム、プロピオン酸はプロピオン酸ナトリウムの水溶液とした。培地と菌源を体積比 1 : 1 で混合したものに基質を添加し、それを培養液あるいは試験溶液として使用した。MFC の運転実験は回分式とし、電圧サイクルが安定するまで 5 回以上培養液を入れ替えて馴養し、その後、試験溶液の濃度変化と発電性能の関係を調べるサンプリングテストを実施した。リアクタの馴養段階では、MFC に 1000  $\Omega$  の外部抵抗つないだ閉回路で作動させた。

#### 3.2.2 MFC の運転条件

MFC の運転条件として、表 3-1 に示すように電極素材、外部抵抗、リアクタ温度の 3 つを取りあげた。基質とする有機酸として、比較的分子量が大きいプロピオン酸 (Pr) に焦点を当て、微生物燃料電池の基質としてよく利用される酢酸 (Ac) を対照とした。リアクタの培養方法としては、第 2 章の結果をもとに、一定濃度の基質を最初から投入する方法を採用した。回分式運転実験の基質の初期濃度は 5 mmol L<sup>-1</sup> または 10 mmol L<sup>-1</sup> とした。それぞれの実験は 2 反復で行った。リアクタは温度制御できるインキュベータ内に静置した。MFC の出力電圧として、外部抵抗の両端間の電位差をデータロガー(ZR-RX45, OMRON)に 1 分間隔で記録した。

表 3-1 電極素材、外部抵抗、リアクタ温度の運転条件

実験	略語	基質	電極素材	外部抵抗 ( $\Omega$ )	リアクタ温度 ( $^{\circ}\text{C}$ )
実験 1	CFAc, CCAc	Ac	CF, CC	1000	30
	CFPr, CCPr	Pr	CF, CC	1000	30
実験 2	Ac100, Ac10, OCAc	Ac	CF	100, 10, OC( $\infty$ )	30
	Pr100, Pr10, OCPr	Pr	CF	100, 10, OC( $\infty$ )	30
実験 3	Ac 30, Ac 37	Ac	CF	1000	30, 37
	Pr 30, Pr 37	Pr	CF	1000	30, 37

Ac: 酢酸、Pr: プロピオン酸、CC:カーボンクロス、CF:カーボンフェルト、OC: 開回路

### (1) 実験 1：電極素材

アノード電極の電極素材として 5 mm 厚さのカーボンフェルトを 3 cm 角に裁断したもの (CC) 及びカーボンクロスを 3 cm 角に裁断して 3 枚重ねたもの (CF) の 2 種類を使用した。この実験は外部抵抗を 1000  $\Omega$  とし、リアクタ温度を 30  $^{\circ}\text{C}$  に設定して行った。

### (2) 実験 2：外部抵抗

電圧サイクルが安定するまでの馴養段階では 1000  $\Omega$  の外部抵抗をつけて運転し、その後外部抵抗を 100  $\Omega$ 、または、10  $\Omega$  に切り替えた。コントロールとして外部抵抗を挟まない開回路条件を設けた。アノード電極にはカーボンフェルトを用い、リアクタ温度は 30  $^{\circ}\text{C}$  に設定した。

### (3) 実験3：リアクタ温度

リアクタ温度の実験では、インキュベータの温度を 30 °C、または、37 °C に設定して実施した。温度条件として 37 °C を設けた理由は、水素発酵実験でよく設定される温度だからである。アノード電極素材としてカーボンフェルトを用い、外部抵抗は 1000 Ω とした。

#### 3.2.3 試験溶液のサンプリングと分析

実験期間における試験溶液の基質濃度の変化を調べるために、定期的に試験溶液を採取した。リアクタ容積が小さいため、1 回の採取量を 0.6 mL とし、マイクロピペットを使ってサンプリングポートから採取した。図 3-4 に示すように、試験溶液の交換後から電圧が上昇して一定電圧になり、その後、電圧が 0.1 V 以下に低下するまでの期間で、計 4 回サンプリングした。

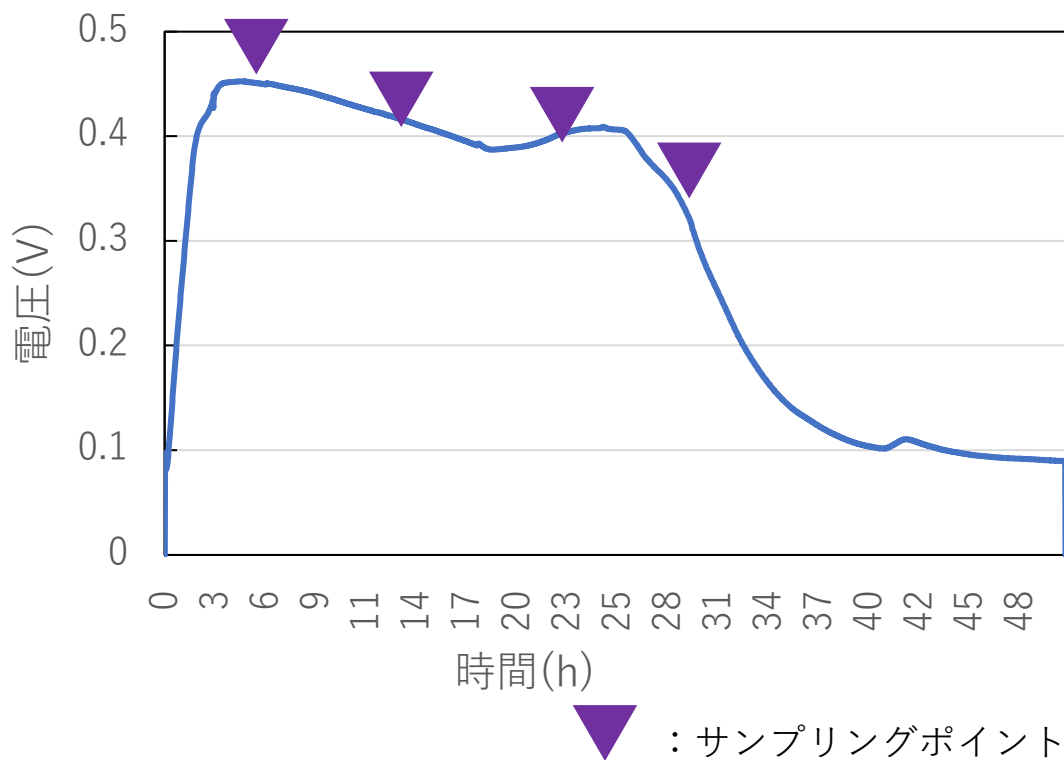


図 3-4 試験溶液交換後の MFC の出力電圧サイクルと溶液採取ポイント

採取したサンプルは有機酸分析用 HPLC(UFLC Prominence, Shimadzu)で分析した。分離カラムは Shim-pack SCR-102H である。移動相には 5 mmol L<sup>-1</sup> の *p*-トルエンスルホン酸水溶液を用い、流量を 0.8 mL min<sup>-1</sup>、カラムオーブンを 40 °Cとした。緩衝相は 5 mmol L<sup>-1</sup> の *p*-トルエンスルホン酸水溶液と 100 μmol L<sup>-1</sup> EDTA を含む 20 mmol L<sup>-1</sup> Bis Tris 水溶液を用い、流量を 0.8 mL min<sup>-1</sup>、温度を 43 °Cに設定した。

### 3.2.4 基質分解モデルとクーロン効率

アノード電極上のバイオフィームに生息する微生物群集が基質を分解・消費することで増殖し、同時に電気を生産していると仮定し、基質分解と発電の関係を表す基質分解モデルとして、式(12)~(16)を構成した。リアクタ内には、アノード電極上のバイオフィームに生息する微生物群集と培養液中に浮遊している微生物群集が存在し、両者が基質を分解・消費することによって全体の基質濃度は減少する。アノード電極上の電気生成菌群が基質を分解・消費したときに電子が電極に渡されて、電気が生産される。MFC で生産された電気及び分解・消費された基質の関係を表す基質分解モデルは Wang and Li (2014)を参考に Monod 式と Contois 式を使って構成した。式の係数については、積算電流と基質濃度の測定値と計算値の誤差が最少となるようにシプレックス法 (Nelder-Mead 法) によって最適化して、決定した。数値計算では、差分法を使用した。

$$\frac{dE}{dt} = cX \quad (12)$$

$$\frac{dX}{dt} = \mu X \quad (13)$$

$$\mu = \frac{\mu_m S}{K_s + S} \quad (14)$$

$$\frac{dS}{dt} = -vX \quad (15)$$

$$v = \frac{aS}{bX + S} \quad (16)$$



ここで、 $E$ : 積算電流値、 $X$ : 細菌数、 $S$ : 基質濃度、 $\mu_m$ : 最大比増殖速度、 $K_s$ : 飽和定数、 $a, b, c$ : 定数である。本実験では、初期基質濃度  $5 \text{ mmol L}^{-1}$  が  $1 \text{ mmol L}^{-1}$  まで減少するのにかかった時間を消費時間  $t_b$  と定義し、クーロン効率はこの  $t_b$  を使って式(17)で算出した。

$$\eta_c = \frac{\int_0^{t_b} I dt}{F e V_{AN} \Delta M} \quad (17)$$

ここで、 $I$ : 電流、 $F$ : ファラデー定数、 $V_{AN}$ : アノード槽の容積、 $e$ : 基質である酢酸及びプロピオン酸が分解されて得られる電子数、 $\Delta M$ : 時間  $t_b$  までに消費した基質濃度である。MFC リアクタの性能はアノード電極の表面積とリアクタ容積に依存する。そこで、本章では、MFC の出力電力をリアクタ容積によって標準化した電力密度 ( $\text{W m}^{-3}$ ) を用いて表すこととした。

### 3.2.5 微生物群集構造解析

アノード電極上に形成されたバイオフィルムの微生物群集構造を調べるため、実験終了後、アノード電極を  $1 \text{ cm}^2$  に切り出し、遺伝子解析に供した。微生物群集構造解析には次世代シーケンサを用いた。詳細な方法は以下に記すとおりである。

まず、Extrap Soil DNA Kit Plus ver.2 (日鉄環境) を用いて DNA を抽出した。その後、精製した DNA 溶液を PicoGreen dsDNA Assay Kit (Invitrogen) により 16S rRNA の遺伝子量を測定し、濃度調整を行った。U515F(GTGYCAGCMGCCGCGGTA) 及び 926R(CCGYCAATTCMTTTRAGTT) のプライマーで 16S rRNA 遺伝子の V4-V5 領域を PCR 増幅した。PCR 増幅産物の濃度を調整したのち、MiSeq (Illumina) にてシーケンス解析を行った。PCR 増幅産物の両側から約 250 塩基ずつ解析 (ペアエンド解析) を行い、2つの配列解析データの末端をオーバーラップさせ、約 410 塩基の塩基配列情報を得た。得られた配列データについて QIIME (Quantitative Insights Into Microbial Ecology) パイプライン 1) を用い

て配列データのクオリティ、キメラをチェックし、基準を満たした配列データのみをフィルタリングした。フィルタリング後の配列データについて、類似性の高い（相同性 97%以上）配列データを 1 つのグループのクラスタとしてまとめた。各クラスタ配列の中で最も出現頻度の高い配列を代表 OTU（OUT: Operation Taxonomic Unit, 操作的分類単位）配列とし、その代表配列を用いて Silva の living tree 遺伝子データベースに対する相同性検索を行い、系列分類を推定した。

### 3.3 結果及び考察

#### 3.3.1 基質分解モデルと適合性

MFC リアクタの基質分解モデルによる有機酸の基質濃度及び発電された積算電流の推定結果の一例を図 3-5 に示した。酢酸とプロピオン酸の基質濃度の推定値 (es\_Sac, es\_Spr) 及び積算電流の推定値 (es\_Eac, es\_Epr) は両方とも基質の測定値 (Sac, Spr) と積算電流値 (Eac, Epr) とよく一致していた。MFC リアクタによる有機酸分解プロセスの基質濃度の変化は式 (12)~(16) で近似できることが判明したことから、本章では基質の分解・消費に要した時間はこれらの式と数値計算により計算することとした。

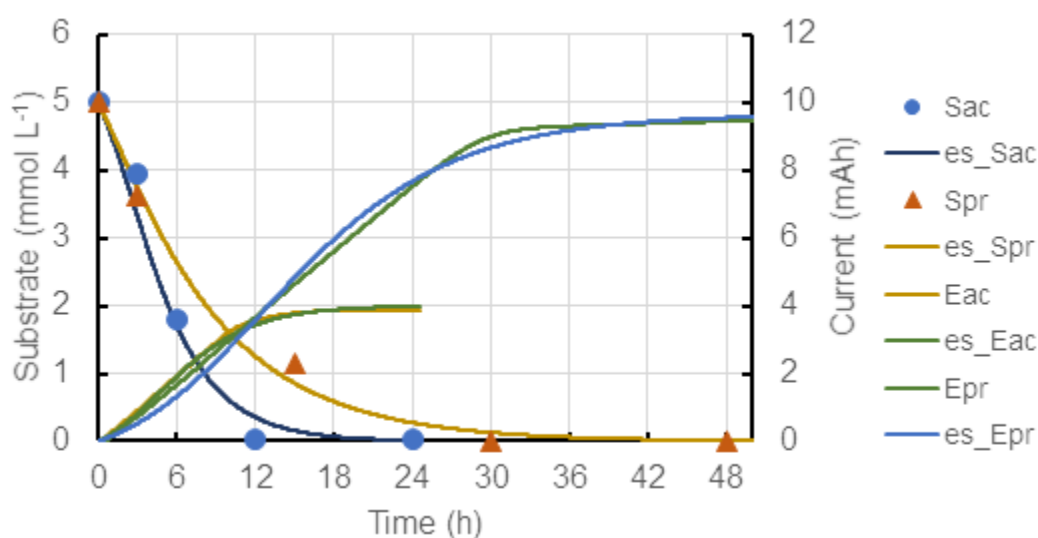


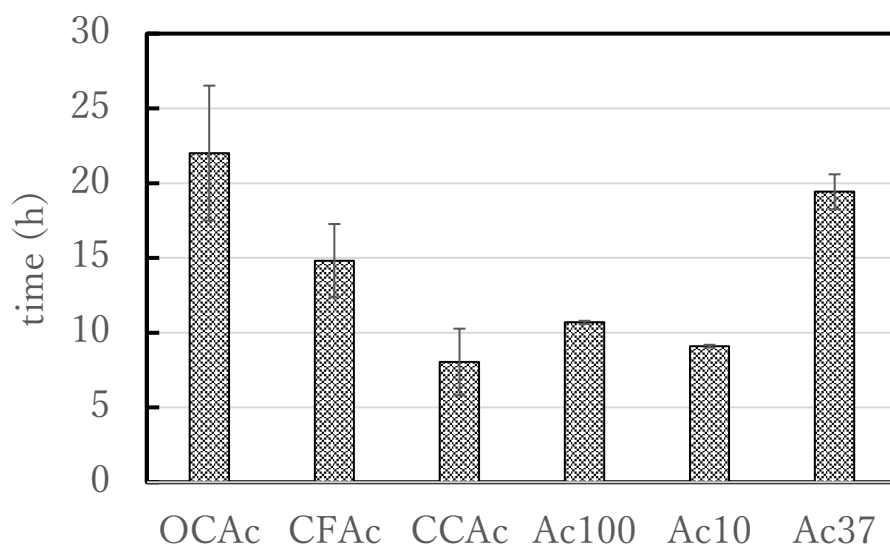
図 3-5 基質分解モデルによる基質濃度及び積算電流の推定

### 3.3.2 基質の分解特性

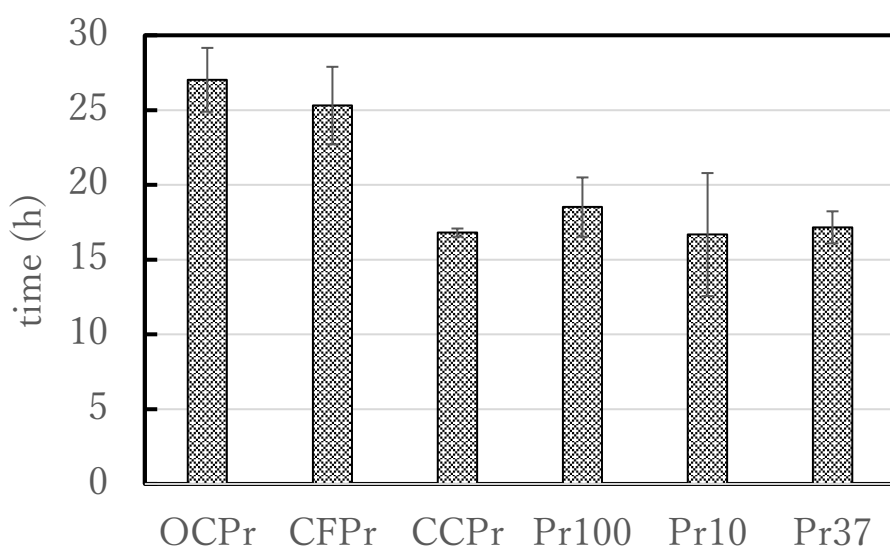
#### 3.3.2.1 電極材料の影響

酢酸及びプロピオン酸の初期濃度  $5 \text{ mmol L}^{-1}$  から  $1 \text{ mmol L}^{-1}$  になるまでにかかる時間  $t_b$ 、各実験条件における基質分解速度の変化をそれぞれ図 3-6 と図 3-7 に示した。カーボンをクロスを用いた場合には、酢酸では分解に  $8.04 \pm 2.23$  時間かかり、プロピオン酸では  $16.8 \pm 0.27$  時間かかった。一方、カーボンフェルトを用いた場合には、酢酸で  $14.8 \pm 2.45$  時間、プロピオン酸で  $25.3 \pm 2.59$  時間かかり、カーボンフェルトよりカーボンクロスのほうが酢酸で  $6.76$  時間、プロピオン酸で  $8.50$  時間短かった。酢酸基質では、実験開始から 6 時間後の基質分解率がカーボンフェルトで  $33.1 \pm 16.0$  %なのに対し、カーボンは  $65.8 \pm 15.7$  %と約 2 倍の差があり、12 時間後にはカーボンフェルトは  $67.0 \pm 13.1$  %に対して、カーボンは  $92.8 \pm 5.45$  %であった。ただし、24 時間後にはどちらも 95 %を超える分解率となった。これに対して、プロピオン酸基質では実験開始から 6 時間後の基質分解率がカーボンフェルトで  $27 \pm 9.44$  %、カーボンは  $39.4 \pm 2.34$  %と、カーボンの方がカーボンフェルトより約 12 %高かった。この差は 24 時間後まで縮まることはなく、酢酸と同様にカーボンフェルトよりもカーボンの分解率が高く推移した。

Penteado et al. (2017) は、2 槽 MFC を用いて、汚水を基質にして、アノード電極としてカーボンフェルト、カーボンクロス、カーボンペーパーの電極材料を比較している。その結果、COD 除去率を指標としたとき、カーボンフェルトが 3 種の中で最も速い結果であったと報告している。また、Asensio et al. (2017) も、同様の装置を用いて実験を行い、COD 除去速度率はカーボンフェルトがカーボンクロスより速いと報告している。その理由として、電極材料の比表面積がカーボンクロスよりカーボンフェルトの方が大きいからであると考察している。本章の実験では、厚さ  $5 \text{ mm}$  のカーボンフェルト 1 枚をアノード電極としていたのに対し、カーボンはカーボンフェルトと同じ大きさに裁断した物であるが、それを 3 枚重ねて使用したため、発電性能が向上したものと考えられる。

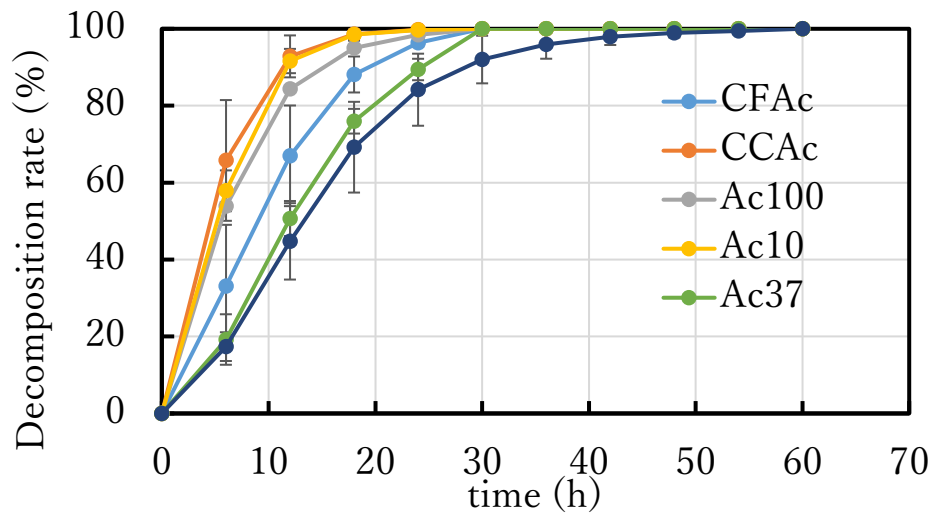


(a)

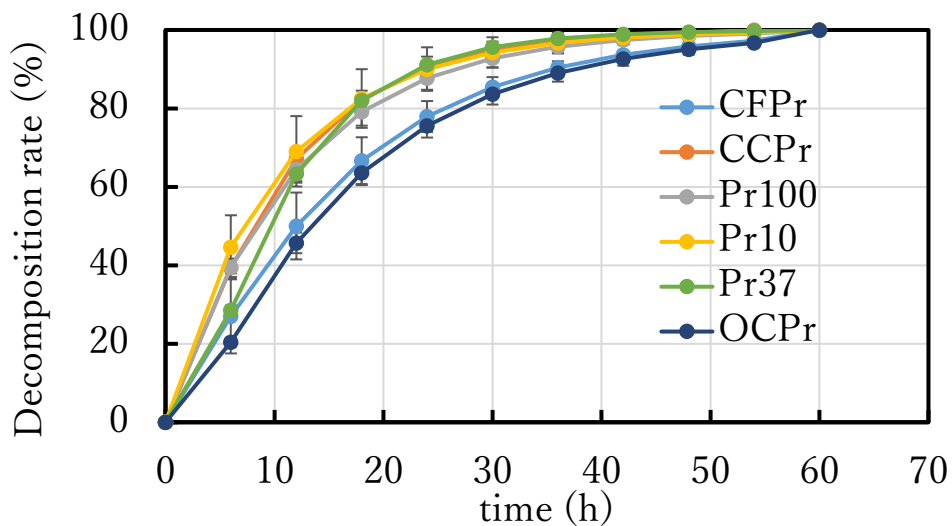


(b)

図 3-6 基質分解の所要時間. (a) 酢酸 (b)プロピオン酸



(a)



(b)

図 3-7 基質分解率の変化. (a)酢酸、(b) プロピオン酸

### 3.3.2.2 外部抵抗の影響

MFC の外部抵抗の大きさと基質の分解特性については、外部抵抗 1000  $\Omega$  の実験 CFAc,

CFPr を対照とした。開回路の実験で、酢酸とプロピオン酸の基質消費時間はそれぞれ  $22.0 \pm 4.51$  時間、 $27.0 \pm 2.13$  時間であり、他の条件と比較して最も分解に時間がかかった。このことから、閉回路にして MFC として機能させることで酢酸やプロピオン酸をより早く分解できることが示された。外部抵抗  $100 \Omega$  のとき、酢酸とプロピオン酸はそれぞれ  $10.7 \pm 0.11$  時間、 $18.5 \pm 1.98$  時間となり、プロピオン酸の分解に要する時間は酢酸の分解に比べて 1.7 倍の時間が必要であった。一方、外部抵抗  $10 \Omega$  では、酢酸で  $9.10 \pm 0.09$  時間、プロピオン酸で  $16.7 \pm 4.11$  時間となり、プロピオン酸は酢酸に比べて 1.8 倍と分解速度の差は少し拡大した。外部抵抗を小さくするほど基質の分解にかかる時間は短くなった。外部抵抗  $100 \Omega$  と  $10 \Omega$  を比較すると、酢酸の時間短縮率が 0.85 に対して、プロピオン酸の時間短縮率は 0.90 と短縮の程度は小さかった。また、酢酸に比べてプロピオン酸では反復間のばらつきが大きかった。外部抵抗を小さくして大きな電流が流れる場合は、基質の分解速度は微妙な環境の差によって影響を受けやすくなることがわかった。

基質分解率の推移をみると、実験開始から 6 時間後では、外部抵抗が  $1000 \Omega$ 、 $100 \Omega$  及び  $10 \Omega$  で、酢酸の基質除去率はそれぞれ 33 %、54 %、58 %であったが、プロピオン酸の基質分解率は 27 %、39 %、45 %と酢酸の 0.72~0.81 であった。同様に実験開始から 12 時間後では、外部抵抗  $1000 \Omega$ 、 $100 \Omega$  及び  $10 \Omega$  で、酢酸の基質分解率はそれぞれ 67%、84%、92%であったが、プロピオン酸の基質分解率は 50 %、64 %、69 %と酢酸の 0.75~0.76 であった。外部抵抗を小さくしても、プロピオン酸の分解率が大きく改善することはなかった。Rismani-Yazdi et al. (2011) の報告では、半回分式で運転した MFC において、小さい抵抗で運転した方が溶液中の VFAs 濃度を低く抑えられたという結果が得られている。その理由の一つとして、アノード電位の大きさが影響していると考察している。一般に、アノード電位は外部抵抗が大きいほど高くなり、アノード電位はアノードの微生物群集の代謝活動を変える可能性がある (Katuri et al. 2011)。本研究でも外部抵抗の大きさによってアノード電位が変わり、後述するように微生物群集の変化から基質の除去に違いが生じたと考えられる。

### 3.3.2.3 リアクタ温度の影響

リアクタの温度条件ごとの基質分解時間は、温度 37°C のとき、酢酸が 19.4±1.17 時間、プロピオン酸が 17.2±1.07 時間であった。これを 30°C の条件と比較すると、酢酸では 37°C の方が 4.61 時間長くなったのに対しプロピオン酸では 8.14 時間短くなり、分解に要する時間はプロピオン酸の方が酢酸よりも 2.27 時間短縮された。基質分解率を見ると、酢酸では、30 °C のとき、6 時間、12 時間、24 時間の分解率はそれぞれ 33 %, 67 %, 96 % で、37 °C のと、それぞれ 19 %, 51 %, 89 % と推移した。プロピオン酸の場合は、6 時間、12 時間、24 時間の 30 °C のときの分解率はそれぞれ 27 %, 50 %, 78 % で、37 °C のときの分解率はそれぞれ 29 %, 63 %, 91 % であった。30 °C のとき、プロピオン酸の分解率は酢酸よりも低いものの、37 °C のときはプロピオン酸の分解率は酢酸より大きかった。プロピオン酸では、実験開始から 6 時間の時点では 30 °C と 37°C で分解率に大きな差異はないものの、24 時間の時点では 37 °C が 30 °C を 13 ポイント上回っていた。このことから、プロピオン酸は温度を 37 °C とすることで分解速度が上昇して、基質分解率を高くできることが分かった。

Zhao et al. (2018) は温度条件を 37 °C と 55 °C でメタン発酵を行い、55 °C では 37 °C と比べて、プロピオン酸の分解が進んだと述べている。Ban et al. (2013) は UASB 型メタン発酵で、温度の変化がプロピオン酸の除去に及ぼす影響を調べて、30~35°C では除去率が 94 % を超えたが、温度が 30°C から 25°C、20°C に段階的に低下すると、除去率は大きく低下したと報告している。このように、プロピオン酸分解細菌は温度の影響を受けやすく、30 °C と 37 °C のわずかな温度差でもプロピオン酸の分解率に比較的大きな差が生じたものと考察された。

## 3.3.3 発電量と発電効率

### 3.3.3.1 電極材料の影響

各実験で得られた 6 時間おきの平均電力の推移を図 3-7 に、クーロン効率を図 3-8 に示した。すべてのリアクタで基質を入れ替えた直後から電力生産が活発に行われ、基質濃度が

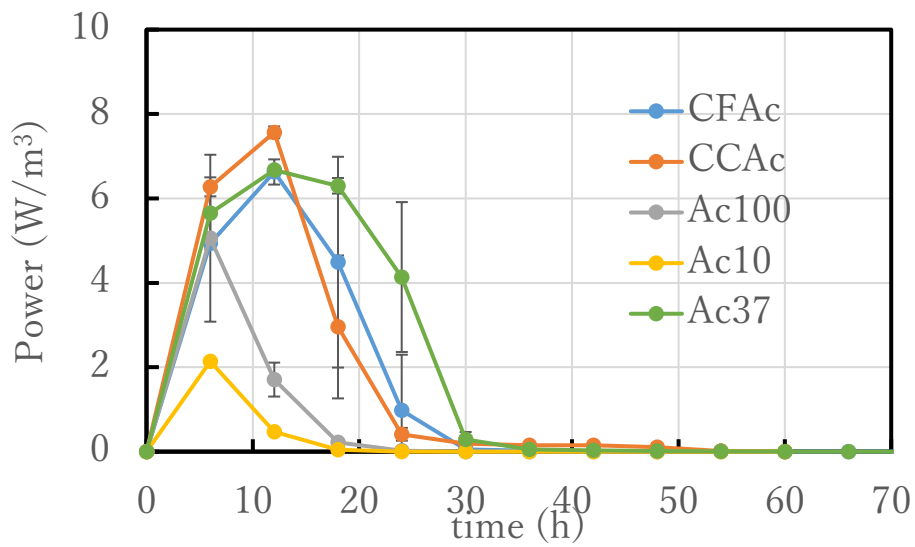
一定以下になると電力は減少した。カーボクロスとカーボンフェルトを比較すると、酢酸のとき最大電力はそれぞれ  $7.56 \text{ W m}^{-3}$  ( $227 \text{ mW m}^{-2}$ :アノード面積) 及び  $6.63 \text{ W m}^{-3}$  ( $199 \text{ mW m}^{-2}$ )であった。一方、プロピオン酸では、最大電力は  $6.52 \text{ W m}^{-3}$  ( $196 \text{ mW m}^{-2}$ ) と  $5.21 \text{ W m}^{-3}$  ( $156 \text{ mW m}^{-2}$ )であった。カーボクロスを使って得られた電力はどちらの基質を利用していてもカーボンフェルトに比べて高かった。しかし、プロピオン酸の最大電力はカーボクロスに比べてカーボンフェルトは最大電力を長く保持できる特徴が観察された。Yu et al. (2015) は酢酸及びプロピオン酸で培養した単槽半回分式 MFC において酢酸で  $1256 \text{ mW m}^{-2}$ 、プロピオン酸で  $745 \text{ mW m}^{-2}$  の最大電力が得られたと報告している。Yu らの報告ではプロピオン酸を基質としたときの最大電力が酢酸の 59 %であったのに対し、本実験ではプロピオン酸は、カーボクロスで酢酸の 86 %、カーボンフェルトで酢酸の 78 %と、本実験の方が酢酸とプロピオン酸の発電量の差は小さかった。また Penteadó et al. (2017) の報告では、ワイナリーの廃水を基質として 2 槽式 MFC を運転し、最大電力がカーボンフェルトで  $420 \text{ mW m}^{-2}$ 、カーボクロスで  $76 \text{ mW m}^{-2}$  を記録している。しかし、本実験ではカーボクロスとカーボンフェルトの最大電力の差は、酢酸で  $28 \text{ mW m}^{-2}$ 、プロピオン酸で  $60 \text{ mW m}^{-2}$  とそれほど大きな差はなかった。この違いはカーボクロスに熱処理を行った影響であるかもしれない。

両者の基質とも、電極にカーボクロスを使用したリアクタは実験開始から 6 時間までの初期の基質分解速度がカーボンフェルトのリアクタより速く、得られる電力量も多かった。基質はカーボンフェルトよりもカーボクロスのバイオフィーム内へ速く拡散し、速やかに基質が分解されて、電気に変換されたものと考えられる。図 3-3 に示したように、カーボンフェルトの方がカーボクロスよりも電気化学的にアクティブな表面積が広がったが、最大電力密度についてはカーボクロスの方がカーボンフェルトよりも大きかった。考えられる理由としては、微生物の付着の仕方がカーボンフェルトとカーボクロスで異なっていたことが考えられる。加えて、カーボンフェルトの電極はフェルトが 1 枚だったのに対して、カーボクロスの電極ではクロスを 3 枚使用していたことも結果に影響を与えた可

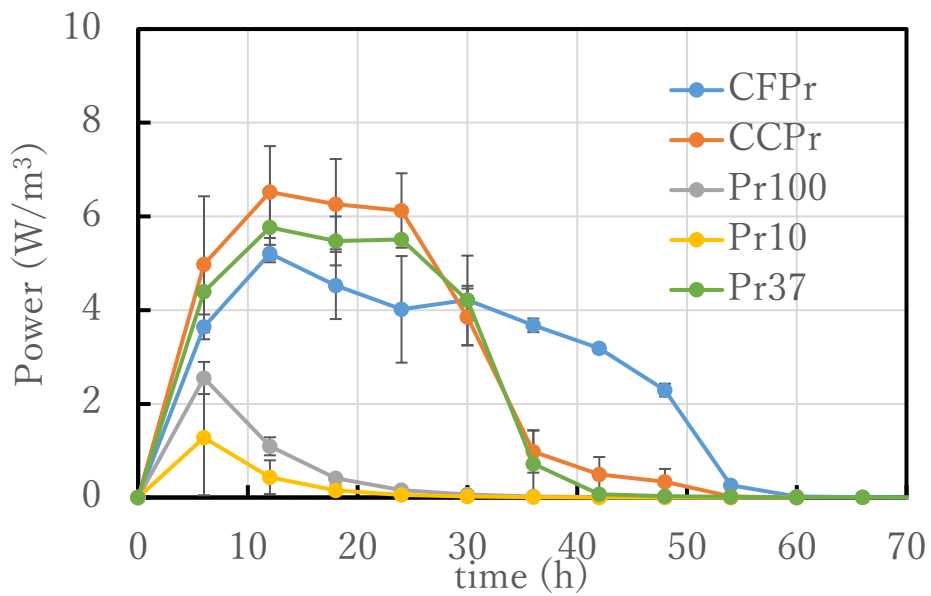


能性がある。

クーロン効率でみると、酢酸では、カーボンをクロスとカーボンフェルトはそれぞれ 23.8 %、25.6 %、プロピオン酸では、カーボンをクロスとカーボンフェルトはそれぞれ 21.2 %、18.8 % と、プロピオン酸は酢酸より電気変換効率が低い。酢酸基質では、カーボンをクロスはカーボンフェルトよりも少しクーロン効率が低かったが、逆にプロピオン基質ではカーボンをクロスがカーボンフェルトより高かった。



(a)



(b)

図 3-8 MFC の平均電力の推移(a)酢酸、(b)プロピオン酸

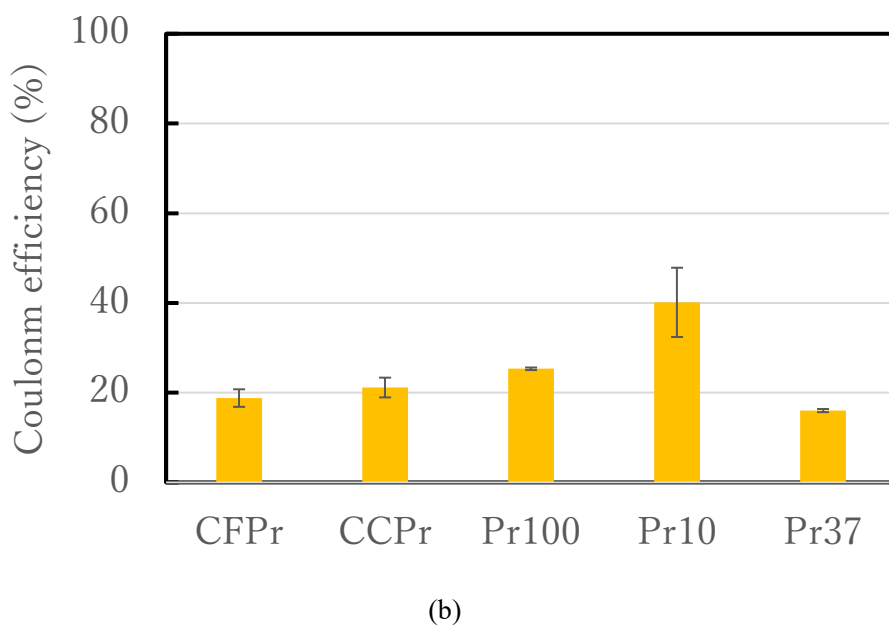
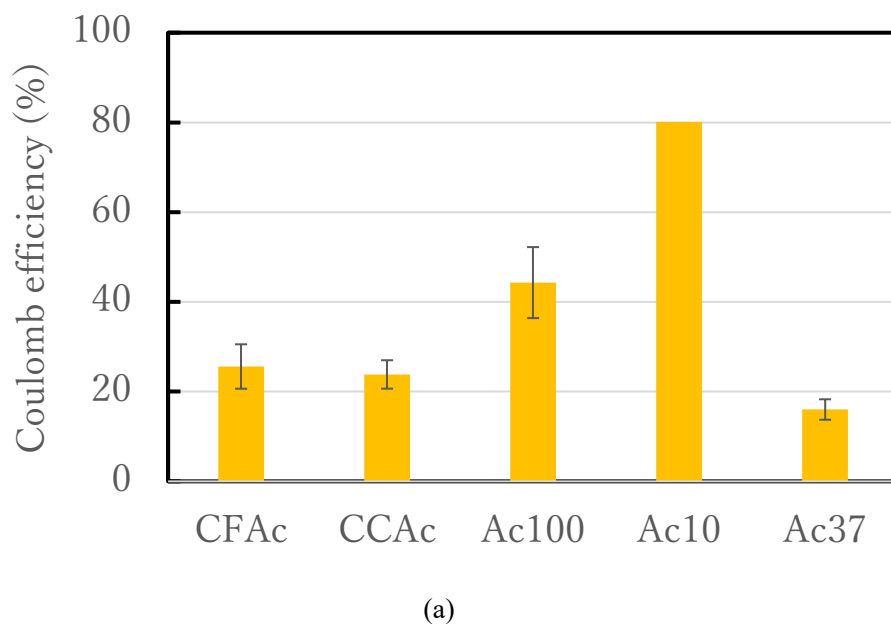


図 3-9 クーロン効率(a)酢酸、(b)プロピオン酸

### 3.3.3.2 外部抵抗の影響

酢酸とプロピオン酸の両者ともに、最大電力は外部抵抗が 1000  $\Omega$  のときは実験開始から 12 時間後に到達した。外部抵抗 100  $\Omega$  と 10  $\Omega$  の場合は、最大電力は実験開始から 6 時間後となり、最大電力は 1000  $\Omega$  のときと比較して、酢酸基質で外部抵抗 100  $\Omega$  と 10  $\Omega$  ではそれぞれ 0.75 倍と 0.31 倍であり、プロピオン酸基質で外部抵抗 100  $\Omega$  と 10  $\Omega$  ではそれぞれ 0.48 倍と 0.24 倍であった。電力が低下し始めた時期は、酢酸基質では 1000  $\Omega$  のとき、基質分解率が 90% を超えていたが、外部抵抗が 100  $\Omega$  と 10  $\Omega$  のとき、基質分解率は 50~60% であった。プロピオン酸基質でも、その傾向は同じであった。クーロン効率は外部抵抗 1000  $\Omega$ 、100  $\Omega$ 、10  $\Omega$  のとき、酢酸基質ではそれぞれ、25.6%、44.3%、80.1% で、プロピオン酸基質ではそれぞれ 18.8%、25.3%、40.1% となり、外部抵抗を小さくするほどクーロン効率は高くなった。

### 3.3.3.3 リアクタ温度の影響

温度条件を 30  $^{\circ}\text{C}$  と 37  $^{\circ}\text{C}$  にしたとき、酢酸基質では、温度 30  $^{\circ}\text{C}$  と 37  $^{\circ}\text{C}$  の最大電力はほぼ同値の  $6.6 \text{ W m}^{-3}$  であったが、プロピオン酸では、最大電力は温度 30  $^{\circ}\text{C}$  と 37  $^{\circ}\text{C}$  でそれぞれ  $5.21 \text{ W m}^{-3}$ 、 $5.77 \text{ W m}^{-3}$  であった。また、酢酸基質では、温度 30  $^{\circ}\text{C}$  と 37  $^{\circ}\text{C}$  のときクーロン効率はそれぞれ 25.6%、16.0% であったが、プロピオン酸基質では温度 30  $^{\circ}\text{C}$  と 37  $^{\circ}\text{C}$  のとき、それぞれ 18.8%、16.0% と僅かに低下した。プロピオン酸基質の場合、温度 37  $^{\circ}\text{C}$  と比べて温度 30  $^{\circ}\text{C}$  の電力は小さいものの、長時間電力が生産されており、その結果としてクーロン効率が上回ったものと考察された。

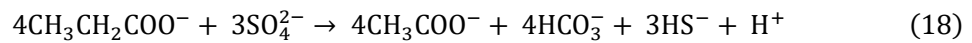
### 3.3.4 アノードの微生物群集構造解析

実験終了時におけるアノード電極バイオフィルムの門レベルの菌叢構造を図 3-10 (a) に示す。門レベルで見ると一番多いのは *Bacteroidetes* で、次は *Proteobacteria* であった。温度条件を 37  $^{\circ}\text{C}$  とした Ac37 と Pr37 で、他とは異なる微生物群集構造の特徴が観察された。

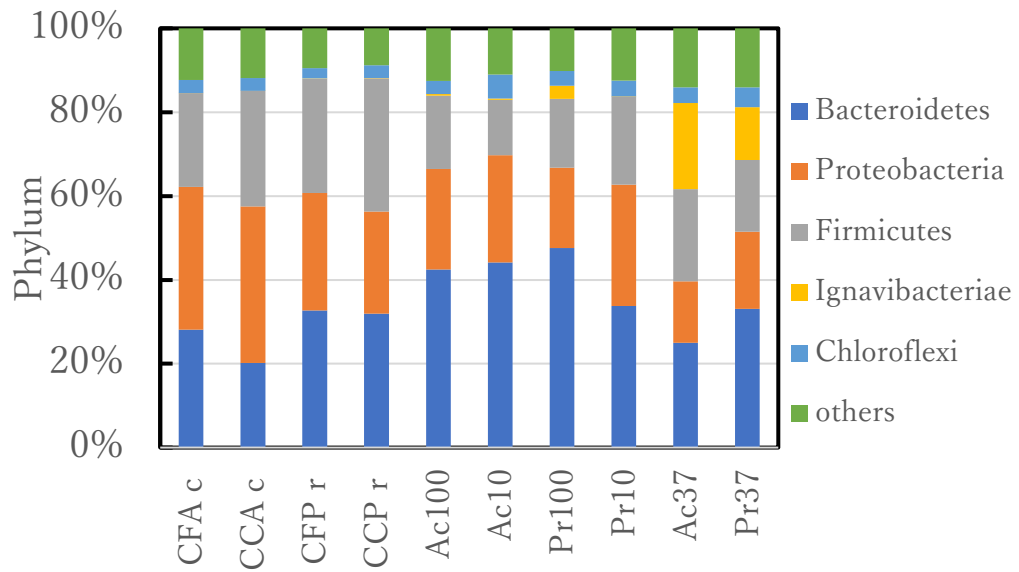
*Ignavibacteriae* の占有率が Ac37 と Pr37 でそれぞれ 20.6 %、12.6 %であり、これは他の実験条件では見られなかった。*Ignavibacteriae* に含まれるのは *Ignavibacterium album* 一種のみが検出された。*I. album* を含む *Ignavibacteriaceae* 科は鉄(III)還元細菌であり、EAB の一種である(Holmes, Bond, and Lovley 2004)。このことから、リアクタ温度を 30 °C から 37 °C に変えたことにより、鉄(III)還元細菌が増殖したことが分かった。一方で、電極材料や外部電気抵抗条件による門レベルの細菌の著しい変化は観察されなかった。

各条件における電極バイオフィルムの  $\delta$ -*proteobacteria* 綱の細菌の構成割合を図 3-10(b) に示す。 $\delta$ -*proteobacteria* 綱には多種類の EAB が属していることが知られている(Reardon and Mueller 2013)。Ac37 を除くと、酢酸基質では gene 2 が高い割合で存在していた。この種は酢酸を資化するが、プロピオン酸を資化できない種である可能性が高い。一方、*Desulfobulbus rhadiformis* はプロピオン酸基質で優占化する傾向があった。*D. rhadiformis* は硫酸塩還元菌 (SRB) の一種でありプロピオン酸を資化することが知られている。*Desulfobulbus* 属は鉄還元能を有しており、発電能力を持っていることが知られている(He et al. 2019; Holmes et al. 2004)。また、37 °C 条件の優占種は酢酸基質とプロピオン酸基質では、同じ *Desulfobulbus* 属の異なる種であることが判明した。酢酸基質では、電極材料による顕著な菌叢の変化はなかった。一方、プロピオン酸基質では、*D. rhadiformis* 属であるが CCPr と CFPr で gene1 の占める割合にやや大きい差が生じた。37 °C の温度条件では、Ac37 は *D. propionicus* が最も多く、Pr37 は *D. elongatus* が優占化していた。

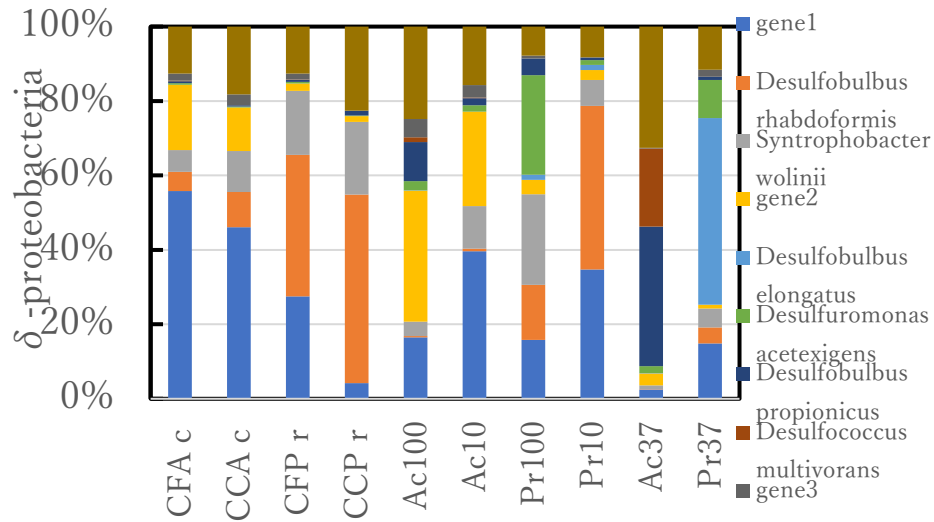
これらのことから、酢酸とプロピオン酸で発電に関与する微生物群集は変化するということと、電極材料や外部電気抵抗の違いよりも温度条件の違いがアノードのバイオフィルム内に繁殖する EAB の種に大きな影響を与えることがわかった。本実験ではすべてのサンプルから SRB だけでなく、sulphide oxidizing bacteria (SOB) の一種である *Desulfovibrio sulfodismutans* が検出された(others に含まれている)ことから、SRB による硫酸還元の際に式 (18)、式(19)のような反応がおこり、発電に寄与していた可能性がある(Rodrigues and Leão 2020)。



SRB は直接的、または、SOB と組み合わせることによって間接的に電極に電子を送ることができる EAB の一種であることが報告されている (Rodrigues et al. 2020)。本実験では、すべてのサンプルから *Geobacter* は検出されたが大きな割合ではなかった。*Geobacter* ではなく SRB が主な EAB として検出されたのは、菌源に硫酸塩が多く含まれていたか、培地に混合した微量金属に硫酸塩が多く含まれていたことが原因の一つではないかと考えられる。



(a)



(b)

図 3-10 アノード電極上のバイオフィルムの微生物群集構造. (a)門, (b) $\delta$ -proteobacteria 綱

### 3.4 まとめ

プロピオン酸の分解に及ぼす MFC 運転条件について、酢酸を基質する場合と比較しながら検討した。運転条件としては、アノードの電極材料、外部抵抗、リアクタ温度を取り上げた。電極材料については、酢酸とプロピオン酸の両者ともカーボクロスの方がカーボンフェルトよりも分解速度も速く、最大電力も高かった。外部抵抗を 100Ω と 10Ω に小さくすると基質の分解速度は速くなるが、大きい外部抵抗 1000Ω に比べて最大電力は低かった。リアクタ温度 30 °C の条件では、酢酸に比べてプロピオン酸は分解に長い時間がかかった。リアクタ温度を 37 °C にすると、酢酸の分解が遅くなるのに対してプロピオン酸の分解速度が速くなって、結果として、プロピオン酸の方が酢酸よりも速く分解された。リアクタ温度を 37 °C にすると 30 °C の条件と比較して、微生物群集の構成が大きく変わった。プロピオン酸を基質とするリアクタで、温度 37 °C の条件で優占化された種は *δ-proteobacteria* 網の *desulfobulbus elongatus* であった。



## 第4章 多槽式微生物燃料電池による有機酸分解・利用の高効率化

### 4.1 目的

本章では、多槽式 MFC が多様な有機酸廃液の処理と発電利用に有効であるか検証することを目的とした。3 槽で構成する多槽式 MFC と単槽式 MFC を準備し、実際のバイオマスとして酒粕を原料とする水素発酵を行い、排出された有機酸廃液を供試して MFC を運転し、その効果を調べるとともに、改善点を整理した。最初の実験では、第 2 章と第 3 章で使用した小型 MFC を使って、第 3 章で得られた知見から運転条件を設定して、HRT36 時間で運転した。次の実験では、原料の酒粕に異なる 2 条件で加圧熱水処理したものを原料として水素発酵を行い、主要成分が異なる有機酸廃液を得た。これを対象基質として、試作した容積 300 mL の大型 MFC を用いて、最初の実験と同様に 3 槽で構成する多槽式 MFC と単槽式 MFC を使って連続運転を行い、多槽式 MFC の効果を検証するとともに、実用化に向けた課題を検討した。

### 4.2 小型多槽式 MFC 実験

#### 4.2.1 実験目的

本実験では、実際の有機酸廃液に多槽式 MFC が対応できるか検証することを目的とした。多槽式 MFC の基質として水素発酵残渣(以降、HFR と記載)を利用するため、回分式の水素発酵を行って、その廃液を回収した。第 3 章で用いた小型 MFC を用いて、多槽式 MFC を構成し、水素発酵残渣の有機酸廃液を供試して運転し、有機酸分解と発電の性能を調べた。

#### 4.2.2 実験方法

##### 4.2.2.1 有機酸廃液

本実験では、多槽式 MFC の基質として水素発酵残渣(以降、HFR と記載)を利用するため、回分式の水素発酵を行って、その廃液を回収した。水素発酵の菌源として、第 2 章で詳述し

たように本学 FM 府中の牛舎で製造された牛糞堆肥を水に浸した上澄みで、2 日間エアレーションした後 4 °C で保管したものを用いた。基質として、市販の酒粕 ( ) を使用した。

菌源と基質に、前処理として加圧熱水処理を施した。菌源には温度 150 °C、圧力 0.5 MPa、保持時間 40 分の条件で(Kuribayashi et al. 2017)、基質には酒粕 10 g に対して蒸留水 100 mL の割合で溶解したものを温度 130 °C、圧力 0.5 MPa、保持時間 15 分の条件で行った。基質の前処理条件は Chiron et al. (2020) を参考に、糖成分が多く回収された前処理条件を採用した。

ガラス製の容積 3.5 L のセパラブルビーカに、表 4-1 に示す培地を 2.8 L、前処理済みの菌源 300 mL、前処理済みの基質 300 mL を入れ、密封した。ビーカはマントルヒータ(SGBRTL、SHIBATA)で 35 °C に加温し、攪拌翼を用いて 130 rpm で攪拌した。バイオガスは 1 日 1 回サンプリングし、TCD 検出器付きガスクロマトグラフ(GC-14A、Shimadzu)を用いて水素濃度を分析した。分離カラムは Porapak Q 80-100 ステンレスカラム(信和化工)を用い、キャリアガスは窒素で流量 50 mL min<sup>-1</sup> とした。注入口、カラムオープン、TCD 検出器の温度はそれぞれ 100 °C、50 °C、100 °C とした。検出器の電流値は 50 mA とし、デュアルカラム方式で測定した。発酵終了後に HFR を冷蔵庫に 4 °C で保管した。

表 4-1 水素発酵の培地組成

試薬	試薬量 (g L <sup>-1</sup> )
NH <sub>4</sub> Cl	1.33
MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	0.1
NaCl	0.01
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> · 2 H <sub>2</sub> O	0.01
CaCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O	0.01
MnSO <sub>4</sub> · 5H <sub>2</sub> O	0.013
FeCl <sub>2</sub> · 4H <sub>2</sub> O	0.00437
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	5.99
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1.05

#### 4.2.2.2 MFC の構成と設定

第 3 章で得られた結果を参考に、3 槽で構成する多槽式 MFC(Multi1~3)及び単槽式 MFC(Single)の運転条件を表 4-2 のように設定した。多槽式 MFC では 1 槽目の MFC リアクタ(Multi1)を酢酸により、2 槽目及び 3 槽目(Multi2, Multi3)の MFC リアクタを酪酸により馴養した。電極素材として、分解時間が短かったカーボンを採用した。リアクタ温度については、酢酸で馴養する Multi1 は 30 °C、酪酸で培養する Multi2 及び Multi3 は 37 °Cとした。

リアクタは第 2 章、第 3 章で用いたものと同じで、円筒形で直径 32 mm、長さ 40 mm、容積 27 mL のアクリル製である。上部に 2 箇所サンプルポート、底部に排水口を設けている。電極素材は第 3 章と同じ条件で、カーボンフェルトは 3 cm 角に裁断したものを、カーボンは 3 cm 角に裁断したものを 3 枚重ねて使用した。電極の前処理として、両電極素材にも 450 °C-30 分の熱処理を施した。

基質濃度は 5 mmol L<sup>-1</sup>とした。外部抵抗については、10Ω では安定した運転を継続することが難しかったためすべてのリアクタで 1000 Ω とした。対照区である単槽式は酢酸による馴養とし、電極素材にカーボンフェルトを使用した。リアクタ温度は 30 °Cとした。

表 4-2 小型 MFC 運転条件

	基質	電極素材	外部抵抗(Ω)	リアクタ温度(°C)
Single	酢酸	カーボンフェルト	1000	30
Multi 1	酢酸	カーボンをクロス	1000	30
Multi 2	酪酸	カーボンをクロス	1000	37
Multi 3	酪酸	カーボンをクロス	1000	37

#### 4.2.2.3 MFC リアクタの馴養方法

本実験では、水素発酵残渣を用いた MFC の運転前に単一の基質で運転しバイオフィルムをアノード電極上に形成させる馴養段階を設けた。第 2 章で得られた知見をもとに、馴養段階では、一定濃度の基質を MFC リアクタに投入しながら、安定した電圧サイクルがみられるまで、回分式で運転した。

馴養には、培地(表 2-1 及び表 2-2 参照)と菌源として牛糞堆肥から精製した菌液(第 3 章参照)を体積比 1:1 で混合した培養液に、基質として濃度 5 mmol L<sup>-1</sup> の酢酸又は酪酸を添加した培養液を用いた。馴養期間は、培養液を交換した後、MFC の電圧が上昇し、基質を消費して電圧が十分下がってから培養液を交換する回分式で馴養した。温度 30 °C、または 37 °C に設定したインキュベータ内にリアクタを静置し、データロガー(GL240、ZR-RX45、OMRON)を用いて 1 分間隔で MFC の出力電圧を記録した。実験は 2 反復で行った。

#### 4.2.2.4 有機酸廃液を基質とした MFC の運転

単一基質による馴養が安定したのち、基質とする原料を水素発酵残渣の有機酸廃液に変えて運転した。水理的滞留時間 (HRT) を 36 時間とし、連続運転に切り替えた。単槽式では、36 時間毎にリアクタ内の全量を取り替えた。多槽式(3 槽式)では、リアクタ 1 台当たりの HRT を 12 時間とし、12 時間毎にリアクタ内の全量を取り替え、1 槽目の排液を全量 2 槽目へ、2 槽目の排液を全量 3 槽目に入れる操作を行った(図 4-1)。リアクタ溶液の交換時にアノード電極上のバイオフィルムが酸素に曝露されるのを避けるため、リアクタの下側から静かに溶液を押し出すようにして、入れ替え操作を行った。

12 時間毎に全リアクタから 600 µL 溶液を採取し、有機酸の濃度を測定した。0.45 µm シリンジフィルタを通過させたものをサンプルとして HPLC で分析した。HPLC の設定は第 3 章に記載したとおりである。

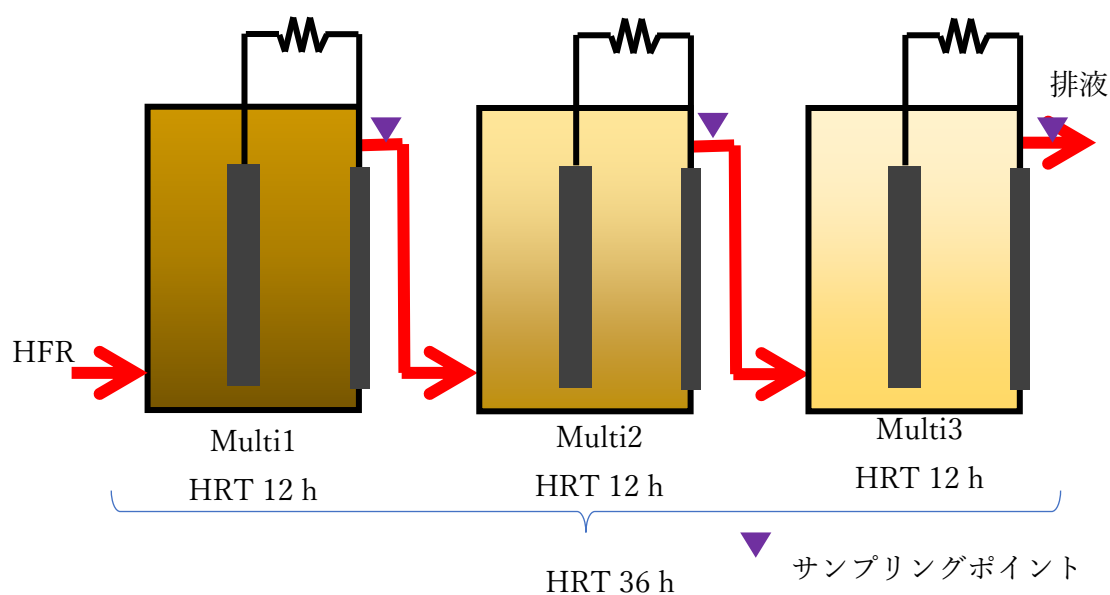


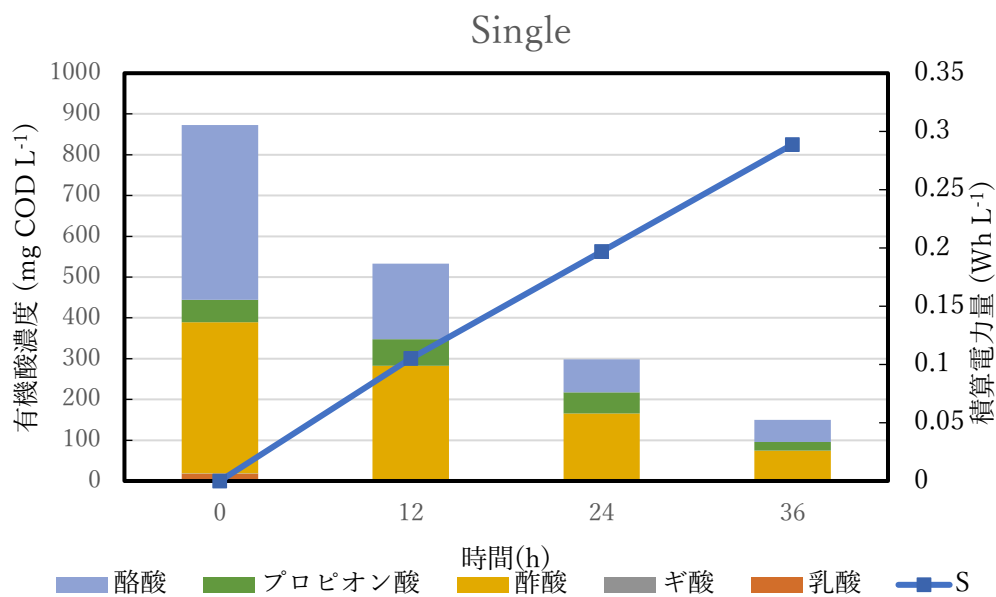
図 4-1 3 槽式 MFC 模式図

#### 4.2.3 結果及び考察

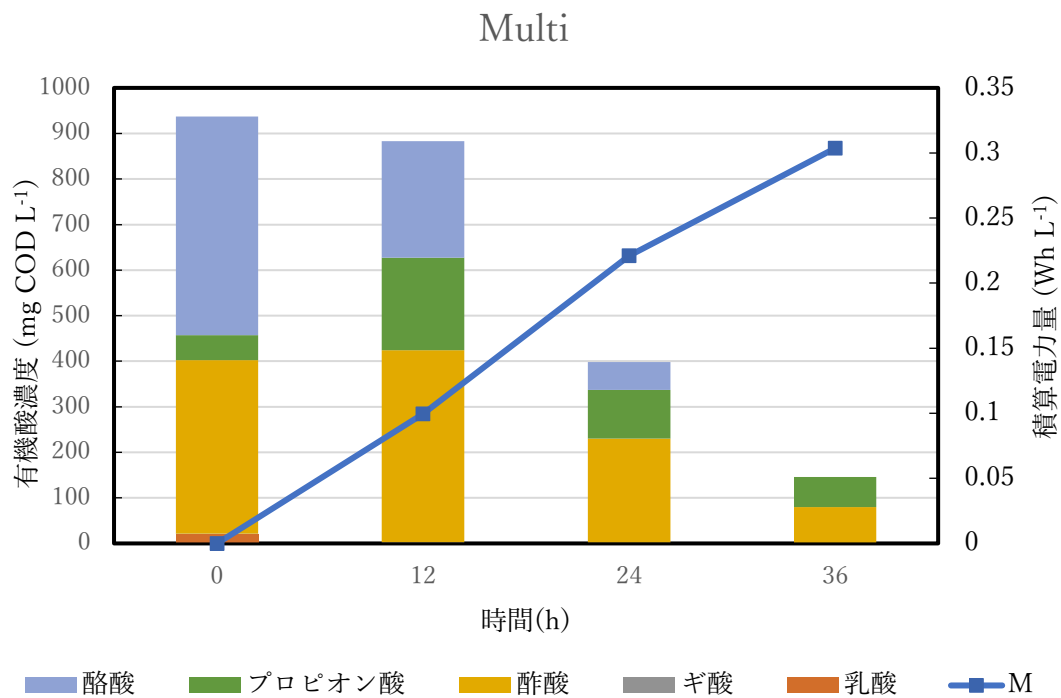
図 4-2 に単槽式及び多槽式で運転した MFC の発電量と各槽に残存した有機酸の濃度について示した。発電量については、単槽式では HRT36 時間の中で常に一定の出力であり、最終的に 36 時間の積算電力量は  $0.289 \text{ Wh L}^{-1}$  であった。多槽式でも、Multi1 から Multi3 まですべてのリアクタでほぼ同じ出力となり、36 時間の積算電力量で  $0.304 \text{ Wh L}^{-1}$  となった。多槽式にしても単槽式と同等の発電性能を有することが分かった。また、基質を投入してから 36 時間後のクーロン効率についても単槽式が 36.2%、多槽式が 35.7% で、ほぼ等しかった(クーロン効率の計算は式(8)、または、式(17)を参照、基質の分解で生じる電子数は、酢酸  $e=8$ 、プロピオン酸  $e=14$ 、酪酸  $e=20$  である)。

有機酸の分解については、36 時間後の最終的な残存する有機酸濃度は単槽式で  $149.9 \text{ mg COD L}^{-1}$ 、多槽式で  $145.6 \text{ mg COD L}^{-1}$  であり、ほとんど同じであった。単槽式では一定速度で有機酸が分解されたのに対し、多槽式では 1 槽目 (12 時間後) でほとんど有機酸濃度は減少せず、2 槽目 (24 時間後) と 3 槽目 (36 時間後) で急激に有機酸濃度が低下するという傾向であった。Single と Multi1 のリアクタの違いは電極素材だけであるので、カーボン

フェルトを使った Singleの方がカーボクロスを使った Multi1よりも有機酸除去速度が速かったことになり、これは第3章の結果と異なるものであった。Multi1（12時間後）でほとんど有機酸濃度が下がっていないのは、基質である水素発酵残渣に含まれる微小な固形分が分解されて、有機酸となったものと考えられた。この点も、第3章の結果と異なったことに関係しているかもしれない。また、多槽式の2槽目 Multi2（24時間後）の有機酸濃度は、Single（24時間後）の有機酸濃度よりも高く、1槽目 Multi1（12時間後）からの基質消費量を考えると、2槽目 Multi2の消費速度は速く、3槽目 Multi3でも同様であった。有機酸の成分についてみると、単槽式では最後に主に酪酸と酢酸が残存しているのに対し、多槽式では酪酸がすべて分解され、残存していたのはプロピオン酸と酢酸であった。このことから酪酸で馴養した Multi2 及び Multi3 は酪酸を速やかに分解したことが分かる。一方で、酢酸とプロピオン酸が Multi3 に残存したのは、固形分が追加的に分解されて、有機酸となって供給された可能性がある。Multi2 及び Multi3 のリアクタ温度 37 °C はメタン発酵の至適温度であり、MFC のリアクタ内でメタン発酵の経路が進み、プロピオン酸と酢酸として蓄積したものと考えられる (Li et al. 2012)。



(a)



(b)

図 4-2 小型 MFC の(a)単槽式(a)と(b)多槽式の発電量と残存有機酸濃度

## 4.3 大型 MFC 多槽式実験

### 4.3.1 実験目的

小型の MFC による実験では最終的な基質の分解率は単槽式と多槽式でほとんど変わらなかったが、12 時間後までの有機酸の分解速度は多槽式よりも単槽式の方が速く、24 時間後と 36 時間後の有機酸の分解速度は単槽式よりも多槽式の方が速かったという結果であった。

本節では、本システムの実用化に向けて MFC リアクタを大型化し、有機酸の分解速度と発電性能について調べた。また、原料の加圧熱水処理において、処理温度条件を低温と高温の 2 条件として、水素発酵後に得られる有機酸廃液の成分を変えて MFC 実験を行うこととした。原料の加圧熱水処理では、主成分が炭水化物である酒粕を低温で短時間処理する場合は炭水化物が糖まで分解され、高温で長時間処理した場合には、過分解となって糖が有機酸まで分解されることが分かっている(Choiron et al. 2020; Yamada et al. 2004)。本実験では、このような原料を用いて、異なる水素発酵の有機酸廃液を供試して、多槽式 MFC による有機酸分解と発電性能に及ぼす影響や実用化に向けた課題を調べた。

### 4.3.2 実験方法

#### 4.3.2.1 有機酸廃液

実験の基質として水素発酵残渣の有機酸廃液を用いるため、まず、酒粕を原料とする水素発酵を行った。菌源は 4.2.2.1 に記載したように、牛糞堆肥から精製した菌液とした。基質の原料として酒粕を用い、4.2.2.1 に記載したように酒粕 10g に対して蒸留水 100 mL を加えて溶解した後、加圧熱水処理した。異なる有機酸廃液を得る目的で、加圧熱水処理は次の 2 条件で実施した(図 4-3)。条件① 温度 130 °C、圧力 0.5 MPa、保持時間 15 分(以降、HCW130°C と記載)、条件② 温度 180 °C、圧力 0.5 MPa、保持時間 120 分とした(以降、HCW180°C と記載)。

水素発酵には、培地 2.8 L、基質 300 mL、前処理済みの菌源 300 mL の割合で混合した溶液を供試した。発酵用ビーカーを密封し、マントルヒータで 35 °C に加温し、130 rpm で攪拌



しながら発酵させた。1日1回バイオガスを採取し、ガスクロマトグラフで水素濃度を調べた。発酵後に残った水素発酵残渣を温度 35 °Cで維持し、実験に供する有機酸廃液とした。



図 4-3 加圧熱水処理後の基質(酒粕). (a)HCW130°C, (b)HCW180°C

#### 4.3.2.2 MFC リアクタ

実験に供試した MFC リアクタはアクリル製の 2 チャンバ型で、その構造は図 4-4 に示すとおりである。試作した 2 チャンバ型 MFC はイオン交換膜を挟んでアノード槽とカソード槽が分離している形式である。アノード槽とカソード槽は、ともに底面 3 cm×4 cm、高さ 25 cm の箱型で、有効容積 300 mL であった。アノード槽とカソード槽の間に陽イオン交換膜(セレミオン®CMV, 旭硝子)を 2 枚のシリコンゴムシート (厚さ 4 mm) で挟み、リアクタの周囲から 8 本のボルトで締めて、漏水しない構造とした。カソード電極にはカーボンクロス(20 cm×20 cm を 2 枚重ねた)を用いた。アノード電極として、温度 450 °Cで 30 分熱処理

したカーボクロス(3 cm×20 cm を 3 枚重ねた)、または、カーボンフェルト(3 cm×20 cm)を用いた。

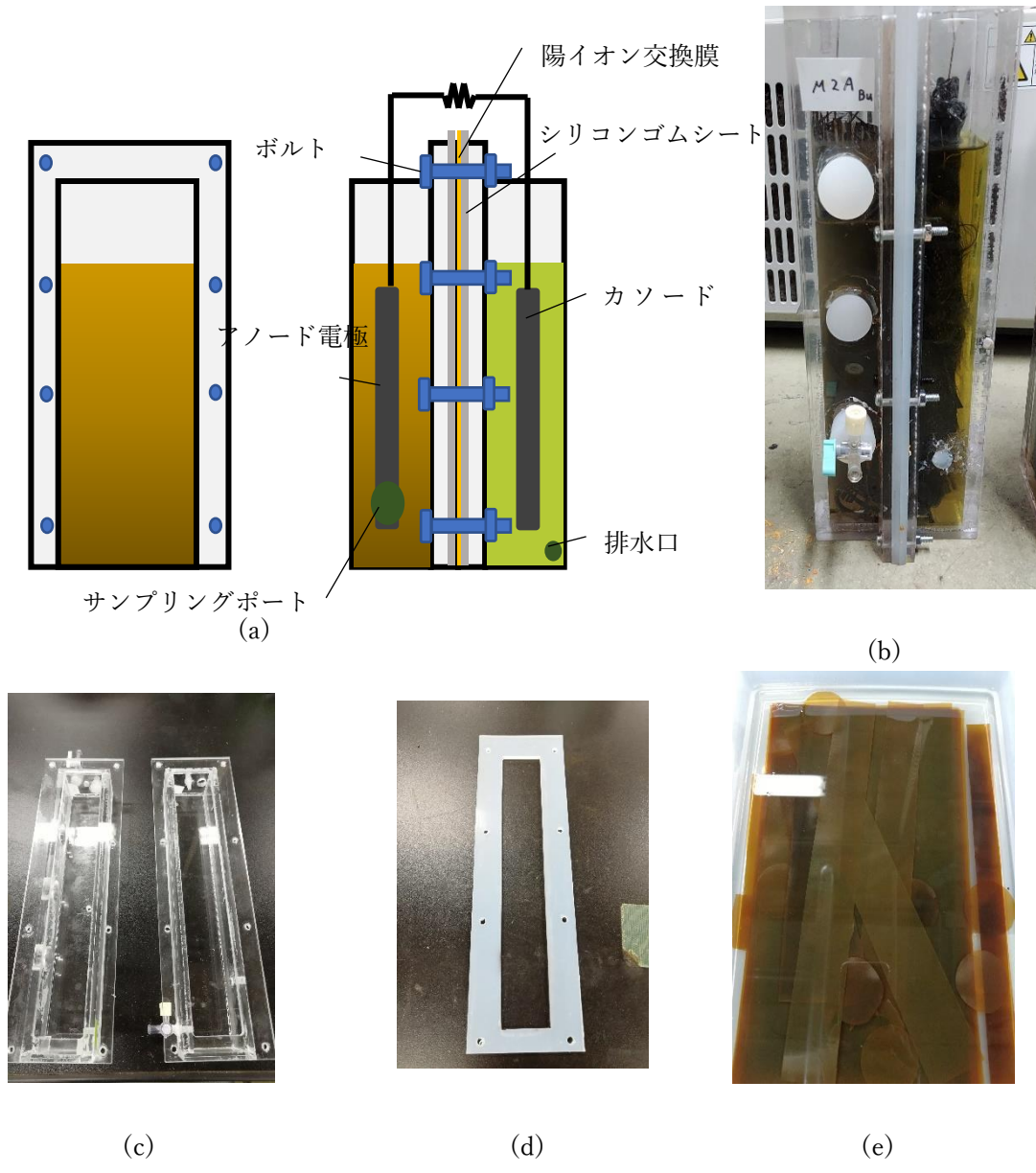


図 4-4 試作した大型 MFC. (a) 模式図, (b) 全体写真, (c) リアクタ, (d) シリコンゴムシート, (e) 陽イオン交換膜.

#### 4.3.2.3 MFC リアクタの馴養

本実験では、MFC の運転条件を表 4-3 のように設定した。運転実験を開始する前に、単一の基質を使った馴養期間を 3.5 日(84 時間)設けた。第 3 章の結果をもとに、単槽式(Single)では酢酸を馴養段階の基質とし、電極素材にカーボンフェルトを用い、リアクタ温度 30 °C で運転した。多槽式では、1 槽目(Multi1)は酢酸を基質とし、2 槽目及び 3 槽目では酪酸を基質とした。電極素材は全てのリアクタでカーボンクロスとした。外部抵抗は、発電を安定させるため全リアクタ 1000 Ω に固定した。また、水素発酵は温度 35°C~37 °C で運転されている現状に合わせて、多槽式 MFC は全てのリアクタ温度を 37 °C とした。これは、1 槽目だけが 30 °C、2 槽目と 3 槽目が 37 °C で運転するというのは現実的でないという理由からである。

MFC リアクタの馴養に供試した培養液は、培地(表 2-1 及び表 2-2 参照)と牛糞堆肥から精製した菌液(水素発酵で用いたものと同じで、加圧熱水処理なし)を体積比 1 : 1 で混合した溶液、基質として酢酸、または、酪酸を 5 mmol L<sup>-1</sup> 添加したもので、300mL をアノード槽に投入した。カソード槽には、50 mM リン酸緩衝液(pH7.0)に 50 mM ヘキサシアノ鉄(III)酸カリウムを溶解したもの(Biffinger et al. 2007)を 300 mL 入れた。データロガー(GL240、ZR-RX45, OMRON) を用いて 1 分間隔で MFC 出力電圧を記録した。実験は 2 反復で行った。

表 4-3 大型 MFC の培養条件

	基質	電極素材	外部抵抗( $\Omega$ )	リアクタ温度( $^{\circ}\text{C}$ )
Single	酢酸	カーボンフェルト	1000	30
Multi1	酢酸	カーボンクロス	1000	37
Multi2	酪酸	カーボンクロス	1000	37
Multi3	酪酸	カーボンクロス	1000	37

#### 4.3.2.4 水素発酵残渣の有機酸廃液を基質とした MFC の運転

馴養期間終了後、水素発酵残渣の有機酸廃液を基質とした連続運転に切り替えて、実験を行った。HRT を 108 時間に設定し、溶液を 12 時間に一度交換した(Single は 1 回に 33 mL、Multi は 1 回に 100 mL 排出させて、次のリアクタに入れた)。溶液交換時にはアノード電極が酸素に触れないよう、窒素ガスを通気ポートから通気して溶液交換を実施した。最初の 4.5 日(108 時間)を HFR 移行期として Multi1 から Multi3 の溶液がすべて HFR に変わるまで運転したのち、サンプリングテストを 5 日間(120 時間)実施した。サンプリングテストでは 24 時間ごとにアノード槽内の溶液を 1 mL 採取した。採取したサンプルは 0.45  $\mu\text{m}$  のシリンジフィルタを通過させたのち HPLC で有機酸濃度の分析を行った。HPLC の設定は第 3 章と同じである。

#### 4.3.2.5 固形分の計算

加圧熱水後の処理液、水素発酵後の残渣、MFC での処理後において、固形分の含有量を測定した。固形分濃度 (Total Solid, TS)、有機物濃度 (Volatile Solid, VS) を調べるため、それぞれ 10 mL の試料を蒸発皿へ入れて 105 $^{\circ}\text{C}$ で 24 時間以上炉乾燥後、600  $^{\circ}\text{C}$ で 30 分間強熱処理した。TS 及び VS は式(20)及び式(21)で計算した。

$$TS(\%) = \frac{m_c - m_a}{m_b - m_a} \times 100 \quad (20)$$

$$VS(\%) = \frac{m_c - m_d}{m_c - m_a} \times 100 \quad (21)$$

ここで、 $m_a$ ：蒸発皿の質量、 $m_b$ ：乾燥前試料と蒸発皿の質量、 $m_c$ ：乾燥後試料と蒸発皿の質量、 $m_d$ ：強熱後試料と蒸発皿の質量である。廃液処理で指標とする有機物負荷量(mg-COD L<sup>-1</sup>)については、強熱減量 ( $m_c - m_d$ ) を試料溶液量 10 mL で割って算出した。原料である酒粕はほとんどがデンプンであることから、強熱減量で算出された有機物負荷量はすべてグルコースと仮定して COD を計算した。

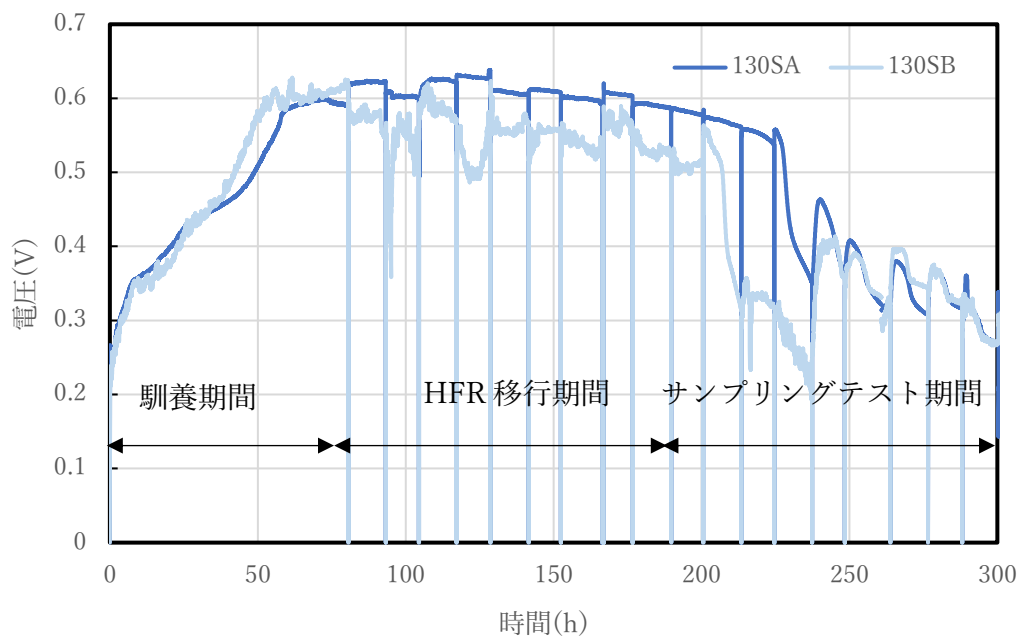
### 4.3.3 結果及び考察

#### 4.3.3.1 発電量

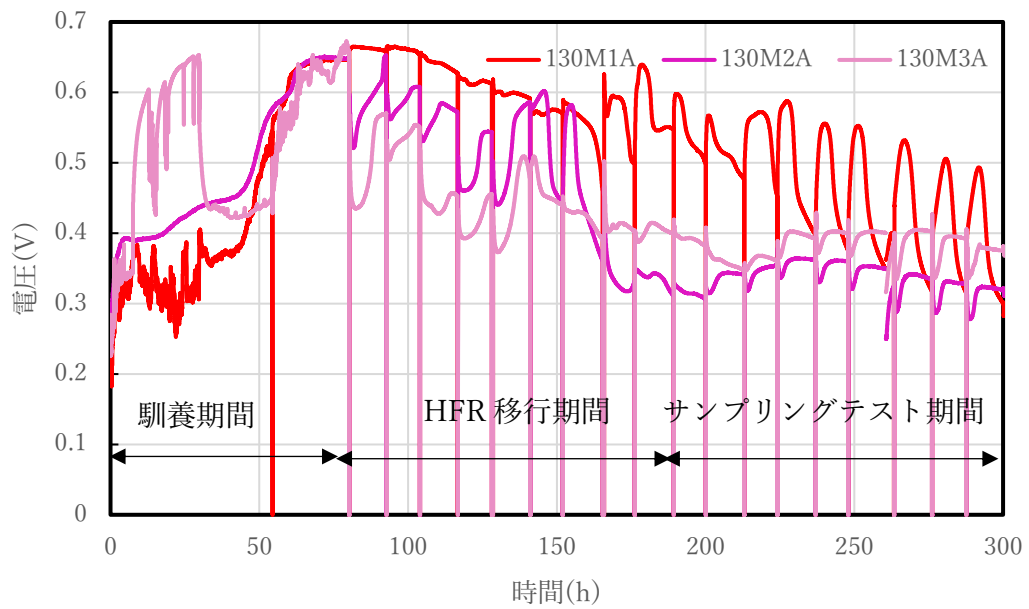
サンプリングテスト期間の MFC の発電量について、電圧値を図 4-5 に示した。凡例の M は多槽式 Multi、S は単槽式 Single、A、B は反復を示す(例：130M2B は加圧熱水処理 HCW130°C、多槽式の 2 槽目、反復 B)。単槽式か多槽式か、また、加圧熱水処理の処理温度条件に関わらず、馴養期間(ピーク電圧は 0.5~0.7 V)から HFR の基質に変更すると、電圧値は徐々に低下して、0.3~0.4 V に収束した MFC が多かった。多槽式 MFC は反復間の差が大きかったが、一方で、加圧熱水処理条件①HCW130°C、②HCW180°Cのいずれでも、Multi1 は電圧が高く維持される傾向にあった。

電圧値から計算した 108 時間の積算電力量を図 4-6 にまとめた。(a)に示すように、条件 HCW130°Cの場合、Multi1(130M1)で最も大きな電力量(0.086 Wh L<sup>-1</sup>)を得た。また、最終的には Multi3 が 0.048 Wh L<sup>-1</sup>、Multi2 が 0.037 Wh L<sup>-1</sup>となり、Multi3 の電力量が 0.011 Wh L<sup>-1</sup> 高くなった。(b)に示すように、条件 HCW180°Cでは Single が最大の 0.071 Wh L<sup>-1</sup>であった。Multi は HCW130°Cの時と同様に Multi1 が最も高く 0.055 Wh L<sup>-1</sup>、Multi3 が 0.053 Wh L<sup>-1</sup>、Multi2 が 0.036 Wh L<sup>-1</sup>と続いた。(c)は Multi1~3 の総発電量 (平均値) と Single の発電量を

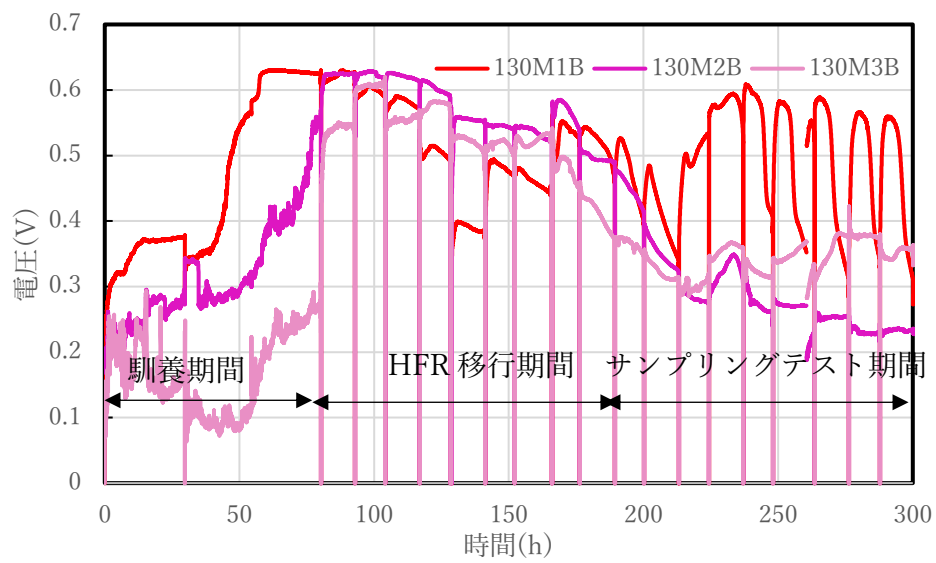
比較したものである。多槽式はHCW130°Cでも HCW180°Cでも単槽式よりも低い値となり、HCW130°Cで 0.057 Wh L<sup>-1</sup>、HCW180°Cで 0.045 Wh L<sup>-1</sup>となった。これらのことから、加圧熱水処理条件（つまり、有機酸成分）にかかわらず多槽式 MFC で運転すると単槽式に比べて発電量はわずかに少なく、電力量の差は条件 HCW180°Cの方が条件 HCW130°Cよりも大きいことが示された。



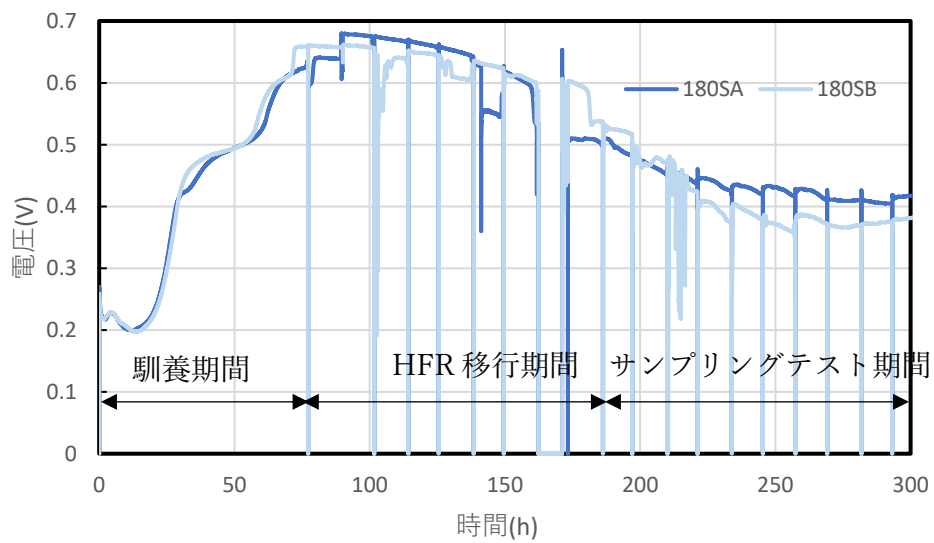
(a)



(b)



(c)



(d)



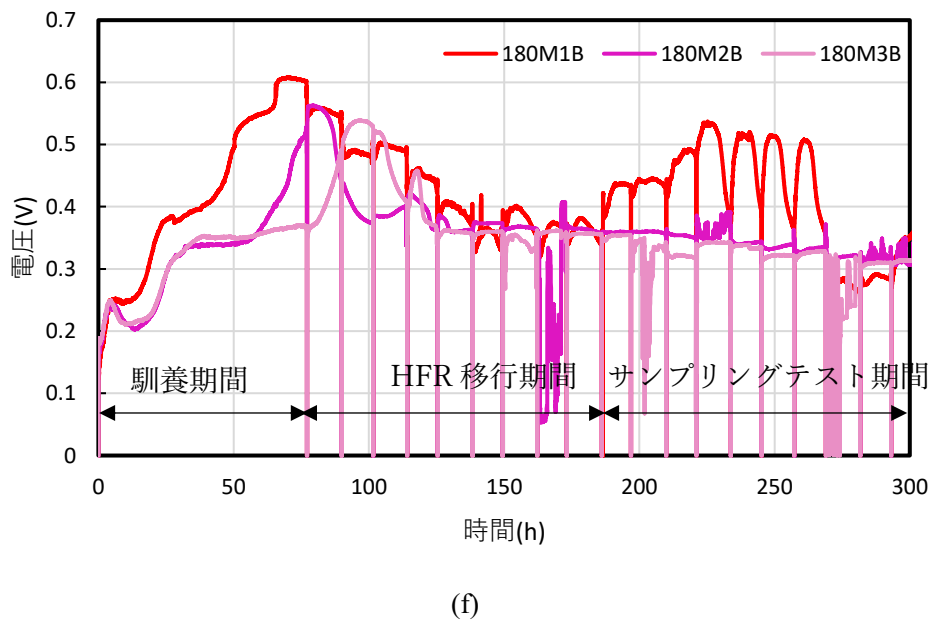
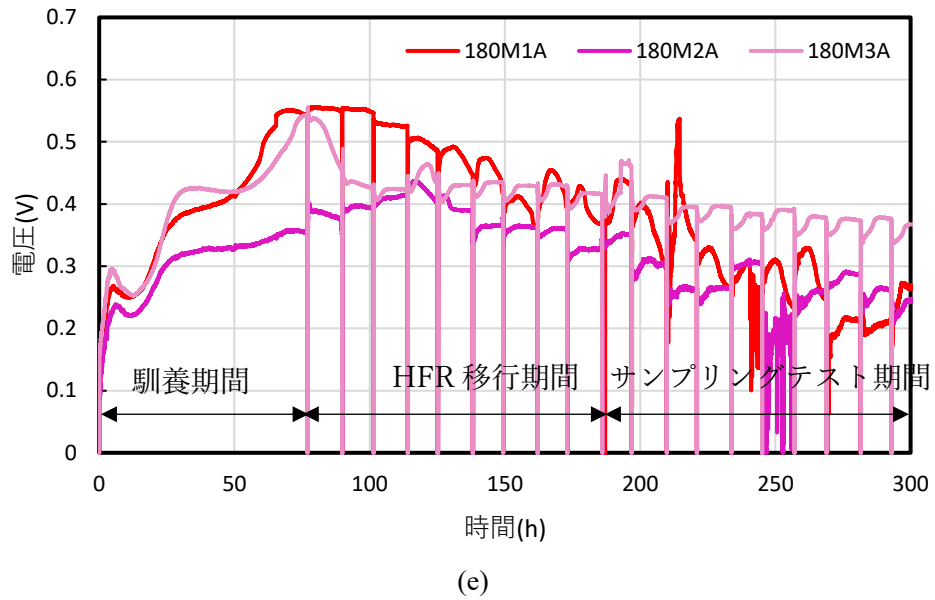
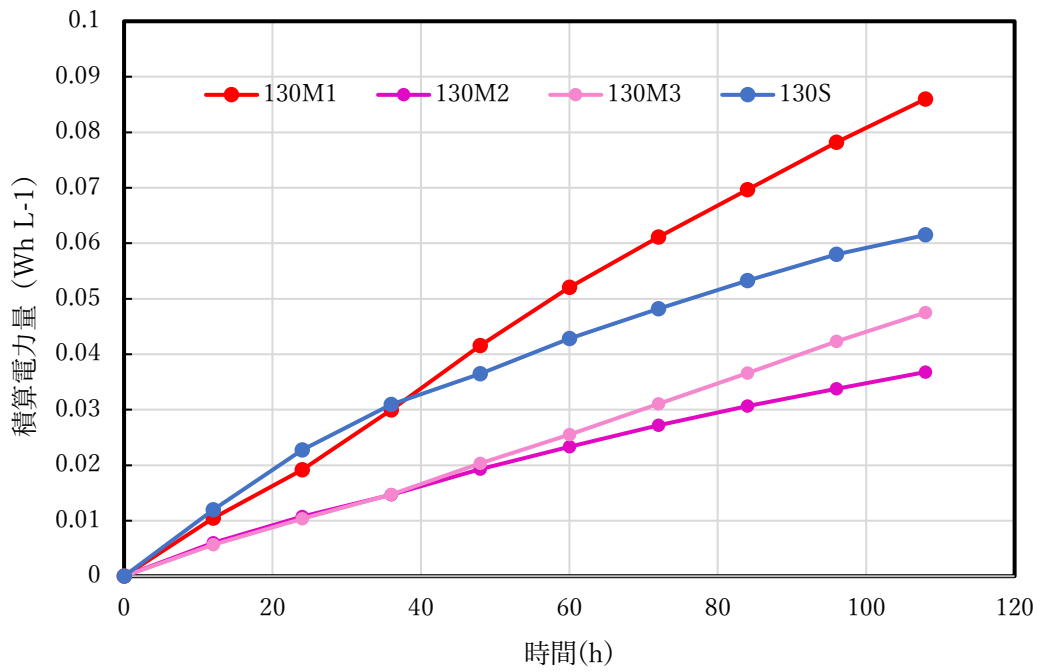
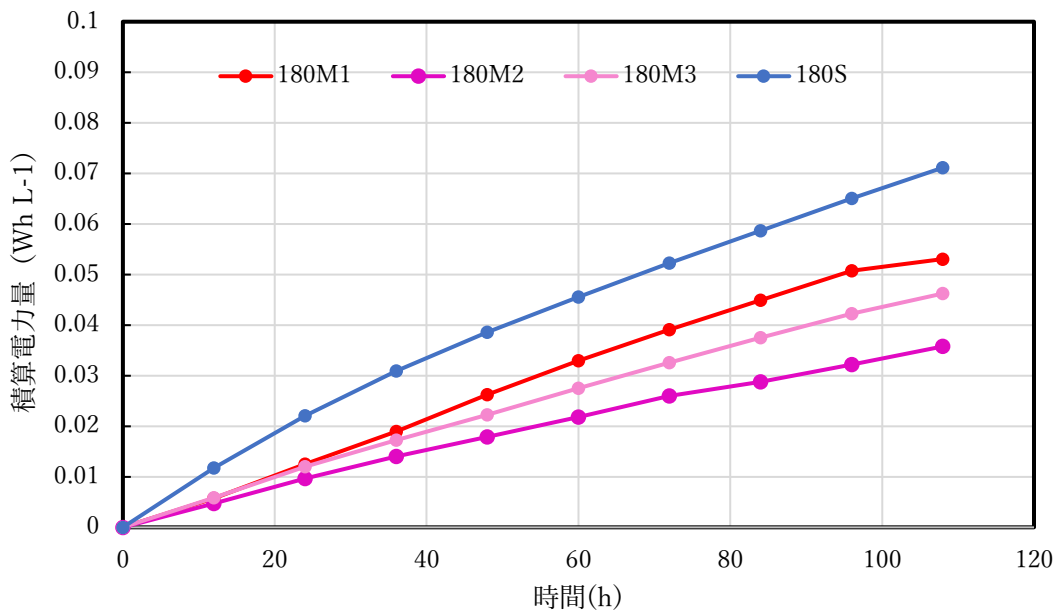


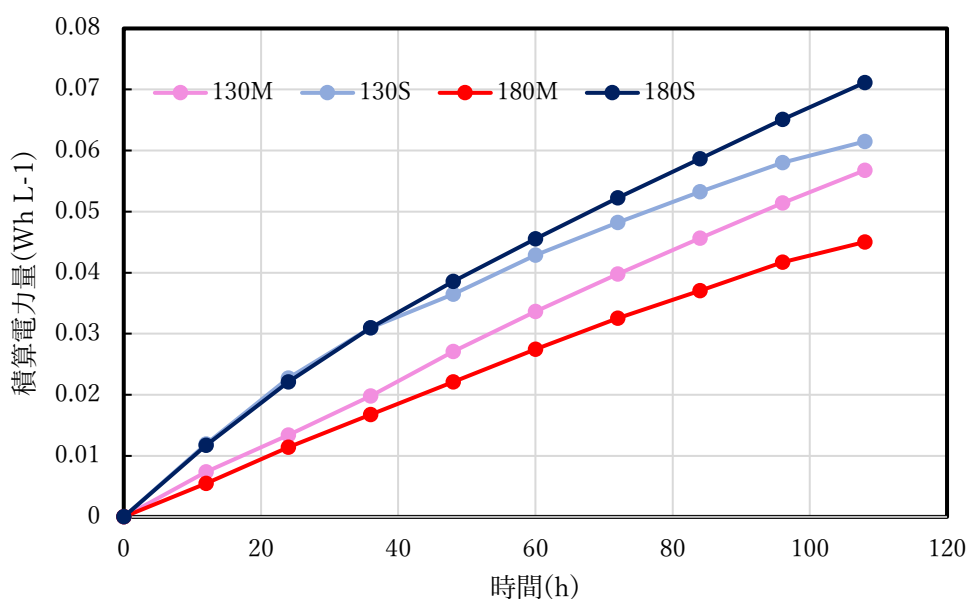
図 4-5 電圧値の変化. (a)HCW130°C単槽式、(b)HCW130°C多槽式の反復 A、  
(c)HCW130°C多槽式の反復 B、(d)HCW180°C単槽式、(e)HCW180°C多槽式の反復 A、(f)  
HCW180°C多槽式の反復 B



(a)



(b)



(c)

図 4-6 大型 MFC の積算電力量. (a)(b)HCW130°Cと HCW180°Cの Multi1~3 及び Single の積算電力量、(c)HCW130°Cと HCW180°Cの Multi1~3 の総（平均）積算電力量と Single の積算電力量

#### 4.3.3.2 基質の分解

##### (a) 加圧熱水処理による分解

基質の原料である酒粕は加圧熱水処理(HCW)することで、デンプンが分解され糖が生成した(図 4-7)。HCW130°Cで加圧熱水処理した酒粕は糖に転換されて、糖の COD 負荷は 4468 mg COD L<sup>-1</sup>であった。HCW180°Cの加圧熱水処理では、過分解により HCW130°Cに比べて糖の COD 負荷は 3016 mg COD L<sup>-1</sup>少なく、1452 mg COD L<sup>-1</sup>であった。一方で、過分解によって生成した有機酸の含有量は増え、多様で高濃度の有機酸が含まれていた。

##### (b) 水素発酵による分解 (HFR)

HCW130°Cでは水素発酵により有機酸が増加し、COD 負荷は 661.6 mg COD L<sup>-1</sup>増加した。水素発酵を行うことで嫌気性微生物により糖が分解され、有機酸が多量に生成したことが

分かる(図 4-8、図 4-9)。また、有機酸の成分も酢酸とプロピオン酸を中心にした構成から、酪酸、酢酸、乳酸を中心とした多様な有機酸の成分に変わった。

HCW180°Cでは、水素発酵により有機酸濃度は COD 負荷で 154.9 mg COD L<sup>-1</sup> 微減した。発酵前には酢酸とプロピオン酸を中心に多様な有機酸を含んでいたが、発酵後は酢酸、プロピオン酸、酪酸が中心となる成分構成に変化した。原料に糖含有量が少なかったことで水素発酵はほとんど行われなかったと考えられる。

### (c) MFC による分解

水素発酵後の有機酸廃液を単槽式 MFC と多槽式 MFC に投入して、HRT108 時間で運転したときの各槽の有機酸濃度について図 4-8 及び図 4-9 に示す。HCW130°Cと HCW180°Cの両者とも Multi1 から Multi3 の順に有機酸濃度が低くなり、有機酸の成分は酢酸、プロピオン酸、酪酸で構成されていた。HRT108 時間の処理で排出される Single と Multi3 の有機酸濃度を比較すると、HCW130 °Cの場合 Single が 987.2 mg COD L<sup>-1</sup>、Multi3 が 670.7 mg COD L<sup>-1</sup>であり、COD 負荷は Multi3 の方が 316.5 mg COD L<sup>-1</sup> 低かった。HCW180 °Cでも、同様に Single が 870.8 mg-COD L<sup>-1</sup>、Multi3 が 772.6 mg-COD L<sup>-1</sup>であり、Multi3 の方が低かった。このことから、MFC を多槽式にすることで、単槽式で運転するよりも速やかに有機酸を分解できることが分かった。ただし、Multi1 の有機酸濃度が水素発酵残渣 HFR より高いことからわかるように、水素発酵後に残る固形分が MFC リアクタで追加的に分解されて有機酸が生じたため、多槽式 MFC の馴養方法及び運転条件の効果が判然としない結果となった。固形分濃度(TS、図 4-10)は、加圧熱水処理後が最も高く、HCW130°Cで 5.48 %、HCW180°Cで 2.35 %であった。水素発酵後の TS はそれぞれ 0.82 %、0.81 %であったので、水素発酵で多くの固形分が分解されたことがわかる。しかし、MFC では多槽式、単槽式に関わらず、固形分はそれ以上除去されなかった。有機物濃度 (VS、図 4-11) は、単槽式、多槽式で水素発酵後からさらに半分程度分解した。また、HCW130°Cよりも HCW180°Cの方が残存する有機物濃度は 6 %ほど高かった。COD 負荷では (図 4-12)、HCW130°Cは 2974 mg COD L<sup>-1</sup>

1、HCW180°Cでは 3486 mg COD L<sup>-1</sup> の有機物が MFC に投入されていたことがわかる。

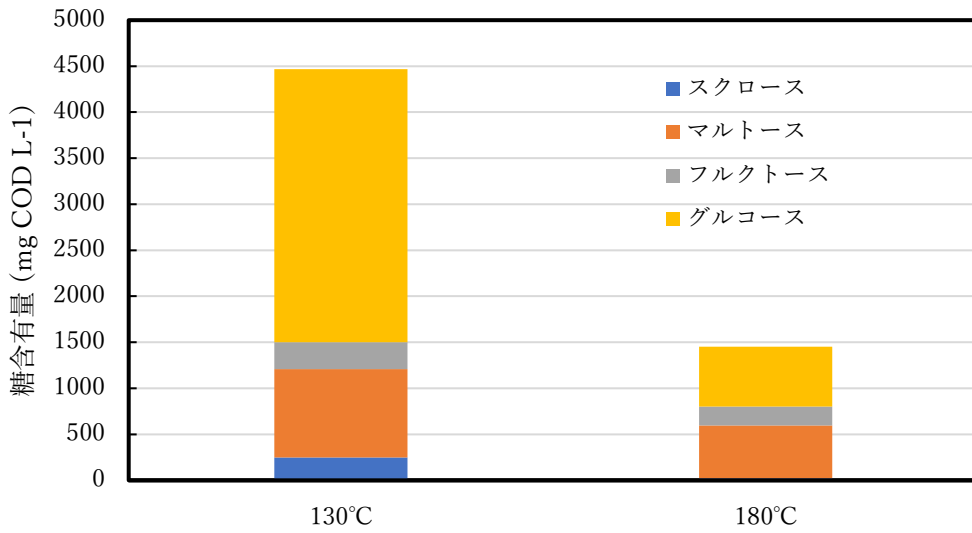


図 4-7 加圧熱水処理後の処理液に含まれる糖含有量

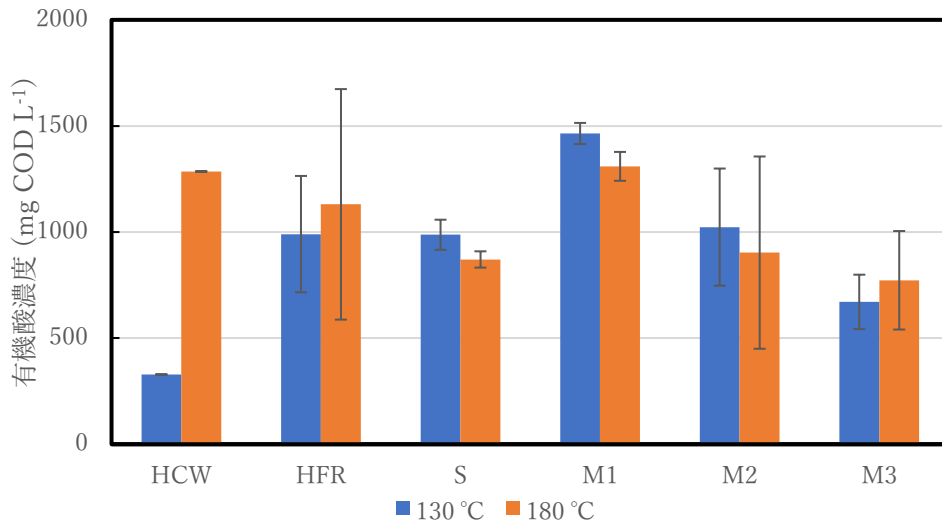
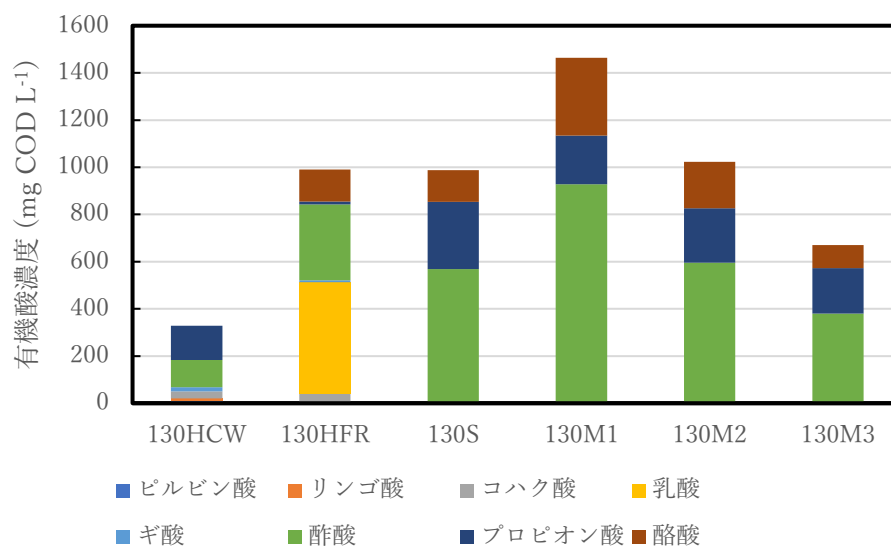
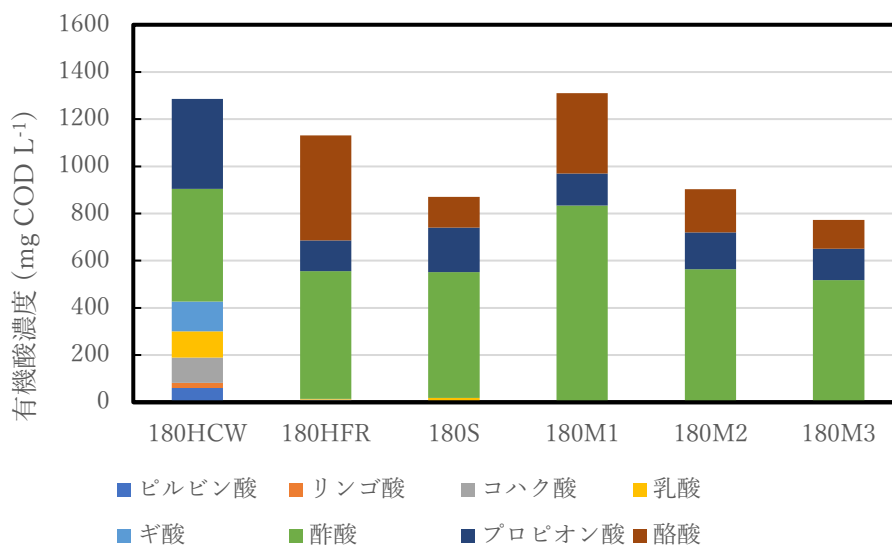


図 4-8 加圧熱水処理原料、水素発酵廃液及び各リアクタ排出液の有機酸濃度



(a)



(b)

図 4-9 各 MFC リアクタ排出液の有機酸濃度と成分. (a)HCW130°C、(b)HCW180°C

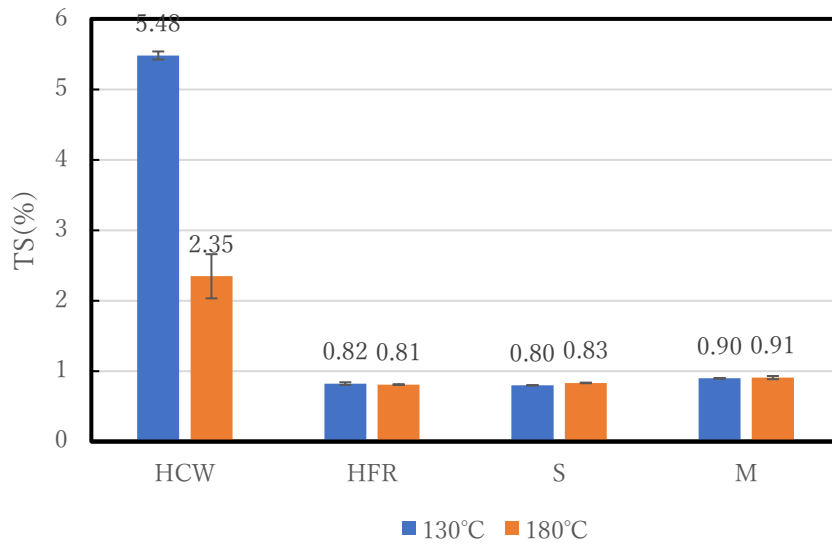


図 4-10 加圧熱水処理原料、水素発酵廃液及び MFC 排出液の固形分濃度(TS)

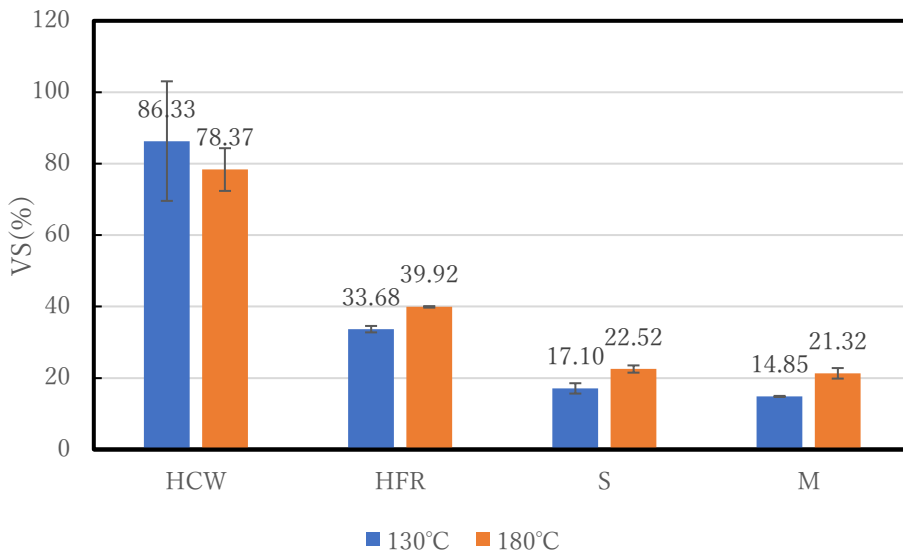


図 4-11 加圧熱水処理原料、水素発酵廃液及び MFC 排出液の有機物濃度(VS)

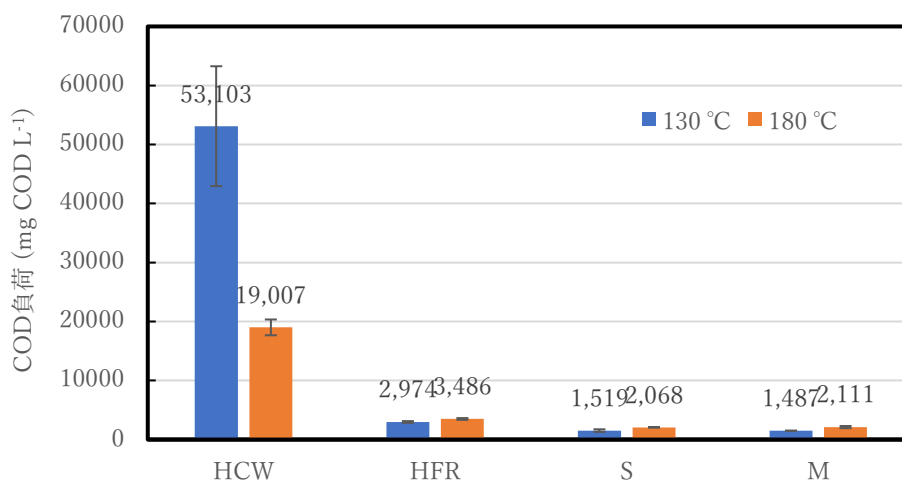


図 4-12 加圧熱水処理原料、水素発酵廃液及び MFC 排出液の COD 負荷

#### 4.3.3.3 考察

発電量については基本的に単槽式の方が多槽式よりも高かったという結果になったが、基質の分解については 130°C、180°C どちらの条件でも単槽式より多槽式の方が COD 除去率は高かった。廃液処理の高速化を優先する場合には多槽式にするメリットがあるといえる。また、小型 MFC を使った実験ではほぼ同じ発電量、クーロン効率を記録したことから、MFC リアクタの改良によって最終的に単槽式と同程度の出力を見込めるのではないかと考える。単槽式のリアクタでは一度の溶液交換で 33 mL しか抜き差ししないのに対し、多槽式では 100 mL と溶液の 1/3 量を一度に交換するので、どうしてもアノード電極が液面から出てしまいそれがストレスとなっていた可能性がある。

180°Cの実験においては 180 °Cで基質を加圧熱水処理した後水素発酵に供し、その残渣を MFC に供したが、水素発酵後のほうが加圧熱水処理後よりも有機酸濃度が減少していること(図 4-9)、また 180°Cで加圧熱水処理したあとの処理液に含まれる固形分濃度も 130°Cに比べてかなり小さいことから、180°Cの条件においては水素発酵なしで加圧熱水処理、多槽式 MFC の組み合わせでも十分 COD 除去できると考えられる。



#### 4.3.4 まとめ

小型(容量 27 mL)と大型(アノード容積 300 mL)の MFC を用いて単槽式と多槽式での運転を比較した。第 3 章で得られた知見をもとに MFC の馴養を行い、加圧熱水前処理をした酒粕を使った水素発酵の残渣を基質として MFC を連続運転した。

小型 MFC の場合は加圧熱水処理条件を 130 °C15 分とし、MFC は HRT36 時間で連続運転して単槽式と 3 槽式で比較した。結果、HRT36 時間での総発電量及びクーロン効率は単槽式でそれぞれ 0.289 Wh L<sup>-1</sup>、36.2%で、多槽式では 0.304 Wh L<sup>-1</sup>、35.7%となり、両者に差はほとんどなかった。一方で基質の分解について、HRT36 時間での残存有機酸濃度(多槽式の場合 Multi3 に残存していた有機酸濃度)は単槽式で 149.9 mg-COD L<sup>-1</sup>、多槽式で 145.6 mg-COD L<sup>-1</sup>となっておりこちらもほとんど変わらなかった。ただし、含まれる有機酸の種類が単槽式では酪酸と酢酸、多槽式ではプロピオン酸と酢酸、と違いがあった。また、2, 3 槽目の有機酸消費速度は多槽式の方が単槽式より早かった。

大型 MFC の場合、加圧熱水処理の条件を 130 °C15 分と 180 °C2 時間の 2 条件用意し、それぞれ水素発酵を行い MFC に供した。結果、多槽式は平均すると積算電力量が 130 °Cでも 180 °Cでも単槽式よりも低い値となり、130 °Cで 0.057 Wh L<sup>-1</sup>、180 °Cで 0.045 Wh L<sup>-1</sup>となった。単槽式では 130 °Cで 0.061 Wh L<sup>-1</sup>、180 °Cで 0.071 Wh L<sup>-1</sup>であった。加圧熱水処理の温度条件にかかわらず多槽式で MFC を運転すると単槽式に比べて発電量は少し劣り、その差は 180 °Cの方が 130 °Cよりも大きいということが分かった。基質の分解については 130 °Cの場合 Single が 987.2 mg-COD L<sup>-1</sup>、Multi3 が 670.7 mg-COD L<sup>-1</sup>と 316.5 mg-COD L<sup>-1</sup> Multi3の方が低く抑えられた。180 °Cでも同様に Single が 870.8 mg-COD L<sup>-1</sup>、Multi3 が 772.6 mg-COD L<sup>-1</sup>と Multi3の方が低かった。このことから、MFC を多槽式にすることで、単槽式で運転するよりも速やかに有機酸を分解することが分かった。

## 第5章 総括

### 5.1 本論文のまとめ

第1章では、本研究の背景と研究の目的について述べた。農業や食品製造業から排出される湿潤系バイオマスを原料とする発酵処理によって、水素やメタン、あるいはバイオエタノールなどのバイオエネルギーが生産されているが、その発酵プロセスでは多様な有機酸を含む廃液が排出されている。本研究では、このような有機酸廃液を速やかに分解し、電気エネルギーを回収する手法として MFC を取りあげた。多様な有機酸に対応するためには、MFC リアクタを多槽式にして、各槽の馴養条件や運転条件を有機酸の成分に合わせたものに変えることで、特定の有機酸の分解速度を速くし、有機酸をより効率的に分解し、併せて高効率な電気生産ができるのではないかと考えた。

第2章では MFC の馴養条件として基質の添加方法を変えたときの発電量や基質分解特性について調べた。徐々に基質濃度を上げて培養する方法(条件 A)と添加基質濃度を一定とする方法(条件 B)で比較を行った。基質分解速度は条件 A と条件 B でほとんど変わらなかったが、同濃度の基質を投入した際の発電量とクーロン効率は条件 B の方が条件 A に比べて、それぞれ  $4 \text{ J m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ 、10%高かった。初期のアノード電極に形成されるバイオフィームは馴養条件によって変化し、発電特性に影響を及ぼすことが分かった。

第3章では MFC の運転条件として電極素材、外部抵抗、リアクタ温度について様々な条件を振って運転し、それぞれが基質の分解所要時間や基質分解速度と発電量の変化に及ぼす影響を比較した。電極素材のカーボクロスとカーボンフェルトについては、基質として用いたプロピオン酸と比較対象である酢酸の両方ともカーボクロスの方がカーボンフェルトよりも分解速度が速く、最大電力も高かった。外部抵抗を小さくすると基質の分解速度は速くなるものの、大きい外部抵抗を負荷とするときよりも発電が不安定になり、最大電力も低かった。リアクタ温度  $30^\circ\text{C}$  と  $37^\circ\text{C}$  の条件を比較すると、温度  $30^\circ\text{C}$  のときは酢酸に比べてプロピオン酸の分解に長い時間かかった。リアクタ温度を  $37^\circ\text{C}$  に設定すると酢酸の

分解が遅くなるのに対してプロピオン酸の分解速度が速くなった。リアクタ温度を 37 °C にすると 30 °C のときと比較して微生物群集の構成は大きく変わり、プロピオン酸を基質とするリアクタでは *δ-proteobacteria* 網の *desulfobulbus elongatus* が優占種であった。

第 4 章では第 2 章と第 3 章で得た知見をもとに多槽式 MFC を構成して馴養し、加圧熱水処理した酒粕を原料とする水素発酵の有機酸廃液を基質として運転し、多槽式 MFC の基質分解特性や発電特性について調べ、単槽式 MFC と比較した。小型 MFC で運転した場合、HRT36 時間での基質分解率は単槽式と多槽式で同等であったが、MFC の排出液に残存する有機酸の成分が異なっていた。また、多槽式の 2 槽目と 3 槽目の有機酸分解速度は単槽式よりも速かった。発電特性は単槽式と多槽式でほぼ同じであった。大型 MFC でも同様の実験を行った。加圧熱水条件 HCW130°C と HCW180°C で処理した原料を水素発酵し、その残渣の有機酸廃液を基質として大型 MFC に供試した。加圧熱水処理の HCW 条件にかかわらず多槽式で MFC を運転すると単槽式に比べて発電量は少し劣り、その差は HCW180°C の方が HCW130°C よりも大きいことが分かった。また、多槽式の方が単槽式に比べて残存する有機酸濃度が低く抑えられたため、MFC を多槽式に構成することで、単槽式で運転するよりも速やかに有機酸を分解できることが分かった。発電量を重視する場合は単槽式の方が優れており、有機酸の分解速度を重視する場合は多槽式が良いという結論が得られた。

多槽式 MFC で速やかな有機酸分解が実証されたものの、リアクタからの排出液には有機酸が残存していて、全てを分解・消費することはできなかった。これは、水素発酵残渣の有機酸廃液に含まれる固形分が MFC で追加的に分解されて、生じているものと考えられた。このような固形分への対応や発電効率の向上策など、実用化に向けた MFC 利用の課題が明らかとなった。

## 5.2 今後の研究の展望

今後の研究では、多槽式 MFC で運転した場合に単槽式 MFC よりも発電量が低くなった原因について調べる必要がある。リアクタの構造やアノード電極を変えることで発

電量が上がる可能性がある。また、原料については、高温で加圧熱水処理した原料を水素発酵せずに、直接 MFC に投入するような処理法についても、その発電特性や基質分解特性について調べる必要がある。水素発酵を経なくても済むのであれば、湿潤系バイオマス処理では大幅なコストカットが実現する。さらに、多槽式 MFC で連続運転したときの基質分解特性や発電特性の変化についても確認が求められる。初期の馴養条件や運転条件が、どの程度の期間維持されて、基質の分解速度や発電量に影響を及ぼすのか、長期間にわたる実証が必要である。

## 引用文献

- Aguilar, Abilio, Carlos Casas, and Juan M Lema. 1995. "Degradation of Volatile Fatty Acids by Differently Enriched Methanogenic Cultures: Kinetics and Inhibition." *Water Research* 29(2): 505–9.
- Aiyer, Kartik S. 2020. "How Does Electron Transfer Occur in Microbial Fuel Cells?" *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 36(2): 1–9.
- Asensio, Y. et al. 2017. "Selection of Cheap Electrodes for Two-Compartment Microbial Fuel Cells." *Journal of Electroanalytical Chemistry* 785: 235–40.
- Ban, Qiaoying et al. 2013. "Syntrophic Propionate Degradation Response to Temperature Decrease and Microbial Community Shift in an UASB Reactor." *Journal of Microbiology and Biotechnology* 23(3): 382–89.
- Biffinger, Justin C et al. 2007. "A Biofilm Enhanced Miniature Microbial Fuel Cell Using *Shewanella Oneidensis* DSP10 and Oxygen Reduction Cathodes." *U.S. Navy Research. 14. Biosensors and Bioelectronics* 22: 1672–79.
- Cheng, Shaoan, Hong Liu, and Bruce E. Logan. 2006. "Increased Performance of Single-Chamber Microbial Fuel Cells Using an Improved Cathode Structure." *Electrochemistry Communications* 8(3): 489–94.
- Choiron, Miftahul, Seishu Tojo, and Tadashi Chosa. 2020. "Biohydrogen Production Improvement Using Hot Compressed Water Pretreatment on Sake Brewery Waste." *International Journal of Hydrogen Energy* 45(35): 17220–32.
- Feng, Yujie, Qiao Yang, Xin Wang, and Bruce E. Logan. 2010. "Treatment of Carbon Fiber Brush Anodes for Improving Power Generation in Air-Cathode Microbial Fuel Cells." *Journal of Power Sources* 195(7): 1841–44.
- Freguia, Stefano et al. 2010. "Microbial Fuel Cells Operating on Mixed Fatty Acids." *Bioresource Technology* 101: 1233–38..

- Garrett, Trevor Roger, Manmohan Bhakoo, and Zhibing Zhang. 2008. "Bacterial Adhesion and Biofilms on Surfaces." *Progress in Natural Science* 18(9): 1049–56.
- He, Shaomei et al. 2019. "Extracellular Electron Transfer May Be an Overlooked Contribution to Pelagic Respiration in Humic-Rich Freshwater Lakes." *Applied and Environmental Science* 4(1): e00436-18.
- Heydorn, Raymond Leopold, Christina Engel, Rainer Krull, and Katrin Dohnt. 2020. "Strategies for the Targeted Improvement of Anodic Electron Transfer in Microbial Fuel Cells." *ChemBioEng Reviews* 7(1): 4–17.
- Holmes, Dawn E., Daniel R. Bond, and Derek R. Lovley. 2004. "Electron Transfer by *Desulfobulbus Propionicus* to Fe(III) and Graphite Electrodes." *Applied and Environmental Microbiology* 70(2): 1234–37.
- Katuri, Krishna P. et al. 2011. "Microbial Fuel Cells Meet with External Resistance." *Bioresource Technology* 102(3): 2758–66.
- Kubota, Keiichi, Takashi Yamaguchi, and Kazuaki Syutsuobo. 2012. "Evaluations of Short-Chain Fatty Acid Degradation and Electricity Generation in Single-Chamber Microbial Fuel Cell Keiichi." *土木学会論文集G(環境)* 68(7): 379–86.
- Kuribayashi, Mayu et al. 2017. "Developing a New Technology for the Two Phase Methane Fermentation Sludge Recirculation Process." *CHEMICAL ENGINEERING TRANSACTIONS* 58: 475–80.
- Larrosa-Guerrero, A et al. 2010. "Effect of Temperature on the Performance of Microbial Fuel Cells." *Fuel* 89: 3985–94.
- Ledezma, Pablo, John Greenman, and Ioannis Ieropoulos. 2013. "MFC-Cascade Stacks Maximise COD Reduction and Avoid Voltage Reversal under Adverse Conditions." *Bioresource Technology* 134: 158–65.
- Li, Jianzheng, Qiaoying Ban, Liguang Zhang, and Ajay Kumar Jha. 2012. "Syntrophic Propionate

- Degradation in Anaerobic Digestion: A Review.” *International Journal of Agriculture and Biology* 14(5): 843–50.
- Liu, Hong, Shaoan Cheng, and Bruce E Logan. 2005. “Production of Electricity from Acetate or Butyrate Using a Single-Chamber Microbial Fuel Cell.” *Environmental Science and Technology* 39: 658–62.
- Logan, Bruce E. et al. 2006. “Microbial Fuel Cells: Methodology and Technology.” *Environmental Science and Technology* 40(17): 5181–92.
- Oh, SangEun, and Bruce E Logan. 2005. “Hydrogen and Electricity Production from a Food Processing wastewater Using Fermentation and Microbial fuel Cell Technologies.” *Water Research* 39: 4673–82.
- Oliveira, V. B., M. Simões, L. F. Melo, and A. M.F.R. Pinto. 2013. “Overview on the Developments of Microbial Fuel Cells.” *Biochemical Engineering Journal* 73: 53–64.
- Pachapur, Vinayak Laxman et al. 2019. “Seed Pretreatment for Increased Hydrogen Production Using Mixed-Culture Systems with Advantages over Pure-Culture Systems.” *Energies* 12(3): 1–26.
- Pandit, Soumya, G. Balachandar, and Debabrata Das. 2014. “Improved Energy Recovery from Dark Fermented Cane Molasses Using Microbial Fuel Cells.” *Frontiers of Chemical Science and Engineering* 8(1): 43–54.
- Pant, Deepak, Gilbert Van Bogaert, Ludo Diels, and Karolien Vanbroekhoven. 2010. “A Review of the Substrates Used in Microbial Fuel Cells (MFCs) for Sustainable Energy Production.” *Bioresource Technology* 101: 1533–43.
- Park, Youngyun et al. 2017. “Response of Microbial Community Structure to Pre-Acclimation Strategies in Microbial Fuel Cells for Domestic Wastewater Treatment.” *Bioresource Technology* 233: 176–83.
- Penteado, Eduardo D et al. 2017. “Influence of Carbon Electrode Material on Energy Recovery from

- Winery Wastewater Using a Dual Chamber Microbial Fuel Cell.” *Environmental Technology* 38(11): 1333–41.
- Perveen, Ruma et al. 2017. “Electrocatalytic Performance of Chemically Synthesized PIn-Au-SGO Composite toward Mediated Biofuel Cell Anode.” *Scientific Reports* 7(1): 1–10.
- Perveen et al. 2018. “Optimization of MnO<sub>2</sub>-Graphene/Polythioaniline (MnO<sub>2</sub>-G/PTA) Hybrid Nanocomposite for the Application of Biofuel Cell Bioanode.” *International Journal of Hydrogen Energy* 43(32): 15144–54.
- Rao Hari, Ananda et al. 2016. “Multiple Paths of Electron Flow to Current in Microbial Electrolysis Cells Fed with Low and High Concentrations of Propionate.” *Applied microbial and bioechnology* 100: 5999–6011.
- Reardon, Patrick. N, and Karl. T Mueller. 2013. “Structure of the Type IVa Major Pilin from the Electrically Conductive Bacterial Nanowires of *Geobacter Sulfurreducens*.” *the Journal of Biological Chemistry* 288(41): 29260–66.
- Ren, Lijiao et al. 2014. “Electrochemical Study of Multi-Electrode Microbial Fuel Cells under Fed-Batch and Continuous Flow Conditions.” *Journal of Power Sources* 257: 454–60.
- Rismani-Yazdi, Hamid et al. 2011. “Effect of External Resistance on Bacterial Diversity and Metabolism in Cellulose-Fed Microbial Fuel Cells.” *Bioresource Technology* 102(1): 278–83.
- Rodrigues, Isabel Cristina Braga, and Versiane A. Leão. 2020. “Producing Electrical Energy in Microbial Fuel Cells Based on Sulphate Reduction: A Review.” *Environmental Science and Pollution Research* 27(29): 36075–84.
- Ruslan, Abdul Rasyid, and Vel Murugan Vadivelu. 2019. “Nitrite Pre-Treatment of Dewatered Sludge for Microbial Fuel Cell Application.” *Journal of environmental science* 77: 148–55.
- Santoro, Carlo, Catia Arbizzani, Benjamin Erable, and Ioannis Ieropoulos. 2017. “Microbial Fuel Cells: From Fundamentals to Applications. A Review.” *Journal of Power Sources* 356: 225–44.



- Saratale, Ganesh Dattatraya et al. 2017. "A Comprehensive Overview on Electro-Active Biofilms, Role of Exo-Electrogens and Their Microbial Niches in Microbial Fuel Cells (MFCs)." *Chemosphere* 178: 534–47.
- Solowski, Gawel, Konkol Izabela, and Adam Cenian. 2020. "Production of Hydrogen and Methane from Lignocellulose Waste by Fermentation. A Review of Chemical Pretreatment for Enhancing the Efficiency of the Digestion Process." *Journal of Cleaner Production* 267: 121721.
- Song, Tian-Shun, • Xia-Yuan Wu, and Charles C Zhou. 2014. "Effect of Different Acclimation Methods on the Performance of Microbial Fuel Cells Using Phenol as Substrate." *Bioprocess and Biosystems Engineering* 37: 133–38.
- Song, Zhao-Xia et al. 2012. "Effects of Pretreatment Method of Natural Bacteria Source on Microbial Community and Bio-Hydrogen Production by Dark Fermentation." *International Journal of Hydrogen Energy* 37: 5631–36.
- Wang, Qunhui, Masaaki Kuninobu, Hiroaki I. Ogawa, and Yasuhiko Kato. 1999. "Degradation of Volatile Fatty Acids in Highly Efficient Anaerobic Digestion." *Biomass and Bioenergy* 16(6): 407–16.
- Wang, Zhi Wu, and Yebo Li. 2014. "A Theoretical Derivation of the Contois Equation for Kinetic Modeling of the Microbial Degradation of Insoluble Substrates." *Biochemical Engineering Journal* 82: 134–38.
- Wenzel, J., L. Fuentes, A. Cabezas, and C. Etchebehere. 2017. "Microbial Fuel Cell Coupled to Biohydrogen Reactor: A Feasible Technology to Increase Energy Yield from Cheese Whey." *Bioprocess and Biosystems Engineering* 40(6): 807–19.
- Xiao, Xiang, and Han Qing Yu. 2020. "Molecular Mechanisms of Microbial Transmembrane Electron Transfer of Electrochemically Active Bacteria." *Current Opinion in Chemical Biology* 59: 104–10.

- Yamada, Noriyuki, Tsuyoshi Sakaki, and Masao Shibata. 2004. "Waste Paper Decomposition and Production of Organic Acids by Using Hot Compressed Water." *Journal of the Japan Institute of Energy* 83: 493–99.
- Yu, Jaecheul, Younghyun Park, Byunggoon Kim, and Taeho Lee. 2015. "Power Densities and Microbial Communities of Brewery Wastewater-Fed Microbial Fuel Cells According to the Initial Substrates." *Bioprocess and Biosystems Engineering* 38: 85–92.
- Zhao, Jing et al. 2018. "Impact of Temperature and Substrate Concentration on Degradation Rates of Acetate, Propionate and Hydrogen and Their Links to Microbial Community Structure." *Bioresource Technology* 256(December 2017): 44–52.
- Zhao, Xiaohua et al. 2020. "Cauliflower-like Polypyrrole@MnO<sub>2</sub> Modified Carbon Cloth as a Capacitive Anode for High-Performance Microbial Fuel Cells." *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 95(1): 163–72.
- Zhuang, Li, and Shungui Zhou. 2009. "Substrate Cross-Conduction Effect on the Performance of Serially Connected Microbial Fuel Cell Stack." *Electrochemistry Communications* 11(5): 937–40.
- 張祖恩, 野池達也, and 松本順一郎. 1983. "嫌気性消化のメタン生成相における混合基質の利用特性." 土木学会論文報告集 335: 79–87.
- 折橋健. 2017. "加圧熱水処理による北海道産木質バイオマスの分解挙動." 林産試験場報 545: 8–18.
- 李玉友. 2005. "バイオマス利活用(その3)-メタン発酵技術-." 農業土木学会誌 78(8): 739–44.
- 李玉友, 原田秀樹, and 堆洋平. 2008. "嫌気性水素発酵による有機性排水からの水素生産に関する研究の動向." 日本水処理生物学会誌 44(2): 57–75.
- 田中学, and 川上浩良. 2020. "水素エネルギー社会の実現に貢献する化学." 化学と教育 68(9): 384–87.
- 資源エネルギー庁. 2020. "国内外の再生可能エネルギーの現状と今年度の調達価格等算定

委員会の論点案 2020年9月 資源エネルギー庁 資料1.”

重松亨, 湯岳琴, and 木田建次. 2009. “メタン発酵プロセスに関与する微生物群集.” 生物工学会誌 87(12): 570–96.

野池達也. 2009. メタン発酵. 技術堂出版.

## 謝辞

本研究を進めるにあたり、多くの方々にご指導ご鞭撻を賜りました。

主指導教員である 東京農工大学大学院農学研究院 東城清秀教授には懇切丁寧なご指導とご助言並びに励ましをいただき感謝の念に堪えません。誠にありがとうございました。

また、副指導教員の東京農工大学大学院農学研究院 帖佐直准教授、宇都宮大学農学部 池口厚男教授には本研究を進めるにあたり貴重なご指導、ご助言をいただきましたこと、深くお礼申し上げます。

さらに、東京農工大学大学院農学研究院 酒井憲司教授ならびに茨城大学農学部 小松崎将一教授には学位論文審査委員を引き受けていただき心から感謝の意を表します。

そして、東京農工大学工学部附属ものづくり創造工学センター 木下淳先生にはリアクタの設計から加工まで丁寧なご指導をいただき大変感謝しております。

最後に、ご協力、ご助言ならびに励ましをいただきましたエネルギー利用学研究室及び生産環境制御学研究室の皆様にお礼申し上げます。