

特別寄稿 2

# 水素生成菌を用いた微生物燃料電池 水素生産と電気エネルギーの両立の可能性

独立行政法人 産業技術総合研究所  
バイオマス研究センター 主任研究員 やぎした たつお  
柳下 立夫



## 1. はじめに

地球温暖化対策の一つとして、バイオマスの利用が注目されている。その中でも、国内外を問わずバイオマスからの液体燃料製造が積極的に推進されている。

液体燃料としては、ガソリン代替のエタノールとディーゼル代替のバイオディーゼル燃料がある。我々のグループでは、バイオディーゼル燃料製造時に副生されるグリセリンの生物学的処理に関する研究をこれまで行ってきた。バイオディーゼル燃料は、一般に植物油や動物油等を原料とし、アルカリ触媒を用いてエステル化反応を行わせて製造される。

海外では、バージンオイルを用いたバイオディーゼル燃料が製造されているが、日本では主に廃食用油を原料としている。そのため、副生した廃グリセロール溶液は産業廃棄物として焼却処理されている。また、世界的にもバイオディーゼル燃料の生産が活発になり、グリセリンの市場価格も急落して、供給過多になりつつある。

我々はこれまで、生物電気化学的手法を用いて、微生物代謝反応を制御する研究を行って来た。そして、広島大学と横浜国立大学と共同で、グリセロールを分解し、高収率で水素およびエタノールに変換する水素生産菌 *Enterobacter aerogenes* NBRC12010 を用いた生物電気化学的処理技術の共同研究を行った。本技術では、図1のような生物電気化学リアクター（微生物燃料電池）内において、グリセロールの分解によって発生した還元力が電子伝達剤によって生体外に取り出され、電極にて電流に変換される。これまでの研究で、生物電気化学条件下ではグリセロールの分解の促進ならびに水素および電気エネルギーの生産が確認された。<sup>1), 2)</sup>

ところで、水素も電流も菌体内で生じた還元力（エネルギー）から生成されるものであり、それゆえ水素と電流の発生は競合反応にあると考えられる。これまでの研究結果では、電流の発生が水素生産に比べて量論的に低いということもあるが、電流発生に伴う水素収率の低下は認められなかった。むしろ反対に増加する傾向にあった。そこで、水素と電流発生との関係を調べるために、グルコースやグリセロールを基質として用いた場合における水素収率や発生電流への反応条件の影響や、それぞれの条件下における菌体内の酵素活性がどのように変化するかを検討した。

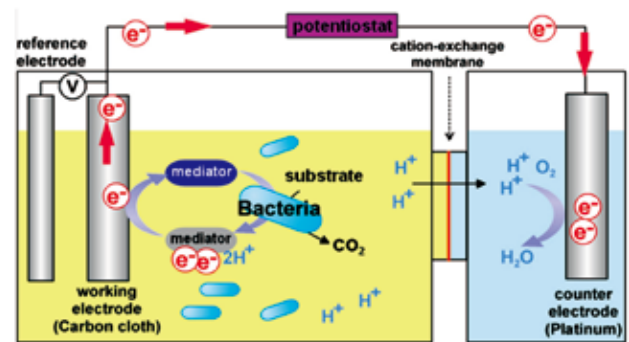


図1 生物電気化学リアクター（微生物燃料電池）の模式図

## 2. 微生物燃料電池

本研究で用いている微生物燃料電池は、図1の模式図に示されているように、微生物懸濁溶液に電子伝達剤（mediator）を添加し、この電子伝達剤が細胞内に入り、細胞内の還元力（例えば NADH 等）を引き抜いて還元体となり、細胞外に出て電極で再酸化されることを繰り返す。電子伝達剤としては種々のものが報告されている。<sup>3)</sup> 本研究では代表的なメディエータである Thionin や 2,6-ジクロロフェノールインドフェノール (DCPIP) を用いた。近年では、電子伝達剤を用いないで、電極と直接電子授受を行う微生物を用いた微生物燃料電池の研究が活発であるが、*Geobacter* や *Shewanella* 等の特異な微生物のみが電気化学反応に寄与しているため、本研究では他の微生物にも電気化学制御を行える電子伝達型の微生物燃料電池を用いている。

## 3. グルコースを基質とした *E. aerogenes* 燃料電池

実験に用いたリアクターは図2の通りである。容量 500 ml（溶液量としては 300 ml）を持った 2 槽式のリアクターで、実験ではポテンショスタットを使って細胞懸濁液中の炭素繊維電極に電位を印加している。他方の槽はリン酸緩衝液のみで、カウンター電極として白金メッシュ電極を用いている。*E. aerogenes* は一晩培養後、4%になるようにリアクターに植菌した。

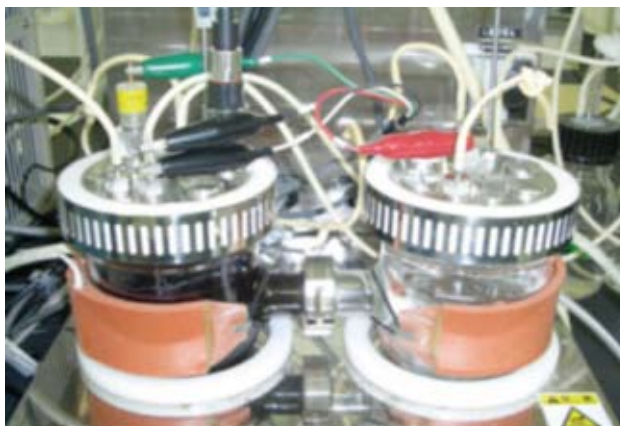


図2 リアクターの写真

1%グルコースを添加したときの、通常水素発酵と電気化学条件下 (1 mMDCPIP を含む) における10時間後の反応生成物量を表1に示す。表から分かるように、反応生成物種には変化がないが、生成量に違いが見られる。水素や二酸化炭素が増え、乳酸や2,3-ブタンジオールが減少している。得られた電流として流れた電子の量は、他の生成物濃度に比べればかなり低いが、乳酸や2,3-ブタンジオール生成に必要な還元力が水素生成に使われていることが分かる。このように、電気化学条件で水素発酵を行わせると水素発生量の増大が可能であることが分かった。さらに、電子伝達剤をDCPIP からより電極反応のよいThioninに変えた場合、電流量が5倍に増大しても水素発生量の増大が認められた。

表1 グルコースを基質としたときの水素発酵と電気化学条件下の比較

水素発酵		Products/mM				
Glucose/mM		H <sub>2</sub>	CO <sub>2</sub>	Lactate	1,3-Propanediol	2,3-Butanediol
Initial	Consumed	29.4	65.6	2.6	0.6	44.2
47.8	48.0					

電気化学条件		Products/mM					
Glucose/mM		H <sub>2</sub>	CO <sub>2</sub>	Lactate	1,3-Propanediol	2,3-Butanediol	Electron
Initial	Consumed	33.2	77.5	1.6	0.6	42.7	0.4
46.4	46.6						

4. グリセロールを基質とした *E. aerogenes* 燃料電池

BDF の生産増大に伴い、副生物のグリセロールの処理が重要な課題になっているが、一般に微生物にとってグリセロールはあまり好ましくない基質である。今回用いている *E. aerogenes* は、グリセロールを基質として水素発酵を行わせた場合、優先的に水素とエタノールを生産することで知られているが、この水素生産には培地の影響が大きい。

図3に示すように、*E. aerogenes* NBRC12010 に用いられる培地成分のうちポリペプトンまたは酵素抽出液を除くと、グリセロールの分解が大きく抑制された。一方、酵素抽出液を除いた培地を用いた電気化学条件では、通常水素発酵に比べればグリセロール消費速度は低いものの、グリセロールのほとんどを消費した。(図4) また、完全に培地成分を除いたリン酸緩衝液中でもグリセロールを消費することができた。

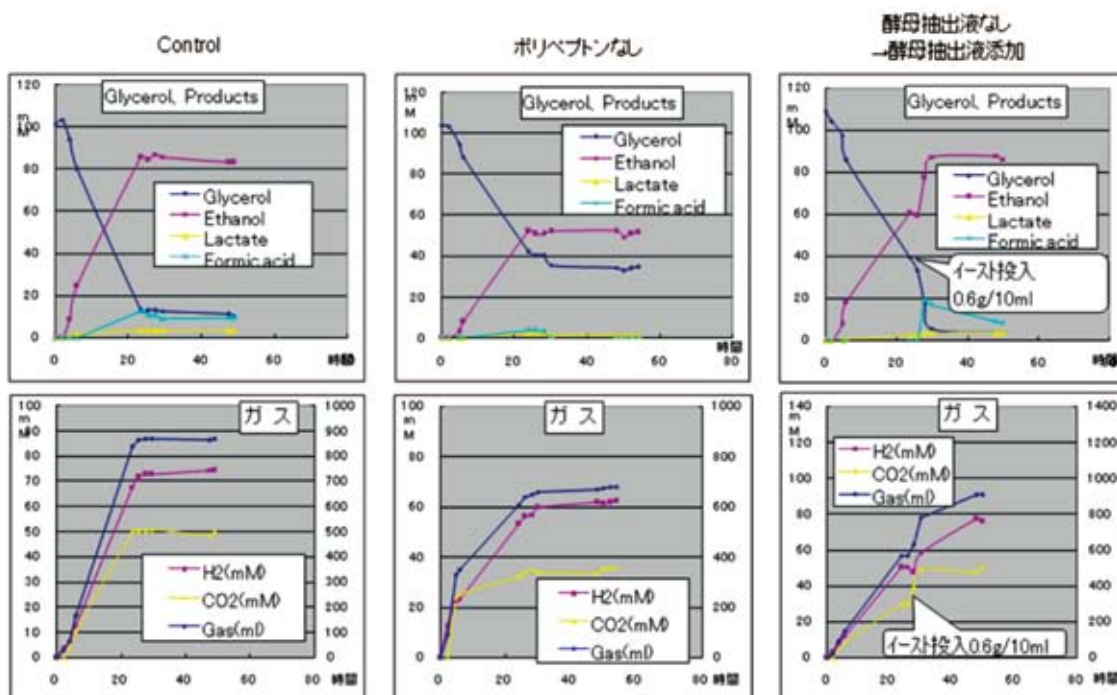


図3 種々の培養条件におけるグリセロールの消費と水素生産

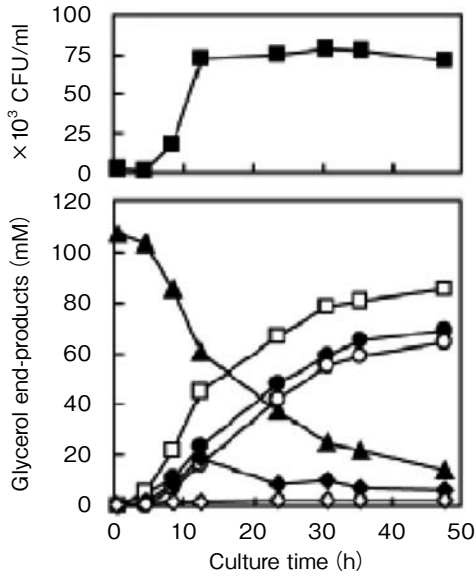


図4 グリセロールを基質とした生物電気化学反応における細胞増殖ならびにグリセロールの分解と生成物の挙動

■: 細胞量, ▲: グリセロール, □: エタノール, ●: 水素  
 ■: CO<sub>2</sub>, ◆: ギ酸, ◇: 乳酸

5. 種々の条件下における酵素活性の検討

これまで述べて来たように、*E. aerogenes* を電気化学条件下におくと、通常水素発酵とは異なる挙動を示した。そこで、*E. aerogenes* の酵素活性が電気条件下におくとどのように変化するかを検討した。今回検討した酵素活性は、図5中の太矢印で示した11の反応における活性である。4つはグリセロールの分解に係る酵素反応、そして7つは呼吸に係る反応である。図6に主要な6つの酵素反応における活性の変化を示した。いずれも好気培養、嫌気培養、そして4×8cm<sup>2</sup>と4×2cm<sup>2</sup>の電極を用いた生物電気化学リアクターの4条件での結果である。

図6に示したいずれの酵素活性も、生物電気化学リアクターでの活性が嫌気培養での活性よりも高かった。生物電気化学リアクターは嫌気条件で働かせているが、電子伝達剤が酸素の代わりとなる働きをし、呼吸に係るTCAサイクルが回ったと考えられる。TCAサイクルは還元力(NADH: ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド)を生産するので、この還元力から電流、そして水素が生じたと考えられる。

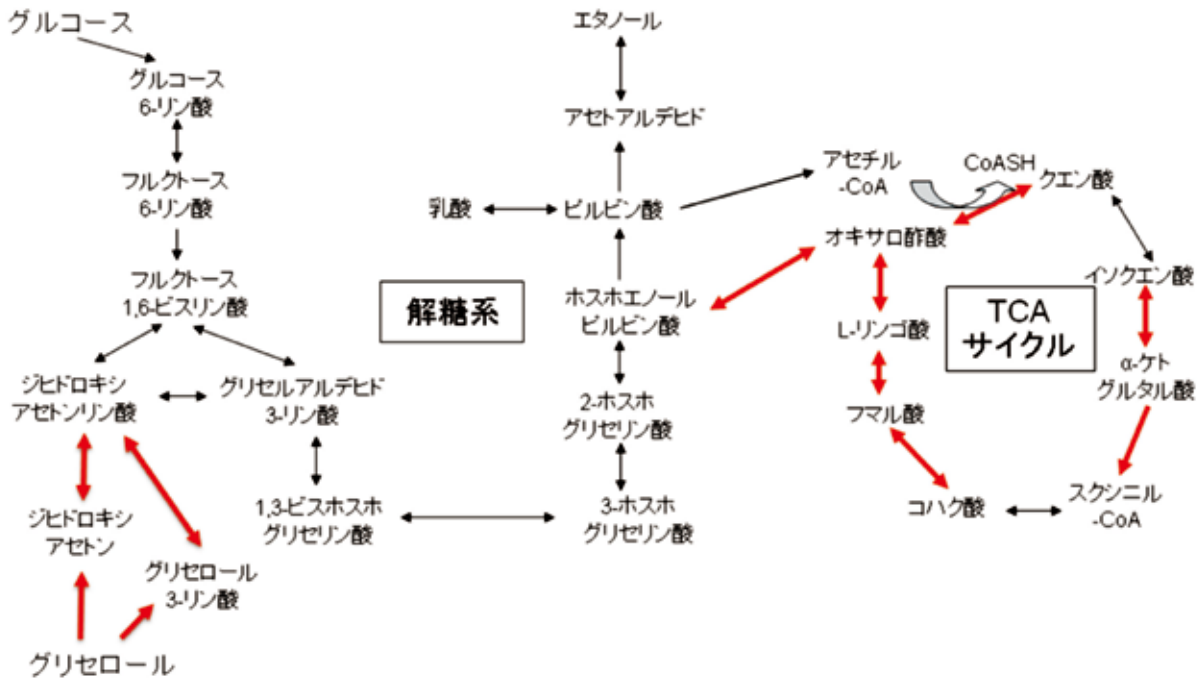


図5 酵素活性を測定した反応

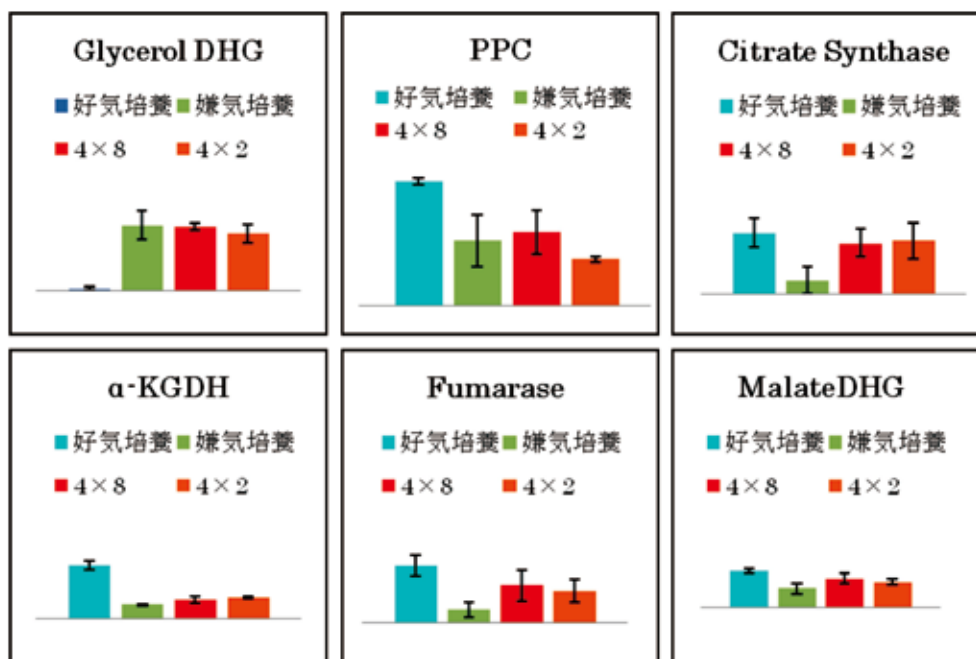


図6 種々の条件における酵素活性の挙動  
好気培養、嫌気培養、電気化学的条件下 (電極面積:  $4 \times 8 \text{ cm}^2$ 、 $4 \times 2 \text{ cm}^2$ )

## 6. まとめ

水素生産菌 *E. aerogenes* を用いた微生物燃料電池の検討を行った。*E. aerogenes* を電気化学条件下におくと、以下のような挙動を示した。

- 1) グルコースを基質とした場合、乳酸や2,3-ブタンジオールの生成が抑制され、水素と二酸化炭素の発生量が増加した。メディアータを DCPIP からより電流を取り出すことができる Thionin に変えても、水素発生量は増大した。
- 2) グリセロールを基質とした場合、通常水素発酵では培養液の影響が大きいのが、電気化学条件下では主要な培養液成分を除いた貧栄養条件下でもグリセロールの消費と水素、エタノールが生産された。
- 3) *E. aerogenes* の酵素活性を調べたところ、電気化学条件下では嫌気条件 (発酵) と好気条件 (呼吸) の間の活性を示しており、呼吸の反応に関与する酵素の活性が上がることから、メディアータが酸素の代わりの役割を持って呼吸反応に関与する反応を進めたと考えられる。

以上のように、微生物を電気化学条件下におくことにより、微生物の反応を変化させることができる。今後は水素生産のみでなく、いろいろな微生物反応に対する電気化学的制御の検討を行う予定である。

この特別寄稿は、「公益信託 ENEOS 水素基金」の 2008 年度の研究助成対象となられた先生方に助成研究の成果について寄稿をお願いし、快諾いただいたものです。

(ENEOS Technical Review 編集事務局)

### — 参考文献 —

- 1) S.Sakai, T.Yagishita, Biotech. Bioeng., 98, 340(2007) .
- 2) K.Hatayama, T.Yagishita, Appl. Microbiol. Biotechnol., 83, 749 (2009) .
- 3) 柳下立夫, 環境管理, 35, (1999) .