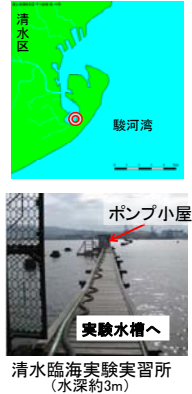


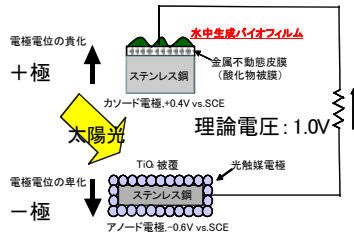
海洋微生物燃料電池の出力に関与するバイオフィーム中微生物の遺伝子解析

○宮田将史*, 元田慎一**, 今田千秋*, 小林武志*, 野田悠太郎***

*:東京海洋大学大学院 海洋科学技術研究科, **:東京海洋大学 海洋工学部, ***:独立行政法人 航海訓練所



バイオフィームカソードとTiO₂アノードにより構築した海洋微生物燃料電池の概念図



この電池は海水中でバイオフィームを付着させることにより電位を+0.4V vs. SCEに貴化したカソード電極と、二酸化チタンを溶剤により被覆し、光触媒効果で電位を-0.6V vs. SCEに卑化したアノード電極を組み合わせて理論電圧1.0Vを得ることが目的である。

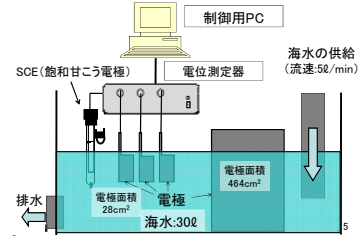
今回は電池の出力改善のためカソード電極に付着するバイオフィームの微生物相を調べ、電位上昇に寄与する微生物の同定を試みた。

電極基材の化学組成

	C	Mn	P	S	Si	Cr	Ni	Mo	Cu	N
SUS316鋼	0.049	1.50	0.027	0.0090	0.45	17.10	12.00	2.10	-	-
22Cr-24Ni-6Mo鋼	0.180	0.85	0.024	0.0003	0.51	20.32	23.83	6.18	0.37	0.21

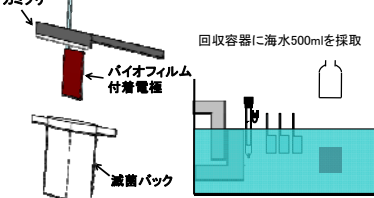
(質量%)

実験水槽および電極電位計測装置の概要



60Lの亚克力水槽で容量30Lの水位を維持し、常時50/60ml/minで海水を供給、排水することで内部を過性環境にしている。試験片は水中に浸漬し、継続的にSCEに対する電極の電位を計測し、電位が0.3V vs. SCE以上になった時点で電極を引き上げ、微生物サンプルを採取。

微生物サンプルの採取

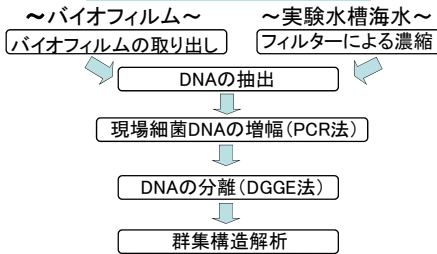


電極に付着したバイオフィームは70%アルコールで滅菌した刃刀で滅菌バックに掻き取った。また、同日の海水を実験水槽から容器に採取した。

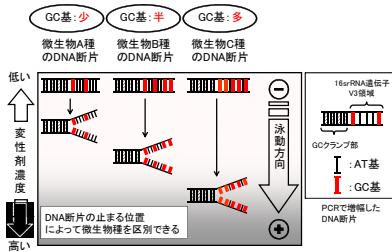


電極浸漬の様子

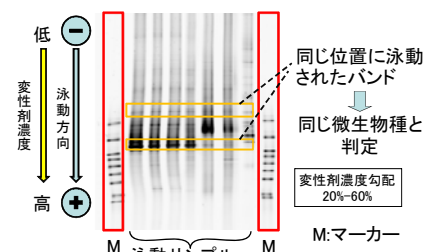
微生物相の群集構造解析



DGGEの原理(1)



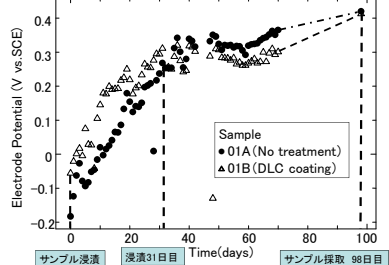
DGGEの原理(2)



実験番号	バイオフィームサンプル	電極形状	表面状態	電位 (V vs. SCE)	海水サンプル	浸漬期間
実験1	01A	球型	#400研削	0.420	S01	98日間
	01B	球型	DLC被覆	0.413		
実験2	02A	球型	#40研削	0.339	S02	10日間
	02B	球型	アルミナ被覆/ハフ研削	0.329		
実験3	03A	球型	#40研削	0.304	S03A	32日間
	03B	球型	アルミナ被覆/ハフ研削	0.322		
	03C	平板型	未処理	0.333		
	03D	球型	#40研削	0.333	S03B	83日間
	03E	球型	アルミナ被覆/ハフ研削	0.404		
	03F	平板型	未処理	計測せず		
03G	球型	未処理	計測せず			

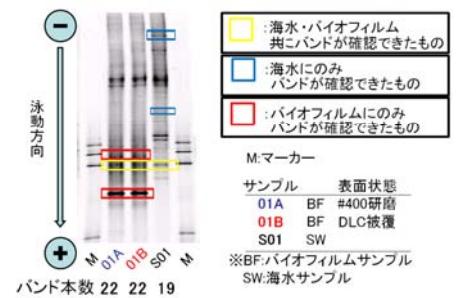
実験番号はサンプルの浸漬を開始した日で区別した。バイオフィームサンプルの数字は実験番号に対応している。英字は各実験のサンプルの記号です。電極形状は浸漬面積28cm²の球型試験片と464cm²の平板型試験片を表す。表面状態は実験1ではDLC(ダイヤモンドライクカーボン)の有無、実験2以降では電極表面の研磨状態を表す。電位はサンプル採取時の電位である。実験では電極電位が0.304-0.420V vs. SCEの範囲でサンプルを採取し、海水サンプルはバイオフィームサンプルと区別するための頭文字にSを付け、実験番号の数字と実験3については採取時点を区別するため英字を最後に付けた。実験日は電極の浸漬開始日、微生物サンプルの採取日および電極の浸漬期間を表す。

実験1におけるステンレス鋼電極の自然電位の経時変化



サンプルは4/18に浸漬し、98日目の7/25に採取した。電位を見ると浸漬初期から浸漬31日目までDLC被覆をした電極は表面研磨のみの電極と比較して電位の高い状態が続いたが、到達電位には見られなかった。これはDLC皮膜による電位上昇の効果が顕著でなくなるためと考えられている。

実験1で採取したサンプルのDGGE泳動像

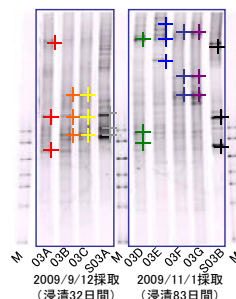


バイオフィルムと海水は異なる微生物相を持つが一部共通するバンドがあることがわかった。

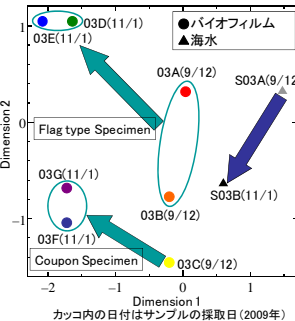
MDSによる微生物の群集構造解析

MDS (Multidimensional scaling) は多次元尺度構成法を言い、ここでは2次元尺度によって試料間のDNAによる微生物相の違いを平面上に表して解析する。解析はDGGE泳動像の各試料に現れるDNAバンドの位置および数の情報を基に行う。

実験3のMDS解析に用いたサンプルのDGGE泳動像



異なった浸漬期間のMDS解析結果



DGGEバンドから同定したバイオフィームおよび海水中の微生物

実験番号	採取日	Class	Order	Family	
実験1	2009.7.25	BF	Batiproteobacteria	Barkholderiales	Comamonadaceae
		BF	Alphaproteobacteria	Rhodospirillales	(不明)
		SW	Batiproteobacteria	Barkholderiales	Comamonadaceae
	2009.8.4	BF	Batiproteobacteria	Rhodospirillales	Comamonadaceae
		BF	Alphaproteobacteria	Rhodospirillales	(不明)
		SW	Batiproteobacteria	Barkholderiales	Comamonadaceae
実験3	2009.8.12	BF	Batiproteobacteria	Barkholderiales	Comamonadaceae
		BF	Alphaproteobacteria	Rhodospirillales	(不明)
		SW	Flavobacteria	(不明)	(不明)
	2009.11.1	BF	Batiproteobacteria	Barkholderiales	Comamonadaceae
		BF	Delaproteobacteria	Bacillales	(不明)
		SW	Bacillariophyceae	Bacillariophyciales	Catenulaceae

*BF:バイオフィーム, SW:海水

同定された微生物の特徴

- Comamonadaceae科**
 - グラム陰性好気性桿菌および球菌
 - 紅色細菌を含む
 - PHBV分解性脱窒菌を含む
 - 硝酸還元・脱窒脱窒菌
 - 浄化槽汚泥より分離されたことがある。
- Rhodobacteraceae科**
 - グラム陰性菌
 - 紅色細菌、好気性光合成細菌を含む
 - 同じ実験海域においてバイオフィーム中で同定された細菌*。
- Catenulaceae科**
 - 珪藻の科の一つ

結論

- 実海水中に浸漬したステンレス鋼電極において、DLC皮膜は浸漬初期の電位上昇を高めるが、到達電位には影響がなかった。また、研磨状態やDLC皮膜の有無によるバイオフィームの微生物相の違いは見られなかった。
- DGGEの泳動パターン解析によりバイオフィームと海水中の微生物の群集組成を調べた結果、時季による相変化は両者で異なることがわかった。
- DGGEにより得られたDNAバンドの塩基配列を調べた結果、バイオフィームと海水からComamonadaceae科およびRhodobacteraceae科の微生物が共通して同定された。また、一部は属まで同定された微生物もあった。