HOKKAIDO UNIVERSITY

| | |
|---|---|
| Title | Study on the extracellular electron transfer mechanism of exoelectrogens in microbial fuel cells [an abstract of dissertation and summary of dissertation review] |
| Author(s) | 木村, 善一郎 |
| Degree Grantor | 北海道大学 |
| Degree Name | 博士(工学) |
| Dissertation Number | 甲第11056号 |
| Issue Date | 2013-06-28 |
| Doc URL | https://hdl.handle.net/2115/53223 |
| Rights(URL) | https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/ |
| Type | doctoral thesis |
| File Information | Zen-ichiro_Kimura_review.pdf, 「審査の要旨」 |

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称　博士 (工学)　氏名　木村　善一郎

審査担当者　主　査　教　授　岡部 聡
副　査　教　授　高橋 正宏
副　査　准教授　木村 克輝

学位論文題名

Study on the extracellular electron transfer mechanism of exoelectrogens in microbial fuel cells
(微生物燃料電池における電気生産細菌の細胞外電子伝達機構に関する研究)

近年、低炭素社会形成のために多様な分野において技術開発が行われている。廃水処理分野においても、処理プロセスの高効率化、省エネルギー化が重要課題となっている。廃水を都市の持続利用可能な貴重なエネルギー資源と位置付け、廃水および汚泥からの効率的なエネルギー回収技術の開発が望まれている。このような背景のもと、微生物燃料電池 (Microbial Fuel Cell; MFC) が注目を集めている。微生物燃料電池は、微生物を触媒として利用し、有機物の持つ化学エネルギーを電気エネルギーに直接変換する装置である。従って、廃水を処理しながら同時にクリーンなエネルギーである電気を回収できる。微生物燃料電池による廃水からの電気エネルギー回収効率は、従来の嫌気的廃水処理プロセス (メタン発酵) に比べ、理論的に高いことが知られている。しかしながら、現在のところ微生物燃料電池 の発電能力は、実用化レベルには至っていない。この理由として、負電極での微生物の基質代謝や電子伝達メカニズム、正極での電子受容体 (酸素) の還元反応、および正極へのプロトンの輸送・供給メカニズムに関する情報が不足しているうえ、プロトン交換膜および負極や正極材料などの開発・最適化が十分に行われていないことがあげられる。

微生物燃料電池の廃水処理への適応を考えた場合、負極槽内における基質の分解に伴う電子伝達メカニズムおよびそれに関与する微生物群集構造の把握は重要である。微生物燃料電池内に存在する微生物は通常の微生物とは異なり、細胞外に電子を運搬し固体の電子受容体 (負電極) に電子を授与する能力を持つ。微生物燃料電池の最適化にはこの電子伝達機構の制御が不可欠であるが、電子伝達様式は電気生産細菌種ごとに様々な種類が存在し、十分な理解が得られていない。本論文では、微生物燃料電池陰極槽内の微生物群集構造の解析を行い、電気生産に関わる細菌種の同定、さらには、それらの細菌種が電子伝達に用いる物質 (メディエーター) を特定することを目的としている。これらの目的を達成するために、各種分子生物学的手法 (Stabele-Isotope-Probing 法、変性剤濃度勾配ゲル電気泳動法;DGGE 法)、化学的バイオマーカー法 (キノンプロファイル)、電気化学的手法 (ポテンショスタット培養、サイクリックボルタメトリー 解析) 等を用い、得られた結果を統合し議論している。

本論文は、7 章から構成されており、各章の概要は以下の通りである。

第 1 章では、本研究の背景、目的と構成について述べている。

第 2 章では、微生物燃料電池の電力生産能力、微生物の電子伝達機構、電気生産に及ぼす因子などに関する観点から、既往の研究をまとめている。

第 3 章では、酢酸をエネルギー源とする微生物燃料電池を構築し、電子伝達に関わる微生物の同

定と、その電子伝達メカニズムの解明に取り組んでいる。DNA-SIP-DGGE 及びキノンプロファイル解析を実施し、酢酸分解に関わる微生物群集の同定を試みた結果、酢酸酸化細菌である Geobacter と水素酸化細菌である Hydrogenophaga が負極バイオフィルム内の優占種であることを明らかにしている。酢酸をエネルギー源とする微生物燃料電池内における Geobacter の存在および電気生産性に関してはこれまでに多くの報告があるが、Hydrogenophaga 属細菌の存在、およびその生理生態学的機能に関する情報は皆無である。そこで、本章においては、Hydrogenophaga 属の分離を試み成功している。さらに、分離株 (AR20 株) が水素資化性電気生産であることを明らかにしている。また Geobacter 属細菌と Hydrogenophaga 属細菌のみから構成される共培養微生物燃料電池 を構築することで、共培養系においてそれぞれの純粋培養系と比較し高い電流を生産すること、そして共培養系においてのみ Hydrogenophaga 属細菌の菌数が増加することを確認した。これらの実験結果に基づき Hydrogenophaga 属細菌が微生物燃料電池 内で Geobacter 属細菌と水素を介した栄養共生関係にあることを示している。

第 4 章では、3 章において分離に成功した水素資化性電気生産細菌 Hydrogenophaga sp. AR20 株に対し、遺伝学的、形態学的分類試験を実施し、種レベルで新規な細菌種であることを明らかにしている。電気生産能を有することを意味する種小名 “ electricum ” を考案し、Hydrogenophaga “ electricum ” AR20 株と命名し、新種提唱を行っている。

第 5 章では、細胞外キノンの検出法を考案して、微生物燃料電池内に存在するユビキノン (UQ)-10 が細胞外に特異的に存在することを明らかにしている。また本章では、外部から添加した酸化型 UQ-10 が微生物燃料電池を構成する微生物群集によって生物学的に還元されること、また、還元型 UQ-10 が四酸化三鉄 (マグネタイト) あるいは炭素電極によって無生物的に酸化されることを見出している。これらの結果は、UQ-10 が電子運搬体 (メディエーター) である可能性を示唆するものである。さらに本章では、UQ-10 およびマグネタイトを最終電子受容体とする条件で集積培養系を構築し、微生物群集構造を解析した。その結果、UQ-10 及びマグネタイト存在下において Hydrogenophaga 属、Geobacter 属、Acinetobacter 属及び Pseudomonas 属の集積が確認された。これら 4 属の分離株について UQ-10 還元能試験した結果、いずれも還元能を有していることを確認した。最後に Hydrogenophaga “ electricum ” AR20 株の純粋培養系を構築し UQ-10 を添加すると、電力生産が大幅に向上することを確認した。UQ-10 添加時にのみ電力増大が認められ、UQ-8、UQ-9 添加では確認されなかった。このことは、UQ-10 が Geobacter 属、Hydrogenophaga 属をはじめとする電気生産細菌群集に利用される新規の電子運搬体であると結論づけている。

第 6 章では、5 章において分離に成功した電気生産細菌 Raoultella sp. 1GB 株に対し、遺伝学的、形態学的分類試験を実施している。この分離株は極微量ながら UQ-10 を細胞外に産出することを確認した。また、DNA-DNA 交雑形成試験を中心に詳細な試験を実施した結果、種レベルで新規な細菌種であることを明らかにし、Raoultella “ electricum ” AR20 株と命名し、新種提唱を行っている。

第 7 章は、総括であり、微生物燃料電池陰極槽内における電子運搬体が、水素及び UQ-10 であることを示している。これらの研究成果は、廃水から付加価値の高い電気エネルギーを直接回収可能な微生物燃料電池の高効率化につながる極めて重要な知見であり、水環境工学および環境微生物工学の発展に貢献するところ大なるものがある。よって著者は、北海道大学博士 (工学) の学位を授与される資格あるものと認める。