

研究論文

海産性藍藻を用いた光合成微生物電池の発電試験

PHOTOBIOELECTROCHEMICAL FUEL CELLS CONTAINING MARINE ALGAE

柳下立夫*
Tatsuo YAGISHITA*

堀米孝**
Takashi HORIGOME**

田中和子***
Kazuko TANAKA***

小川晃男***
Teruo OGAWA***

Abstract

In this paper, we demonstrate a possibility to convert solar energy to the electricity by using photosynthetic microorganisms in a bioelectrochemical fuel cell containing marine algae, *Synechococcus* sp. (UTEX2380) and an electron transfer mediator, 2-hydroxy-1,4-naphthoquinone (HNQ). The current outputs of the fuel cells increased with the illumination of light, and higher current outputs were observed in the presence of CO₂ than that of N₂ atmosphere. A sharp current rise was observed in each time when the fuel cell was illuminated intermittently. We have tried to optimize the operating conditions of the fuel cells in a present scale by varying the concentrations of algae and HNQ, and have found a fuel cell containing ca. 50mg (in dry weight, ca. 5 × 10⁻⁷ mol chlorophyll) of algae and 0.25mM HNQ has the highest coulombic output and the longest life.

Key Words : bioelectrochemical fuel cells, Photosynthetic microorganisms, Marine algae, Mediator

1. はじめに

最近、大気中の炭酸ガス增加による環境の悪化が世界的な社会問題となっており、その主原因である化石燃料以外のエネルギー源の開発が急がれている。その一つとして注目されているのが太陽エネルギーであるが、植物や微生物による光合成は、この太陽エネルギーを精巧な過程を経て化学エネルギーに変換している。光合成のメカニズムは現在次第に解明されてきてはいるが⁽¹⁾、まだ未知のところが多い。しかし、太陽エネルギーのより有効な利用を考えていくうえで、光合成は一つの理想的な形であろう。微生物の生体内で起こっているグリコーゲンの分解などの反応から電子伝達体(mediator)によって電子を奪い、電気エネルギーに変換する電池(微生物電池)はこれまで研究されてきたが⁽²⁾⁻⁽⁴⁾、我々はこの微生物電池に光合成能を持つ微生物を用いれば、太陽エネルギーを電気エネルギーに変換できるのではないかと考えて、光合成微生物として藍藻を用いた新しい電池(光合成微生物電池)を開発している^{(5), (6)}。

我々は、これまでに光合成微生物として海産性藍藻、*Synechococcus* sp. (UTEX2380)とmediatorとしてthionine, 2-hydroxy-1,4-naphthoquinone(HNQ)，そして1-methoxy-5-methylphenazinium methyl-sulfateを組み合わせた電池について発電試験を行な

ったところ、*Synechococcus*とHNQを組み合わせた電池が、他のmediatorと組み合わせた電池より安定した高い出力を得る事ができることを見いだした⁽⁷⁾。そこで本論文では、*Synechococcus*とHNQを用いた電池について種々の発電試験を行ない、その結果から電池の性能について検討したので報告する。

2. 実験

2. 1 電池の構成

実験には光合成微生物として海産性藍藻、*Synechococcus* sp. (UTEX2380)とmediatorとしてHNQを用いた。HNQの構造と酸化還元電位を図1に示す。

* 会員 東京農工大学工学部 大学院生

Faculty of Engineering, Tokyo University
of Agriculture and Technology, Graduate
Student

** 会員 東京農工大学工学部 教授

Faculty of Engineering, Tokyo University
of Agriculture and Technology, Professor

*** 理化学研究所

The Institute of Physical and Chemical
Research

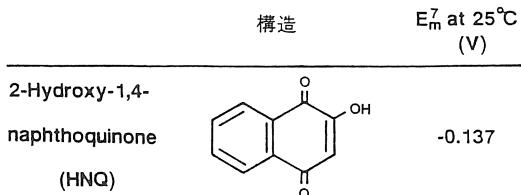


図1 HNQの構造と酸化還元電位

		アノード	カソード	
炭素織維電極		藍藻 (50mg dry wt.)	フェリシアン化カリウム (0.1M)	炭素織維電極
		HNQ (0.25mM)		
		NaCl (0.5M)	NaCl (0.5M)	
		リン酸緩衝液 (pH 8, 0.05M, 40ml)	リン酸緩衝液 (10ml)	
		カチオン交換膜		

図2 電池の溶液組成

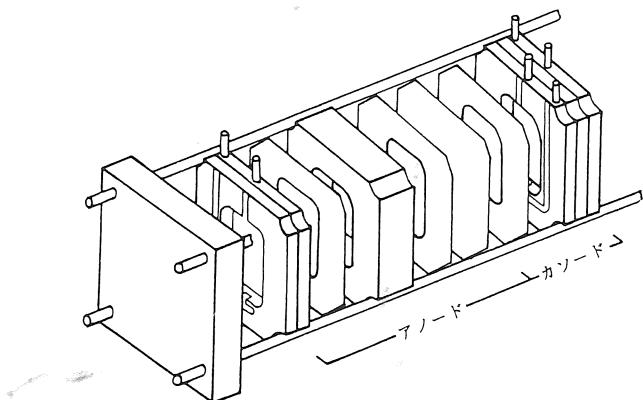


図3 電池の構造

藍藻を ASN-III 培地 (pH8)⁽⁸⁾ 中で蛍光ランプによって連続的に光を照射 ($120 \mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$) しながら一週間通気培養 (3% (v/v) CO₂, 25°C) を行なった後, 遠心 (4000rpm, 10min) によって集菌し, 0.5M の NaCl を含んだ 100ml のリン酸緩衝液 (pH8, 0.05M) に懸濁させた。

電池の溶液組成を図2に示す。特に断らない限り、電池のアノード溶液はクロロフィル一定量 (約0.5mg) の藍藻 (藍藻懸濁液の3~4ml) と0.25mMのHNQ, 0.5MのNaCl溶液を含むpH8, 0.05Mのリン酸緩衝液であり、カソード溶液は0.1Mのフェリシアン化カリウムと0.5MのNaClを含むリン酸緩衝液10mlである。

電池の構造を図3に示す。ここに示したもので1つ

のセルになる。セル室の容積は $5 \times 5 \times 2.4 \text{cm}^3$ (カソード室は 0.6cm) で、アノード室の受光面積を大きくしてある。また、セルは溶液を十分に 3%CO₂ または N₂ ガスによって攪拌できるような構造となっている。測定の条件を一定にするために 25°C の恒温槽内で電池を働かせた。

2. 2 クロロフィル定量

藍藻懸濁液から 0.5ml 取り, 10ml のメタノール (99.6%) と混合し, 遠心 (3000rpm, 10min) した後上澄みを取って島津 (株) 分光光度計 UV-210A で 666nm の吸光度を測定して決定した⁽⁹⁾。

3. 実験結果

図4 に電池内の藻の量を変えたときの電流-時間特性を示す。A, B は 3% (v/v) CO₂ を含んだ N₂ ガスを通じながらプロジェクターランプ (キャビン工業 (株) 社製 PROCABIN667) によって光を連続照射 ($140 \mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$) したときの, C, D は光遮断下で N₂ ガスを通じたときの結果である。また、A, C は電池内の藻のクロロフィル量が $5.0 \times 10^{-7} \text{ mol}$, B, D は $2.5 \times 10^{-7} \text{ mol}$ になるように藍藻を入れた。それぞれの電池は作成後 30 分間おいてから負荷 (500Ω) をかけた。(以後の実験はいずれも同様の条件下で負荷をかけた。) 光照射下では、藻のクロロフィル量が $2.5 \times 10^{-7} \text{ mol}$ より $5.0 \times 10^{-7} \text{ mol}$ の方が明らかに安定

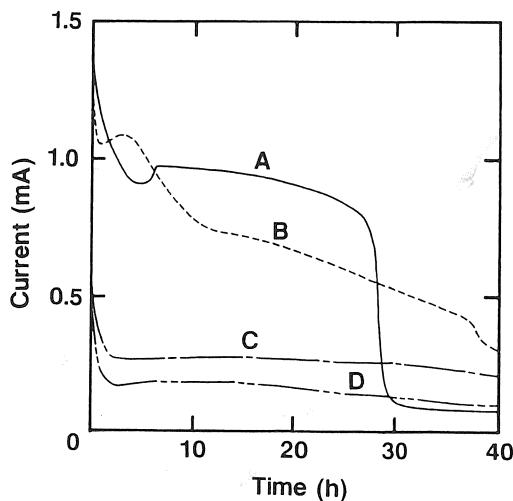


図4 電池内の藻の量を変えたときの電流-時間特性

- A: Light $0.5 \mu\text{mol Chlorophyll}/\text{電池}$
- B: Light $0.25 \mu\text{mol Chlorophyll}/\text{電池}$
- C: Dark $0.5 \mu\text{mol Chlorophyll}/\text{電池}$
- D: Dark $0.25 \mu\text{mol Chlorophyll}/\text{電池}$

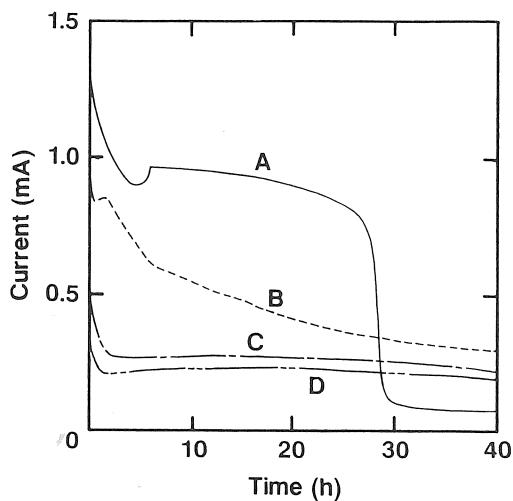


図5 電池内のmediatorの濃度を変えたときの電流一時間特性

A: Light 0.25mM, B: Light 0.125mM
C: Dark 0.25mM, D: Dark 0.125mM

した高い電流を示した。藻の量をこれ以上に増加させても定常的に流れる電流は大きくなつたが、持続時間は短縮され、40時間の間に流れた電気量はほとんど同じであった。光遮断下で電池を働かせたときは、藻の量に応じた電流が持続的に流れた。

図5にmediatorの濃度を変えたときの電流一時間特性を示す。A, BはCO₂を通じながら光を照射したときの、C, Dは光を遮断したときの結果である。また、A, Cはmediatorの濃度が0.25mM、B, Dは0.125mMのときの結果である。光を照射したときは、mediatorの濃度が0.25mMの電池では安定した高い電流を示したが、0.125mMの電池ではほとんどその半分の電流しか示さなかつた。また、mediatorの濃度を0.25mM以上にすれば、藻の量を変えたときと同様に、電流は大きくなるが持続時間は短くなり、結局40時間の間に電池で流れた電気量はほとんど同じであった。光遮断下で電池を働かせたときは、mediatorの濃度を大きくすればより高い電流が得られるが、その変化は藻の量を変えたときよりは小さかつた。

以上より、光を遮断したときはアノード溶液の藻の量、mediatorの濃度ともに大きくしたほうがよいが、光を照射したときは藻のクロロフィル量が5×10⁻⁷mol、mediatorの濃度が0.25mMの場合に、現在の実験条件下ではほぼ最適な条件のようである。そこで、以下はこの最適条件と思われる組成の電池について、その性能を検討した。

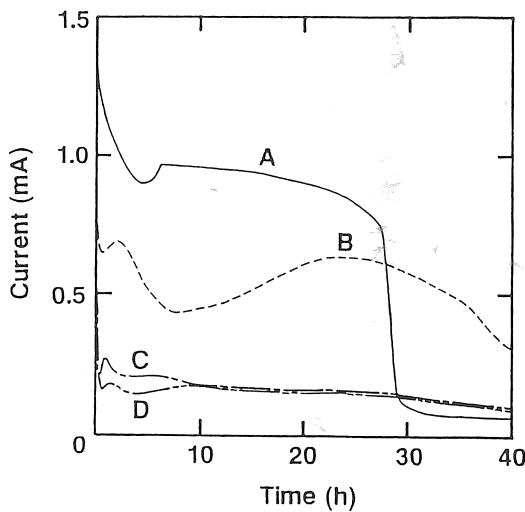


図6 さまざまな条件下で電池を働かせたときの電流一時間特性

A: Light CO₂, B: Light N₂
C: Dark N₂, D: Dark CO₂

表1 図6に示した条件で電池を働かせたときに流れた電気量

条件	電気量
A Light CO ₂	9.4 C
B Light N ₂	7.7 C
C Dark N ₂	2.5 C
D Dark CO ₂	2.3 C

表2 40時間電池を働かせた後の藍藻の酸素発生速度

	酸素発生速度 (μmol O ₂ (mg Chl) ⁻¹ h ⁻¹)
Light CO ₂	4.3 (8) *
Light N ₂	4.3 (2.2)
Dark N ₂	4.3 (2.6)

*: 括弧内の数字は電池を働かせた後の値

図6に様々な条件下で電池を働かせたときの電圧一時間特性を示す。A, Bは光を連続照射したときの、C, Dは光を遮断したときの結果である。また、A, DはCO₂ガスを通じたもの、B, CはN₂ガスのみを通じたものである。どの条件下でも負荷をかけると一時電圧は減少する。光照射下でCO₂ガスを含んだN₂ガスを通じた電池ではおよそ30時間約1mAの電流が流れるが、その後急激に減少した。一方、N₂ガスのみを通じた電池ではCO₂の存在する電池に比べると電流値は幾分低く、しかも20時間後にピーク（約0.6mA）が

あるようである。光を遮断したときは CO_2 の有無に関わらず40時間以上約0.2mAの電流が流れた。それぞれの条件下で40時間電池を働かせたときに流れた電気量を表1に示してあるが、 CO_2 を通じながら光を照射した電池で流れた電気量が最大であり、光を遮断して働かせた電池で流れた電気量は光照射下の値の1/4程度であった。また、それぞれの条件の電池を40時間働かせた後回収した藍藻の酸素発生速度を表2に示した。この表から、明らかに回収後の藍藻の酸素発生速度が減少していることが分かる。これを表1の40時間に流れた電気量と比較すると、流れた電気量が大きい電池での藍藻の酸素発生速度がより減少していることになる。この生体活性の低下が約30時間で電流が急激に落ちる一因と考えられる。

図7に CO_2 を通じながら光を連続照射して負荷をそれぞれ 100Ω , 300Ω , 500Ω , 700Ω , 1000Ω と変えたときの電流一時間特性を示す。負荷が大きいと電流は高くなるが、その持続時間は短くなる。逆に負荷が小さいと電流は低くなるが、その持続時間は長くなる。

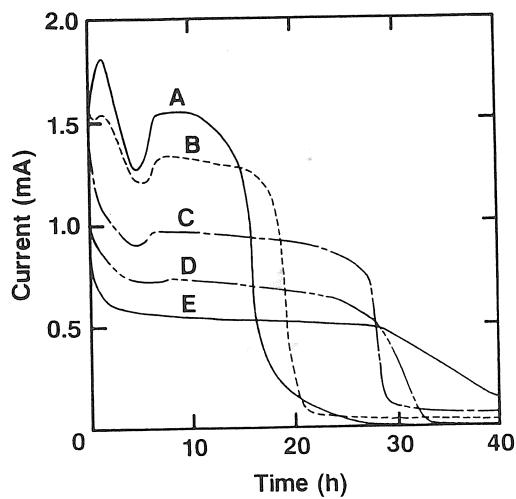


図7 負荷を変えたときの電流一時間特性

A: 100Ω , B: 300Ω , C: 500Ω
D: 700Ω , E: 1000Ω

表3 図7に示した条件で電池を働かせたときに流れた電気量

条件	電気量
A 100Ω	9.2 C
B 300Ω	9.6 C
C 500Ω	9.4 C
D 700Ω	7.7 C
E 1000Ω	6.1 C

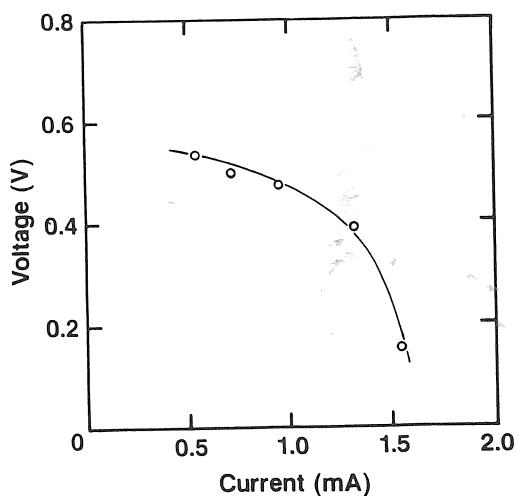


図8 図7に示した電池Aについて電流が安定して流れているとき(約10時間後)における電流一時間特性

る。40時間の間に流れた電気量を表3に示した。負荷が 100Ω , 300Ω , 500Ω の場合ではほとんど変わらなかったが、それ以下の負荷をかけたときの電気量は減少している。

図7に示した電池について、安定して電流が流れている約10時間後において測定した電圧-電流特性を図8に示す。微生物電池では、出力電流は微生物内の生体反応速度や、微生物内の電子供与体によるmediatorの還元速度によって影響を受ける。したがって、負荷が大きいときは電池内の還元型のmediatorの濃度を高く維持するのが難しくなり、電圧が低下すると考えられる⁽³⁾。負荷に応じて電池内の藻の量やmediatorの濃度を上げていけば、還元型のmediatorの濃度をより高く維持することができ、より高い電圧を維持することができるであろう(図5, 6参照)

図9に光を4時間毎に断続的に照射したときの電流一時間特性を示す。A, Bはそれぞれ光照射下で CO_2 を通じたものと N_2 のみを通じたときの、Cは光を常時遮断して電池を働かせたときの結果である。また、Dは光を連続照射した電池での結果である。 CO_2 を通じた電池、 N_2 ガスのみを通じた電池ともに光に対する応答性がはっきりと現われ、しかも光を照射したときの電流増加の立ち上がりも早く、数分後には定常値に達した。また、光を消したときの電流減少もかなり速く、以前に淡水性藍藻、*Anabaena variabilis* M-2とHNQを用いた電池を働かせたときに見られたような⁽⁶⁾、光を遮断した直後の電流の一時的な増加は見

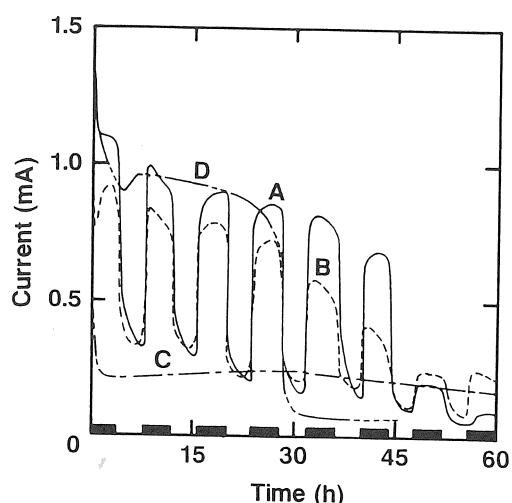


図9 光を4時間毎に断続または連続照射したときの電流一時間特性の比較
A: CO₂ (断続照射), B: N₂ (断続照射)
C: N₂ (光遮断), D: CO₂ (連続照射)
横軸上の太線は断続照射したときの光を照射した期間

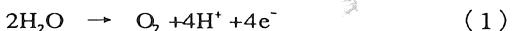
られなかった。CO₂を通じた電池では光を連続照射したときよりも断続的に照射した時に長時間高い電流が維持されたが、約45時間後には光を連続照射したときと同様に急激に落ちてしまった。また、光を消したときの電流は最初は光をいつも遮断したときの電流よりも大きかったが、徐々にそれよりも下回っていった。48時間後に光を照射した場合は、N₂ガスのみを通じた電池の電流値はCO₂を通じた電池の電流値よりも上回った。60時間の間にそれぞれの電池で流れた電気量を求めてみると、CO₂を通じた電池、N₂のみを通じた電池では、いずれも光を連続的に照射したときに流れた電気量より少し大きい値を示している。

4. 考察

海産性藍藻、*Synechococcus* sp.とmediatorとしてHNQを用いた電池の種々の条件において発電試験を行なった。

光を照射した電池は光を遮断した電池に比べて、高い電流を示した。また、光を断続的に照射すると、CO₂を通じて働かせた電池、N₂ガスのみを通じて働かせた電池ともに光に対する応答性がはっきりと現われており、光を照射したときの電流の立ち上がり、光を消したときの電流の減少もかなり速かった。このことから、光の存在下で流れた電流は藍藻による水の分解

(式(1)) より発生した電子がmediatorによって電極に運ばれた結果であると考えることができよう。



一方、光を遮断したときに得られる電流は、藍藻内に蓄えられていたグリコーゲン等の炭水化物などの代謝によって発生した電子によるものと考えられる(式(2))



光を連続照射した電池では、CO₂を通じたほうがN₂ガスのみを通じたものより安定した高い電圧を示している。これは、CO₂ (HCO₃⁻) が光合成の電子伝達系の電子伝達速度を調節する役割を持っており⁽¹⁰⁾、そのためCO₂を通じた電池は安定した高い電圧を示したと思われる。

光を連続照射した電池より断続照射した電池の方が、長時間高い電流が維持された。このように、流れる電気量自体は同じであるが、藍藻を酷使して電池を働かせばより短時間で寿命がきてしまうけれども、間に休息の時間をすれば寿命は延びる。よって、電池を働かせている途中に藍藻とmediatorを分離した形で培養できれば、より長時間電池を働かせることができるであろう。

参考文献

- (1) 例えば、西村光雄、光合成 (1987)，岩波書店，東京。
- (2) H. P. Bennetto, Microbial fuel cells, Life Chemistry Reports, 2(1984), 363-453, Academic Press, New York, N. Y..
- (3) H. P. Bennetto, J. L. Stirling, K. Tanaka and C. A. Vega, Anodic reactions in microbial fuel cells, Biotech. Bioenerg., 25(1983), 559-568.
- (4) G. M. Delaney, H. P. Bennetto, J. R. Mason, S. D. Roller, J. L. Stirling and C. F. Thurston, Electron-transfer coupling in microbial fuel cells. 2. Performance of fuel cells containing selected microorganism -mediator-substrate combination, J. Chem. Technol. Biotechnol., 34(1984), 191-197.
- (5) K. Tanaka, R. Tamamushi and T. Ogawa, Bioelectrochemical fuel-cells operated by the cyanobacterium, *Anabaena variabilis*, J. Chem. Technol. Biotech., 35B(1985), 191-197.

- (6) K. Tanaka, N. Kashiwagi and T. Ogawa,
Effect of light on the electrical output of
bioelectrochemical fuel-cells containing
Anabaena variabilis M-2: Mechanism of the
post-illumination burst, *J. Chem. Tech.*
Biotechnol., 42(1988), 235-240.
- (7) 柳下立夫・堀米孝・田中和子・小川晃男, 光合成
微生物電池の発電試験, 日本太陽エネルギー学会・
日本風力エネルギー協会合同研究発表会講演論文
集(1988-12), 173-176.
- (8) R. Rippka, J. Deruelles, J. B. Waterbury,
M. Herdman and R. Y. Stanier, Generic
assignments, strain histories and properties
of pure cultures of Cyanobacteria, *J. Gen.*
Microbial., 111(1979), 1-61.
- (9) T. Ogawa and K. Shibata, A sensitive
method for determining chlorophyll b in
plant extracts, *Photochem. Photobiol.*,
4(1965), 193-200.
- (10) C. R. Ireland, N. R. Baker and S. P.
Long, Evidence for a physiological role of
CO₂ in the regulation of photosynthetic
electron transport in intact leaves,
Biochim. Biophys. Acta, 893(1987),
434-443. (平成2年1月12日 原稿受理)

関連行事案内

第12回風力エネルギー利用シンポジウム

平成2年11月15日(木)、16日(金)
会場 科学技術館 (東京都千代田区)
主催 日本風力エネルギー協会
日本科学技術振興財団
後援 科学技術庁、日本太陽エネルギー学会、他
参加費 会員 20,000円(後援団体会員を含む)
一般 25,000円 学生 5,000円

テーマ(及び講師)

1. 風車開発の現況(松宮 輝・機械技術研究所)
2. 風車騒音の測定(二井義則・機械技術研究所)
3. カリフォルニア・ウインドファームにおけるプ
ロジェクトプランニング(石館睦男・㈱トーメン)

4. 東北電力における風力利用と運転状況(土屋敬一・東北電力㈱電力技術研究所)
5. 地球環境問題と風力エネルギー(根本順吉・気象研究家)
6. わが国におけるウインドアトラスについて(長井 浩・佐野女子短期大学)
7. 風の遊び・ウインドビジネス(清水幸丸・三重大学)
8. アメリカズ・カップのヨットについて(増山豊・金沢工業大学)
9. アマチュアの風車開発と利用(松本文雄)
10. 一般研究発表

参加申込み及び問合せ先

風力エネルギー利用シンポジウム事務局
〒102 東京都千代田区北の丸公園2-1
日本科学技術振興財団内
電話 03-212-8471