

## 第5章 E.82005 菌株を利用した微生物電池

近年、省エネルギー技術の開発が、新エネルギー技術の開発と共に、官民挙げて推進されている。通産省工業技術院の「ムーンライト計画」は、そのような目的に沿って昭和53年度に発足した推進計画である<sup>1)</sup>。この計画には、燃料電池の持つ高いエネルギー変換効率に注目して、「燃料電池発電技術」の開発が含まれている<sup>2)</sup>。

従来から行われている火力発電は、燃料の化学エネルギーを熱エネルギーに変え、これを機械エネルギーに変えて、さらに電気エネルギーに変えるという多くの変換過程を経て燃料から電力を取り出している。熱エネルギーを機械エネルギーに変える変換効率はカルノー効率で制限されるので、火力発電の発電機端熱効率は、最新の高温ガスタービン発電(タービン入口ガス温度1,100℃)でも高々32%程度にしかならない<sup>3)</sup>。それに比べ、燃料電池は燃料の持つ化学エネルギーを直接電気エネルギーに変換することができるので、理想熱効率は

$$\epsilon_T = \Delta G / \Delta H$$

で与えられる効率になり、水素-酸素燃料電池では82.9%(25℃)~92.2%(127℃)という非常に高い効率が理論的には可能である(表5.1-1)<sup>4)</sup>。実際には電流出力を取り出すと分極が生じるので、発電端熱効率は40~50%を設計効率としている[文献2表3.2-1]。ただし、電力と熱を同時に供給するオンサイト発電方式なら、実用発電でも80%以上の総合効率を得ることが期待できる。実際、発電効率40%、総合効率84%で1万時間以上の運転結果が200kW級リン酸型燃料電池ですでに達成されている<sup>5)</sup>。

表 5.1-1 水素-酸素燃料電池の各温度に置ける理想熱効率<sup>4)</sup>

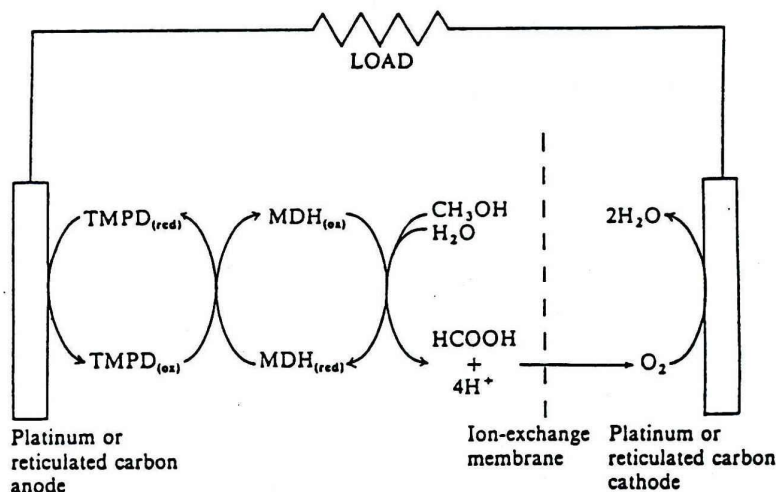
電池反応	温度 °C	$\Delta G^0$ (kJ/モル)	$\Delta H^0$ (kJ/モル)	$\epsilon_T(\Delta G^0/\Delta H^0)$
$H_2 + 1/2 O_2 = H_2O(g)$	127	-223.8	-242.7	0.922
$H_2 + 1/2 O_2 = H_2O(g)$	227	-219.2	-243.5	0.900
$H_2 + 1/2 O_2 = H_2O(g)$	427	-209.2	-245.6	0.852
$H_2 + 1/2 O_2 = H_2O(g)$	727	-192.5	-248.1	0.776
$H_2 + 1/2 O_2 = H_2O(g)$	1,027	-176.1	-249.8	0.705

ところで、生物がエネルギーを獲得する過程で起こす酸化還元反応の多くは、良質のタンパク質電極と電子伝達タンパク質からなる燃料電池に他ならない。また、生物が生産する代謝産物の中には、電極反応の活発な物質が多種あり、これらを利用することによっても燃料電池を構成することができる。このような理由から、生物機能を利用した燃料電池の開発が新たに注目を浴びるようになった。

### 5.1 生物電池のこれまでの研究

生物電池のこれまでの研究に関しては、鈴木と軽部による「微生物電池」<sup>6)</sup>あるいは AstonとTurner<sup>7)</sup>の総説に詳しい説明がなされている。したがって、ここでは簡単な説明にとどめる。

生物電池には、燃料の変換方法に関して大別すると、直接変換型生物電池 (Direct biofuel cell) と間接変換型生物電池 (Indirect biofuel cell)、それに複合変換型生物電池 (Hybrid biofuel cell) とがある。直接変換型は、例えば、生物反応機構の一つであるメタノールの完全酸化が、アルコールデヒドロゲナーゼとギ酸デヒドロゲナーゼのわずか二種の酵素で行われることに注目し、酵素と電子伝達物質 (Mediator) を組み合わせて構成する生物電池である。図 5.1-1 はそのような電池の仕組みを示している。このように、酵素あるいはメディエータを使用した電池の研究には、Davis と Yarborough(1962)<sup>8)</sup>、Yahiro ら(1964)<sup>9)</sup>、Mizuguti ら(1966)<sup>10)</sup>、Yagi (1976)<sup>11)</sup>、Plotkin ら(1981)<sup>12)</sup>、Turner ら(1983)<sup>13)</sup>などがある。



TMPD : N,N,N',N'-tetramethyl-p-phenylenediamine、MDH : methanol dehydrogenase

図 5.1-1 メタノールデヒドロゲナーゼで構成された生物電池。

間接変換型は、微生物が代謝生成した電極活物質を使用して燃料電池を構成するもので、電極を直接培地に浸漬する方法と、気体代謝物などを一度収集して燃料電池に導く方法とがある。電極活物質と考えられる代謝産物には、水素、ギ酸、エタノール、硫化水素、メタン、アンモニアなどがあり、水素-酸素型生物電池、アンモニア-酸素型生物電池、メタン-酸素型生物電池などが研究されている。中でも、水素-酸素型生物電池は水素の電極反応性が良好なので、多くの研究が報告されている<sup>14,15)</sup>。

Allen らは陰極液にフェリシアン化カリ液を用いて分極を抑え、陽極電解液に *E. coli* を懸濁してグルコースやフラクトースなどを基質にした生物電池を構成した<sup>16-19)</sup>。彼らは基質によって取り出せる電気量が異なることを報告したが、これは代謝産物中の電極活物質成分が基質によって異なることを意味している。0.252 M の基質 5 ml から取り出された電気量は、グルコース、フラクトース、ピルビン酸が単独に含まれているときには、それぞれ 16、19、16 coulomb であった。しかし、グルコースとピルビン酸、フラクトースとピルビン酸、グルコースとフラクトースの混合基質にした時には、それぞれ 57、24、54 coulomb へと増加しており、基質を混合することによっても取り出される電気量が大きく変わることを示した<sup>19)</sup>。

Suzuki と Karube ら<sup>20-23)</sup>は、*Clostridium butyricum* を寒天あるいはポリアクリルアミドで包括固定し、連続培養の培養廃液のみを燃料電池に送って  $37 \mu\text{A}/\text{cm}^2$  の電流出力を得たことを報告している。また、彼らは固定化 *C. butyricum* の連続培養で発生した気体産物をソーダ石灰層を通して気体溜に貯蔵し、このガスを 40 ml/min の流量で燃料電池に送って 7 日間電流出力を取り出した<sup>24,25)</sup>。この気体は水素だけであると考えられるから、水素の燃料電池を作動させたことになる。

一方、酵素の代わりに生きた微生物を使用し、微生物とメディエータからなる複合型生物電池も検討されている。Bennetto ら<sup>26,27)</sup>、Tanaka ら<sup>28-31)</sup>は電極反応が速い人工染料、例えばチアジン類 (Thionine, Thiazine Blue, Methylene Blue など) やビオロゲン類 (Methyl Viologen, Ethyl Viologen, Benzyl Viologen など) を *E. coli* が容易に還元することに着目し、人工染料をメディエータに使用した複合型生物電池の実験を行った。その結果、最大  $5 \mu\text{A}/\text{cm}^2$  の電流出力を得ている<sup>27)</sup>。

また、Suzuki と Karube らは、クロロプラストあるいは *Chlorella vulgaris* と *C. butyricum* を一緒に固定し<sup>32,33)</sup>、NADPをメディエータに使用した複合型生物電池の実験を行った<sup>34)</sup>。この電池の電流出力は最大で  $1.5 \mu\text{A}/\text{cm}^2$  であった。

変わった型の生物電池に、酵母を使用した Videla と Ariva の生物電池がある<sup>35)</sup>。彼らは *Saccharomyces cerevisiae* を 1 l の自動pHコントロール発酵槽で懸濁培養し、この培養液を酵母と一緒に

## 第5章 微生物電池

に燃料電池に送って最大  $12 \mu\text{A}/\text{cm}^2$  の電流出力を得たことを報告している。*S. cerevisiae* は酵母の一種であるからエタノールが主な代謝産物であり、水素は発生しない<sup>36)</sup>。エタノールの電極反応は余り活発ではないので、結局この生物電池は、陽極室の酸素を *S. cerevisiae* が消費することによって陰極室の酸素濃度との間に濃度勾配が生じた酸素濃淡電池であると結論している。

### 5.2 E.82005 菌株を利用した微生物電池

水素発生の盛んな *Clostridium* 属を使用した微生物電池は、*Clostridium* 属が偏性嫌気性菌であるため、酸素のリークに非常に弱いという欠点を持っている。酸素リークによって、ヒドロゲナーゼ活性が失われるばかりではなく、時には菌が死ぬこともある。そのため、菌を固定化して酸素リークの影響から逃れることが試みられているが、固定化は、一般的に菌の活性を弱めるので、菌体濃度を高めなければならず、基質の有効利用率が悪くなる。また、*E. coli* を利用したメデイエータ型電池も、メデイエータとして使われているチアジン類やビオロゲン類など人工色素が非常に酸素に敏感で、酸素リークがあれば直ちに酸化型に変化する。したがって、酸素除去が微生物電池のもっとも重要な関心事であった。

このような状況を考えると、*Enterobacter aerogenes* strain E.82005 が持つ高い水素発生能と酸素消費性（条件が恵まれているときには約  $17 \text{ mmol}/(\text{g-dry cell}\cdot\text{h})$  という非常に速い速度で水素を発生し、しかも、通性嫌気性菌であるから、酸素が気相にリークしている程度であれば、増殖のために直ちに溶存酸素を消費して水素発生を続けること）は、微生物電池を構成するうえで極めて適した性質であると考えられる。そこで、筆者はこのバクテリアを使用した微生物電池を制作し、電池特性と電極活物質に関する知見を得た。

#### 5.2.1 実験方法

##### 菌と培養条件

使用したバクテリアは、*E. aerogenes* st. E.82005 である。培養液はSP培地の無機塩類とグルコース 30 gの組成からなる変形SP培地である。ペプトンがあると、菌が集まって電極に絡み付き易いフロックができるので、ペプトンを加えなかった。前培養は変形SP培地で  $38^\circ\text{C}$ 、20 時間、好氣的に攪拌培養した。この前培養菌液 10 ml を 300 ml の培養液に植え付けた。4 時間の嫌気培養後、菌を懸濁したまま培養液を燃料電池のアノード室（陽極室）に送り込んだ。

電池実験は  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  で行った。

実験装置と方法

装置は図 5.2-1 に示した。円筒型をした燃料電池はカソード室（陰極室）とアノード室からできており、両室はカチオン（陽イオン）交換膜で隔てられている。交換膜は旭硝子（株）の SELEMION-CMR を用いた。カソード室の大きさは  $40\text{ mm } \phi \times 35\text{ mm}$  で、ここでは、カソード活物質として  $0.01\text{ M}$  の  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  液を満した。アノード室の大きさは  $40\text{ mm } \phi \times 17\text{ mm}$  である。陽極電解液は、ペリスタポンプによって、 $140\text{ ml/h}$  の流量でリザーバーフラスコとアノード室との間を循環している。リザーバーフラスコの液体積は  $300\text{ ml}$  である。アノードはステンレススチールの網（日本精練（株）、Fine Met NM3S-104）を白金黒でメッキしたもので、その見かけの表面積は  $25\text{ cm}^2$  である。

電池の性能を知るために、始めに、水素で飽和した pH 7.0 のリン酸緩衝液を陽極電解液として使用した。無負荷状態におけるレコーダー（入力インピーダンス  $1\text{ M}\Omega$  以上）への出力電圧を、この水素 - フェリシアン化カリ電池の開回路電圧であると考えた。分極は  $500\ \Omega$  の抵抗をつないで測定した。その後、リザーバーフラスコを菌が活発に水素発生をしている培養フラスコと取り替え、菌と一緒に培養液をアノード室に送って代謝物-フェリシアン化カリ電池の出力電圧を測定した。

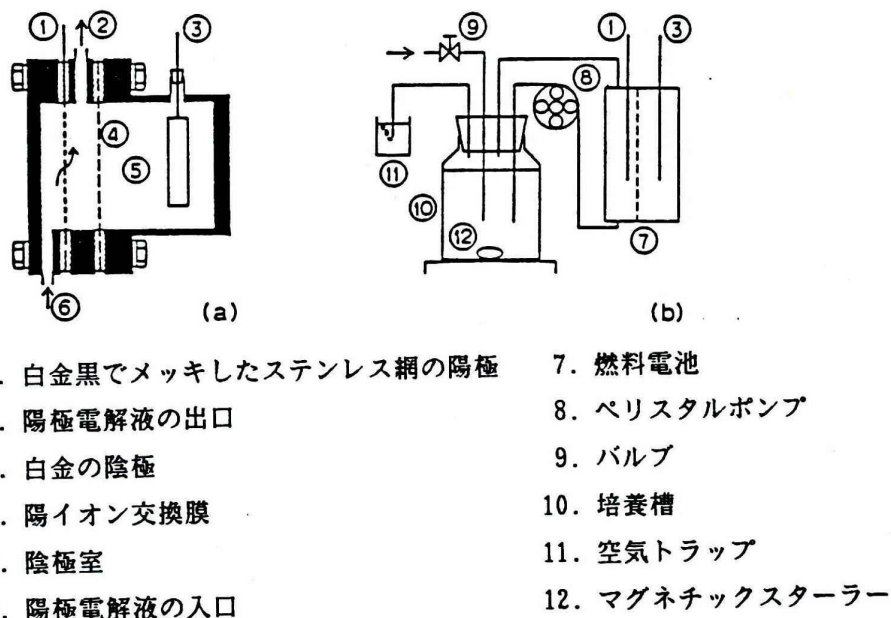
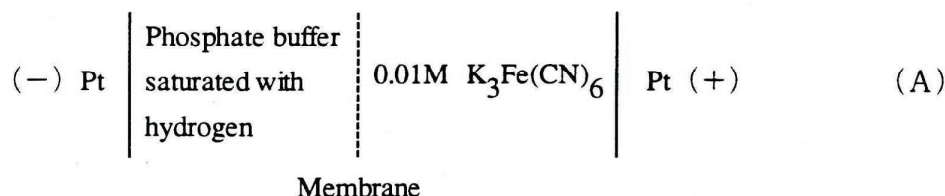


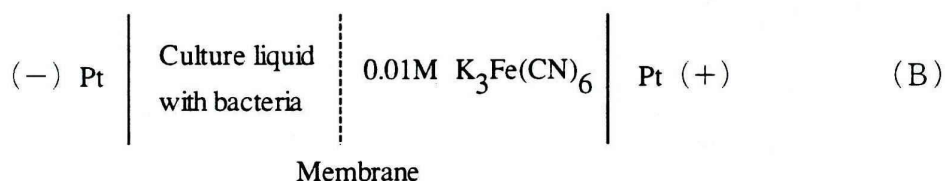
図 5.2-1 微生物電池の概略図

5.2.2 実験結果と考察

図 5.2-2 が実験結果である。始めの 19 時間は、水素で飽和したリン酸緩衝液がアノード室に供給されていた。したがって、この燃料電池は次のように表されるであろう。



電池 (A) の最大開回路電圧は pH 7.0 で 1.04 V であった。2 時間開状態に電池をおいたのち、500 Ω の抵抗を両極間につないだ。その結果、出力電圧は急激に落ちて 0.74 V になった。それから 17 時間放電を続ける間に、出力電圧は徐々に下がり、0.67 V まで下がった。この電圧降下は電極の被毒によると考えられる。電池 (A) の電圧降下は時間軸に対してほぼ直線的であるから、そのまま実験を続けるなら、この電圧降下線は図 6.2-2 に点線で示した線に沿って降下していくと考えられた。そこで、19 時間目に、陽極電解液を水素で飽和した緩衝液から細菌が活発に水素発生している培養液に取り替えた。したがって、19 時間以降は微生物電池を構成している。この微生物電池は次のように表される。



微生物電池の実験期間中も、500 Ω の抵抗をつないだまま放電を続けた。

リザーフラスコと培養フラスコとを取り替えるとき空気が入ったので、出力電圧は急速に落ちて 0.58 V になった。しかし、細菌が漏入した空気中の酸素を消費したので、電池 (B) の出力電圧はおよそ 10 分でそれまでの電池 (A) の出力電圧まで回復し、1 時間後には 0.79 V まで上昇した。この電圧は電池 (A) の仮想出力電圧より 0.12 V も高いので、細菌を含んだ培養液は非常によい陽極電解液であると考えられる。

その後、電池 (B) は電池 (A) の仮想出力電圧より高い出力を維持し続け、24 時間連続して

第5章 微生物電池

電流を取り出すことができた。44 時間の時、つまりバクテリアを使って実験を始めてから 25 時間後に、1.5 wt%のグルコースを含んだSP培地 100 ml を培養フラスコにいった。このとき培養フラスコに再び空気が入ったので、出力電圧は 0.4 V まで降下した。しかし、微生物電池は前回と同じように出力を回復し、0.71Vまで速やかに上昇した。この電圧は電池 (A) の仮想出力電圧より 0.13 V 高く、培地を添加する前の電池 (B) の出力電圧と比べても、約 0.1 V 高い。

以上の結果から、もし、培養液を定期的に供給し続けるなら、この微生物電池から長期間にわたって出力を得ることができることがわかった。

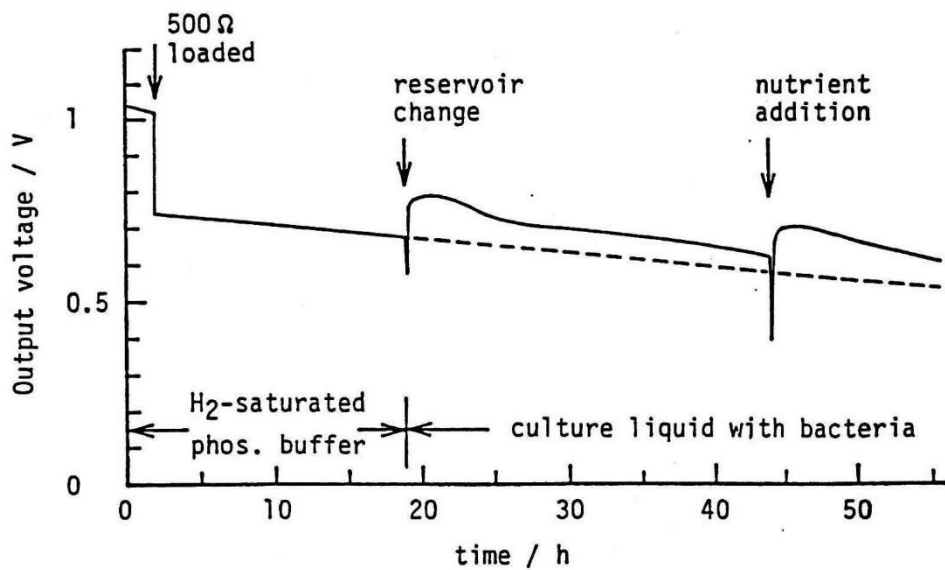


図 5.2-2 微生物電池の運転特性

### 5.3 電極活物質の分析

*Enterobacter aerogenes* はグルコースの嫌気分解によって、たとえば、水素、二酸化炭素、ギ酸、酢酸、エタノール、2,3-ブタンジオールなど多くの代謝産物を生成する<sup>37)</sup>。これらの代謝産物のうち、水素とギ酸は電極と容易に反応する電極活物質であることが知られている<sup>38)</sup>。この他には、微生物電池に使用されるグルコースがよい電極活物質になるということを、Liu ら<sup>39)</sup>、Disalvo と Videla<sup>40)</sup>が主張している。それではどの物質が微生物電池の出力を長期間維持することに寄与していたのであろうか。電極活物質の活性はシングルスキャンボルタモグラム法 (Single scan voltamogram method) を利用した電極の分極分析によって評価できる。そこで、培養液の電極活性を測定し、どの物質が電池出力に寄与しているか調べた。また、水素発生中の培養槽にMV (Methyl viologen)、BV (Benzyl viologen)、MB (Methylene blue) を添加して、メディエータの添加による分極の変化を測定した。

#### 5.3.1 実験方法

分極分析実験装置の略図を図 5.3-1 に示した。②はポテンショスタット(東邦技研(株)、model 2001)であり、実験電極⑥と対極⑦は平滑白金電極を使用した。参照電極⑤は飽和銀-塩化銀電極(Saturated Silver-Silver Chloride Electrode, SSCE) (東亜電波工業(株))を使用した。電圧の掃引速度は 20 mV/s に設定した。

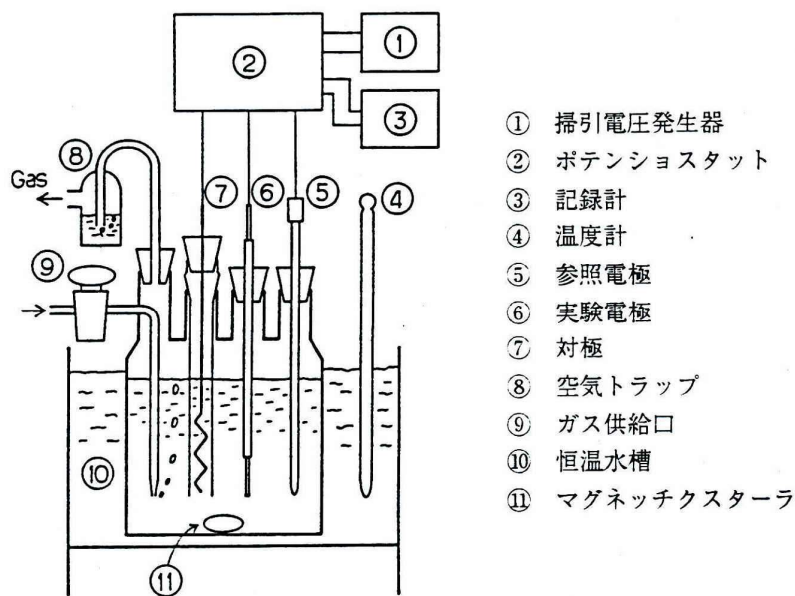


図 5.3-1 分極実験の装置概略図



### 5.3.2 実験結果と考察

#### 電極活物質の分析

水素の分極特性と *E. aerogenes* st. E.82005 の代謝産物による分極特性を図 5.3-2 と 5.3-3 に示した。図 5.3-2 の曲線は、リン酸緩衝液 (1/5 M, pH 7.0) 中に水素を吹き込んで測定した分極特性を示している。曲線(a)は攪拌を強くしたとき、曲線(a')は攪拌を弱くした時に得た結果である。攪拌スピードや回転数については測定していない。したがって、相対的な実験によって得た結果である。これらのデータは、水素が非常に良質の電極活物質であることを示している。なぜなら、分極によって引き起こされた電圧の急激な降下が、電極への活物質の拡散が制限要因になる限界電流密度に近い高い電流密度になってから、生じているからである。

図 5.3-3 の曲線(b)は、バクテリアが水素を活発に発生しているときに測定した培養液の電極活性を示している。分極は限界電流密度までゆっくり進行している。このことは、バクテリアの棲息している培養液もまた良質の電極活物質を含んでいることを意味している。当然のことながら、その一つは水素である。

そこで、水素とその他の代謝産物の出力電流に対する寄与の大きさを測定するために、窒素あるいは水素を培養液に吹き込んで、すなわち、水素をバクテリアが発生しているときには窒素を、水素発生が止まった後では水素を吹き込んで、分極を測定した。

曲線(c)は水素発生時に窒素を吹き込んで測定した代謝産物の電極活性である。ほとんど全ての水素が取り除かれている培養液では、生成されたと思われるギ酸の出力電流への寄与だけでなく、その他の水溶性代謝産物についても、出力電流への寄与は少ないことがわかる。しかし、酸化還元電位は水素と同じくらい低い電位である。

曲線(d)はバクテリアの水素発生が止まったのち、水素ボンベから培養液に水素を吹き込んで得た水素の電極活性である。この分極曲線は、限界電流密度付近を除けば、曲線(b)と非常によく似ている。限界電流密度は電解液の攪拌状態によって変わるから、培養液の電極活物質はバクテリアが発生した水素であると思われる。

この推測を確認するために、電位を測定した各 pH における可逆水素電極 (Reversible Hydrogen Electrode, RHE) に対する酸化還元電位を参照電極 (SSCE) の電位を基に計算した。ただし、使用した SSCE の実験温度 (36°C) における電位は、標準水素電極 (Standard Hydrogen Electrode, SHE) に対して 0.188 Vであることを検定して求めた。計算結果を表 5.3-1、(a)~(e)に示している。表中の(f)は白金黒電極を使用してリン酸緩衝液中のグルコースの電位を測定したときの結果である。(e)と(f)を除けば、(a)~(d)の全てのデータは、0.004~0.013 V (vs. RHE) という非常に小さい

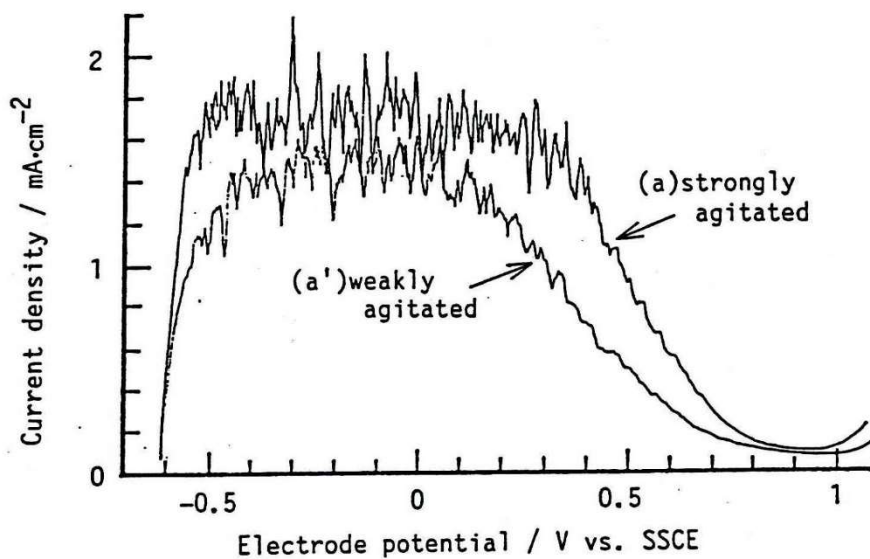
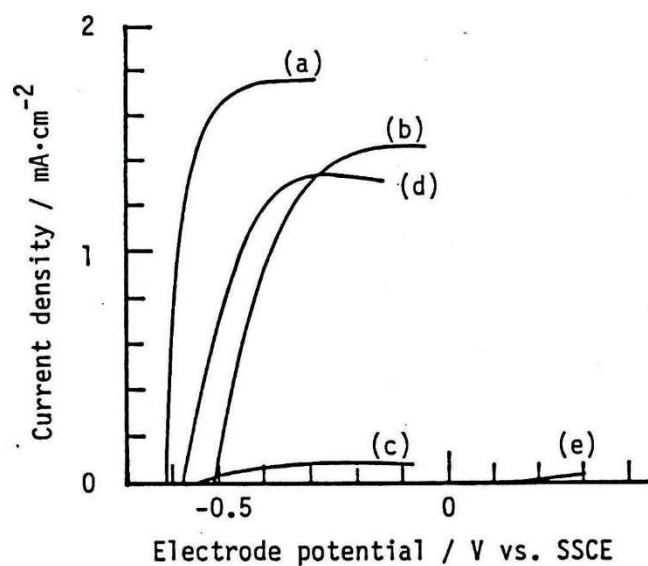


図 5.3-2 水素の分極特性



(a); 水素、(b); 水素発生中の培養液、(c); 水素以外の代謝産物

(d); 培養液中の水素、(e); グルコース

図 5.3-3 種々の条件における分極特性

表 5.3-1 培養液の酸化還元電位

Symbol	Redox potential		pH [-]	Conditions
	V vs. SSCE*	V vs. RHE		
(a)	-0.614	0.004	7.03	phosphate buffer; H <sub>2</sub> bubbling
(b)	-0.510	0.013	5.47	culture liq. under H <sub>2</sub> evolving
(c)	-0.554	0.004	6.15	<i>ibid.</i> ; N <sub>2</sub> bubbling
(d)	-0.576	0.011	6.39	culture liq. ceased H <sub>2</sub> evol.; H <sub>2</sub> bubbling
(e)	+0.132	0.738	6.82	culture liq. before inoculation
(f)	-0.560	0.054	6.95	phosphate buffer with 1% glucose; platinum black electrode

\*) The potential of saturated silver-silver chloride electrode (TOA Electric Co. LTD.) was measured to be 0.188 V vs. SHE at 36°C.

電位を指示している。(a)と(d)の電位は水素に起因する電位であるから、本来 0 V でなければならぬ電位である。したがって、これらの電位は電極の被毒あるいは pH の誤差などによって現われたと考えられる。そうすると、活発な水素発生中の培地の pH は分極特性の測定中にも変化して酸性側に移行することを考慮するならば、(b)、(c)の電位も実験誤差による水素電位からの偏倚と考えることができる。よって、曲線(b)~(d)の酸化還元電位は水素の酸化還元電位であると結論できる。以上の考察から、細菌が水素発生している時に測定した分極曲線(b)は水素の分極曲線であることが明らかになった。

曲線(e)は、窒素で酸素脱気した 1 wt% のグルコースを含む培養液の電極活性である。測定は細菌を植え付ける前に行った。よって、この曲線はグルコースの分極特性と考えられる。このように、グルコースの酸化還元電位は、平滑白金電極を実験電極に使用したときには、かなり正の電位を示した。しかし、白金黒電極を使用してリン酸緩衝液中の電位を測定したときには、Liu ら<sup>39)</sup>、DisalvoとVidela<sup>40)</sup>が主張したように、低い電位を示した(表6.3-1の(f))。Bockris ら<sup>41)</sup>とYao ら<sup>42)</sup>も、それぞれ pH 14、80 °C で -0.15 V (vs. SHE)、pH 7.4、22 °C で -0.22 V (vs. SHE) という、やはり低い電位を報告している。したがって、グルコースの酸化還元電位は確かに低いに違いない。しかし、曲線(e)の分極特性を考えると、グルコースの分極は非常に急速に進むので、負荷を掛けたときに実用的な電流密度で出力を取り出すのは不可能ではなからうか。

以上の分析結果をまとめると、次のようになる。ギ酸など水溶性代謝産物の出力電流への寄与は小さい。グルコースと水素を比べると、水素の電流密度は遥かに大きいから、水素を発生している培養期間における微生物電池の出力電流としてグルコースの寄与を期待することはできない。つまり、E.82005 菌を利用した微生物電池では、水素だけが水素発生期間の出力電流寄与物質である。

#### メディエータの効果

次に、水素を発生している培養液に人工染料のメディエータを添加して、複合型生物電池の分極特性を調べた。図 5.3-4 はMVを添加したときの分極特性の変化を示している。曲線(a)はMV添加前に測定した分極特性で、曲線(b)はMV添加後に測定した分極特性である。水素発生中の培地 pH は、酸が代謝生成されるために pH が小さくなる方に変化する。そのため、SSCE 基準の酸化還元電位も正の方向に移動するが、この図から、MV添加前の水素発生中に測定した分極特性に比べて、添加によって酸化還元電位は負の方に移動したことがわかる。MVの標準酸化還元電位は、表 5.3-2 に示したように、水素より低い。したがって、曲線(b)は菌によって還元されたMVが電極で反応したことを示している。しかし、分極の進行は水素より悪いので、MVの添加により電極活性が良くなったとは考え難い。

図 5.3-5 の曲線(a)は水素発生をしている培養液にMBを添加したときの分極特性である。MBの添加によって培地は青色になったが、速やかに培地本来の色に戻ることが観察された。MBの酸化体は濃い青色を呈し、還元体は無色であるから、この色の变化でMBが容易に還元されることがわかった。しかし、MBの pH 7.0 における標準酸化還元電位( $E_0'$ )は +0.011 V と高いので、水素を発生している培養液では、MB添加による電極反応の促進効果は現れていない。

曲線(b)は水素発生がほぼ止まったときにBVを添加して測定したものである。BVはMBとは逆に、還元されると青色を呈し、酸化体は無色である。添加後しばらくすると培養液の色は青色を呈したので、BVが還元されたことがわかった。しかし、この分極特性にもBVの添加効果を示すような特徴は現れていない。

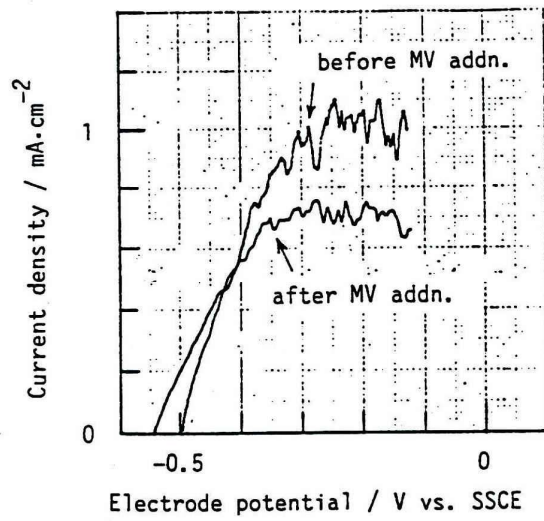


図 5.3-4 MVを添加したときの分極特性

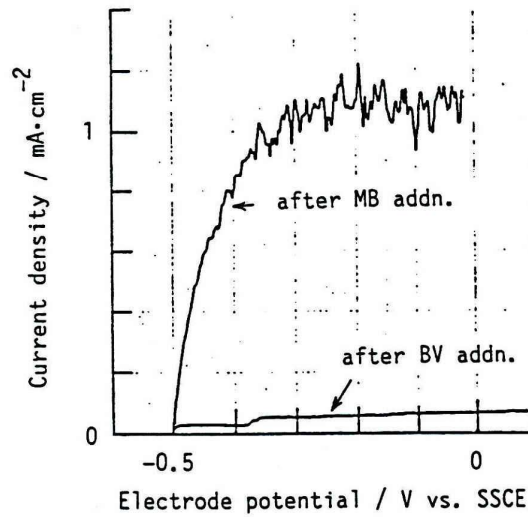


図 5.3-5 MBを添加したときの分極特性

表 5.3-2 MB、BV、MVの標準酸化還元電位<sup>43)</sup>

	Temp. [°C]	$E_0$ [V]	$E_{m7}$ [V]	pH [ - ]
Methylene blue	30	0.532	0.011	
	25	0.525	0.008	
Benzyl viologen	30	-0.359*		8
Methyl viologen	30	-0.440*		8-13

\* ) BV, MVはpHによる電位変化はない

#### 5.4 考察

E.82005 菌を利用した生物電池は、養分を定期的に与えてやることで長時間働くと考えられる。また、網状電極を使用することで出力電流密度をおよそ  $60 \mu\text{A}/\text{cm}^2$  に維持できた。このような電極浸漬型の生物電池の中では、この電流密度は比較的大きい密度であるので、網電極が電極面積を大きくするうえで効果適であることがわかった。しかし、現在の燃料電池は  $150\sim 200 \text{mA}/\text{cm}^2$  の電流密度で働いている。この実験で用いた網電極の粗面度（見かけの面積に対する真の面積の比）を大きくする工夫をすることで、さらに大きい電流密度を得ることができるであろうが、この生物電池の電流密度は余りにも小さいと言わざるをえない。

さらに、E.82005 菌は  $21 \text{mmol}/(\text{l-culture h})$  の速さで水素を発生することができるから（第3章、3.2.4節）、もし生成した水素がすべて電極反応を起こしたなら、この実験で使用した  $300 \text{ml}$  の培地からは  $630 \text{mA}$  の電流出力が得られたであろう。しかるに、電流出力は平均  $14 \text{mA}$  しか得られなかった。これは、発生した水素の大部分が電極反応に利用されないで外部に放出されたためである。また、培養液に浸漬した電極は容易に汚濁されて有効面積が減少する。したがって、液体の代謝産物に有力な電極活物質が少ない以上、発生した水素は気体溜に貯蔵して他の方式の燃料電池（たとえば、燃料ガスに二酸化炭素が含まれていても差し支えない溶融炭酸塩型燃料電池など）に送る方が、実用上優れた利用方法であるといえる。

Benetto ら<sup>27)</sup>は *E. coli* を使った複合型生物電池で、チオニン ( $E_0' = +0.06 \text{V}$ ) やレゾルフイン ( $E_0' = +0.051 \text{V}$ ) のような水素 ( $E_0' = -0.414 \text{V}$ ,  $25^\circ\text{C}$ ) に比べて非常に酸化還元電位の高いメデイエータを使用している。このように酸化還元電位の高いメデイエータを使用することは、たとえメデイエータの電極反応速度が速くても<sup>44)</sup>、利用できる電圧出力を低くすることになり、余り好ましいことではないであろう。本実験の分極分析で、チオニン系人工染料であるMBを添加した水素発生中の培養液では、MBを添加しても分極特性に変化は現れないことが示されたことを考慮すれば、水素を活発に発生する微生物 (*E. coli* もそのような微生物である) では、酸化還元電位の高いメデイエータを使用した複合型生物電池を構成しても意味をもたないと考えられる。

## 5.5 結論

生物電池に関して次の結論を得た。

(1) 通性嫌気性のバクテリア *Eeterobacter aerogenes* を使用することで、酸素リークに対して出力回復性の大きい間接型生物電池を構成できることが明らかになった。培養液に溶存している酸素だけでなく、培養槽の気相にまでリークした酸素を約10分でバクテリア自身が消費し、24時間連続して出力を取り出すことができたので、偏性嫌気性バクテリアを使用するより優れた生物電池である。

(2) *E. aerogenes* のグルコース代謝産物を利用した生物電池では、水溶性代謝産物による電流出力はほとんど期待できず、気体代謝産物の水素のみが電極反応物質である水素燃料電池であることが、Single scan voltammogram 法による電極の分極分析から明らかになった。

(3) Liu ら、Disalvo と Videla が主張したグルコースの電流出力への寄与は、水素発生期の培養液からは全く期待できないことがわかった。

(4) メディエータを使用した複合型生物電池は、水素を活発に発生する微生物に対しては効果がない。しかし、水素を発生しない微生物に対しては有効になる可能性がある。

(5) 水素を活発に発生する微生物を使用する生物電池では、発生した水素を気体溜に貯蔵し、水素-酸素燃料電池に供給する方が、出力電流密度を大きくできるだけでなく、電極の被毒を少なくすることができるので、優れた燃料電池を構成することができる。

参考文献

- 1 Nakaima, H.; エネルギー・資源, 6, 19-24(1985)  
"省エネルギー技術開発の現状と将来"
- 2 通産省工業技術院; リン酸型燃料電池発電技術の将来展望, 2, 3.2-1(1986)  
"リン酸型燃料電池発電技術の将来展望"
- 3 Yamamoto, M., S. Sengoku, A. Sugiyama and K. Ogawa; エネルギー・資源,  
3, 147-155(1982)  
"石油ガス化複合発電"
- 4 Takahashi, T.; 燃料電池, 共立出版, (1984)  
"燃料電池"
- 5 Kaisaki, M.; 第1回燃料電池シンポジウム講演予稿集, June 27-28, Tokyo,  
8-11(1994)  
"ガス事業における燃料電池開発の概況"
- 6 Suzuki, S. and I. Karube; 微生物とその応用, (鈴木周一編著),  
共立出版, 119-171(1979)  
"微生物電池"
- 7 Aston, W. J. and A. P. F. Turner; Biotechnol. Gen. Engineering Rev.,  
1, 89-120(1984)  
"Biosensors and biofuel cells"
- 8 Davis, J.B., and H.F. Yarborough; Science, 137, 615-616(1962)  
"Preliminary experiments on a microbial fuel cell."
- 9 Yahiro, A.T., S.M.Lee and D.O.Kimble; Biochim. Biophys. Acta, 88,  
375-383(1964)  
"Bioelectrochemistry I. Enzyme utilizing bio-fuel cell studies"
- 10 Mizuguchi, J., S. Suzuki and F. Takahashi; Bull. Tokyo Inst. Technol.,  
78, 27-33(1966)  
"Biochemical reaction cell."
- 11 Yagi, T.; Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 73, 2947-2949(1976)  
"Separation of hydrogenase-catalyzed hydrogen-evolution system from  
electron-donating system by means of enzymic electric cell technique"
- 12 Plotkin, E.V., I.J. Higgins and H.A.O. Hill; Biotechnol. Lett., 3,  
187-192(1981)  
"Methanol dehydrogenase bioelectrochemical cell and alcohol detector."
- 13 Turner, A.P.F., G. Ramsay and I.J. Higgins; Biochem. Sic. Trans., 11,  
381-384(1983)  
"Applications of electron transfer between biological systems and  
electrodes."
- 14 Young, T.G., L.Hadjipetrou and M.D. Lilly; Biotech. Bioeng., 8,  
581-593(1966)  
"The Theoretical Aspects of Biochemical Fuel Cells"
- 15 Ardeleanu, I., D.G. Margineanu and H. Vais; Bioelectrochem. Bioenerg.,  
11, 273-277(1983)  
"Electrochemical conversion in biofuel cells using Clostridium  
butyricum or Staphylococcus aureus Oxford"
- 16 Allen, M.J., R.J.Bowen, M.Nicholson and B.M.Vasta; Electrochimica  
Acta, 8, 991-995(1963)  
"The Electrochemical Aspects of Some Biochemical Systems -- III. A new  
approach to investigation of electrical energy producing reactions in  
biological systems"
- 17 Allen, M.J. and R.L.Januszeski; Electrochimica Acta, 9, 1423-1427(1964)  
"The Electrochemical Aspects of Some Biochemical Systems -- IV. The



- effect of oxygen on the electrochemical reactivity of *E. coli* with various substrates"
- 18 Allen, M.J.; *Electrochimica Acta*, 9, 1429-1432(1964)  
"The Electrochemical Aspects of Some Biochemical Systems -- V. The electrochemical differentiation between aerobic and anaerobic metabolic paths"
  - 19 Allen, M.J.; *Electrochimica Acta*, 11, 1503-1508(1966)  
"The Electrochemical Aspects of Some Biochemical Systems -- IX. The anomalous behaviour of *E. coli* with mixed substrates"
  - 20 Karube, I., T. Matsunaga, S. Tsuru and S. Suzuki; *Biochim. Biophys. Acta*, 444, 338-343(1976)  
"Continuous hydrogen production by immobilized whole cells of *Clostridium butyricum*"
  - 21 Suzuki, S. I. Karube and T. Matsunaga; *Biotech. Bioeng. Symp.*, 8, 501-511(1978)  
"Application of a biochemical fuel cell to wastewaters"
  - 22 Karube, I., N. Urano, T. Matsunaga and S. Suzuki; *Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 16, 5-9(1982)  
"Hydrogen production from glucose by immobilized growing cells of *Clostridium butyricum*"
  - 23 Karube, I., T. Matsunaga, S. Tsuru and S. Suzuki; *Biotechnol. Bioeng.*, 19, 1727-1733(1977)  
"Biochemical fuel cell utilizing immobilized cells of *Clostridium butyricum*"
  - 24 Karube, I., S. Suzuki, T. Matsunaga and S. Kuriyama; *Annals New York Academy of Sciences*, 369, 91-98(1981)  
"Biochemical energy conversion by immobilized whole cells"
  - 25 Karube, I., S. Kuriyama, T. Matsunaga and S. Suzuki; *Energy Developments in Japan*, 3, 141-152(1980)  
"Biogas production by immobilized whole cells"
  - 26 Bennetto, H. P., M. E. Dew, J. L. Stirling and K. Tanaka; *Chem. Industry*, 7, 776-778(1981)  
"Rates of reduction of phenothiazine 'redox' dyes by *E. coli*"
  - 27 Bennetto, H. P., J. L. Stirling, K. Tanaka and C. A. Vega; *Biotechnol. Bioeng.*, 25, 559-568(1983)  
"Anodic reactions in microbial fuel cells"
  - 28 Tanaka, K., C. A. Vega and R. Tamamushi; *Bioelectrochem. Bioenerg.*, 11, 289-297(1983)  
"Thionine and ferric chelate compounds as coupled mediators in microbial fuel cells"
  - 29 Tanaka, K., C. A. Vega and R. Tamamushi; *Bioelectrochem. Bioenerg.*, 11, 135-143(1983)  
"Mediating effects of ferric chelate compounds in microbial fuel cells"
  - 30 Tanaka, K., R. Tamamushi and T. Ogawa; *J. Chem. Technol. Biotech.*, 35B, 191-197(1985)  
"Bioelectrochemical fuel-cells operated by the cyanobacterium, *Anabaena variabilis*"
  - 31 Omata, T., A. Tanaka, T. Yamane and S. Fukui; *Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 6, 207-215(1979)  
"Immobilization of microbial cells and enzymes with hydrophobic photo-crosslinkable resin prepolymers."
  - 32 Karube, I., T. Matsunaga, T. Otsuka, H. Kayano and S. Suzuki; *Biochim. Biophys. Acta*, 637, 490-495(1981)  
"Hydrogen evolution by co-immobilized chloroplasts and *Clostridium butyricum*"

- 33 Kayano, H., T. Matsunaga, I. Karube and S. Suzuki; *Biochim. Biophys. Acta*, 638, 80-85(1981)  
"Hydrogen evolution by co-immobilized *Chlorella vulgaris* and *Clostridium butyricum* cells"
- 34 Kayano, H., T. Matsunaga, I. Karube and S. Suzuki; *Biotech. Bioeng.*, 23, 2283-2291(1981)  
"Photochemical Energy Conversion System Using Immobilized Chloroplasts"
- 35 Videla, H. A. and A. J. Arvia; *Biotechnol. Bioeng.*, 17, 1529-1543(1975)  
"The response of a bioelectrochemical cell with *Saccharomyces cerevisiae* metabolizing glucose under various fermentation conditions"
- 36 Wood, W.A.; in *The Bacteria*, vol.2, (Gunsalus, I.C. and R.Y. Stanier eds), Academic Press, New York, 59-150(1961)  
"Fermentation of carbohydrates and related compounds."
- 37 Neish, A. C. and G. A. Ledingham; *Can. J. Research, Sec. B*, 27, 694-704(1949)  
"Production and properties of 2,3-butanediol"
- 38 De Tacconi, N.R., J.M.Leger, B. Beden and C. Lamy; *J. Electroanal. Chem.*, 134, 117-130(1982)  
"Electrosorption and Electrocatalytic Oxidation of Formic Acid on Platinum+Rhodium Alloys"
- 39 Liu, C.C., N.A. Carpenter and J.G. Schiller; *Biotech. Bioeng.*, 20, 1687-1689(1978)  
"Role of Platinum Black in a Bio-Fuel Cell Using Glucose or Hydrogen as Fuel Source"
- 40 Disalvo, E. A. and H. A. Videla; *Biotechnol. Bioeng.*, 23, 1159-1164(1981)  
"Role of biological agents in the oxidation of glucose on black platinum electrodes"
- 41 Bockris, J. O'M., B. J. Piersma and E. Gileadi; *Electrochim. Acta*, 9, 1329-1332(1964)  
"Anodic oxidation of cellulose and lower carbohydrates"
- 42 Yao, S.J., A.J. Appleby, A. Geisel, H.R. Cash and S.K. Wolfson, J et al. ; *Nature*, 224, 921-922(1969)  
"Anodic Oxidation of Carbohydrates and their Derivatives in Neutral Saline Solution"
- 43 Albery, W.J., A.W. Foulds, K.J. Hall, A.R. Hillman, R.G. Egdell et al. ; *Nature*, 282, 793-797(1979)  
"Thionine Coated Electrode for Photogalvanic Cells"