

〈一般研究課題〉 河川有機堆積物を用いた微生物燃料電池による
環境浄化及び高出力化に関する研究

助成研究者 愛知工業大学 西村 聡子



河川有機堆積物を用いた微生物燃料電池による環境浄化 及び高出力化に関する研究

西村 聡子
(愛知工業大学)

Study of microbial fuel cells using river organic sediment for environmental improvement and high power output

Akiko Nishimura
(Aichi Institute of Technology)

Abstract :

A microbial fuel cell (MFC) is an emerging biotechnology which converts the organic substrates to electricity. MFCs utilize electrons resulting from microbial metabolism to generate electricity. MFCs using waste water or muddy deposit (sludge) as fuel are expected to function for improvement of water quality and environmental clarification. In addition, MFCs have potential for widespread application in the location lacking electrical infrastructures. However, many technical challenge must be overcome before they will be practical for renewable energy production and environmental improvement. Understanding the mechanism of microbial energy production and involvement of microorganisms is also essential to increase the power output and power generation efficiency of MFCs.

For this purpose, we developed MFCs using the organic sediment (sludge) collected from the Hori River in Nagoya city, Aichi, and the Shirako Coast in Suzuka city, Mie. Carbon material which is known to have high electric conductivity was used as both electrodes in these MFCs. A long-term generation of electricity was observed without adding exogenous mediator. MFC under the sunlight showed enhanced power production compared with the MFC in a dark place.

To assess the bacterial involvement in electricity production in these MFC, three MFCs were generated as below;(A) MFC using the sludge without autoclave sterilization, (B) MFC using the

sludge with autoclave sterilization, (C) MFC using the mixture of autoclaved and not autoclaved sludge (97.5 %: 2.5%). Analysis of the maximum power value and internal resistance indicate that MFC (B) showed the lowest maximum power value and the highest internal resistance compared with MFC (A) and (C). It suggested that bacterial involvement was required for the power production in these MFC.

To further analyze the involvement of microorganisms, a small part of sludge was harvested from active MFCs and cultured under anaerobic condition. As a result, bacterial colonies was successfully isolated. Several colonies with different appearance were picked and analyzed by Gram' s staining method. These colonies were classified mostly as gram-positive bacillus. Gram-positive coccus, gram-negative bacillus, and gram-positive coccus were also observed.

In order to identify the species of the colonies isolated from the sludge in these MFC, DNA was extracted and used for molecular phylogenetic analysis based on 16S rRNA gene sequence. As a result, most colonies were identified as a specific species of gram-positive bacillus. The involvement of this bacteria in MFC was previously reported, which supports the possibility that this bacteria also plays a role in electricity generation in MFCs using the sludge. However, it is also possible that other species of bacteria might participate in these MFCs independently or in collaboration with the bacteria identified here. Based on these findings, further analysis of bacterial involvement and optimization of the MFC condition for higher power generation efficiency and power output are desired.

1. はじめに(研究背景と目的)

微生物燃料電池(Microbial Fuel Cell:以下MFCと略)は、新しくかつクリーンなエネルギーとして近年注目されている。MFCは微生物が有機物を分解する過程で生じる電子を利用し発電を行うものであり、火力、水力、原子力といった現在主流の発電方式と異なり、電気エネルギーを直接取り出すことができる。そのため簡易な装置での発電が可能となり、コストの削減やインフラ設備が整っていない地域への設置も期待される。またMFCのメリットの一つとして、汚水や汚泥などの有機物を燃料として用いることができ、発電と同時に有機廃棄物の処理や水質改善などの環境浄化が可能となる点があげられる¹⁾。しかしながらMFC研究の歴史はまだ浅く、実用化に向けて解決すべき課題が多い。

本研究では、河川有機堆積物を用いたMFCの高効率化・高出力化を図る目的で、発電に関与する細菌の単離・同定を行う。MFCに関与する細菌としてはこれまでに様々なものが知られているが、河川有機堆積物を用いたMFCについては光照射により出力が向上すること、また発電中のMFCでは電極付近に硫黄の蓄積が見られることなどが報告されている(愛知工業大学中山ら)。これらのことから、河川有機堆積物を用いたMFCにおいて光合成細菌や硫黄還元菌が発電に関与していることが考えられるが、その詳細は明らかになっていない。ここでは、細菌の関与をより詳細に検討するため、この目的に即してMFC装置の改良を行うと共に、細菌の培養条件・発電条件についても検討する。この知見をもとに、MFCの高出力化及び環境浄化能力の向上をめざす。

2. MFCの基本原理

MFCの原理と構造を以下に示す。MFCにおいて、微生物による有機物の分解に伴い放出された電子はアノード(負極)へと受け渡される。電子はアノードから外部負荷を経てカソード(正極)へと移動し、そこで酸素等の酸化剤(電子受容体)およびアノード側から拡散してきたプロトンと反応する。MFCは、大きく分けて二槽型のものと一槽型のものが存在する。二槽型MFCではアノード槽とカソード槽がプロトン交換膜で仕切られており、酸素等の酸化剤はカソード槽へ供給される(図1)。一方、一槽型MFCでは酸素透過性をもつ膜タイプのカソードが使用されることが多い。アノード電極の素材としては導電性があり表面積が大きい炭素材が、カソード電極の触媒として白金がよく用いられており、また酸化剤としてはフェリシアン化カリウムや酸化マンガンなどが用いられることもあるが、大気中の酸素を利用したMFCも多くみられる²⁾。

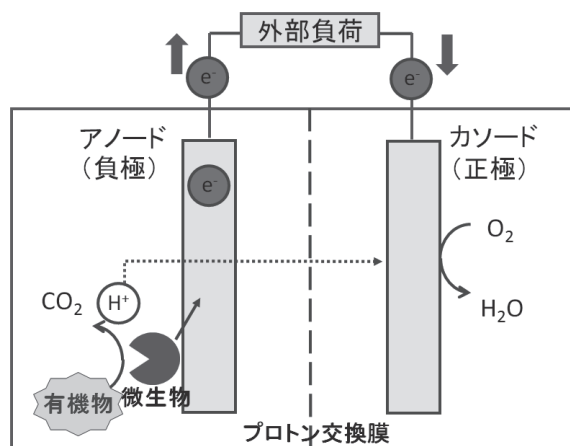


図1. 二槽式MFCの模式図

微生物によって分解される有機物としてグルコースC₆H₁₂O₆を例にとると、アノードおよびカソードでの電気化学反応は、それぞれ以下になる。



3. 試料および実験方法

3.1 MFCの作成と測定

MFCの燃料に用いる有機物として、愛知県名古屋市堀川および三重県鈴鹿市白子海岸において採取した河川堆積物(ヘドロ)を用いた。これらのヘドロを使用したMFCでは発電状態が良好であったことが共同研究者の中山らによって示されている。本研究においては、より単純な構造であり大気中の酸素を酸化剤として利用できる一槽式のMFCを用いた。またアノード・カソード共に、電気抵抗が少なく電気伝導率に優れた炭素材を使用した。採取したヘドロを容器に入れ、アノードをヘドロ中に設置し、カソードはヘドロ上部の水層と大気に接するように設置した(図2)。MFCの発電性能の検討のため、デジタルマルチメータ(SANWA、PC20)を用いて起電力の測定を行った他、可変抵抗器(1Ω~100 kΩ)を用いて電流・電圧・電力特定曲線を作成し、それぞれの最大電力と内部抵抗を求めた。

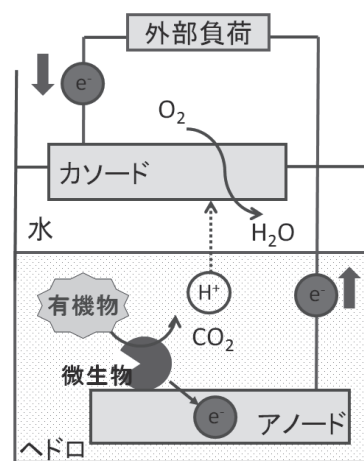


図2. 本研究で用いたMFCの模式図

本研究ではMFCを3回作成し、それぞれ以下の実験に使用した。

(1) MFC①の試作および光照射の有無による発電効率の変化の検討

幅260 mm, 奥行180 mm, 高さ125 mm(容量4.3 L)の容器に約1.7 Lのヘドロを加えたMFC①を作成した。カソードは吊り下げ式とした。このMFC①を2つ作成してそれぞれ日向と暗所に設置し、その起電力の推移を測定した。

(2)改良型MFC②の作成および外部抵抗の常時接続による発電効率の変化の検討

MFC①と同じ炭素材を両電極に用い、カソードは固定式とした。また両電極と銅線との接続部の腐食を防止するため電極炭素材に炭素棒を接続し、その後炭素棒と銅線を接続し、さらにこの接続部をポリマーで保護する改良を行った。MFC①で用いたものと同じ容器に約1.7 Lのヘドロを加えた改良型MFC②を2つ作成し、これらをそれぞれ日向および暗所に設置し、起電力の推移を測定した。また外部抵抗を常時接続した条件下での起電力を調べるため、一定期間100 Ωの抵抗を接続し同様に起電力を測定した。

(3)小型化MFC③の作成およびヘドロの滅菌処理による発電効率の変化の検討

500 mlビーカー(直径90 mm, 高さ125 mm)を用いて、より小型化したMFC③を3種(A, B, C)作成した。それぞれ燃料として(A)200 gの滅菌していないヘドロ、(B)200 gのオートクレーブ滅菌したヘドロ、(C)滅菌したヘドロ195 g(97.5%)と滅菌していないヘドロ5 g(2.5%)を混合したものを、電極についてはMFC②と同じ仕様のもを小型化して用いた。

3.2 培地および細菌の単離

MFCに用いたヘドロ中に存在する細菌の培養には、PYL寒天培地または比較対象としてLB寒天培地を用いた。PYL培地の組成は以下の通りである³⁾。

PYL培地の組成(1Lあたり)

乾燥酵母エキス	1 g
ポリペプトン	5 g
乳酸ナトリウム	2 g
Basal salt solution	10 mL

これらを蒸留水に溶解した後pH7.0に調整し、オートクレーブ滅菌してPYL培地を作成した。またPYL寒天培地には、さらに1.5%の精製寒天を添加した。ここで用いたBasal salt solutionおよびTrace element solutionは以下の組成からなる。

* Basal Salt solution(1Lあたり)

エチレンジアミン四酢酸水素三ナトリウム	4.12 g
硫酸鉄(II)七水和物	1.11 g
硫酸マグネシウム七水和物	24.65 g
塩化カルシウム二水和物	2.94 g
塩化ナトリウム	23.4 g
Trace element solution	10 mL

*Trace element solution(500 mLあたり)

硫酸マンガン(II)四水和物	5.58 g
硫酸亜鉛七水和物	1.44 g

硝酸コバルト(Ⅱ)六水和物	1.46 g
硫酸銅(Ⅱ)五水和物	1.26 g
モリブデン(Ⅳ)酸二ナトリウム二水和物	1.21 g
ホウ酸	1.55 g
エチレンジアミン四酢酸水素三ナトリウム	20.6 g

発電中のMFCからアノード付近のヘドロ、またカソード周囲のヘドロ上清(水層)をそれぞれ少量採取し、 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} 倍に希釈して、PYLまたはLB寒天培地上で好気培養または嫌気性培養を行った。嫌気性培養には、酸素吸収・炭酸ガス発生剤アネロパック・ケンキ(三菱ガス化学株式会社)を用いた。これらの条件で25℃、1~2週間培養を行い、得られたコロニーをカウントした。またこれらのコロニーをグラム染色およびDNAの抽出に用いた。

3.3 グラム染色

グラム染色は細菌の分類に用いられる染色法であり、これにより紫色に染まるものをグラム陽性菌、強く染色されず淡紅色に見えるものをグラム陰性菌と判定する。この違いは、それぞれの細菌における細胞壁の構造の違いによる。ここでは、コントロールとしてグラム陽性である黄色ブドウ球菌およびグラム陰性である大腸菌を用いて、MFCから単離された細菌のグラム染色による分類を行った。細菌を滅菌水で希釈後スライドガラス上に火炎固定し、グラム染色液(武藤化学、グラムカラーFキット)を用いて染色を行った。

3.4 DNAの抽出および16SrRNA遺伝子に基づく系統解析

発電中のMFCのヘドロから単離された細菌について、DNAの抽出および16SrRNA遺伝子に基づく系統解析を以下のように行った。細菌からのDNA抽出・精製にはNucleospin tissueキット(MACHERY-NAGEL社)を使用した。得られたDNAを鋳型とし、16SrRNA遺伝子に対する二種のプライマーセット①10F/800Rと②800F/1500R(表1)を用いて以下の条件でPCRを行った。

PCR反応(50 μ L)

DNAポリメラーゼ(TaKaRa Ex taq)	0.25 μ L
10× PCR Buffer	5 μ L
dNTP mix(各2.5 mM)	4 μ L
10 μ M FW プライマー(10Fまたは800F)	5 μ L
10 μ M RVプライマー(800Rまたは1500R)	5 μ L
DNA	5 μ L
超純水	25.75 μ L

反応条件：94℃ 2分→(94℃ 30秒、58℃ 1分、72℃ 1分)×32サイクル→72℃ 1分

名称	配列(5'→3')
10F	GTTTGATCCTGGCTCA
800R	TACCAGGGTATCTAATCC
800F	GGATTAGATACCCTGGTA
1500R	TACCTTGTTACGACTT

表1. 使用したプライマー配列

1.0%アガロースゲル電気泳動によりこれらのPCR産物において特異的な増幅が見られることを確認し、同じ条件で反応液量を100 μ LにスケールアップしてPCR反応を行った。1.0%アガロースゲルで電気泳動を行った後、目的のサイズのバンドをゲルから切り出し、Nucleospin Gel and PCR Clean-upキット(MACHERY-NAGEL社)を用いてPCR産物の精製を行った。PCR反応で使ったものと同じプライマーを用いて、このPCR産物の両鎖の塩基配列を解析した(塩基配列解析はユーロフィンジェノミクス株式会社に委託した)。この解析により得られた塩基配列をNCBI(National Center for Biotechnology Information)データベースと照合し、細菌種を同定した。

4. 実験結果および考察

4.1 ヘドロを用いたMFCの作成およびその電池性能の測定

(1) MFC①の試作および光照射の有無による発電効率の変化の検討

ここではまずアノード・カソード共に電気抵抗が少なく電気伝導率に優れた炭素材を使用し、カソードは吊り下げ式とする一層式のMFC①を試作した。採取したヘドロ(約1.7L)を用いてこのMFC①を2つ作成し、日向と暗所に設置した。それぞれのMFCの起電力を約2か月間測定した。この間得られた最大の起電力は日向に設置したMFCで143 mV、暗所に設置したMFCで180 mVであり大きな差は見られなかった。しかしながら測定期間中にカソードに用いた炭素材の自然破砕や銅線の腐食がおこったため、この時点で測定を中止した。

(2) 改良型MFC②の作成および外部抵抗の常時接続による発電効率の変化の検討

上の結果から、より長期の使用に耐えられるよう、MFC装置にいくつかの改良を行った。吊り下げ式であったカソードの位置を固定化すると共に、電極と導線の接続部の腐食を防ぐため、電極に炭素棒を接続し、この炭素棒と導線との接続部をポリマーで保護する措置を行った。等量(約1.7L)のヘドロを用いた改良型MFC②を2つ作成し、それぞれ日向および暗所に設置し、約3か月間起電力を測定した(図3)。この測定期間において得られた最大起電力はそれぞれ573 mV(日向)、355 mV(暗所)であった。また期間全体を通して日中に自然光のあたる日向条件下のほうが、暗所より発電効率が高いことが示された。これはこれまでの知見とも一致した結果であり、光合成細菌が発電に関与している可能性が考えられる。

通常のMFCにおける起電力測定では、回路に外部負荷を接続しない状態に保つことが多いが、実用化の観点からは、常に外部負荷が接続された状態でどれだけの起電力が得られるかということも重要である。そのため、MFC②においては、設置後4~12日、27~32日、41~46日の期間に計3回100 Ω の抵抗を接続し、起電力への影響を検討した。これまでの検討により、ヘドロを用いた

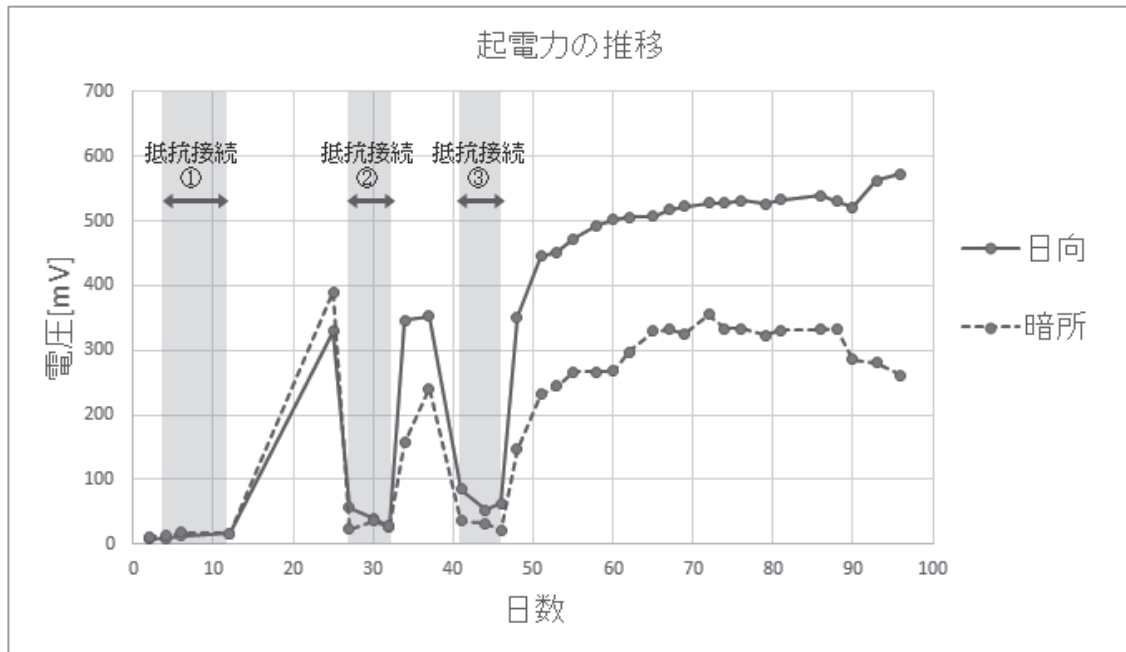


図3. 日向および暗所に設置したMFC②の起電力の推移

MFCにおいて作成直後はほとんど発電が見られず、1~2週間程度で起電力の上昇が見られ、その後安定した推移を示すことが知られている。このことはMFCの出力上昇には十分な電荷の蓄積が必要であることに加え、微生物の増殖が関与していることを示唆していると考えられる。しかしながら設置後4~12日に抵抗器を接続したところ、この間起電力はほとんど上昇しなかった。そのため一旦抵抗を外し、その後抵抗を接続しない状態を保つと、2週間後には起電力の十分な上昇が見られた。その後、約1週間ごとに5日間抵抗器を接続したところ、抵抗器の接続により起電力は大きく減少することが明らかとなった。抵抗器を外すと、起電力は速やかに回復した。

また電子産生微生物から電極への電子の受け渡しにはメディエーターが関与する場合があることが知られており、従来のMFCでは外来的にメディエーターを添加することで高出力化を図ることが多かった。しかし近年メディエーターを必要としないMFCについても研究が進みつつあり、細菌からの分泌物がメディエーターとして機能する場合や細菌自体が直接電極への電子伝達を行う場合があることが明らかになっている^{4),5)}。今回のMFCでは装置の維持に必要なのは適宜水を加えヘドロ上部の水層を保つことのみであり、その他にメディエーターや有機物を加えることなく、長期間の発電が見られた。このことは実用化を考える上で大きなメリットであると考えられる。

これらの結果から、今後の測定にはMFC②で用いたものと同じ仕様の電極を使用し、また抵抗器を常時接続しない方式で発電効率を検討することとした。

(3) 小型化MFC③の作成およびヘドロの滅菌処理による発電効率の変化の検討

ヘドロ中の微生物が実際に発電に関与しているかを検討するため、ヘドロをオートクレーブ滅菌(121℃、20分)することで電池性能に変化があるかを調べた。MFC②と同様の仕様の電極を小型化したものを使用し、500 mlビーカーサイズに小型化したMFC③を三種作成した。それぞれの燃料として、(A)200 gの滅菌していないヘドロ、(B)200 gのオートクレーブ滅菌したヘドロ、(C)滅菌したヘドロ97.5%(195 g)と滅菌していないヘドロ2.5%(5 g)を混合したもの計200 gを用いた。

またこれらのMFCからヘドロを採取し嫌気性培養を行ったところ、(A)、(C)では細菌のコロニーが見られたのに対し、(B)ではコロニーが確認されなかった。このことから、オートクレーブ処理により、ヘドロ中の細菌に対しても十分な滅菌効果が得られることが確認された。

ここではMFC(A)、(B)、(C)の電池性能をより詳細に検討するため、1~100 k Ω の抵抗値を示す23個の抵抗を備えた可変抵抗器を用いて電流・電圧・電力特定曲線を作成し、それぞれ最大電力と内部抵抗を求めた。内部抵抗値が小さいほど、電池としての性能は高いと言える。この測定期間における最大電力と内部抵抗の推移を以下に示す(図4、図5)。この結果、3つのMFCのうち滅菌したヘドロを用いたMFC(B)で最も最大電力値が低く、また内部抵抗は最も高い値となった。すなわちこのMFCにおける発電には、ヘドロ中の細菌の関与が必要であることが示された。また、MFC設置時点においてはMFC(C)ではMFC(A)に比較して生存している細菌の量ははるかに少ないにも関わらず、最終的には最大電力、内部抵抗ともに(A)と同等の値を示した。前述のようにヘドロを用いたMFCにおいては、起電力が立ち上がるために通常1~2週間を要するが、この期間はMFC設置後、発電に関与する細菌が増殖し発電環境が整うのに必要な時間である可能性が考えられる。

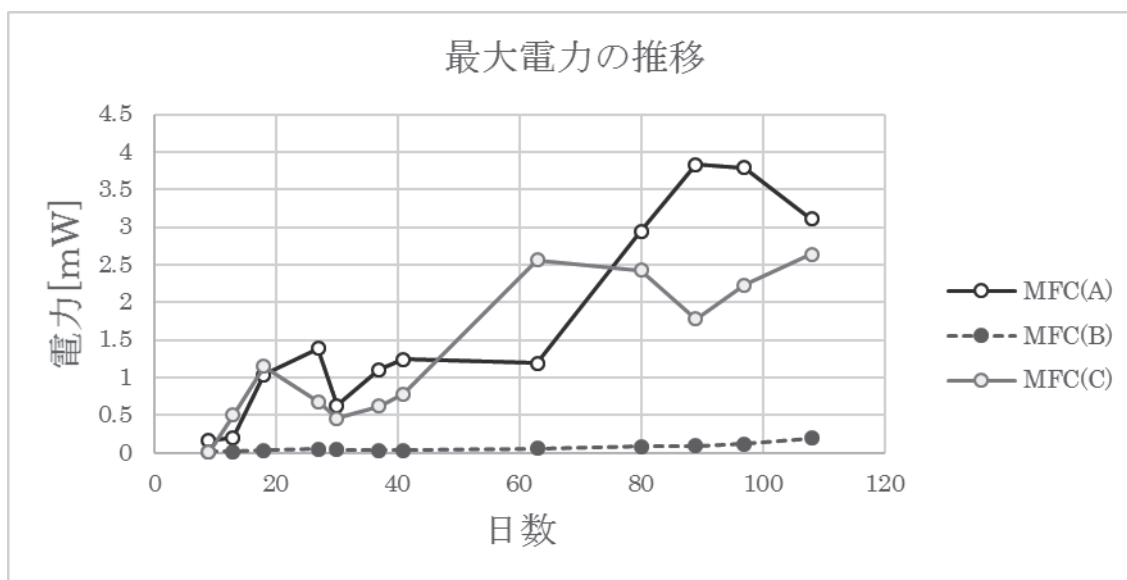


図4. MFC(A:未滅菌ヘドロ)、(B:滅菌ヘドロ)、(C:滅菌・未滅菌ヘドロ混合)における最大電力の推移

今回の結果は、当初の細菌数が少なくとも測定期間中に十分に細菌が増殖したため、最終的には同程度の発電効率を示したのではないかと考えられる。

4.2 MFC中に存在する細菌の単離およびグラム染色

発電中のMFC②(日向、暗所)からアノード付近のヘドロ、またカソード周辺のヘドロ上清(水層)をそれぞれ少量採取し、 10^{-2} 、 10^{-3} 、 10^{-4} 倍に希釈してPYL寒天培地上またはLB寒天培地上で培養を行った。どちらの培地を用いた場合も、好気培養では無数の細菌が増殖してコロニーの単離が困難であったが、嫌気性条件下で培養を行うと十分な数のコロニーを単離することができた。一方上清からはコロニーは単離されなかった。LB培地に比べPYL培地を用いた方がコロニーの生育がよいという結果が得られたので、今後の培養にはPYL培地を用いることとする。PYL培地を用い

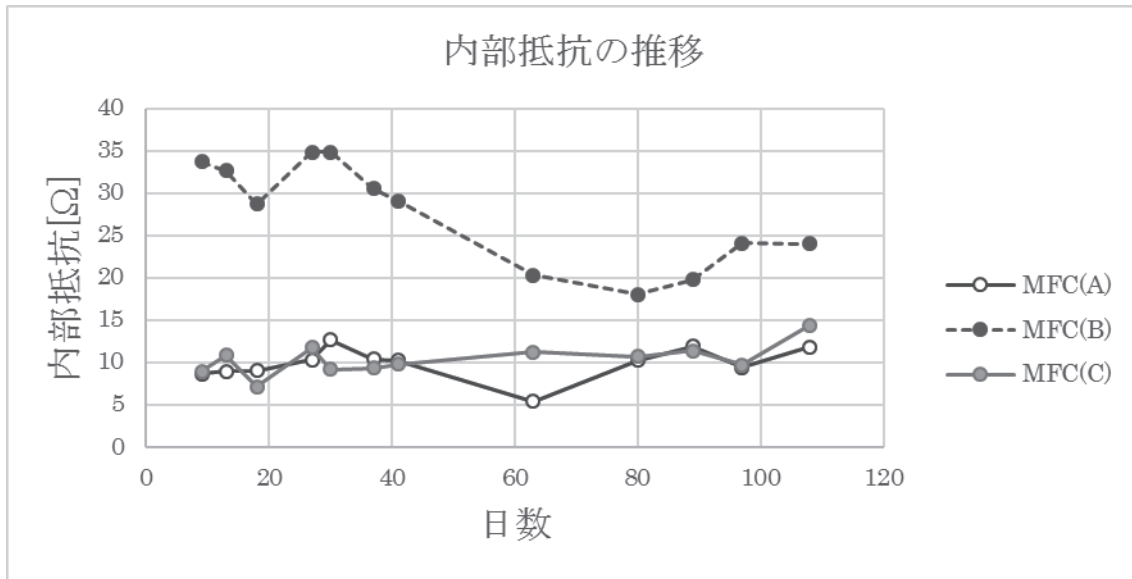


図5. MFC(A:未滅菌ヘドロ)、(B:滅菌ヘドロ)、(C:滅菌・未滅菌ヘドロ混合)における内部抵抗の推移

た場合のコロニー数から概算したヘドロ中の細菌数は、日向、暗所MFCともに約 5×10^5 CFU/mlであった。しかし、これはあくまでもこの培養条件に適合し生育することができた細菌数の概算であり、元のヘドロ中に存在した菌数を知るには、さらに他の方法(蛍光色素染色法を用いた直接検鏡法など)を用いる必要があると考えられる。

この方法で単離されたPYL寒天培地上のコロニーから外観(色、形状など)の異なるものをいくつか選んでグラム染色を行った。その結果、グラム陽性桿菌(図6)が最も多く見られたが、その他にグラム陽性球菌、グラム陰性桿菌、またグラム陰性球菌も見られた。これらのうち16サンプルについて、DNAの抽出および16SrRNA遺伝子領域を用いた系統分類を行った。



図6. 単離されたグラム陽性桿菌(60 x)

4.3 DNAの抽出および16SrRNA遺伝子に基づく系統解析

前述の方法で発電中のMFCのヘドロから単離された細菌について、DNAの抽出および16SrRNA遺伝子に基づく系統解析を行った。細菌からDNAを抽出し、16SrRNA遺伝子領域に対する二種のプライマーセット①10F/800Rと②800F/1500Rを用いてPCRを行った。1.0%アガロースゲル電気泳動により特異的なPCR産物の増幅を確認した後、100 μ LのPCR産物を再びアガロースゲルで電気泳動し、目的のサイズのバンドをゲルから精製した。PCR反応と同じプライマーを用いてこのPCR産物の両鎖の塩基配列を解析し、得られた塩基配列をNCBIデータベースと照合した結果、今回解析した16サンプルについて相当する細菌種を同定することができた。そのうち大半(12サンプル)が特定のグラム陽性桿菌属に相当することがわかった。この細菌は発電との関連が報告されており⁶⁾、今回用いたMFCでの発電にも関与していることが考えられる。またその他のDNAサンプルはまた異なるグラム陽性桿菌に相当することが示された。しかし、今回の単離培養の結果グラム

陽性桿菌以外の細菌種も確認されていること、また発電に関与する細菌は一種類とは限らず、複数の細菌が協調的に作用することも示唆されていることから、今後これ以外の細菌の関与についても検討したい。

5. まとめ

本研究により、河川堆積物(ヘドロ)を燃料として長期にわたり発電効果が得られるMFCが作成された。いくつかの改良の結果、燃料として200gのヘドロを用いた場合600~700 mV程度の起電力が得られることが示された。このMFCは特別な装置を必要とせず作成することができ、また維持に必要とされるのは水分を枯渇させないことのみでありメディエーターの添加を必要としないなどのメリットがあるため、実用化に向けての意義は大きいと考えられる。

また滅菌したヘドロを用いたMFCでは電池性能は極めて低い状態にとどまったことから、発電に細菌が関与していることが示された。PYL培地を用いた嫌気性培養により、発電中のMFCのヘドロから細菌を単離することができた。グラム染色の結果、これらの多くはグラム陽性桿菌であったが、その他にグラム陽性球菌、グラム陰性桿菌、グラム陰性球菌も見られた。さらにこれらの細菌からDNAを抽出し、16SrRNA遺伝子に基づく系統解析を行ったところ、今回解析を行った16サンプルのうち大半が特定のグラム陽性桿菌属に相当することがわかった。この細菌は発電との関連が報告されており、今回用いたMFCでの発電にも関与していることが考えられる。また日中に自然光のあたる日向条件下のほうが、暗所より発電効率が高いことが示されたことから、光合成細菌が発電に関与している可能性が考えられる。しかしながら、今回の解析では光合成細菌は検出されなかった。光合成細菌の吸収する特定の波長の光を照射するなどの方法で、さらに光合成細菌の関与についても調べていきたい。

一般に土壌からの細菌培養は困難な点が多く、単一の方法のみでは検出できる細菌が限定されるため、今後異なる培養法を検討する他、サンプル中に存在する細菌群集を直接解析することのできるPCR-DGGE (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis) 法なども用いて、MFCにおける発電にどのような細菌(群)が関与しているのか、より詳細に検討していきたい。また今回検討に用いたMFCでは、発電を続けるにつれ特有の臭気が減少するという効果が得られたが、臭気成分の分析にまで至らなかった。今後、発電効果と水質改善効果の関係についてもさらに検討していきたい。

謝辞

本研究を遂行するにあたり、ご協力いただいた愛知工業大学工学部機械学科中山雄行先生および学生の方々に御礼申し上げます。

参考文献

- 1) Watanabe, K. 2008. Recent developments in microbial fuel cell technologies for sustainable bioenergy. *J. Biosci. Bioeng.* 106:528-536
- 2) Kouzuma, A., Hashimoto, K., and Watanabe, K. 2009. Extracellular electron transfer mechanisms of *Shewanella oneidensis* that facilitate current generation in microbial fuel cells. *J. Environ. Biotechnol.* 19: 105-108

- 3) 北海道低温科学研究所日本光合成研究会共編 2008. 光合成研究法. 低温科学, 67;1-7
- 4) Rabaey, K. R. and Verstraete, W. 2005. Microbial fuel cells: novel biotechnology for energy generation. *TRENDS in Biotechnol.* 23:291-298
- 5) Logan, B. E. and Regan, J. M. 2006. Electricity producing bacterial communities in microbial fuel cells. *TRENDS in Biotechnol.* 14:512-518
- 6) Park, H. S., Kim, B.H., Kim, H. S., Kim, G. T., Chang, I. S., Park, Y. K., Chang, H. I. 2001. A novel electrochemically active and Fe(III)-reducing bacterium phylogenetically related to *Clostridium butyricum* isolated from a microbial fuel cell. *Anaerobe*, 7: 297-302