

阳极电势对 *Geobacter sulfurreducens* 产电性能的影响

曹效鑫, 范明志, 梁 鹏, 黄 霞

(清华大学环境科学与工程系环境模拟与污染控制国家重点实验室, 北京 100084)

摘要 以产电模式菌 *Geobacter sulfurreducens* 为研究对象接种两瓶型微生物燃料电池 (MFC) 阳极室, 利用恒电位仪控制阳极电势, 考察了 7 种电势条件下 MFC 的启动期、最大功率密度和阳极生物量的变化情况. 研究表明, 当阳极电势为 -250, -100 和 50 mV (v_{vs} SCE) 时, MFC 启动较快, CV 曲线和极化曲线表明, 在这 3 种电势条件下, MFC 产电性能增强, 其中阳极电势为 -100 mV 时, MFC 最大功率密度为 1.67 W/m^3 , 比固定外阻条件下启动的 MFC 最大功率密度提高了 5 倍. 控制合适的阳极电势可以使阳极生物量提高 2.5 ~ 3 倍.

关键词 微生物燃料电池; *Geobacter sulfurreducens*; 阳极电势

中图分类号 O646.5

文献标识码 A

文章编号 0251-0790(2009)05-0983-05

微生物燃料电池 (Microbial fuel cell, MFC) 是近年发展起来的一种新型污水处理技术, 它能够利用微生物的作用, 在降解有机污染物的同时回收部分电能, 因此受到广泛的关注^[1-3]. 从 2002 年至今, 制得的 MFC 的输出功率密度提高了近千倍, 但是输出功率的提高, 主要是结构和材料等非生物部分优化, 如阴极的优化^[4] (阴极催化剂^[5]、电子受体^[6])、中间质子膜的代替^[7]、反应器结构^[8,9] 和操作条件的优化等^[10,11] 的贡献, 而对于 MFC 区别于其它燃料电池最核心的阳极, 目前还没有有效的强化手段, 一般采用自然接种挂膜的方法.

在 MFC 中, 产电微生物氧化有机物并传递电子到阳极, 阳极既是产电微生物的电子受体又是 MFC 阴极的电子供体, 其电势的高低对于产电微生物的生长代谢和 MFC 的电能输出具有重要影响, 因此电极电势的调控可能成为强化 MFC 产电性能的一个有效手段. 相关研究表明, 不同的电极电势会改变细胞的表面特性及世代时间^[12,13] 等. 目前 MFC 中对于电极电势的作用还不清楚, 需要进一步研究^[14-16]. 在文献 [14 ~ 16] 的研究中均采用混合污泥, 因此限制了对于作用机理的解释.

本文以产电纯菌 *Geobacter sulfurreducens* 接种 MFC 阳极, 设置 7 种电势梯度, 考察了阳极电势对 MFC 的启动时间、最大输出功率和阳极生物量的影响, 研究结果表明存在最佳电势范围, 在本实验条件下阳极电势为 -100 mV 时可以有效地提高 MFC 的产电性能.

1 实验部分

1.1 实验装置和过程

采用两瓶型 MFC (图 1), 阳极室和阴极室为侧壁开口的广口玻璃瓶, 容积为 300 mL. 两瓶侧壁过水口长度约为 3 cm, 口径 2 cm, 分别与法兰连接后, 将阳离子交换膜 (CM F7000, Membranes International, Inc, USA) 固定在两块法兰中间以分隔阳极室和阴极室. 阳离子交换膜的有效面积为 3.1 cm^2 , 使用前用 0.1 mol/L HCl 溶液浸泡 1 h, 然后用无菌去离子水清洗干净. 阳极室和阴极室用橡胶塞密封, 橡胶塞上有 4 个孔, 分别用于放置饱和甘汞参比电极 (SCE, +0.242 V v_{vs} 标准氢电极, 如无特别说明, 以下所有电势数据均相对于本甘汞电极)、石墨杆 (直径 5 mm, 三业碳素有限公司, 北京)、进

收稿日期: 2008-07-24

基金项目: 国家“八六三”计划 (批准号: 2006AA062329) 和国际科技合作项目 (批准号: 2006DFA91120) 资助.

联系人简介: 黄 霞, 女, 博士, 教授, 主要从事污水生化处理研究. E-mail: xhuang@tsinghua.edu.cn

水管和出水管。阳极和阴极材料均为碳毡(孔隙率约为 95%, 孔径 50~200 μm , 三业碳素有限公司, 北京)。使用前, 先将碳毡切成相同尺寸(2 cm \times 2 cm, 厚度 1 cm), 在 1 mol/L HCl 溶液中浸泡 1 h, 然后用去离子水清洗干净。MFC 各组件经灭菌后在超净台组装。

阳极室以 *Geobacter sulfurreducens* 接种, 菌种购自德国菌种保藏中心(DSMZ), 以 NaAc (1.64 g/L) 为基质严格厌氧培养至菌浓度约为 10^8 个/mL。阳极液为 PBS 缓冲体系, 其成分为 4.4 g/L KH_2PO_4 ; 3.4 g/L K_2HPO_4 ; 0.5 g/L NaCl; 0.1 g/L $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$; 0.1 g/L $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; 0.1 g/L KCl 运行前向阳极液中加入 1.64 g/L NaAc 作为电子供体。阳极和阴极均用磁力搅拌器(81-2型, 司乐仪器有限公司, 上海)搅拌使溶液充分混合, 避免传质限制。所有实验组均设置重复实验, 实验温度控制在 (30 ± 0.5) 。

半电池控制阳极电势启动时, 阴极液采用与阳极液相同的缓冲体系, MFC 与恒电位仪(MSTAT800, 阿滨仪器有限公司, 天津)相连, 采用三电极体系, 阳极为工作电极, 阴极为对电极, SCE 为参比电极, 通过恒电位仪记录 MFC 阳极半电池的输出电流。全电池模式启动时, 阴极溶液在缓冲溶液的基础上加入 $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 作为电子受体, 浓度为 16.5 g/L, MFC 阴阳极与可调电阻箱(ZX21 型, 天水长城精密电表厂, 甘肃)相连, 外电阻设为 2000 Ω 。

1.2 分析方法

采用循环伏安曲线(CV 曲线)表征阳极的电化学活性。测量时采用三电极体系, 阳极作为工作电极, 阴极作为对电极, SCE 作为参比电极。测定 CV 曲线时, 电势扫描范围为 -500 ~ 500 mV, 扫描速度为 1 mV/s, 重复扫描 5 次, 使 CV 曲线达到稳定。

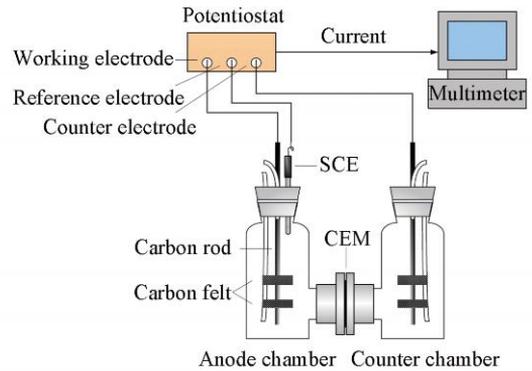
采用线性扫描法确定 MFC 的极化曲线。先将 MFC 外电路断开至稳定, 然后利用恒电位仪控制输出电压 U (V), 以 1 mV/s 的速率递减, 同时记录输出电流 I (A)。功率密度 P (W/m^3) 根据公式 $P = UI/V$ 计算得到, 其中, V 是阳极室体积。分别作 U - I 和 P - I 曲线得到 MFC 的极化曲线和功率密度曲线, 将极化曲线的线性段做直线拟合, 得到的斜率为 MFC 的内阻。

利用脂磷法测定阳极生物量^[17]。首先, 将阳极碳毡剪碎置于 100 mL 分液漏斗中, 分别加入 15 mL 氯仿、30 mL 甲醇和 12 mL 去离子水。振荡并静置 2 h 后, 向混合液中再加入 15 mL 去离子水和 15 mL 氯仿, 放置 24 h 使溶液分层; 然后, 将下层脂相放出, 利用旋转蒸发器于 40 $^\circ\text{C}$ 蒸干, 然后用少量氯仿溶解转移至 10 mL 比色管中, 并用氮气吹脱溶剂。最后, 在比色管中加入 4 mL 过硫酸钾溶液, 于 121 $^\circ\text{C}$ 加热消解 30 min, 用钼锑抗分光光度法测定 P 的含量。

2 结果与讨论

2.1 阳极电势对 MFC 启动期的影响

以 *Geobacter sulfurreducens* 为接种菌, 同时启动 7 组 MFC, 其中 6 组 MFC 控制恒定的阳极电势, 分别为 -500 mV (R_{-500}), -400 mV (R_{-400}), -250 mV (R_{-250}), -100 mV (R_{-100}), 50 mV (R_{50}) 和 160 mV (R_{160}), 第 7 组 MFC (R_{ohm}) 在固定外阻 (2000 Ω) 条件下启动作为对照条件。接种后, 各反应器的输出电流和阳极电势的变化如图 1 所示。 R_{ohm} 经过 1 d 的运行后, 输出电流从 0 增加至 0.3 mA, 相应得到的阳极电势迅速从 200 mV 下降至 -400 mV, 完成阳极的启动过程。随后, 阳极电势基本保持稳定, 但是呈现缓慢上升的趋势, 这可能是由于阳极溶液 pH 的变化引起的。在控制阳极电势的条件下, R_{-250} , R_{-100} 和 R_{50} 的输出电流在第 1 天有一个明显的增加, 从 0 增加至 0.5 ~ 1.5 mA。第 4 天用 1 mol/L NaOH 溶液将阳极 pH 调整至 7.5 ~ 8 后, 上述三者的输出电流迅速增加, 最大可达到 7 mA, 这在类似的反应器条件下是较高的^[18]。在较大的电流条件下, 由于阳离子膜对



Scheme 1 "H" typed MFCs used in the experiment

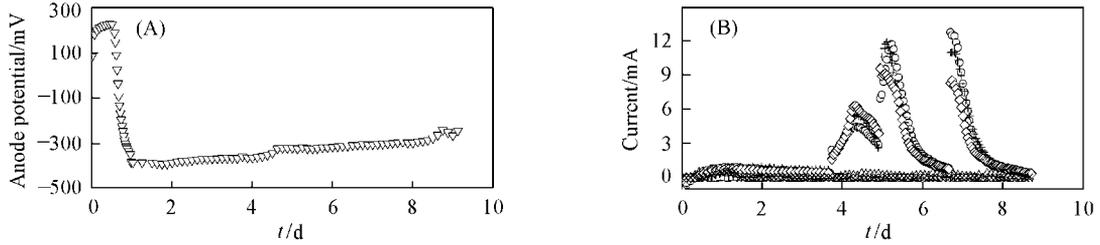


Fig 1 Effect of poised potential on start-up of MFCs

(A) ∇ R_ohm; (B) \square R_- 500; \square R_- 400; \square R_- 250; \square R_- 100; \square R_50; \times R_160.

质子透过的非特异性, 阳极溶液的 pH 迅速降低, 使得电流的变化出现先增后减的现象, 这与文献 [19] 的结果一致. 经过第 5 天和第 7 天两次调整 pH 后, 最大输出电流基本不变, 表明阳极产电性能基本稳定. 此外, R_- 500, R_- 400 和 R_160 的输出电流在实验中始终没有发生明显变化, 说明在 -500, -400 和 160 mV 的阳极电势条件下, *Geobacter sulfurreducens* 的产电受到了抑制. 以上的研究结果表明, 用纯菌接种阳极时, 阳极电势对启动期有显著影响, 在本实验条件下, -250, -100 和 50 mV 的阳极电势有利于 *Geobacter sulfurreducens* 的产电, 启动期最短.

2.2 阳极电势对 MFC 产电性能的影响

利用 CV 曲线可定性考察 MFC 阳极的电化学活性^[20]. 当 7 组 MFC 在各自启动条件下运行 15 d 后, 分别测定阳极的 CV 曲线 (图 2). R_- 250, R_- 100 和 R_50 的 CV 曲线在 -300 mV 附近出现明显的氧化峰和还原峰, 说明在这 3 种电势条件下, 微生物的电化学活性得到显著增强. 而其它几组 MFC, 相比上述 3 种电势条件, CV 电流明显降低, 且没有明显的氧化峰, 说明在这些条件下, 微生物电化学活性较弱. 此外, 由于 *Geobacter sulfurreducens* 的电子传递机理是不依赖于介体的直接电子传递, CV 曲线中峰的位置可以定性表明电子传递体的氧化还原电位, 在 R_- 250, R_- 100 CV 曲线中, 峰位置基本相同, 说明电子传递体是相同的, 但在 R_50 条件下, 则显示出明显的双峰, 说明 *Geobacter sulfurreducens* 在电子传递机制上的多样性.

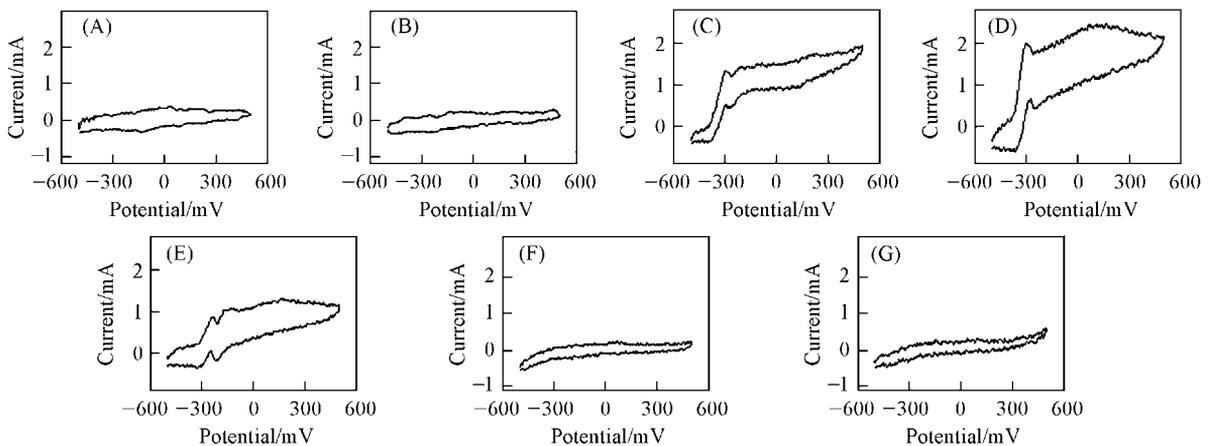


Fig 2 CV curves of the anodes under different poised potentials

(A) R_- 500; (B) R_- 400; (C) R_- 250; (D) R_- 100; (E) R_50; (F) R_160; (G) R_ohm.

在各半电池的对电极室中加入 $K_3Fe(CN)_6$ 阴极液使之成为全电池 MFC, 利用线性扫描法测定其极化曲线和功率密度曲线, 如图 3 所示. 与上述结果相似, R_- 250, R_- 100 和 R_50 的产电性能明显优于其它几组 MFC, 其中, R_- 100 的产电性能最好, 最大功率密度为 $1.67 W/m^3$. 由表 1 可以看出, 7 组 MFC 功率密度之间的差异主要是由内阻引起的, 而阴极使用的 $K_3Fe(CN)_6$ 溶液性能稳定, 因此可以推断阳极内阻的差异是造成 7 组 MFC 产电性能不同的主要原因. 以上结果表明, 通过控制阳极电势可以有效地提高 MFC 的产电性能.

在 MFC 中, 产电微生物从电子的传递过程中获得能量, 微生物在电子从体内传递到阳极的过程中获得的能量越多, 生长越快^[14,21]. 通常, 微生物的电子传递链是由多种电子传递体组成的, 不同电子

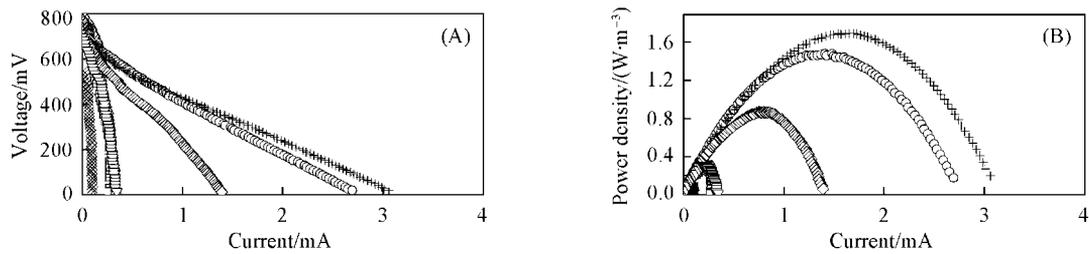


Fig 3 Electricity generation by MFCs with anodes previously poised at different potentials

(A) Polarized curves; (B) power density curves R_- - 500; R_- - 400; R_- - 250;
+ R_- - 100; R_50 ; $\times R_{160}$; ∇R_{ohm} .

Table 1 Comparison of internal resistance and maximal power density

| MFC | Internal resistance / | $P_{max} / (W \cdot m^{-3})$ | MFC | Internal resistance / | $P_{max} / (W \cdot m^{-3})$ |
|-------------|-----------------------|------------------------------|-----------|-----------------------|------------------------------|
| R_- - 500 | 2590 | 0.26 | R_50 | 487 | 0.86 |
| R_- - 400 | 2811 | 0.32 | R_{160} | 5738 | 0.12 |
| R_- - 250 | 245 | 1.45 | R_{ohm} | 2009 | 0.28 |
| R_- - 100 | 217 | 1.67 | | | |

传递体按照电势从低到高的顺序依次排列,从而使电子在传递过程中能够逐级均匀地释放能量,保证微生物体内能量系统的稳定. 产电微生物在阳极的能量获取来自于两部分:(1)电子在原有电子传递系统中传递时释放的能量;(2)电子从体内电子传递体到阳极时释放的能量. 虽然提高阳极电势有可能增加第二部分代谢能量,但由于电势对酶的“开关”效应和呼吸链逐级传递的原因,因此,微生物可能会倾向选择更适合电子传递的阳极电势,而不一定是最高的阳极电势. 当阳极电势与电子传递链中电子传递体的电位匹配时,微生物对酶系统的调整较小,可以更快更顺利地实现产电过程. 文献[14, 16]中强调阳极电势越高,微生物获得的能量越大,必须存在一个前提,即在传递相同电量的情况下. 本文的实验结果表明,过低(R_- - 500 mV, R_- - 400 mV)和过高(R_{160} mV)的阳极电势都不利于产电,存在最佳的电势范围,同时 CV 的结果显示,在不同的电势条件下氧化还原峰略有差异,表明可能有不同的电子传递机制,这也符合 *Geobacter sulfurreducens* 基因组测序的预期.

2.3 阳极电势对于阳极生物量的影响

7组 MFC 运行 20 d 后,测定阳极上的生物量,实验结果表明, R_- - 500 和 R_{ohm} 的阳极生物量(每克碳毡含 $1.8 \sim 1.4 \mu\text{g P}$)明显低于其它 5 组 MFC 的阳极生物量(每克碳毡含 $3.6 \sim 4.3 \mu\text{g P}$),说明通过控制电势可以促进 *Geobacter sulfurreducens* 在阳极上的附着和生长. 当电子传递过程受到抑制时,微生物无法获得足够的代谢能量,生长缓慢. 此外,比较 R_- - 400, R_- - 250, R_- - 100, R_50 和 R_{160} 还可以看出,该 5 组 MFC 的阳极生物量差异不大,即阳极生物量并不完全由阳极电势决定,由前面的分析可知,阳极生物量还受到传递总电量的影响.

3 结 论

考察阳极电势对 *Geobacter sulfurreducens* 产电性能的影响,得到如下结论:(1)不同电势对于启动影响显著,阳极电势为 -250, -100 和 50 mV (v_{vs} SCE) 时, MFC 的启动较快;(2)在上述 3 种电势条件下, MFC 产电能力增强,其中,阳极电势为 -100 mV 时性能最好,最大功率密度为 1.67 W/m^3 ;(3)控制合适的阳极电势可以使阳极生物量提高 2.5 ~ 3 倍.

参 考 文 献

- [1] Rabaey K., Verstraete W. Trends Biotechnol [J], 2005, 23(6): 291—298
- [2] Logan B. E., Regan J. M. Environ. Sci. Technol [J], 2006, 40(17): 5172—5180
- [3] Lovley D. R. Nat. Rev. Microbiol [J], 2006, 4(7): 497—508
- [4] Cheng S., Liu H., Logan B. E. Electrochem. Commun [J], 2006, 8(3): 489—494
- [5] Zhao F., Hamisch F., Schroder U., et al. Electrochem. Commun [J], 2005, 7(12): 1405—1410
- [6] ZHAN Ya-Li(詹亚力), WANG Qin(王琴), YAN Guang-Xu(闫光绪), et al. Chem. J. Chinese Universities(高等学校化学学报)

- [J], 2008, **29**(3): 559—563
- [7] Liu H., Logan B. E. Environ Sci Technol [J], 2004, **38**(14): 4040—4046
- [8] Cao X. X., Liang P., Huang X. Acta Scientiae Circumstantiae [J], 2006, **26**(8): 1252—1257
- [9] Aelteman P., Rabaey K., Pham H. T., *et al.* Environ Sci Technol [J], 2006, **40**(10): 3388—3394
- [10] Cheng S., Liu H., Logan B. E. Environ Sci Technol [J], 2006, **40**(7): 2426—2432
- [11] ZHAN Ya-Li(詹亚力), WANG Qin(王琴), ZHANG Pei-Pei(张佩佩), *et al.* Chem. J. Chinese Universities(高等学校化学学报) [J], 2008, **29**(1): 1—5
- [12] Luo Q. S., Wang H., Zhang X. H., *et al.* Appl Environ Microb [J], 2005, **71**(1): 423—427
- [13] Busamen J. P., de Sanchez S. R. Appl Environ Microb [J], 2005, **71**(10): 6235—6240
- [14] Finkelstein D. A., Tender L. M., Zeikus J. G. Environ Sci Technol [J], 2006, **40**(22): 6990—6995
- [15] FAN Ming-Zhi(范明志), LIANG Peng(梁鹏), CAO Xiao-Xin(曹效鑫), *et al.* Environ Sci (环境科学) [J], 2008, **29**(1): 263—267
- [16] Aelteman P., Freguia S., Keller J., *et al.* Appl Microbiol Biotechnol [J], 2008, **78**(3): 409—418
- [17] Findlay R. H., King G. M., Watling L. Appl Environ Microbiol [J], 1989, **55**(11): 2888—2893
- [18] Bond D. R., Lovley D. R. Appl Environ Microbiol [J], 2003, **69**(3): 1548—1555
- [19] Cho E. J., Ellington A. D. Bioelectrochemistry [J], 2007, **70**(1): 165—172
- [20] Rabaey K., Boon N., Siciliano S. D., *et al.* Appl Environ Microbiol [J], 2004, **70**(9): 5373—5382
- [21] Bond D. R., Holmes D. E., Tender L. M., *et al.* Science [J], 2002, **295**(5554): 483—485

Effects of Anode Potential on the Electricity Generation Performance of *Geobacter Sulfurreducens*

CAO Xiao-Xin, FAN Ming-Zhi, LIANG Peng, HUANG Xia^{*}

(State Key Joint Laboratory of Environmental Simulation and Pollution Control, Department of Environmental Science and Engineering, Tsinghua University, Beijing 100084, China)

Abstract The anode potential is the critical electrochemical parameter in microbial fuel cells (MFCs), which controls both the energy gain for the microorganisms and the output of MFC. This study aimed at elucidating the effects of anode potentials on the performance of electricity generation in MFC. The “H” typed MFCs using *Geobacter sulfurreducens* as the inoculum were operated at different poised anode potentials. The start-up time, maximum power density and biomass were investigated. The results showed that when operated at anode potentials of -250, -100 and 50 mV versus SCE, MFCs had shorter start-up time and higher power density. The MFC at a potential of -100 mV was proved to have the highest maximum power density of 1.67 W/m³. Also the anode potential affected the biomass.

Keywords Microbial fuel cell; *Geobacter sulfurreducens*; Anode potential

(Ed: S, D)