

环境因素对接种 *Shewanella baltica* 的微生物燃料电池产电能力的影响

梁鹏¹, 王慧勇², 黄霞^{1*}, 曹效鑫¹, 莫颖慧¹

(1. 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联合实验室, 北京 100084; 2. 河北工程大学水电学院, 邯郸 056021)

摘要:通过筛选获得1株 *Shewanella baltica*, 分别改变阳极基质种类、浓度、pH 和温度, 考察不同条件下接种该菌后 MFC 产电特性。乳酸钠作为基质时接种该菌的 MFC 产电功率密度最大, MFC 产电功率密度和基质浓度满足 Monod 模型。阳极溶液 pH 和温度对接种该菌的 MFC 产电功率密度影响最大。阳极溶液 pH 为 8 时接种该菌的 MFC 产电功率密度最大可达 $1\,236\text{ mW/m}^2$, 最大功率密度上升主要是阳极内阻和阳极电势影响所致。接种该菌的 MFC 最大产电功率密度在 50°C 达到 $1\,197\text{ mW/m}^2$, 最大功率密度随温度变化的主要原因是温度对阳极内阻的影响, $20\sim 50^\circ\text{C}$ 时 MFC 电流密度与温度满足 Arrhenius 方程。

关键词:产电微生物; 环境因素; 产电功率密度

中图分类号: X382 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2009)07-2148-05

Influence of Environmental Factors on Electricity Production by Microbial Fuel Cell Inoculation *Shewanella baltica*

LIANG Peng¹, WANG Hui-yong², HUANG Xia¹, CAO Xiao-xin¹, MO Yin-hui¹

(1. State Key Joint Laboratory of Environmental Simulation and Pollution Control, Department of Environmental Science and Engineering, Tsinghua University, Beijing 100084, China; 2. College of Hydroelectricity and Water Conservancy, Hebei University of Engineering, Handan 056021, China)

Abstract: The influences of the anodic substance, concentration, pH and temperature on the electricity production by MFCs were discussed. The lactic sodium was better than acetic sodium or glucose. The power density of MFC and the concentration of lactic sodium were well filled with Monod model. The power density was $1\,236\text{ mW/m}^2$ when the pH of anodic chamber was 8. The power density of MFC increased with the pH increasing from 6 to 8, which was due to the anodic internal resistance. The power density was $1\,197\text{ mW/m}^2$ when the temperature was 50°C . The power density of MFC changed with temperature because the anodic resistance decreased with the temperature increasing. While the temperature changed from 20°C to 50°C , the current density and the temperature were well filled in Arrhenius equation.

Key words: microbial fuel cell; environmental factors; power density

微生物燃料电池是一种集污水净化与产电为一体的新型污水处理与能源回收技术, 它利用产电微生物为催化剂, 在将底物降解的同时产生电能^[1~4]。有关微生物燃料电池的研究目前主要集中在燃料电池结构优化与产电微生物的研究两方面^[5]。

目前针对产电微生物的研究主要包括产电微生物的筛选分离、产电机理、影响微生物产电的各种环境因素等^[5]。其中, 针对具体产电微生物, 系统考察各种环境因素对其影响不够全面, 仅对不同环境因素下 MFC 产电功率密度进行简单比较。由于 MFC 产电综合了阳极产电菌产电过程、电荷传输过程和阴极反应过程, 不同环境因素对 MFC 产电的影响可能作用在不同过程, 不仅作用于产电菌产生电子的能力, 还对电荷传输和电子消耗产生影响。因此, 有必要详细考察各种环境因素对 MFC 各部分产电造成的影响。本试验首先基于研究组从厌氧污泥中分

离得到 *Shewanella baltica* 菌, 考察基质种类、浓度对接种该菌后 MFC 产电功率密度的影响, 在此基础上进一步考察 pH 和温度对提高 MFC 产电的影响, 从电势和内阻两方面明确环境因素对 MFC 产电功率密度的作用机制, 同时通过内阻比较分析确定温度对细菌产电能力和 MFC 产电的影响。

1 材料与方法

1.1 试验装置

本试验采用两室型 MFC, 具体装置见文献[6]。阳极室和阴极室为侧壁开口的广口玻璃瓶, 容积为

收稿日期: 2008-09-27; 修订日期: 2008-12-29

基金项目: 国家高技术研究发展计划(863)项目(2006AA062329); 国家自然科学基金项目(20577027)

作者简介: 梁鹏(1976~), 男, 博士, 主要研究方向为污水资源化与能源化, E-mail: liangpeng@tsinghua.edu.cn

* 通讯联系人, E-mail: xhuang@tsinghua.edu.cn

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(CMI-7000, Membranes International, Inc., USA)固定在 2 块法兰中间分隔阳极室和阴极室.阳极室加橡胶塞保证厌氧环境,并利用磁力搅拌器(HJ-2 型,常州)进行搅拌.阴极以 50 mmol/L 铁氰化钾为电子受体.阳极和阴极材料均为石墨杆加碳毡(电极间距 15 cm).两室中插入饱和甘汞电极(SCE, 212 型,上海)作为参比电极.负载采用可调电阻箱(ZX21 型,天水).

1.2 菌种的分离与确定

Shewanella baltica 菌株(如图 1 所示)由本研究组(种泥来自北京某污水处理厂污泥消化池)经厌氧滚管分离获得,种属地位由测序确定.采用酚氯仿提取基因组 DNA,使用引物为 8F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') 和 1492R (5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3')进行 PCR 扩增反应,胶回收扩增产物后进行酶切和 t 载体转化至大肠杆菌感受态细胞,最终提取大肠杆菌质粒进行 16S rDNA 的测序工作,测序结果提交 GenBank 进行序列比对,与 *Shewanella baltica* 同源性达 99%,确认该产电菌为 *Shewanella baltica*.图 1 是处于分裂期的 *Shewanella baltica* 透射电镜照片(日立 H-600,加速电压 100 kV).

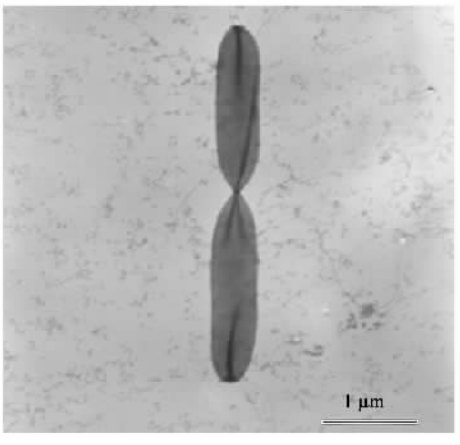


图 1 *Shewanella baltica* 透射电镜照片

Fig.1 Electron microscope picture of *Shewanella baltica*

1.3 菌种的扩大培养与接种

Shewanella baltica 菌首先利用牛肉膏蛋白胨基质于摇床上振荡培养(120 r/min, 30℃)48 h(此时微生物处于对数期末期),然后取 100 mL 菌悬液 10 000 r/min 离心 5 min,弃去上清液,加灭菌生理盐水洗涤 2 次,消除培养基的影响,再无菌接种至反应器中,进行环境条件的相关试验研究.

以不同的阳极基质运行反应器,直到微生物稳定产电.基质中(mg/L): NH_4Cl 500, KH_2PO_4 600, KCl 100, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 100, $\text{MgCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 100, 保持不变.

1.4 测试与计算方法

输出电压 U 、阳极电势 U_a 、阴极电势 U_c 由信号采集系统(DAQ2213, Dlink, 台湾)自动记录存储,采集速率最小时间间隔可达 1 ms;外电阻 R 通过可调电阻箱控制;电流根据公式 $I = U/R$ 计算得到;表观内阻 R_i 、阳极内阻 R_a 、阴极内阻 R_c 、欧姆内阻 R_Ω 采用稳态放电法测定^[7],欧姆内阻 R_Ω 采用电流中断法测定^[8];最大输出功率密度根据公式 $P_m = IU/A$ 计算得到,其中 A 是质子膜的表面积;pH 值由 pH 计(MITTLER TOLEDO SG2 型,上海)测定,温度利用生化培养箱(HP3-400 型,哈尔滨)控制;电导率通过电导率仪(MITTLER TOLEDO SG3 型,上海)测定.反应器运行除标明温度外其余均恒定在 25℃.

2 结果与讨论

2.1 不同阳极基质的影响

相同浓度(以 COD 衡量,具体见表 1)的乳酸钠、葡萄糖与乙酸钠 3 种基质对接种 *Shewanella baltica* 的 MFC 产电的影响如图 2 所示.选择这 3 种基质的主要原因是葡萄糖、乙酸和乳酸都是 MFC 中常用的基质^[9~11],为使试验结果具有可比性,阳极室基质的离子强度、COD 值、pH 值基本保持一致,其中离子强度通过 NaCl 来调节,以电导率来表征,pH 通过 1 mol/L NaOH 调节.

表 1 阳极电解质参数

Table 1 Parameters of the anodic electrolyte			
项目	电导率/ $\text{mS} \cdot \text{cm}^{-1}$	COD/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	pH
葡萄糖	3.25 ± 0.03	860 ± 10	7.2 ± 0.2
乙酸钠	3.24 ± 0.02	850 ± 10	7.2 ± 0.2
乳酸钠	3.14 ± 0.02	850 ± 10	7.2 ± 0.2

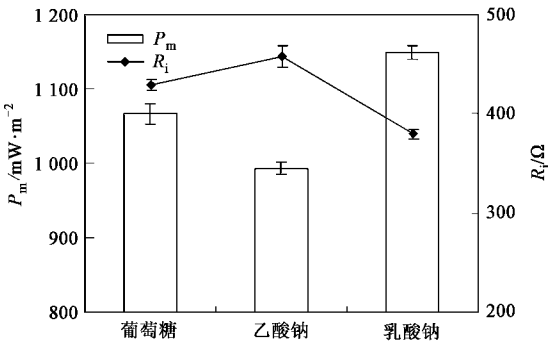


图 2 3 种基质下 MFC 产电功率与内阻

Fig.2 Power densities and internal resistances of the MFCs

由图 2 可知 3 种基质均能被 *Shewanella baltica* 利用,但以乳酸钠为底物时 MFC 产电功率最大,反应器内阻最小,阳极内阻也最小,说明 *Shewanella baltica* 对所利用的底物同样具有选择性,其中乳酸钠是其较为理想的底物,这与文献[12, 13]的研究一致.以下试验均采用乳酸钠为阳极基质.

2.2 基质浓度的影响

pH 值为 7, 基质为乳酸钠, 浓度由 150 ~ 1 500 mg/L 进样, 待稳定产电后, 测定不同初始基质浓度下的最大产电功率密度. 不同基质浓度下, MFC 的产电功率符合 Monod 模型:

$$P = P_{\max} S / (K_s + S) \tag{1}$$

这与前面研究结论一致^[14, 15], 结果如图 3 所示. 对结果进行非线性回归分析可以得到 MFC 不受基质浓度影响的最大产电功率密度 $P_{\max}$ 为 1 111 mW/m², 乳酸钠的半饱和常数 K_s 为 98 mg/L ($R^2 = 0.947$).

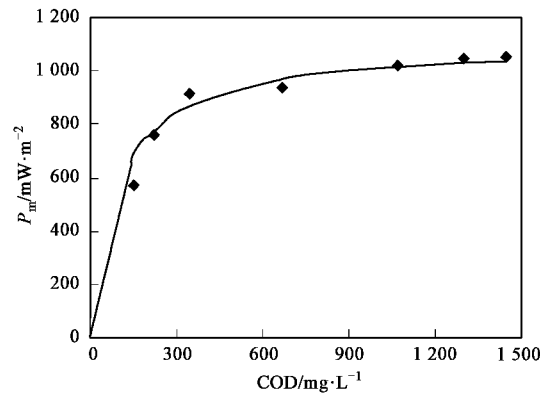


图 3 不同基质浓度下 MFC 产电功率

Fig. 3 Power densities of MFC in different substrate concentrations

2.3 基质 pH 的影响

试验发现, 随着运行时间的延长, 阳极溶液的 pH 值逐渐下降, 在 12 h 内 pH 下降 0.2, 为了除去阳极溶液 pH 自身下降的影响, 以下试验在调好 pH 稳定 1 h 后完成. 乳酸钠作为基质, 进水 COD 为 860 mg/L, 试验以 1 mol/L NaOH、1 mol/L HCl 调解阳极基质 pH 值, 为防止加入酸、碱引起阳极溶液离子强度增加而使 MFC 欧姆内阻下降, 本试验将阳极基质中的缓冲溶液更换为相同离子浓度的 NaCl, 以确保阳极溶液电导率相同.

图 4 为不同 pH 下 MFC 产电功率及阳极内阻. 接种 *Shewanella baltica* 菌的 MFC 在 pH 7 ~ 9 的弱碱性环境下产电量较高, pH 为 8 时达到最高为 1 236 mW/m², 而在 pH 低于 7 或高于 9 时, 阳极内阻大幅度增加, 微生物产电活性受到抑制, 这与 Gil 等^[16]的

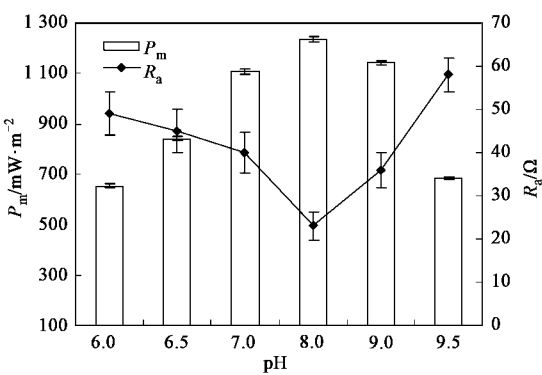


图 4 不同 pH 下 MFC 产电功率及阳极内阻

Fig. 4 Power densities and anodic resistances in different pH

研究相类似.

从图 4 还可以看出, 接种 *Shewanella baltica* 菌的 MFC 最大产电功率密度与阳极内阻呈负相关, 而最大产电功率密度还与电池开路电势有关. 图 5 所示电池开路各部电势随 pH 变化, 可以看出, MFC 开路电势主要受阳极电势的影响, 阳极溶液 pH 从 6 上升到 9 时, 阳极电势下降较快, 且与 pH 呈线性相关, 数据线性拟合所得直线斜率为 59.8 mV/pH, 与根据 Nernst 方程计算 25℃ 时改变单位 pH 时电势变化 59.16 mV 吻合. 图 5 中 pH 从 6 上升到 8 时, 最大功率密度上升主要由阳极内阻和阳极电势同时下降导致, 而 pH 从 8 上升到 9 时, 虽然阳极电势继续下降, 但阳极内阻上升, 导致最大产电功率密度下降. 当 pH 从 9 上升到 9.5 时, 阳极内阻和阳极电势均上升, 导致最大产电功率密度进一步下降.

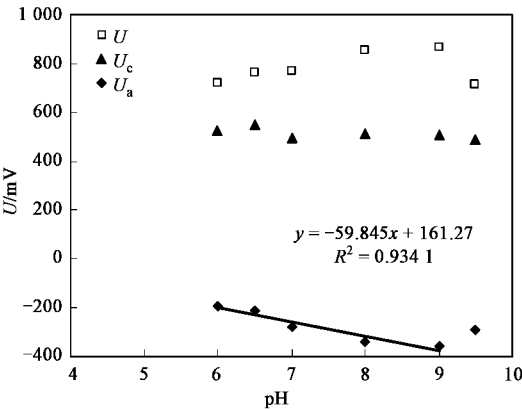


图 5 不同 pH 下 MFC 开路电势

Fig. 5 Open circuit potentials in different pH

2.4 温度的影响

通过调整生化培养箱温度, 来控制微生物的反应温度. 温度变化范围 15 ~ 55℃. 乳酸钠作为基质, 进水 COD 为 860 mg/L, 每一温度持续 6 h. 为减小由

于调整 pH 过程对 MFC 产电产生影响,本节试验中没有主动调整阳极溶液的 pH,在测定不同温度内阻时阳极溶液的 pH 在 6.5 左右.不同温度条件下 MFC 的输出功率如图 6 所示.从中可以看出:在 20~50℃ 范围内,随着温度的升高,MFC 阳极内阻下降,最大产电功率增大,在 50℃ 时产电功率最大为 1 197 mW/m²,最大产电功率与阳极内阻呈负相关.温度对 MFC 产电会产生一定影响^[17,18],但影响的具体原因尚未具体分析,以下将进一步对此进行讨论.

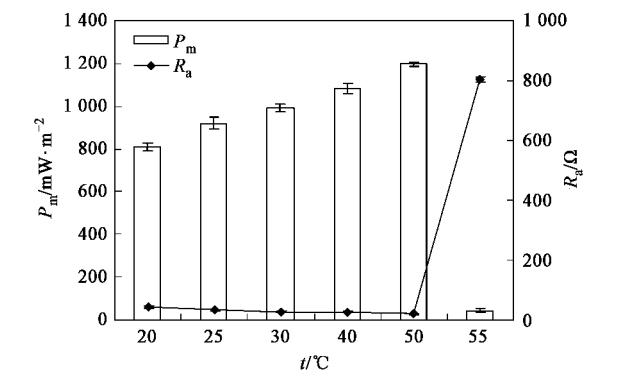


图 6 不同温度下 MFC 产电功率及阳极内阻
Fig.6 Power densities and anodic resistances in different temperatures

考察不同温度下开路电势如图 7 所示,可以看出,随着温度的升高,阳极开路电势和阴极开路电势均下降,线性拟和得到的斜率基本相同,而开路时阴极和阳极的电势差随温度变化非常小,最大差距不到 1.5 mV.所以温度对 MFC 最大产电功率的影响主要是温度对阳极内阻的作用.

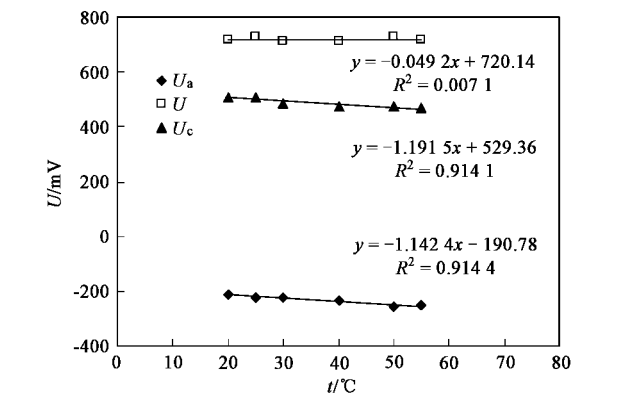


图 7 不同温度下 MFC 开路电势
Fig.7 Open circuit potentials in different temperatures

MFC 的产电过程伴随阴极和阳极的电化学反应过程,而化学反应快慢受温度影响可以用 Arrhenius 方程[式(2)]表示,其中 k 为反应速度常数, t 为温度, A 为频率因子, E_a 为 Arrhenius 活化

能, R 为气体常数.如果将 MFC 视为一个反应,则反应快慢正比于电流强度(电流产生速度),将不同温度下的最大电流强度取对数后对 $1/t$ 作图,如图 8 所示,在温度 20~50℃ 变化时,MFC 电流强度与 $1/t$ 呈线性关系,当温度上升到 55℃ 时,阳极上 *Shewanella baltica* 产电活性受到抑制,MFC 产电不再满足 Arrhenius 方程.

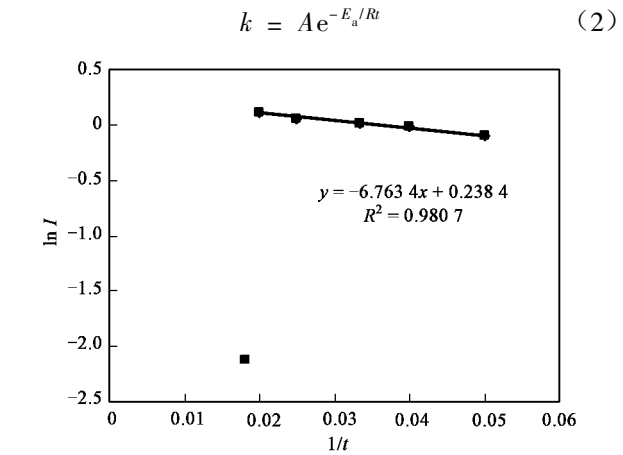


图 8 电流-温度拟合
Fig.8 Currents in different temperatures

综合以上研究内容,*Shewanella baltica* 的最佳生长条件为:乳酸钠为阳极基质,COD > 700 mg/L,pH 为 8 左右,温度为 50℃.对比本研究组在相同构型的 MFC 中对另一种常见产电菌 *Geobacter sulfurreducens* 产电功率密度为 0.28 W/m³^[19](折算为面积功率密度约 800 mW/m²),*Shewanella baltica* 产电水平较高.

3 讨论

MFC 最大产电功率密度由电势和内阻共同决定,环境因素对 MFC 产电的影响可以分为对电势的影响和内阻的影响两方面,如阳极溶液 pH 值就分别作用在电势和内阻上,而温度对 MFC 产电的影响则主要体现在温度对内阻的影响上.

此外,各种环境因素对 MFC 产电的影响又可分为对阳极半反应、阴极半反应以及 MFC 内电荷传递的影响,参比电极结合内阻测定方法可以确定各部分内阻(阳极内阻、阴极内阻和欧姆内阻)以及各部分电势差,从而进一步确定各种环境因素主要影响 MFC 的具体部分.

MFC 反应包含了电化学和生物化学反应,在产电微生物尚未因环境因素过度变化导致失活时,可以利用化学反应的相关方程(Nerst 方程、Arrhenius 方程)加以描述.

4 结论

(1) 相同浓度的葡萄糖、乙酸钠和乳酸钠作为基质时,以 *Shewanella baltica* 菌接种后的 MFC 最大产电功率密度分别为: 1 083、1 006、1 162 mW/m², 乳酸钠作为阳极基质时最适合其产电。

(2) *Shewanella baltica* 菌对乳酸钠的利用满足 Monod 模型,最大产电功率密度为 1 111 mW/m²,乳酸钠的半饱和常数为 98 mg/L。

(3) 阳极溶液 pH 为 8 时接种 *Shewanella baltica* 菌的 MFC 产电功率密度最大可达 1 236 mW/m²,最大功率密度上升主要受阳极内阻和阳极电势影响所致。

(4) 接种 *Shewanella baltica* 菌的 MFC 最大产电功率密度在 50℃ 达到 1 197 mW/m²,最大功率密度随温度变化的主要原因是温度对阳极内阻的影响, 20 ~ 50℃ 时 MFC 电流密度与温度满足 Arrhenius 方程。

参考文献:

- [1] 洪义国,郭俊,孙国萍.产电微生物及微生物燃料电池最新研究进展[J].微生物学报,2007,47(1):173-177.
- [2] 仲海涛,吴启堂.从废水中回收能源——微生物燃料电池和发酵生物制氢技术[J].研究与实验,2006,127:46-50.
- [3] 崔龙涛,左剑恶,范明志.处理城市污水同时生产电能的微生物燃料电池[J].中国沼气,2006,24(4):3-6.
- [4] You S J, Zhao Q L, Jiang J Q, et al. Treatment of domestic wastewater with simultaneous electricity generation in microbial fuel cell under continuous operation [J]. Chemical and Biochemical Engineering Quarterly, 2006, 20(4): 407-412.
- [5] 黄霞,梁鹏,曹效鑫,等.无介体微生物燃料电池的研究进展[J].中国给水排水,2007,23(4):1-6.
- [6] 范明志,梁鹏,曹效鑫,等.阳极初始电势对微生物燃料电池产电的影响[J].环境科学,2008,29(1):263-267.
- [7] 梁鹏,范明志,曹效鑫,等.微生物燃料电池表面内阻的构成和测量[J].环境科学,2007,28(8):1894-1898.
- [8] Aelterman P, Rabaey K, Pham H T, et al. Continuous electricity

generation at high voltages and currents using stacked microbial fuel cells[J]. Environmental Science & Technology, 2006, 40(10): 3388-3394.

- [9] Chaudhuri S K, Lovley D R. Electricity generation by direct oxidation of glucose in mediatorless microbial fuel cells[J]. Nat Biotechnol, 2003, 21(10): 1229-1232.
- [10] Bond D R, Lovley D R. Electricity production by *Geobacter sulfurreducens* attached to electrodes [J]. Appl Environ Microbiol, 2003, 69(3): 1548-1555.
- [11] Kim H J, Hyun M S, Chang I S, et al. A microbial fuel cell type lactate biosensor using a metal-reducing bacterium, *Shewanella putrefaciens* [J]. Journal of Microbiol Biotechnol, 1999, 9(3): 365-367.
- [12] Kim H J, Park H S, Hyun M S, et al. A mediator-less microbial fuel cell using a metal reducing bacterium, *Shewanella putrefaciens* [J]. Enzyme and Microbial Technology, 2002, 30(2): 145-152.
- [13] Park D H, Zeikus J G. Impact of electrode composition on electricity generation in a single-compartment fuel cell using *Shewanella putrefaciens* [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2002, 59(1): 58-61.
- [14] Liu H, Logan B E. Electricity Generation Using an Air-Cathode Single Chamber Microbial Fuel Cell in the Presence and Absence of a Proton Exchange Membrane e[J]. Environ Science and Technology, 2004, 38(14): 4040-4046.
- [15] 詹亚力,王琴,张佩佩,等.微生物燃料电池影响因素及作用机理探讨[J].高等学校化学学报,2008,29(1):144-148.
- [16] Gil G C, Chang I S, Kim B H, et al. Operational parameters affecting the performance of a mediator-less microbial fuel cell [J]. Biosensors and Bioelectronics, 2003, 18(4): 327-334.
- [17] Min B, Roman O B, Angelidaki I. Importance of temperature and anodic medium composition on microbial fuel cell (MFC) performance [J]. Biotechnology Letters, 2008, 30(7): 1213-1218.
- [18] Liu H, Cheng S A, Logan B E. Power generation in fed-batch microbial fuel cells as a function of ionic strength, temperature, and reactor configuration [J]. Environmental Science & Technology, 2005, 39(14): 5488-5493.
- [19] 范明志.电极电势对生物阴极型微生物燃料电池产电性能的强化[D].北京.清华大学,2008.35-36.