

微生物燃料电池中产电微生物的研究进展

倪红军*, 陈祥, 汪兴兴, 陈青青, 吕帅帅

(南通大学机械工程学院, 江苏南通 226019)

摘要:介绍了产电微生物的研究现状,着重讨论了电子转移机制和产电微生物的种类,详细评述了提高微生物电化学活性的方法。最后从获得高效产电微生物和改善胞外电子传递2个角度展望了阳极产电微生物的研究前景。

关键词:微生物燃料电池;产电微生物;产电机理;电子传递

中图分类号:TM911.4

文献标志码:A

文章编号:0253-4320(2017)03-0046-04

DOI:10.16606/j.cnki.issn.0253-4320.2017.03.011

Progress research of electricigens in microbial fuel cell

NI Hong-jun*, CHEN Xiang, WANG Xing-xing, CHEN Qing-qing, LV Shuai-shuai

(School of Mechanical Engineering, Nantong University, Nantong 226019, China)

Abstract: The current research status of electricigens is introduced. The mechanism of electron transfer and the species of electricigens are highlighted. The methods to improve the electrochemical activity of electricigens are reviewed in detail. The research prospects of anode electricigens are proposed from the aspects of obtaining high efficient microbial production and improving extracellular electron transport.

Key words: microbial fuel cells; electricigens; mechanism of energy generation; electron transfer

为解决能源短缺和环境污染等问题,生物质能的研究与利用受到研究者的高度重视。微生物燃料电池(microbial fuel cell, MFC)是将富集在阳极电极的微生物作为催化剂,通过降解有机物使储存在内部的化学能转化成电能的一种装置^[1]。MFC因原料来源多样、运行成本较低、清洁无污染等优势,被公认为具有开发前景的绿色可再生能源技术。通过研究利用以实际废水为底物的MFC,可以在净化废水的同时实现能源回收,这对缓解能源短缺和治理环境具有现实意义。

产电微生物(Electricigens)是MFC系统中的重要组成部分。MFC的产电性能主要由产电微生物的电化学活性决定,这也是MFC与传统燃料电池最本质的区别。通过对产电微生物的种类和电子转移机制的研究,更加充分了解MFC的产电机理和质、电子传递的本质,对优化产电模型和研究开发高效MFC有着深远的意义。

1 电子转移机制

微生物主要通过自身产生的纳米导线和中介体2种机制将电子传递到电极表面,深入了解微生物电子转移机制将有助于MFC产电性能的提升。

1.1 纳米导线

有些微生物表面分布着对电子传递有着重要桥

梁作用的特殊菌毛,称之为“纳米导线”(Nanowire),其结构如图1所示。*Geobacter*和*Shewanella*菌属首先被发现并报道了表面存在一种菌毛,该菌毛一端与细胞外膜相连,另一端与电极表面接触,使微生物在不直接接触电极的条件下,完成远距离电子传输。地杆菌*G. sulfurreducens*产生的纳米导线同样被Reguera^[2]观察到,纳米导线中最长为20 μm,在以乙酸为底物的MFC中,电极表面生物膜厚度大于50 μm,纳米导线无法透过生物膜与电极直接接触,却有较好的产电性能。可能是纳米导线与生物膜内部细胞依次相连,逐步将电子传递至电极;也可能是纳米导线相互交错形成网状结构,将电子传递至电极。具体的电子传递方式有待进一步研究。

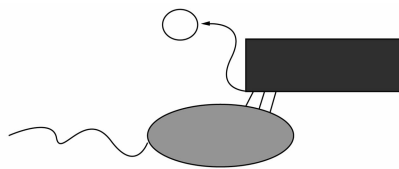


图1 利用纳米导线电子传递机制

1.2 细胞表面的电子传递

纳米导线的存在并不意味着电子只能通过纳米导线进行传递,同样的微生物在没有纳米导线生成的时候也可以实现电子从细胞表面到电极的转移。有些微生物在周质空间或细胞膜表面存在着凸起的

收稿日期:2016-06-03

基金项目:国家科技支撑计划课题(2011BAG02B10);江苏高校优势学科建设工程资助项目、江苏省政策引导类计划(产学研合作)项目(BY2015047-02);南通市应用基础研究计划项目(GY12015020);南通市前沿与关键技术创新计划项目(MS22015028)

作者简介:倪红军(1965-),男,博士,教授,研究方向为新能源汽车及燃料电池技术,通讯联系人,0513-85012670, ni_hj@ntu.edu.cn。

小泡,即细胞色素 C,通过与其接触,可将电子传递至电极^[3],如图2所示。细胞色素 C 是一种分布于细胞膜表面的外膜氧化还原蛋白,极易与外界接触将电子传递给胞外电子受体。拉曼光谱证明了 *T. potens* 表面的细胞色素 C,并从生理和基因角度验证了细胞色素 C 在革兰氏阳性细菌跨膜电子传递起着重要的作用^[4]。目前,研究者主要通过对细胞色素 C 的电化学活性测试证明细胞色素 C 能够在微生物与电极之间发挥介体作用。

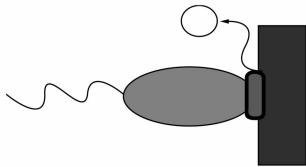


图2 细胞直接接触电子传递机制

1.3 中介体

化学中介体或电子中介体常被加入到 MFC 中促进胞内向胞外的电子传递,如图3所示。电子中介体具有能够穿过细胞膜,直接从呼吸链上捕获电子,并将电子传递给胞外电子受体的特点。电子中介体可人工添加^[5](如2,6-蒽醌、中性红、硫堇),也可由微生物自身分泌(如吩嗪、绿脓菌素)。

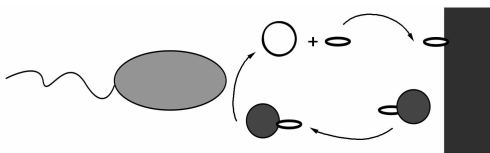


图3 利用中介体电子传递机制

然而电子转移机制的信息尚不充分,还不能描述微生物如何在电极表面增殖和维持细胞活性,有待进一步深化电子转移机制的研究,高效改造和调控产电微生物。

2 产电微生物的分类

产电微生物是指能在厌氧条件下将有机物完全氧化成 CO_2 ,并将氧化过程中产生的电子传递到电极上产生电流的微生物。微生物的种类丰富多样,研究较多的是厚壁菌门(*Firmicutes*)和变形菌门(*Proteobacteria*)的细菌,多为兼性厌氧菌。

已报道的产电微生物有厚壁菌门的丁酸梭菌(*Clostridium butyricum*), α -变形菌纲(*Alphaproteobacteria*)的人苍白杆菌(*Ochrobactrum anthropi*), β -变形菌纲(*Betaproteobacteria*)的铁还原红育菌(*Rhodoferrax ferrireducens*), γ -变形菌纲(*Gamma-*

proteobacteria)的希瓦氏菌(*Shewanella putrefaciens*)和铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*), δ -变形菌纲的硫还原地杆菌(*Geobacter sulfurreducens*)。充分了解产电微生物的生物学特性和产电能力有助于更好地研究 MFC 和微生物的作用。

2.1 希瓦氏菌(*Shewanella*)

希瓦氏菌属是研究较多的产电微生物,是兼性厌氧菌。Kim等^[6]通过电化学性能测试发现了 *Shewanella putrefaciens* IR-1,这是最早发现的希瓦氏菌,该细菌的电化学活性与其本身细胞色素相关。*Shewanella oneidensis* MR-1 被用于石墨烯对阳极产电微生物的抗菌活性的研究,发现在生物膜生长稳定后具有更好的生存能力和电化学活性,揭示了石墨烯能增强微生物的附着、电子的转移和生物膜的抗菌活性等多重特点^[7]。Nimje等^[8]使用 *Shewanella oneidensis* MR-1 和混合菌处理农业废水、生活废水、造纸废水和食品废水,研究发现,在处理农业废水和生活废水时以 *Shewanella oneidensis* MR-1 为产电微生物的 MFC 产电效果最佳,在处理造纸废水和食品废水时以混合菌为产电微生物的 MFC 产电效果最佳,而在混合菌中 *Shewanella oneidensis* MR-1 起主要作用。Wei等^[9]将离子液体应用于功能化碳纳米管,大量增加阳极表面正电荷和氮官能团,不仅提高了 *Shewanella putrefaciens* 的附着还改善了微生物的电子转移特性,MFC 的最大功率密度为以碳纳米管作为阳极时的3倍。Xu等^[10]发现在阳极添加 Cu^{2+} 和 Cd^{2+} ,将显著提高 *Shewanella* 的胞外电子传递,从而增大输出功率。

改善阳极电极特性、添加相应离子提高微生物的电子传递特性,筛选高效产电微生物,从本质上提升 MFC 的产电性能。

2.2 硫还原地杆菌(*Geobacter sulfurreducens*)

G. sulfurreducens 是最早报道的厌氧条件下仅以电极为最终电子受体完全氧化电子供体的微生物。Nevin等^[11]利用以醋酸为底物的 MFC,比较以 *G. sulfurreducens* 为产电微生物和混合菌的产电性能,结果表明,以 *G. sulfurreducens* 为微生物的 MFC 最大输出功率($1\ 900\ \text{mW}/\text{m}^2$)比混合菌($1\ 600\ \text{mW}/\text{m}^2$)高出 18.75%。Sun等^[12]利用湖泊沉积物底物时,MFC 的产电性能与 *G. sulfurreducens* 的丰度呈正比,在其最高丰度($18\% \pm 1\%$)时,MFC 的最大电流密度为(690 ± 30) mA/m^2 。然而以地杆菌为主的生物膜的生长条件苛刻,在实际应用中难以保持生物膜的有效性和稳定性。Commault等^[13]通过低电位阳

极选择法富集的地杆菌生物膜表现出良好的生物群落组成和电化学稳定性。*G. sulfurreducens* 因其全基因组的序列信息已阐明^[14], 可作为模式菌研究细胞与电极间电子传递机制和 MFC 结构优化。

电化学或其他方法促进形成的生物膜有望将产电性能优异而生长条件苛刻的微生物引入 MFC, 改善现有微生物群落结构, 提高 MFC 的产电性能。

2.3 铜绿假单胞菌 (*Pseudomonas aeruginosa*)

P. aeruginosa 属于细菌, 兼性好氧菌, 是最早报道的能够产生电子中介体的微生物。Daniel 等^[15] 和 Chen 等^[16] 分别发现 *P. aeruginosa* 能代谢产生绿脓菌素 (pyocyanin) 和吩嗪 (phenazine-1-carboxamide) 作为电子中介体, 将电子传递至电极。Shen 等^[17] 通过添加槐糖脂提高了 *P. aeruginosa* 的胞外电子传递能力, MFC 的电流密度和功率密度分别增加了 1.7 倍和 2.6 倍。槐糖脂的添加主要增强了细胞膜的通透性、增加了绿脓菌素的生产, 促进胞外电子传递。吩嗪能极大地提高 MFC 的产电性能, 但其机制仍不清楚。Qiao 等^[18] 利用基于电化学传感器的碳粉微电极实时监测 MFC 运行过程中吩嗪的浓度, 更好地了解吩嗪在 MFC 运行过程中对 *P. aeruginosa* 和电子转移机制的影响。

Yong 等^[19] 研究发现, 野生型铜绿假单胞菌具有不同的基因序列, 能够进行不同的电子传递方式, 提升 MFC 的性能。在 MFC 运行过程中通过野生型菌株的群体感应改变电子传递途径, 使 MFC 的最大电流密度增大为原来的 1.6 倍, 但其电子传递机制仍有待研究。群体感应在介导细菌微生物燃料电池中的电化学特性起着重要的作用, 不仅适用于提高电池的效率, 也可用于其他微生物的生物电化学系统电子传递的精确控制。

通过添加合适的物质促进胞外电子传递, 利用电化学传感器实时监测电子中介体的含量更充分地了解了电子转移机制。

2.4 大肠杆菌 (*Escherichia coli*)

E. coli 属 γ -变形菌, 是兼性厌氧的革兰氏阴性短杆菌, 具有易获取、易培养、低成本、安全可靠、能代谢多种有机物等特点, 作为 MFC 的产电微生物具有很大的前景。起初, 研究者认为 *E. coli* 需要外来的电子中介体传递电子, 但 Sugnaux 等^[20] 以 *E. coli* K12 为催化剂构建的 MFC, 在不添加任何电子中介体的条件下表现出较好的产电性能, 最大功率密度为 760 mW/m², 并发现 *E. coli* K12 能分泌并利用 Ethyl 2-aminoacetimidate、3-isobutylhexahydropyrrolo

[1,2-a] pyrazine-1,4-dione 和 methy 4-ethoxybutanoate 3 种电化学活性物质, 实现电子到阳极的传递。

Nandy 等^[21] 利用电脉冲诱导 *E. coli* 构建的 MFC 最大功率密度和最大电流密度分别为 284.44 mW/m² 和 1 777.77 mA/m², 远高于非诱导运行 MFC 的 187.77 mW/m² 和 1 444.44 mA/m², 并利用循环伏安进一步证实其电化学活性。诱导后的微生物具有不同属性的电化学性能、微生物形态和阻抗。电脉冲诱导通过微生物自适应现象, 完成了微生物的改性, 通过在分子水平上分析以便更好地理解整个机制。

通过非基因重组的方法诱导微生物, 改善微生物的电化学性能, 甚至可将非产电微生物转化成产电微生物。

2.5 丁酸梭菌 (*Clostridium butyricum*)

C. butyricum 属细菌, 严格厌氧, *C. butyricum* EG3 是首次报道的能利用淀粉等复杂多糖产电的革兰氏阳性菌, 革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌的电子转移机制相同, 都有待进一步深入研究^[22]。此外, 研究发现同属的 *C. beijerinckii* 也能够利用淀粉、糖浆、葡萄糖、乳酸等产电^[23]。

2.6 其他产电微生物

从 MFC 分离出的革兰氏阴性菌 *T. osonensis* 能彻底氧化葡萄糖、乙酸钠、麦芽糖、甘油等多种有机物, 且在以乳酸钠为底物的 MFC 中, 最大功率密度为 424 mW/m²^[24]。革兰氏阳性菌 *Lysinibacillus sphaericus* 能氧化简单的有机酸产电, 在以乳酸为底物的双室 MFC 中, 最大功率密度和库伦效率分别为 92 mW/m² 和 12.69%^[25]。耐寒微生物 *Geopsychrobacter electrodiphilus* 能彻底氧化乙酸、柠檬酸、苹果酸等产电^[26], 因其具有在低温海底生长的特点, *G. electrodiphilus* 适用于催化海底沉积 MFC。一些致病菌同样显示出产电微生物的特性, *Staphylococcus aureus* 不仅能在 MFC 中传递电子, 还能在碳毡电极上形成致密且完整的生物膜^[27]; 在以木糖为底物的 MFC 中, *Ochrobactrum sp. 575* 产生的最大功率密度为 2 625 mW/m³^[28]。

3 总结与展望

MFC 将污水处理和能量回收相结合, 改变了人们对以往污水处理高能耗的认识, 其广阔的应用前景使它成为目前研究的热点。但 MFC 产能低、成本高, 限制了其作为电源在实际生活生产中的应用。

深入研究 MFC, 使其尽快商业化和产业化是推

动MFC发展的当务之急。从微生物角度主要有以下几个方面:①深化电子转移机制的研究,高效改造和调控产电微生物;②筛选更多高效产电微生物;③利用电化学或基因工程等方法改造获得高效产电微生物;④利用电化学方法促进高效稳定产电菌形成生物膜;⑤研发新型电子中介体提高电子传递性能;⑥制备新型电极加强与微生物间相互作用,增加微生物的附着和电子转移。

参考文献

- [1] 范方舟,翟洪艳,季民. 微生物燃料电池在治污产能方面的研究进展[J]. 现代化工,2015,35(12):19-23.
- [2] Reguera G, Mccarthy K D, Mehta T, et al. Extracellular electron transfer via microbial nanowires [J]. Nature, 2005, 435 (7045): 1098-1101.
- [3] 谢作甫,郑平,张吉强,等. 产电微生物及其生理生化特性[J]. 科技通报,2013,29(7):56-63.
- [4] Wrighton K C, Thrash J C, Melnyk R A, et al. Evidence for direct electron transfer by a Gram-positive bacterium isolated from a microbial fuel cell[J]. Appl Environ Microbiol, 2011, 77 (21): 7633-7639.
- [5] 向龙,王晓慧,海热提,等. 微生物燃料电池阳极材料的修饰研究进展[J]. 现代化工,2015,35(1):48-52.
- [6] 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 & Microbial Technology, 2002, 30(2): 145-152.
- [7] Chen J, Deng F, Hu Y, et al. Antibacterial activity of graphene-modified anode on *Shewanella oneidensis* MR-1 biofilm in microbial fuel cell [J]. Journal of Power Sources, 2015, 290: 80-86.
- [8] Nimje V R, Chen C Y, Chen H R, et al. Comparative bioelectricity production from various wastewaters in microbial fuel cells using mixed cultures and a pure strain of *Shewanella oneidensis* [J]. Bioresource Technology, 2012, 104(1): 315-323.
- [9] Wei Huan, Wu Xiao-Shuai, Zou Long, et al. Amine-terminated ionic liquid functionalized carbon nanotubes for enhanced interfacial electron transfer of *Shewanella putrefaciens* anode in microbial fuel cells [J]. Journal of Power Sources, 2016, 315: 192-198.
- [10] Xu Y S, Zheng T, Yong X Y, et al. Trace heavy metal ions promoted extracellular electron transfer and power generation by *Shewanella* in microbial fuel cells [J]. Bioresource Technology, 2016, 211: 542-547.
- [11] Nevin K P, Richter H, Covalla S F, et al. Power output and coulombic efficiencies from biofilms of *Geobacter sulfurreducens*, comparable to mixed community microbial fuel cells [J]. Environmental Microbiology, 2008, 10(10): 2505-2514.
- [12] Sun G, Rodrigues D, Thygesen A, et al. Inocula selection in microbial fuel cells based on anodic biofilm abundance of *Geobacter sulfurreducens* [J]. Chinese Journal of Chemical Engineering, 2015, 24(3): 379-387.
- [13] Commault A S, Lear G, Weld R J. Maintenance of *Geobacter*-dominated biofilms in microbial fuel cells treating synthetic wastewater [J]. Bioelectrochemistry, 2015, 106: 150-158.
- [14] Kumar R, Singh L, Zularisam A W. Exoelectrogens: Recent advances in molecular drivers involved in extracellular electron transfer and strategies used to improve it for microbial fuel cell applications [J]. Renewable & Sustainable Energy Reviews, 2016, 56: 1322-1336.
- [15] Daniel L Bellin, Hassan Sakhtah, Jacob K Rosenstein, et al. Integrated circuit-based electrochemical sensor for spatially resolved detection of redox-active metabolites in biofilms [J]. Nature Communications, 2014, 5(11): 912-919.
- [16] Chen W, Liu X Y, Qian C, et al. An UV-Vis spectroelectrochemical approach for rapid detection of phenazines and exploration of their redox characteristics [J]. Biosensors & Bioelectronics, 2014, 64(43): 25-29.
- [17] Shen H B, Yong X Y, Chen Y L, et al. Enhanced bioelectricity generation by improving pyocyanin production and membrane permeability through sophorolipid addition in *Pseudomonas aeruginosa*-inoculated microbial fuel cells [J]. Bioresource Technology, 2014, 167(3): 490-494.
- [18] Qiao Y, Qiao Y J, Zou L, et al. Real-time monitoring of phenazines excretion in *Pseudomonas aeruginosa* microbial fuel cell anode using cavity microelectrodes [J]. Bioresource Technology, 2015, 198: 1-6.
- [19] Yong Y C, Yu Y Y, Li C M, et al. Bioelectricity enhancement via overexpression of quorum sensing system in *Pseudomonas aeruginosa*-inoculated microbial fuel cells [J]. Biosensors & Bioelectronics, 2011, 30(1): 87-92.
- [20] Sugnaux M, Mermoud S, Costa A F D, et al. Probing electron transfer with *Escherichia coli*: A method to examine exoelectronics in microbial fuel cell type systems [J]. Bioresource Technology, 2013, 148(8): 567-573.
- [21] Nandy A, Kumar V, Kundu P P. Effect of electric impulse for improved energy generation in mediatorless dual chamber microbial fuel cell through electroevolution of *Escherichia coli* [J]. Biosensors & Bioelectronics, 2016, 79: 796-801.
- [22] Ren Z, Steinberg L M, Regan J M. Electricity production and microbial biofilm characterization in cellulose-fed microbial fuel cells [J]. Water Science & Technology A Journal of the International Association on Water Pollution Research, 2008, 58(3): 617-622.
- [23] Zhang Y C, Jiang Z H, Liu Y. Application of electrochemically active bacteria as anodic biocatalyst in microbial fuel cells [J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2015, 43(1): 155-163.
- [24] Liu X W, Huang Y X, Sun X F, et al. Conductive carbon nanotube hydrogel as a bioanode for enhanced microbial electrocatalysis [J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2014, 6(11): 351-418.
- [25] He H, Yuan S J, Tong Z H, et al. Characterization of a new electrochemically active bacterium, *Lysinibacillus sphaericus*, D-8, isolated with a WO_3 , nanocluster probe [J]. Electrochimica Acta, 2014, 49(2): 290-294.
- [26] Sharma V, Kundu P P. Biocatalysts in microbial fuel cells [J]. Enzyme & Microbial Technology, 2010, 47(5): 179-188.
- [27] Bhuvanewari A, Navanietha K R, Berchmans S. Metamorphosis of pathogen to electrigen at the electrode/electrolyte interface: Direct electron transfer of *Staphylococcus aureus*, leading to superior electrocatalytic activity [J]. Electrochemistry Communications, 2013, 34(5): 25-28.
- [28] Li X. A high performance xylose microbial fuel cell enabled by *Ochrobactrum sp.* 575 cells [J]. Rsc Advances, 2014, 4(75): 39839-39843. ■