

# 微生物燃料电池中脱色希瓦氏菌 S12 的产电特性研究

李登兰<sup>1,2</sup> 许玫英<sup>1</sup> 孙国萍<sup>1\*</sup>

(1. 广东省微生物研究所广东省菌种保藏与应用重点实验室 广州 510070)  
(2. 广东工业大学环境科学与工程学院 广州 510090)

**摘要:** 为了确定脱色希瓦氏菌 S12 的电化学活性, 采用循环伏安法(cyclic voltammograms, CV) 对厌氧培养的菌株 S12 进行曲线扫描, 所得曲线表明 S12 具有一定的电化学活性, 可以用来进行产电实验。研究了不同电子供体和供体浓度对菌株 S12 产电的影响, 结果表明, 以浓度为 10 mmol/L 的不同有机酸(甲酸钠、乳酸钠和丙酮酸钠)分别作为电子供体时, 乳酸钠产电量最大, 其最大功率密度  $P_{max}$  为  $21.93 \text{ mW/m}^2$ , 增加乳酸钠的浓度, 菌株 S12 的产电量也相应增加, 当乳酸钠的浓度为 20 mmol/L 时, 所产生的最大功率密度达  $55.72 \text{ mW/m}^2$ 。

**关键词:** 电化学活性, 产电, 电子供体, 功率密度

## Electricity Generated by *Shewanella decolorationis* S12 in Microbial Fuel Cell

LI Deng-Lan<sup>1,2</sup> XU Mei-Ying<sup>1</sup> SUN Guo-Ping<sup>1\*</sup>

(1. Guangdong Institute of Microbiology, Guangdong Provincial Key Laboratory of Microbial Culture Collection and Application, Guangzhou 510070)  
(2. Faculty of Environmental Science and Engineering, Guangdong University of Technology, Guangzhou 510090)

**Abstract:** In order to determine the electrochemical activity of *Shewanella decolorationis* S12, anaerobic grown cells were scanned by the cyclic voltammograms (CV). The results of CV showed that strain S12 displayed certain electrochemical activities and could be used as a catalyzer working in microbial fuel cell (MFC) to produce electricity. The effects of different electron donor, such as lactate, formate and pyruvate with different concentration on the production of electricity were analyzed by using strain S12 in a single chamber MFC with a PEM/electrode assembly sandwiched type. The results showed that lactate was the optimal electron donor and the concentration of the electron donor determined the electricity generation capacity and potential development in the MFC. When 10 mmol/L and 20 mmol/L of lactate were used, the maximum power density of  $21.93 \text{ mW/m}^2$  and  $55.72 \text{ mW/m}^2$  were obtained, respectively.

**Keywords:** Electrochemical activity, Electricity generation, Electron donor, Power density

早在 100 年前就有研究者进行微生物产电的研究<sup>[1]</sup>。但微生物产电研究的再次受到重视,却是在人们发现资源短缺、能源危机等对社会、经济的可持续发展存在潜在巨大威胁的最近几年<sup>[2,3]</sup>。

微生物燃料电池(microbial fuel cell, MFC)是一种利用微生物作为生物催化剂降解有机物将化学能转变为电能的装置<sup>[4,5]</sup>。在 MFC 中,氧化底物的细菌通常在厌氧条件下将电子传递到阳极,电子通过连接阴阳两极的导线传递给阴极,而质子通过隔在两极间的质子交换膜(proton exchange membrane, PEM)到达阴极,在含铂的阴极催化下与电路传回的电子和 O<sub>2</sub> 反应生成水<sup>[6-9]</sup>。微生物燃料电池的早期研究都是采用发酵型微生物和酵母来产电<sup>[1]</sup>,这种微生物燃料电池的产电效率低。20 世纪 80 年代以来很多学者都致力于介体 MFC 的研究,即向产电反应器中添加氧化型外源中间体比如中性红、硫堇和次甲基紫等<sup>[10,11]</sup>,但大多数介体价格昂贵而且有毒,所以应用介体的 MFC 很难商业化。90 年代后,研究发现微生物不通过介体也可以传递电子,研究热点开始转向无介体 MFC<sup>[12,13]</sup>。最近的报道还表明, *Geobacter* 和 *Shewanella* 等属的细菌可自身产生纳米电线直接将电子传递给电极<sup>[14-17]</sup>,所以阳极上堆积多层细胞的生物膜仍有很高的导电特性。

微生物燃料电池的构型也随着研究的不断深入而不断改进。早期的 MFC 是采用阴极和阳极两个反应室的形式<sup>[2]</sup>,后来出现了单室 MFC<sup>[6,18]</sup>及其改型装置如上流式 MFC<sup>[19,20]</sup>、平板式 MFC<sup>[21]</sup>、微型 MFC<sup>[22-24]</sup>、管式 MFC<sup>[4]</sup>、“三合一”MFC<sup>[25]</sup>和多级串联 MFC<sup>[26]</sup>。各种形式的 MFC 都有各自的优点。

脱色希瓦氏菌(*Shewanella decolorationis*)S12<sup>[27]</sup>是本课题组自行分离、鉴定的,具有高效偶氮还原和利用多种电子供体进行厌氧呼吸产能的希瓦氏菌,是进行微生物产电研究的良好材料。本文利用单室 MFC 重点研究了菌株 S12 以电极为唯一电子受体时的产电基本特性,初步确定了菌株 S12 在单室微生物燃料电池中产电的基本条件。

## 1 材料与方法

### 1.1 细菌培养

本研究均采用脱色希瓦氏菌 S12 为试验菌株。菌株 S12 在 LB 液体培养基(10 g/L 蛋白胨, 5 g/L 酵

母抽提物, 10 g/L NaCl)中于 32 、 160 r/min 摇床培养至稳定期(12 h)时,取出菌液于 4 、 8000 × g 离心 5 min 收集细胞。将收集的 S12 细胞于 M9 培养基(12.8 g/L Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>、 3 g/L KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>、 0.5 g/L NaCl、 1.0 g/L NH<sub>4</sub>Cl 、 2 mmol/L MgSO<sub>4</sub>、 0.1 mmol/L CaCl<sub>2</sub>)中洗涤 2 次,重新悬浮至 2 mL。细菌浓度由 600 nm 下的光吸收值(OD<sub>600</sub>)确定。

### 1.2 MFC 系统安装及其操作

本试验整个过程中均采用单室微生物燃料电池系统。MFC 的工作体积为 100 mL,采用三合一的膜电极结构,即阴极、质子交换膜(proton exchange membrane, PEM)、阳极热压在一起,其中阴极和阳极面积相等,为 20 cm<sup>2</sup>。PEM 采用的是美国杜邦公司的 Nafion 112 膜,阴阳极材料均为碳纸电极,阴极经过憎水处理,并且涂有催化剂 Pt, Pt/C 含量为 40%。安装时阳极接触含 S12 产电缓冲液,阴极面对空气,两极通过导线相连,并外接一个可变电阻,本文选定阻值为 500 Ω。用可存储多功能数字万能表(UT71D)测量其电流与电压,数据通过数据线输入计算机中,每 4 min 记录 1 个数据。

MFC 溶液体系主要由以下组分构成:

碳源(琥珀酸钠): 10 mmol/L; 电子供体(甲酸钠或乳酸钠或丙酮酸钠): 10 mmol/L; 酵母抽提物: 0.02 g/L; 无碳源 M9 培养基(组成成分如上所述); 微量元素液: 10 mL/L [成分如下: MgSO<sub>4</sub> 1 mmol/L; MnSO<sub>4</sub> 0.5 g/L, AlK(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> 0.1 g/L; ZnSO<sub>4</sub> 0.1 g/L; CuSO<sub>4</sub> 0.01 g/L; CaCl<sub>2</sub> 0.1 g/L; CoCl<sub>2</sub> 0.1 g/L; NiCl<sub>2</sub> 0.1 g/L; FeSO<sub>4</sub> 0.1 g/L]; 维生素母液 10 mL/L<sup>[28]</sup>。系统的起始细胞浓度为 1.6 × 10<sup>8</sup> 个/mL,于 30 ℃ 恒温箱中进行产电并全程记录。

### 1.3 电化学测量及计算

用数字万用表测量负载电压  $U$ , 由电阻  $R$  可以计算出电流为  $I = U/R$ , 功率  $P = IU$ , 功率密度  $p = P/A$ , 其中  $A$  为阳极有效面积(m<sup>2</sup>)。

## 2 结果与讨论

### 2.1 S12 菌的电化学活性

为了确定菌株 S12 是否有电化学活性,将菌株于厌氧条件下培养,当菌体浓度为 8 × 10<sup>7</sup> 个/mL 时,采用三电极法测定其电化学活性,即石墨工作电极,铂对电极,饱和甘汞电极为参比电极。CV 扫描仪以 100 mV/s 的速率扫描,空白培养液和加菌培养液的

扫描曲线分别如图 1 中 A、B 所示。

从图 1 中可见, 不加菌体时, 空白培养液 CV 曲线扫描看不到明显的氧化峰和还原峰, 而当培养液中加入菌株 S12 后扫描曲线两峰均出现了。实验结果表明菌株 S12 具有电化学活性, 可以用作燃料电池的产电菌。本课题以纯菌 S12 开展相应的产电生理学研究。

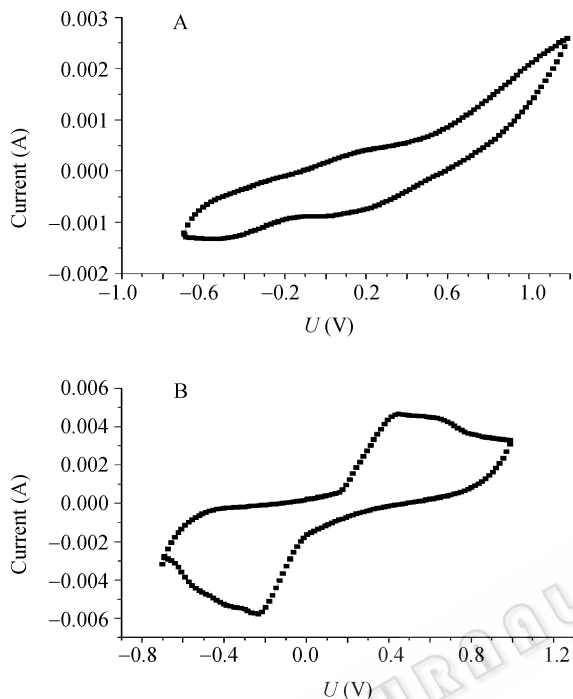


图 1 无菌培养液 (A) 和 S12 培养液 (B) CV 扫描曲线  
Fig. 1 Cyclic voltammograms of absence of S12 cells(A) and Cyclic voltammograms of S12 cells(B)

## 2.2 不同电子供体对产电的影响

为了探索脱色希瓦氏菌最佳的产电条件, 本实验采用 3 种不同的有机酸(甲酸钠、乳酸钠和丙酮酸钠)分别作为菌株 S12 以电极为唯一电子受体时的电子供体, 研究它们支持 S12 产电的能力。

图 2 为起始浓度皆为 10 mmol/L 的 3 种不同电子供体对功率密度的影响, 从该图可以看出当以乳酸钠为电子供体时, 产电量最高,  $P_{max}$  为  $21.93 \text{ mW/m}^2$ , 甲酸钠其次,  $P_{max}$  为  $8.15 \text{ mW/m}^2$ , 丙酮酸钠几乎不能使 S12 菌产电,  $P_{max}$  为  $1.185 \text{ mW/m}^2$ , 而且从图中可以看出以乳酸钠为电子供体时达到最大功率密度所需的时间比甲酸钠短。

理论上 1 mol 乳酸钠可以提供 4 mol 电子, 而 1 mol 甲酸钠可以提供 2 mol 电子<sup>[29]</sup>, 乳酸钠作为电

子供体产电量应为甲酸钠的 2 倍, 从实验结果可以看出, 乳酸钠最大功率密度为甲酸钠的 2 倍多, 所以上述 3 种电子供体中, 以乳酸钠作为 S12 的最优电子供体。

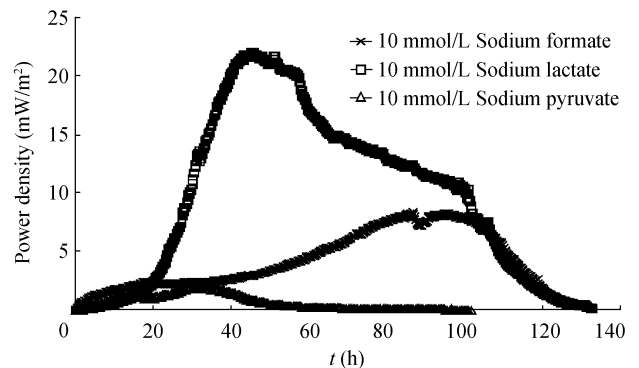


图 2 不同电子供体对功率密度的影响  
Fig. 2 Effect of different electron donors on power density

为了验证向甲酸钠和乳酸钠为电子供体的反应器中加入丙酮酸钠是否能加强其产电效率, 分别向含乳酸钠(10 mmol/L)或甲酸钠(10 mmol/L)的产电培养液中补加 5 mmol/L 丙酮酸钠, 在 30 反应条件下作产电全过程的记录, 所得的功率密度与时间的关系如下图 3 所示。当向 10 mmol/L 乳酸钠的体系中加入 5 mmol/L 丙酮酸钠后, 电池的最大功率密度  $P_{max}$  由原来单独采用乳酸钠时的  $21.93 \text{ mW/m}^2$  下降为  $4.87 \text{ mW/m}^2$ 。同样的, 当向 10 mmol/L 甲酸钠的体系中加入 5 mmol/L 丙酮酸钠后, 电池的最大功率密度  $P_{max}$  由原来单独采用甲酸钠时的  $8.15 \text{ mW/m}^2$  下降为  $4.02 \text{ mW/m}^2$ 。由此可见, 加入丙酮酸钠后电池的电量不但没有增加, 反而比单独以甲酸钠和

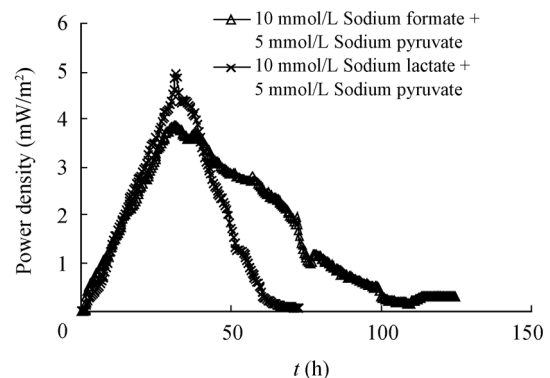


图 3 以甲酸钠加丙酮酸钠和乳酸钠加丙酮酸钠为电子供体功率密度与时间的关系  
Fig. 3 The relation of power density and time with formate adding pyruvate and lactate adding pyruvic

乳酸钠为电子供体时的产电效率低。

加入丙酮酸钠与甲酸钠或乳酸钠共同作为 S12 产电的电子供体其产电量没有增加,反而对其是负面影响,两曲线最大功率密度值近似相等。综上所述上述几种电子供体中用来支持 S12 代谢产电的最佳电子供体为乳酸钠。

### 2.3 电子供体浓度对产电的影响

为了研究电子供体浓度对产电的影响,本实验以浓度分别为 10 mmol/L、20 mmol/L、30 mmol/L 乳酸钠作为菌株 S12 的电子供体进行产电实验,结果如图 4 所示。

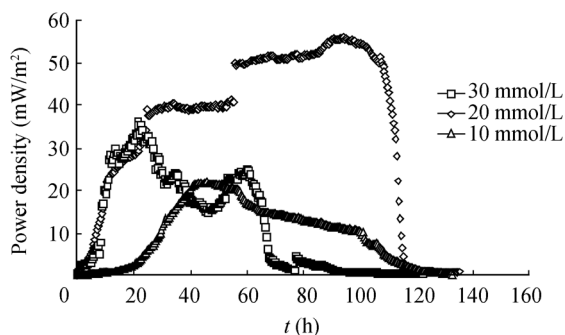


图 4 电子供体浓度对产电的影响

Fig. 4 Effect of donors concentration on electricity generation

从上图可见,随着电子供体浓度由 10 mmol/L 提高到 20 mmol/L 时,产电量也有相应的增加,  $P_{max}$  由 21.93 mW/m<sup>2</sup> 增加至 55.72 mW/m<sup>2</sup>。当电子供体浓度继续提高到 30 mmol/L 时,  $P_{max}$  则为 36.13 mW/m<sup>2</sup>。但此时,电池取得最大功率密度的时间缩短了。这一结果与 Moon 等人<sup>[30]</sup>的研究结果相似。他们分别采用 4 个不同浓度(100 mg/L, 200 mg/L, 300 mg/L, 400 mg/L)的 BOD 作为电子供体进行产电实验,结果发现当供体浓度为 300 mg/L 时产电效率最高,继续增加供体浓度并不能增大产电量。由此可见,电子供体浓度可直接影响电池的产电效率。合适的电子供体浓度的选择将有利于微生物燃料电池的产电。

### 2.4 产电过程中 pH 变化

图 5 为 10 mmol/L 甲酸钠、乳酸钠及丙酮酸钠分别作为电子供体产电过程中对反应系统 pH 的影响。由图可见,当菌株 S12 利用 3 种不同的电子供体进行产电时, pH 总的变化趋势是渐渐升高,最后趋于平稳。这主要是因为产电过程中质子不断从阳极通过质子交换膜移向阴极,伴随着 pH 的不断升

高。与此同时,由于阳极室的质子不断减少,电池的产电也不断降低。

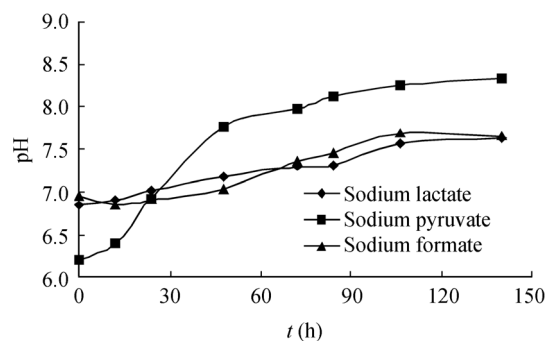


图 5 不同电子供体对 pH 的影响

Fig.5 Effect of different electron donors on pH

利用乳酸钠与甲酸钠为电子供体时系统的 pH 值变化很相似,随着电子供体被 S12 消耗同时释放出质子和电子,质子通过质子交换膜传递到阴极,电子也通过导线传到阴极,二者与空气中的氧气反应生成水,随着产电量的增加,溶液中的质子浓度也相应减少, pH 逐渐升高,最后趋于稳定。当 pH 趋于稳定时,电子供体不再释放质子,电池产电量慢慢减少,最后接近为零。当以丙酮酸钠为电子供体时,由于系统的起始 pH 较低,开始可以释放一些质子产生一定的电量,但由于 S12 对丙酮酸钠的利用效果较差<sup>[31]</sup>,释放的质子不多, pH 也迅速升高,产电很低。由此可见, pH 的变化与反应系统中电子供体的消耗相一致。

## 3 结论

(1) 通过对厌氧培养的菌株 S12 进行 CV 扫描结果可以看出,菌株 S12 具有一定的电化活性,是进行微生物燃料电池产电特性研究的良好材料。

(2) 利用 3 种不同的电子供体进行产电研究发现,乳酸钠是菌株 S12 产电的最佳电子供体。

(3) 合适的电子供体浓度是保证微生物燃料电池高的产电效率的关键。当乳酸钠浓度由 10 mmol/L 提高至 20 mmol/L,产电效率相应提高。继续提高乳酸钠的浓度至 30 mmol/L 时,产电效率不仅不再升高,甚至有所下降。

(4) 产电过程中系统 pH 的变化与电子供体的消耗速率相一致。随着电子供体的消耗,系统的 pH 逐渐升高。当电子供体消耗完时,系统的 pH 趋于稳定。

## 参 考 文 献

- [1] Potter MC. Electrical effects accompanying the decomposition of organic compounds. *Proc R Soc*, 1911, **84**: 200–276.
- [2] Wingard LB, Shaw CH, Castner JF. Bioelectrochemical fuel-cells. *Enzyme Microb Technol*, 1982, **4**: 137–142.
- [3] Logan BE, Regan JM. Electricity-producing bacterial communities in microbial fuel cells. *TRENDS in Microbiology*, 2006, **14**(12): 512–518.
- [4] Kim HJ, Park HS, Hyun MS. A mediator-less microbial fuel using a metal reducing bacterium, *Shewanella putrefaciens*. *Enzyme Microbial Technol*, 2002, **30**(2): 145–152.
- [5] Bond DR, Lovely DR. Electricity production by *Geobacter sulfurreducens* attached to electrodes. *Appl Environ Microbiol*, 2003, **69**(3): 1548–1555.
- [6] Liu H, Ramnarayanan R, Logan BE. Production of electricity during wastewater treatment using a single chamber microbial fuel cell. *Environ Sci Technol*, 2004, **38**(7): 2281–2285.
- [7] Logan BE. Simultaneous Wastewater treatment and biological electricity generation. *Water Sci Technol*, 2005, **52**: 31–37.
- [8] Cheng SA, Liu H, Logan BE. Increased performance of single-chamber microbial fuel cells using an improved cathode structure. *Electrochemistry Communications*, 2006, **8**(3): 489–494.
- [9] Kim BH, Kim HJ, Hyun MS, *et al*. Direct electrode reaction of Fe(III)-reducing bacterium, *Shewanella putrefaciens*. *Microbial Biotechnol*, 1999, **9**: 127–131.
- [10] Park DH, zeikus JG. Electricity Generation in Microbial Fuel Cells Using Neutral Red as an Electronophore. *Appl Environ Microbiol*, 2000, **66**(4): 1292–1297.
- [11] Rabaey K, Clauwaert P, Aelterman P, *et al*. Tubular microbial fuel cells for efficient electricity generation. *Environ Sci Technol*, 2005, **39**(20): 8077–8082.
- [12] Rabaey K, Verstraete W. Microbial fuel cells: a novel biotechnology for energy generation. *Trends in Biotechnology*. 2005, **23**(6): 291–298.
- [13] Rabaey K Nicoboorn. Microbial phenazine production enhances electron transfer in biofuel cells. *Environ Sci Technol*, 2005, **39**: 3402–3408.
- [14] Gorby YA, Beveridge TJ. Composition, reactivity and regulation of extracellular metal-reducing structures (nanowires) produced by dissimilatory metal reducing bacteria. Presented at DOE meeting, April, 20, 2005, warrenton, VA.
- [15] Gorby YA, Yanina S, Mclean JS. Electrically conductive bacterial nanowires produced by *Shewanella oneidensis* strain MR-1 and other microorganisms. *PANS*, 2006, **103**(30): 11358–11363.
- [16] Reguera G, Mccarthy KD, Metha T. Extracellular electron transfer via microbial nanowires. *Nature*, 2005, **455**(7045): 1098–1101.
- [17] Bacteria produce conductive nanowires, [www.nanotechweb.org/articles/news/5/7/1](http://www.nanotechweb.org/articles/news/5/7/1) July.11.2006.
- [18] Liu H, Logan BE. Electricity generation using an air-cathode single chamber microbial fuel cell in the presence and absence of a proton exchange membrane. *Environ Sci Technol*, 2004, **38**(14): 4040–4046.
- [19] He Z, Minteer SD, Angenent LT. Electricity generation from artificial wastewater using an upflow microbial fuel cell. *Environ Sci Technol*, 2005, **39**(14): 5262–5267.
- [20] He Z, Wagner N, Minteer SD, *et al*. An upflow microbial fuel cell with an interior cathode: assessment of the internal resistance by impedance spectroscopy. *Environ Sci Technol*, 2006, **40**(17): 5212–5217.
- [21] Min B, Logan BE. Continuous electricity generation from domestic wastewater and organic substrates in a flat plate microbial fuel cell. *Environ Sci Technol*, 2004, **38**(21): 5809–5814.
- [22] Ringeisen BR, Henderson E, Wu PK, *et al*. High power density from a miniature microbial fuel cell using *Shewanella oneidensis* DSP10. *Environ Sci Technol*, 2006, **40**(8): 2629–2634.
- [23] Biffinger JC, Pietron J, Ray R, *et al*. A biofilm enhanced miniature microbial fuel cell using *Shewanella oneidensis* DSP10 and oxygen reduction cathodes. *Biosensors Bioelectronics*, 2007, **22**(8): 1672–1679.
- [24] Ringeisen BR, Ray R, Little B. A miniature microbial fuel cell operating with an aerobic anode chamber. *Power Sources*, 2007, **165**(2): 591–597.
- [25] 曹效鑫, 梁 鹏, 黄 霞. “三合一”微生物燃料电池的产电特性研究. *环境科学学报*, 2006, **26**(8): 1252–1257.
- [26] Aelterman P, Rabaey K, Pham HT, *et al*. Continuous electricity generation at high voltages and currents using stacked microbial fuel cells. *Environ Sci Technol*, 2006, **40**(10): 3388–3394.
- [27] Xu MY, Guo J, Cen YH, *et al*. *Shewanella decolorationis* sp. Nov., a dye-decolorizing bacterium isolated from an activated-sludge of wastewater treatment plant. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2005, **55**: 363–368.
- [28] Wolin EA, Wolin MJ, Wolfe RS. Formation of methane by bacterial extracts. *Bio Chem*, 1963, **238**(88): 2882–2886.
- [29] Hong YG, Chen XJ, Guo J, *et al*. Respiration and growth of *Shewanella decolorationis* S12 with azo compound as sole electron acceptor, *Appl Environ Microbiol*, 2007, **73**(20): 64–72.
- [30] Moon HS, Chang IS, Kim BH. Continuous electricity production from artificial wastewater using a mediator-less microbial fuel cell. *Bioresource Technology*, 2006, **97**(4): 621–627.
- [31] Hong YG, Chen XJ, Guo J, *et al*. Effects of electron donors and acceptors on anaerobic reduction of azo dyes by *Shewanella decolorationis* S12. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2007, **74**(1): 230–238.