

基于铁还原菌的微生物燃料电池研究进展

张锦涛^{1,2,3} 倪晋^{1,3} 周顺桂²

(1、北京大学深圳研究生院城市人居环境科学与技术重点实验室 广东深圳 518055)

(2、广东省生态环境与土壤研究所, 广东省农业环境综合治理重点实验室 广州 510650)

(3、北京大学环境工程系水沙科学教育部重点实验室 北京 100871)

摘要: 微生物燃料电池(Microbial fuel cell, IMFC)是未来理想的发电装置,而铁还原菌是目前MFC研究中重要的产电微生物。自然界中并无微生物产电的直接进化压力,而MFC电极与自然界中Fe(III)氧化物同为难溶性胞外电子受体,研究表明,铁还原菌对二者的还原有相似机制。基于铁还原菌的MFC具有无需外加介体,可利用多种有机电子供体作为燃料,能量转化率高等优点。本文分析了铁还原菌还原电极和还原Fe(III)氧化物机制的相似性,对近年来基于各种铁还原菌的MFC研究进展进行分述和总结,提出了铁还原菌MFC的发展趋势和研究方向。

随着全球气候变暖和化石燃料耗竭等问题的日益严峻,可替代能源和可再生能源的研究受到越来越多的重视。构建多样的、更稳定的能源系统,已成为各国可持续发展和国家战略的重要组成部分。太阳能、风能、生物质能等可再生能源产业的发展方兴未艾。近年来,一种能直接将化学能转化为电能的发电装置——微生物燃料电池,以其特有的优点,逐渐成为新兴能源领域的研究热点。

微生物燃料电池(Microbial fuel cell简称MFC),是以微生物为催化剂将化学能直接转化为电能的燃料电池。由于它在能量转化过程减少了燃烧步骤,因而可大幅提高能量转化效率。同常规燃料电池相比,MFC以微生物代替昂贵的催化剂,因而具有更多优点:1)常温常压条件下运行;2)无需为防止催化剂中毒提纯燃料;3)原料来源更广泛。理论上,所有可生物降解的有机物都可作为MFC的燃料,因而可利用污水中的有机污染物发电。MFC在处理有机废物的同时产生电能,相比传统的耗能污水处理工艺可有效降低运行成本。

目前,微生物燃料电池的研究正处于实验室或小试水平,电池输出功率比较低(一般小于10W/m² 阳极面积)。为有效降低内阻,消除极化,提高输出功率密度,主要工作集中在以下几个方面:1)电池构型的改进优化;2)适于MFC的先进电极材料的研制与使用;3)运行参数的优化等。而作为MFC的催化剂,微生物氧化有机物并还原电极(即向阳极传递电子)的速率是影响MFC电能输出提高的主要内因。因此,对MFC中具有胞外电子传递活性的微生物(产电微生物, Electricigenic microorganisms)及其电极还原机制的研究,不仅有助于阐明MFC中的产电呼吸代谢途径,而且有利于进一步提高MFC性能,具有重要的理论意义与应用价值。

1 MFC中的产电微生物及其电极还原机制

由于细胞膜的阻隔,多数微生物细胞内代谢反应产生的电子并不能传递到胞外,因而不表现出直接的电化学活性。为此,大多数常规的微生物燃料电池需要采用某些小分子的氧化还原活性物(也称为介体, Mediator)充当电子穿梭载体,将胞内的电子转移至电极表面。在MFC中,可人为地添加介体促进电子传递。常用的介体包括中性红、硫堇、AQDS(蒽醌-2,6-二磺酸),及各种吩嗪、吩噻嗪等。这些介体很多是杂环类化合物,对人体有毒,不能直接排放到环境中。除了外源添加,某些微生物自身也能分泌介体。例如, Rabaey等发现,铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)能够合成绿脓菌素(Pyocyanin)作为介体,将电子传递至阳极。然而,微生物合成介体是耗能过程,而且介体容易随着基质更新而损失,从而降低了电子供体(燃料)的利用效率。因此,无介体MFC是微生物燃料电池的研发重点。

混合菌MFC的主要接种物有废水、活性污泥和水体底泥等。研究者发现,当MFC运行一段时间后,阳极菌群结构较接种物发生显著变化,具有产电活性的微生物得到富集。

例如,16S rRNA研究表明,以底泥为接种物或基质的MFC中,阳极表面富集的D-proteobacteria可高达70%,其中以地杆菌属(*Geobacter*)为主。这些地杆菌属细菌能够在无介体条件下,以电极为唯一电子受体,将一些简单有机物彻底氧化成二氧化碳和水,并从中获取生长所需的能量。目前,已发现的产电微生物有:嗜水气单胞菌(*Aeromonas hydrophila*),丁酸梭菌(*Clostridium butyricum*),腐败希瓦氏菌(*Shewanella putrefaciens*),硫还原地杆菌(*Geobacter sulfurreducens*),铁还原红杆菌(*Rhodospirillum rubrum*),丙酸脱硫叶菌(*Desulfobulbus propionicus*), *Shewanella oneidensis*, *Geothrix fermentans*, *Geopsychrobacter electrodiphilus*等。

目前已发现的微生物还原电极的方式主要有以下3种: 1)直接接触机制; 2)通过氧化还原介体作为电子穿梭体; 3)利用纳米导线远距离传递电子(图1)。

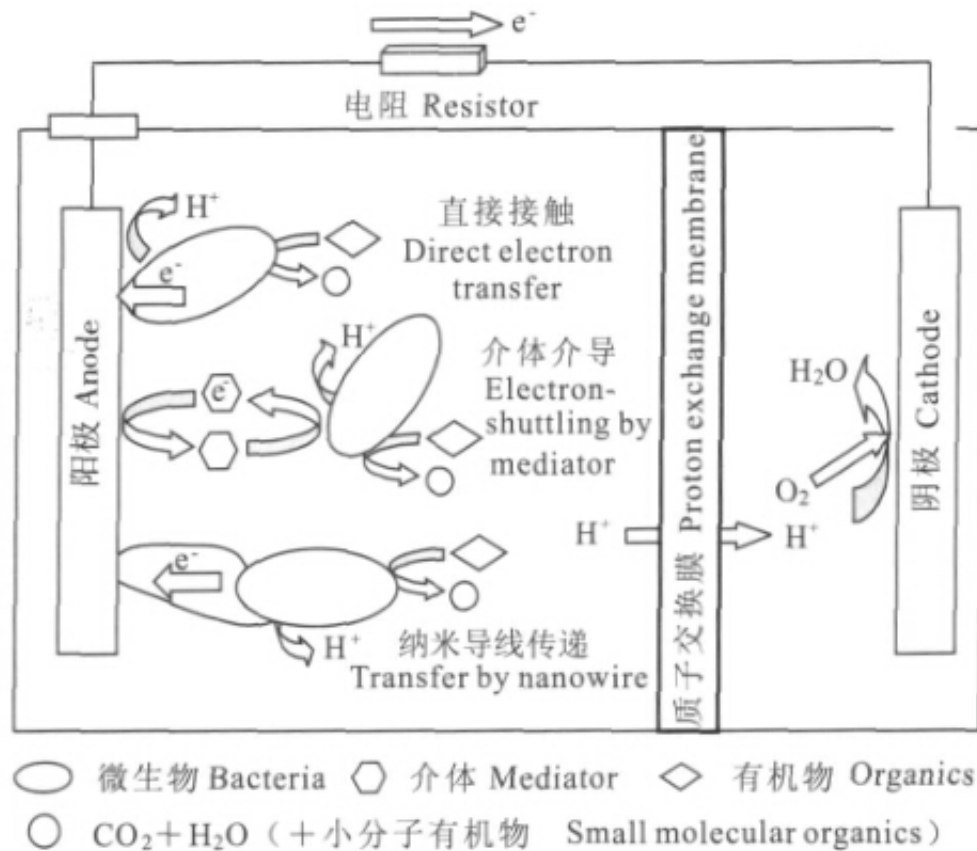


图 1 MFC中微生物向电极传递电子的主要机制^[25]

Fig 1 Main mechanisms of electron transfer to anode by electrogenic microorganisms in MFC^[25]

由于输出功率的限制, 现有的微生物燃料电池离实际应用还有很大差距, 其中有可能在短期内投入实际应用的是底泥燃料电池(图2), 它可以用于驱动偏远海域中的低能耗传感器。底泥燃料电池(Sediment microbial fuel cell SMFC)工作原理是: 以产电微生物(主要是地杆菌属细菌)为催化剂, 将底泥中的有机物(如乙酸等)彻底氧化, 产生的电子被微生物传递到阳极, 然后通过外电路到达阴极, 从而形成回路产生电流。在SMFC中, 发酵微生物的作用是将复杂的有机质降解为发酵产物(如乙酸等), 供富集在阳极的产电微生物利用, 两者"接力"完成复杂有机质的彻底氧化与产电。

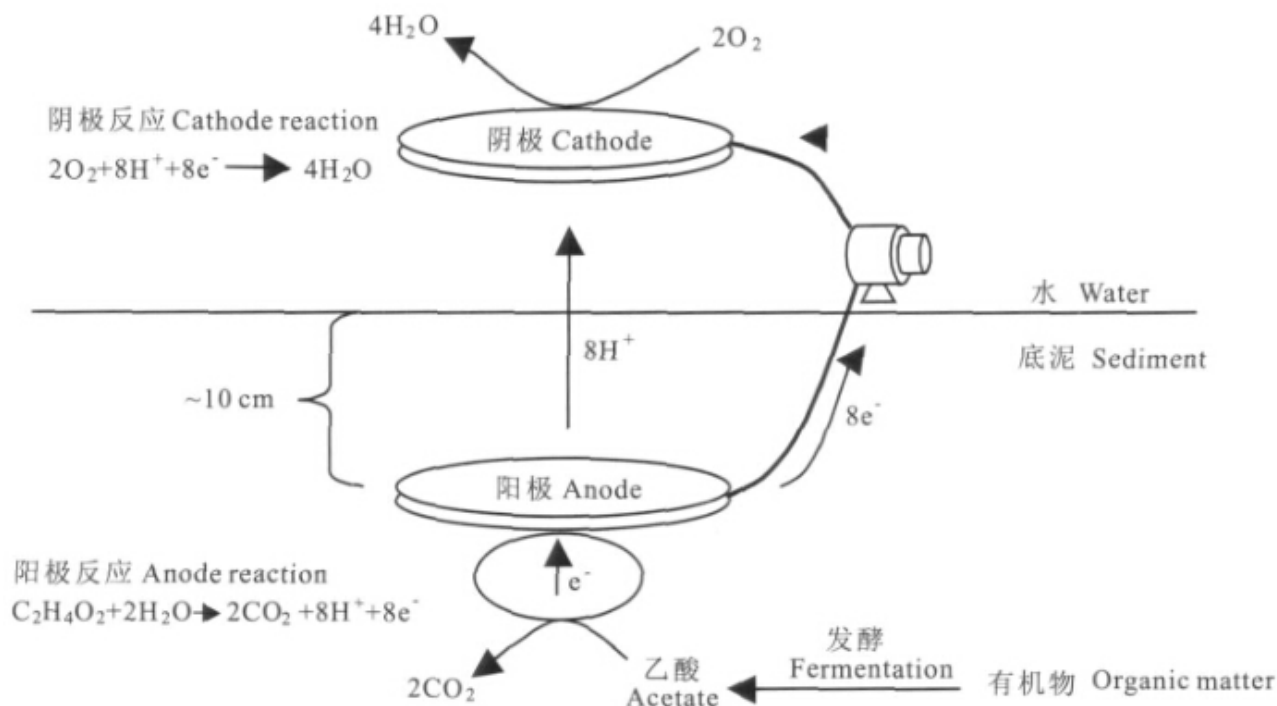


Fig 2 A schematic of a sediment microbial fuel cell^[28]

2微生物电极还原与Fe(III)氧化物还原

由于自然界中并未发现对产电呼吸代谢(Electricigen icrespiration metabolism)的直接进化压力,因而推测,自然界中可能存在其它因素导致微生物电极还原能力的形成。铁在地壳中平均含量为51.6%,是地壳中丰度排第二的金属。铁在自然界中主要以难溶性Fe(III)氧化物形式存在。作为地球生命古老的呼吸类型,微生物还原Fe(III)氧化物的能力经历了长期的进化选择,并且在元素的生物地球化学循环中扮演着重要角色。与自然界中的Fe(III)氧化物一样,电极也是难溶性的胞外电子受体。

基于电极与Fe(III)氧化物作为电子受体的相似性,有人推测,微生物将胞内代谢产生的电子传递到电极表面的机制可能与其还原Fe(III)氧化物(也称铁呼吸)的能力有关。

韩国科学家从长期运行的MFC中分离出两株铁还原菌,即嗜水气单胞菌(*Aeromonas hydrophila* PA3)和丁酸梭菌(*Clostridium butyricum* EG3)。循环伏安法和MFC实验证明,在厌氧条件下它们不仅可还原Fe(III),而且可以还原电极产电。

Holmes等以Fe(III)氧化物为电子受体,从海水SMFC阳极表面分离到富集的铁还原菌*Geopsychrobacter electrodiphilus*,该菌在SMFC电极还原中起主要作用。铁还原菌1(Fe(III)-reducing bacteria,简称FRB2是指能够异化还原Fe(III)并从中获取生长所需能量的微生物。自从1987年Lovley首次在淡水底泥中发现金属还原地杆菌(*Geobacter metallireducens* GS15)以来,人们已经分离到铁还原细菌100多株。陆续实验证明,许多铁还原菌具有电极还原活性,可进行产电呼吸代谢。铁还原菌的多样性与广泛性,为MFC催化剂的选择提供了广阔空间。

铁还原菌对难溶性Fe(III)氧化物的还原主要有4种机制:(1)螯合剂促溶机制,即细胞释放螯合剂促进Fe(III)氧化物溶解,然后再还原溶解态Fe(III);(2)直接接触机制,即铁还原菌通过细胞外膜上的电化学活性蛋白将电子传递到Fe(III)氧化物表面;(3)电子穿梭机制,即利用自然环境中广泛存在的腐殖质、植物根系分泌物或细胞自身合成的

氧化还原介体作为电子穿梭体,将电子传递给Fe(III)氧化物;(4)纳米导线辅助机制,即在特定条件下某些铁还原菌会形成类似菌毛的导电附属物,细菌可以纳米导线远距离向固体电子受体(如铁氧化物、电极等)传递电子,从而免除了细胞表面与电子受体的直接接触,有效增大了反应面积。

由于电极是永久性胞外电子受体,不同于还原后消失的Fe(III)氧化物,因此,电极还原不存在类似螯合剂促溶的机制,而与后3种Fe(III)氧化物还原方式相关。例如,Nevin等在研究细菌还原Fe(III)氧化物的机制时发现,*Geothrix fer-m*

entans能分泌一种水溶性醌类物质,这种醌类物质可作为电子穿梭体加速Fe(III)还原。而在基于*G. fermentans*的MFC研究中,他们同样发现细菌可以自身合成介体,促进细胞对电极的电子传递。但这两种介体是否同一物质,有待进一步分离鉴定。Gorby等研究*Shewanella oneidensis* MR-1的纳米导线时发现,细胞色素MtrC和OmcA基因缺陷株的纳米导线不能导电,进而失去还原Fe(III)氧化物的能力,同时降低在MFC中的产电活性,说明该菌可利用导电的纳米导线向电极或Fe(III)氧化物传递电子。

再如,地杆菌属(*Geobacter*)细菌在还原Fe(III)氧化物时并不产生介体或螯合剂,但可以利用细胞色素向Fe(III)氧化物传递电子。Mehta等发现,两种外膜细胞色素C,即OmcS和OmcE,在*Geobacter sulfurreducens*还原难溶Fe(III)氧化物中起着重要作用。敲除omcS基因后,*G. sulfurreducens*丧失还原Fe(III)氧化物的能力,但能够继续还原可溶性Fe(III)。而敲除omcE的突变株,经过一段时间培养,可缓慢恢复还原Fe(III)氧化物的能力,但较野生株弱。重新表达两种蛋白,突变株可再还原Fe(III)氧化物。定量RT-PCR分析表明,相对于以可溶性的Fe(III)为电子受体,*G. sulfurreducens*在MFC条件下(即以电极为电子受体),omcS转录水平增加19倍,且omcS转录水平随电流增大而增加,敲除omcS抑制电流产生。在MFC条件下,omcE转录水平也有所提高,且OmcE基因缺陷株经过适应性驯化可逐渐恢复产电水平,但比野生株稍低。尽管OmcS和OmcE在Fe(III)氧化物和电极还原中的具体作用有待进一步研究,但上述结果表明,*G. sulfurreducens*还原Fe(III)氧化物和电极时有相似的机制。

总之,大量研究证明,微生物电极还原与Fe(III)氧化物异化还原具有相似机制,二者相互借鉴,有助于深入理解胞外电子传递机制。

3 基于铁还原菌的MFC研究概况

目前报道的基于铁还原菌的MFC,大多无需外加介体,部分菌还能从电子传递过程中获取生长所需的能量,并以电极为唯一电子受体彻底氧化多种有机电子供体,电子回收率较高(表1)。这类产电微生物在MFC应用中有两个优点:一是彻底氧化有机物达到较高的能量转换率;二是微生物从电子传递过程中获取生长所需能量,实现代谢活性的自我维持,有利于MFC长期运行。

以下分别对报道过的主要铁还原菌MFC的特点及研究进展进行总结。

3.1 基于*S. putrefaciens*的MFC

Km等在研究*S. putrefaciens*代谢乳酸产电时,最早提出微生物能直接将电子传递到电极表面的设想。但*S. putrefaciens*在MFC中的生长时,大多数细胞处于游离状态,仅有少量细胞覆盖于电极表面形成生物膜,因而容易随基质的更换而流失。当向MFC中新鲜基质中加入不同浓度的细胞时,初始电势随浓度升高而增大,与循环伏安法测得的电化学活性结果一致。推测*S. putrefaciens*依靠细胞表面的电化学活性物质(如细胞色素C),向电极传递电子。由于以电极为受体时只能不完全氧化有限的电子供体,如乳酸、丙酮酸等,电子回收率较低,因而,*S. putrefaciens*并非理想的MFC催化剂。

3.2 基于*S. oneidensis*的MFC

Ringeisen等在研究微型MFC(横截面积210cm²,体积112cm³)时使用兼性厌氧菌*S. oneidensis*作为催化剂,以乳酸为电子供体,按横截面积和阳极体积计算最大输出功率密度分别为3W/m²、500W/m³,但电子回收率低于10%。*S. oneidensis*向电极传递电子的机制可能包括直接接触机制、电子穿梭机制或纳米导线辅助机制,但3种机制对电子传递的贡献率并未进一步研究。微型MFC设计能够有效减少扩散距离,增加单位体积的阳极表面积,可有效提高功率输出密度,但*S. oneidensis*利用电子供体(燃料)的利用效率过低,可考虑采用其它菌种提高电子回收率。

表 1 已报道的主要铁还原菌燃料电池概况
Table 1 Microbial fuel cells based on Fe(III)-reducing bacteria

铁还原菌 Fe(III)-reducing bacteria	外加介体 Artificial mediator	有机电子供体 Organic electron donor	是否彻底氧化 电子供体 Completely oxidized electron donor	电子回收率 (电子供体) Recovery of electron	最大输出电流 (mA/m ² 阳极面积) Maximum output current (mA/m ² anode area)	最大输出功率密度 (mW/m ² 阳极面积) Maximum output power density (mW/m ² anode area)	文献 Ref
<i>S. putrefaciens</i>	无 Absent	乳酸和丙酮酸 Lactic and pyruvic acid	否 No	低* Low	312.50*	10.20	[41]
<i>S. oneidensis</i>	无 Absent	乳酸 Lactic acid	否 No	< 10% (乳酸 Lactic acid)	100	24	[22]
<i>G. sulfurreducens</i>	无 Absent	乙酸 Acetate	是 Yes	96.8% (乙酸 Acetate)	1143	15*	[16]
<i>R. ferrireducens</i>	无 Absent	葡萄糖、果糖、蔗糖和木糖 Glucose, fructose, sucrose and xylose	是 Yes	81% (葡萄糖 Glucose)	74 (外阻 1000 Ω External resistor 1000 Ω)	17.67*	[20]
<i>D. propionius</i>	无 Absent	乳酸、丙酮酸和丙酸 Lactic, pyruvic and propionic acid	否 No	26.4% (丙酮酸 Pyruvic acid)	28.35	/	[21]
<i>G. fermentans</i>	无 Absent	乙酸、琥珀酸、苹果 酸、乳酸和丙酸 Acetate, succinic, malic, lactic and propionic acid	是 Yes	97% (乙酸 Acetate)	50* (外阻 500 Ω External resistor 500 Ω)	/	[23]
<i>G. electrophilus</i>	无 Absent	乙酸、苹果酸、延胡 索酸和柠檬酸 Acetate, malic, fumaric and citric acid	是 Yes	96.3% (延胡索酸 Fumaric acid)	121.43	/	[24]

* 表示根据文献中的数据计算或估算 The data followed * are calculated or estimated based on the data in references

3.3 基于*G. sulfurreducens*的MFC

*G. sulfurreducens*是最早报道的，能够直接利用电极还原的能量生长的微生物。基因组序列信息的阐明，有利于深入了解细胞与电极表面相互作用的机制，*G. sulfurreducens*已成为目前产电代谢研究中的热点微生物。

基于*G. sulfurreducens*的MFC主要依靠附着在阳极上的细胞传递电子。激光共焦扫描显微观察发现，随着输出电流增强，阳极表面覆盖的细胞数量增加，逐渐形成由多层细胞组成的高度结构化的生物膜。对不同电流下阳极生物膜的生物量分析表明，电流强度和生物量线形正相关。当达到最大输出电流时，生物膜平均厚度为40Lm。活性染色观察发现，生物膜中离电极表面较远的细胞仍具有产电代谢活性，并且参与对电极的电子传递，这些细胞远距离传递电子与其表面导电的菌毛有关。这些长约20Lm的菌毛相互交错缠绕，构成渗透在生物膜中的/纳米电网0，有效促进了远距离的电子传递。

*G. sulfurreducens*菌毛缺陷株不能还原Fe(III)氧化物，但可转化乙酸产电，电流输出较野生株弱。活性染色观察表明，只有紧靠阳极电极表面的缺陷型细胞具有产电活性，推测这些细胞能够通过外膜细胞色素C，如OmcS，向电极传递电子。

*G. sulfurreducens*在沉积环境中还原Fe(III)氧化物时，并未发现类似于在电极上堆积形成细胞膜传递电子的现象，可能由于Fe(III)氧化物不同于可作为永久电子受体的电极，形成细胞膜并不利于消耗Fe(III)氧化物后转移到其它位置。该现象是微生物自身的适应性变化，也意味着通过基因工程或驯化的方法有可能能很大程度提高微生物还原电极的能力。

3.4 基于*R. ferrireducens*的MFC

*R. ferrireducens*是最早报道的能将葡萄糖的彻底氧化与Fe(III)还原偶联的兼性厌氧微生物。其他许多铁还原菌，如*Geobacteraceae*中的一些种属，虽然能直接向电极传递电子，但电子供体局限于简单有机酸，如乙酸、乳酸等。当向MFC加入糖或其它较复杂的有机物作为燃料时，还需要发酵细菌将其降解为简单有机酸后才能被利用。而*R. ferrireducens*能以电极为唯一电子受体直接氧化葡萄糖、果糖、蔗糖、木糖等生成CO₂，并从电子传递中获得生长所需的能量。当以葡萄糖为电子供体时电子回收率可达81%。*R. ferrireducens*最适生长温度为25e，但在4e下仍能生长并还原Fe(III)，它在低温下还原电极的能力未作报道，有待进一步考察。基于*R. ferrireducens*的MFC具有蓄电池的特点，如反复充放电时其蓄电能力无明显减弱，充电快速，储存较长时间电池性能保持稳定等。

3.5 基于 *D. propionicus* 的 MFC

D. propionicus 是最早发现的能从难溶性 Fe(III) 氧化物还原中获取生长所需能量的硫酸盐还原菌。它是 *Desulfobulbaceae* 的代表种, 其主要代谢方式是通过不完全氧化有机酸如乳酸、丙酸、丁酸和乙醇等异化还原硫酸盐。当缺乏电子受体时, 还能通过琥珀酸-丁酸途径发酵乳酸、丙酮酸或乙醇生成乙酸和丙酸的混合物。在 MFC 中, *D. propionicus* 能够以乳酸、丙酸、丙酮酸或氢为电子供体, 向电极传递电子并维持生长。根据反应物和产物的化学平衡计算, 以丙酮酸盐为电子供体时, *D. propionicus* 还原电极的同时还进行丙酮酸发酵, 同以难溶 Fe(III) 氧化物为电子受体时的混合代谢类似。因此, MFC 电子回收效率较低, 仅有 2614% 的丙酮酸代谢与阳极电子传递偶联。更换新鲜基质, MFC 能够迅速恢复电流输出水平, 说明附着在电极表面的细胞在阳极电子传递中起主要作用。由于不能利用乙酸作为电子供体, 一般认为 *D. propionicus* 在海水 SMFC 电极还原中不会起重要作用。但底泥中的硫化物可被电极非生物氧化产生单质硫, 沉淀在燃料电池阳极表面, 而 *D. propionicus* 能够将硫氧化成硫酸盐并向电极传递电子。因此, 在含硫化物丰富的环境中, 可形成电极非生物还原与由 *D. propionicus* 催化的生物还原并存的 MFC。此发现丰富了对海水 SMFC 生物产电机制的认识。

3.6 基于 *G. fermentans* 的 MFC

G. fermentans 是从石油污染的铁还原环境中分离的严格厌氧菌, 能以 Fe(III) 为唯一电子受体彻底氧化多种简单有机酸和棕榈酸, 是最早报道的淡水环境中能够通过 Fe(III) 还原氧化长链脂肪酸的微生物。它以电极为唯一电子受体时, 能够彻底氧化乙酸、琥珀酸、苹果酸、乳酸、丙酸等简单有机酸, 而以乙酸为电子供体时的电子回收率可高达 94%。

研究表明, *G. fermentans* 还原电极时, 采取了类似还原难溶性 Fe(III) 氧化物的策略——合成介体加速电子传递至不溶性胞外电子受体。但更换阳极室中的基质, MFC 可保持近 50% 的产电能力, 并且在新基质中数周内未检测到电子穿梭体, 说明覆盖在电极表面的细胞可能以某种方式阻止介体释放到基质中或者这些细胞能直接向电极表面传递电子。

3.7 基于 *G. electrodiphilus* 的 MFC

Homes 等从海水 SMFC 阳极表面分离到两株独特的耐寒细菌 *G. electrodiphilus* A1 T 和 A2, 可在 4℃ 时生长, 并能还原多种可溶和难溶 Fe(III)。以可溶性 Fe(III) 为电子受体时, 可氧化多种有机酸、氨基酸、长链脂肪酸、芳香族化合物。*G. electrodiphilus* 在 MFC 中能彻底氧化的有机酸包括乙酸、苹果酸、延胡索酸和柠檬酸等, 电子回收率在 90% 左右。A1 T 和 A2 的 16S rRNA 序列与 SMFC 阳极表面主导电子传递的微生物有 90%~97% 的相似性, 说明 *G. electrodiphilus* 在海水 SMFC 电极还原中起主要作用。考虑到其在低温海底环境中生长的优势, *G. electrodiphilus* 可作为模式菌, 深入研究海水底泥燃料电池中微生物与电极的相互作用机制, 优化电极还原能力, 以推动 SMFC 在驱动偏远海域传感器中的应用。

4 研究展望

基于铁还原菌的 MFC 无需外加介体, 可利用多种有机物作为燃料, 能量转化率高, 具有很高的研究及应用价值。但目前为止, MFC 转化燃料的速率过低, 输出功率有限, 是制约实际应用的瓶颈。筛选能够快速转化有机物产电的铁还原菌, 已成为推动 MFC 发展的迫切需要。筛选适于 MFC 的铁还原菌主要有以下 3 种途径: 1) 直接从运行良好的 MFC 阳极分离, 分离时应尽量使用难溶 Fe(III) 氧化物作为电子受体, 并使生理条件(如 pH、温度、电子供体等)接近原生境; 2) 借鉴 Fe(III) 氧化物还原的研究成果, 考察相关铁还原菌的电化学活性, 也是获得优良 MFC 菌种的重要途径; 3) 通过基因工程构建高效产电菌株。

目前, 铁还原菌 MFC 在电化学优化方面的研究较为落后。今后应结合铁还原菌基因组和电极还原机制等方面的研究成果, 改进电池构造, 采用特殊电极材料, 优化运行参数, 推动铁还原菌 MFC 应用研究的快速发展。此外, 考察如何有效利用发酵细菌与铁还原菌的协同效应, 扩大燃料利用谱, 提高 MFC 在生活污水、畜禽粪便、淀粉废水等有机废弃物处理领域的应用潜力, 也将有效加快 MFC 投入实际应用的步伐。

原文地址: <http://www.china-nengyuan.com/tech/100032.html>