

微生物燃料电池利用乳酸产电性能与微生物群落分布特征

刘茹¹, 赵阳国^{1,2*}, 卢珊珊¹, 黄庆¹

中国海洋大学,¹ 环境科学与工程学院,² 海洋环境与生态教育部重点实验室, 青岛 266100

摘要: 【目的】为探讨以乳酸为基质的微生物燃料电池 (Microbial fuel cell, MFC) 产电性能以及微生物群落在阳极膜、悬浮液、阳极沉淀污泥中的分布特征, 【方法】试验建立了双室 MFC, 以乳酸为阳极主要碳源, 研究了反应器的启动过程及产电效能, 同时以电镜和 PCR-变性梯度凝胶电泳 (Denaturing gradient gel electrophoresis, DGGE) 技术解析了微生物群落的空间分布特征。【结果】结果表明, 反应器启动第 7 天时外电压达到 0.56 V, 当外阻为 80 Ω 时, 电流密度为 415 mA/m², MFC 的功率密度达到最大值 82 mW/m²。电镜观察发现大量杆菌附着在阳极表面, 结合较为紧密; DGGE 图谱显示阳极膜表面微生物与种泥最为相似, 与阳极悬浮液、底部沉淀污泥中的主要菌群一致, 条带序列与鞣丸酮丛毛单胞菌 (*Comamonas testosteroni*) 和布氏弓形菌 (*Arcobacter butzleri*) 等最为相似。【结论】本研究表明以乳酸为基质 MFC 可产生较高的功率密度, 阳极附着的优势菌与接种污泥来源密切相关。

关键词: 微生物燃料电池, 乳酸, 变性梯度凝胶电泳, 细菌群落

中图分类号: Q938, X703 文献标识码: A 文章编号: 0001-6209 (2012) 06-0744-09

微生物燃料电池 (Microbial fuel cell, MFC) 是一种在电化学技术基础上发展起来的, 以微生物为催化剂将储存在有机物中的化学能转变成为电能的装置。在 MFC 中, 利用有机物维持生长的微生物, 把氧化有机物获得的电子通过电子传递链传递到细胞外, 直接或间接地通过介质 (Mediator) 将电子传递到电极上, 经过外电路产生电流, 能够将电子传递给电极的微生物即为产电微生物 (Electricigen)^[1]。MFC 具有能源转化效率高、燃料来源广泛、反应条件温和、环保无污染等特点, 受到人们的极大关注, 成为极具希望缓解能源短缺问题的新技术。

理论上, 凡是可被微生物降解的有机物均可作

为 MFC 原料。然而, 在大量关于电子传递机制、反应器工艺改进和阳极材料修饰等研究中, 往往应用较为简单和单一化合物为 MFC 燃料, 如葡萄糖、乙酸、丙酸等^[2-6]。根据产电微生物的代谢特点, 常规的产电菌更易利用小分子挥发酸产电^[6], 而长链的脂肪酸和乳酸一般降解后才能被产电微生物利用。乳酸作为污水处理、垃圾处理过程中的重要中间产物, 利用其作为产电燃料的产电效能研究具有重要意义。

MFC 产电效能除了工艺形式和常规的控制参数外, 主要取决于阳极膜上产电微生物的种类和活性。目前, 在自然条件中分离的产电微生物主要为

基金项目: 山东省优秀中青年科学家科研奖励基金 (BS2011NJ018); 国家自然科学基金 (40801193)

作者简介: 刘茹 (1984-), 女, 江苏徐州市人, 硕士研究生, 主要从事废水处理资源化研究。E-mail: shangshan_2007@126.com

* 通信作者。Tel: +86-532-66786568; E-mail: ygzhaou@ouc.edu.cn

收稿日期: 2011-12-11; 修回日期: 2012-02-22

变形菌门(Proteobacteria)和厚壁菌门(Firmicutes)中的细菌,且多为兼性厌氧类型。有研究表明,一般菌株在纯培养时产电效率很低^[7-8],而同样的菌株在群落中往往具有更高的产电效率,可见,这些产电相关的微生物之间可能存在着协同作用^[9]。因此,解析MFC中阳极膜上、阳极悬浮液中直接产电与非直接产电的微生物群落及其结构,可更好的认识产电相关微生物的群落特征,进而更好地提高其群体产电能力。另外,接种污泥来源也将直接影响产电相关微生物的富集过程,选择理想的种泥将极大的缩短反应器的启动时间。

本研究以乳酸为主要底物,接种硫酸盐废水厌氧处理污泥,探讨反应器的启动过程与产电效能;同时,利用PCR-变性梯度凝胶电泳(Denaturing gradient gel electrophoresis, DGGE)技术对MFC阳极室不同相位中的微生物群落结构进行分析比较,以揭示特定条件下MFC中不同空间的微生物群落分布特征。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 实验装置:采用双室微生物燃料电池,两极室体积均为170 mL,电极材料为80 mm × 60 mm × 8 mm 碳板,两极室间以质子交换膜(Nafion 117, Dupont)隔开,质子交换膜的有效面积为40 cm²,实验装置在20-25℃条件下启动和运行。

1.1.2 阴阳极溶液组成:阳极溶液(g/L):NaHCO₃ 2.5, CaCl₂ 0.1, KCl 0.1, NH₄Cl 1.5, NaH₂PO₄ 0.6, NaCl 0.1, MgCl₂·6H₂O 0.1, MgSO₄·7H₂O 0.1, 加入10 mL 维生素溶液^[10]和5 mL 微量元素溶液^[11], 乳酸为有机底物,配成化学需氧量(COD)浓度为500 mg/L的进水溶液。

阴极磷酸盐缓冲液:NaH₂PO₄ 4.22 g/L, Na₂HPO₄ 2.75 g/L, 铁氰化钾浓度50 mmol/L。

1.1.3 种泥:MFC接种污泥取自本实验室稳定运行的厌氧折流板反应器(ABR)污泥,该反应器一直用于硫酸盐废水的处理研究,其中进水COD成分为乳酸和乙酸,在碳硫比为2:1, COD为4000 mg/L时,硫酸盐去除率可达98%^[12]。

1.1.4 主要试剂和仪器:土壤DNA提取试剂盒(Mobio, CA USA), Ex Taq DNA聚合酶、dNTP、pMD19-T载体(TaKaRa, 大连), PCR产物回收试剂盒(NucleoSpin[®] Extract II, Macherey-Nagel, Germany);数据采集卡(PISO-813, 台湾泓格科技), 电泳系统Power Pac1000(Bio-Rad, CA USA), 紫外分光光度仪(Beckman Coulter DU800, CA USA), 气相色谱仪(GC-2010型, 日本岛津), GeneAmp[®] PCR system 9700 PCR仪(Applied Biosystems, CA USA)。

1.1.5 引物:细菌群落DGGE分析引物为BA341F: 5'-CCTACGGGAGGCAGCAG-3'和BA534R: 5'-ATTACCGCGGCTGCTGG-3', 对应于*E. coli* 16S rRNA基因的341-534 bp;其中引物BA341F的5'端带有GC夹。所有引物均购自Invitrogen(上海)。

1.2 MFC的启动与运行

直接用移液管吸取ABR中污泥10 mL置于阳极室中,加入阳极溶液,静置以使阳极挂膜,每24 h换水一次,换水时室底留下约20 mL污泥混合液,直至反应器电压输出稳定。反应器运行稳定后,取阳极电极做扫描电镜观察,取阳极室的不同相位微生物样品,包括阳极膜、悬浮溶液及沉淀污泥,以及种泥进行DGGE分析。

1.3 监测方法

1.3.1 电压测量及分析:输出电压(U)通过数据采集卡进行在线记录。

电路中的电流(I)用欧姆定律计算: $I = U/R$ 。电流密度 $j = I/A$, A为电极工作面积。电池的功率输出 $P = U^2/R$, 功率密度 $q = P/A$ 。

1.3.2 进出水监测:溶液初始COD和剩余COD用重铬酸钾氧化法测定^[13];阳极出水挥发性有机酸包括乙酸、丙酸、丁酸,使用气相色谱仪进行定性定量检测。在进行测定前,样品经0.45 μm微孔膜滤去杂质。测定条件:载体为GDX-103(60-80目)+2% H₃PO₄, 填充柱长2m × Φ5mm;载气为N₂-50 mL/min; H₂-50 mL/min;空气-500 mL/min;柱箱最高温度250℃,进样室温度200℃,离子室温度220℃,柱温190℃。采取程序升温,即初始温度100℃,初始时间2 min,升温速度6℃/min,终止温度200℃,终止时间8 min。首先对色谱进行标样分析,将已知浓度的几种液相末端产物色谱纯样品注

入色谱仪中,获得标线,根据标准方程对测试样品进行定性定量分析。

1.4 微生物群落分析

1.4.1 微生物群落电镜分析:使用电子扫描电镜(SEM)对产电稳定期间的电极表面微生物进行观测。将电池阳极切下一小块,使用磷酸盐缓冲液清洗2次后,用2.5%戊二醛固定,在扫描电镜下观察并拍照。

1.4.2 微生物群落结构分析:于反应器运行稳定时,获取种泥、阳极膜、溶液及底泥,采用土壤DNA提取试剂盒提取微生物总DNA。根据文献[14]进行PCR扩增及对PCR产物进行DGGE分析。

DGGE图谱数字化后,对DGGE图谱中各泳道微生物进行Shannon-Weiner多样性指数(H')分析, H' 通过公式 $H' = -\sum P_i \log P_i$ 计算,其中 P_i 是泳道中条带的相对信号强度;采用SPSS软件(SPSS Inc., Chicago IL)以Ward's方法对各泳道群落进行聚类分析。

DGGE图中条带按文献[14]方法回收并克隆,应用Sanger法对阳性克隆进行测序,测序委托南京金斯瑞生物科技有限公司完成。序列去除载体后,通过RDP(<http://rdp.cme.msu.edu/>)中的SeqMatch程序进行分类,然后以Blast在线工具检索最相近序列。

1.5 DNA序列在基因库中的登录号

本研究获得的16S rRNA基因序列均已经递交至GenBank中,登录号为:JQ241009-JQ241028。

2 结果

2.1 MFC的启动

以乳酸为底物启动反应器,初始COD浓度为500 mg/L,以序批式的方式进行,接种污泥浓度(VS)为50 g/L,当电压逐渐下降至0.1 V时,更换阴阳极溶液维持燃料电池的运行。在此阶段,MFC外载电阻(1 k Ω)上的输出电压随时间变化如图1所示。可见,接种后电压缓慢上升,在启动后第4天,MFC的输出电压迅速上升达到0.252 V;在第7天时,电压输出最高达到0.56 V,通过比较前后电压变化发现此时的MFC已经基本稳定。

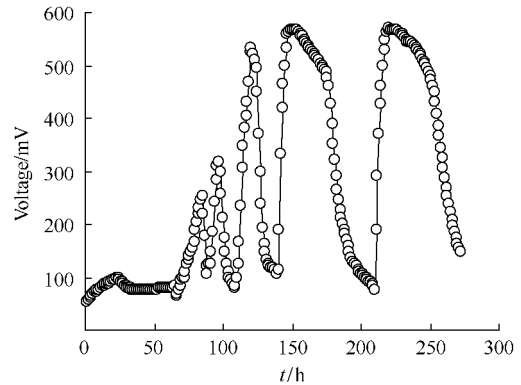


图1 以乳酸为底物的MFC启动、运行的电压-时间图

Fig. 1 Electricity production of MFC using lactate as the substrate.

2.2 MFC产电性能

通过改变外接电阻(5-2000 Ω)得到了MFC的功率密度和电压随电流密度变化曲线(图2)。由图可见,随着电阻阻值的增大,电流密度不断减小

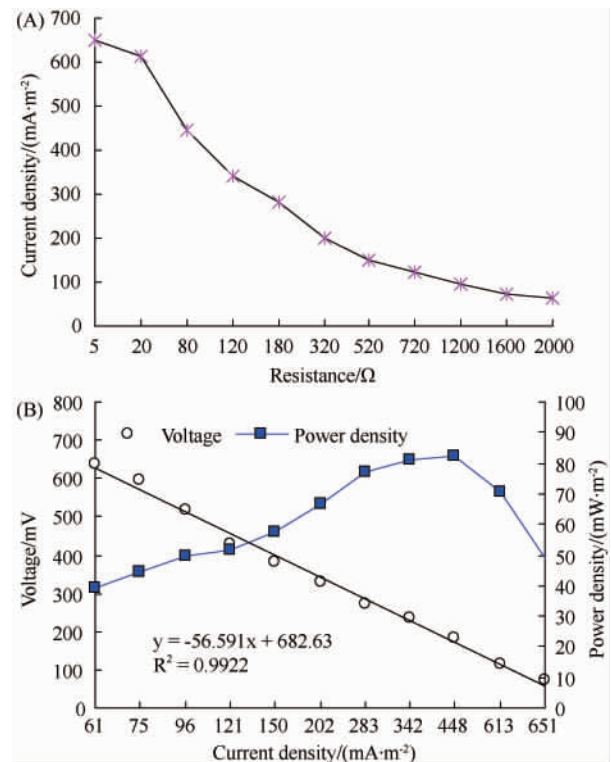


图2 MFC在不同电阻值下电流密度(A)及阳极输出电压、电功率密度同电流密度的关系(B)

Fig. 2 Changes of current density at different resistances (A) and the relationship between voltage output, power density and current density (B) in the MFC.

(图 2-A) 在外电路电流密度为 61 mA/m^2 时, MFC 的电压为 638 mV 。然而, 随着电流密度逐渐升高到 121 mA/m^2 , 电压迅速降至 427 mV 。随着电流密度继续升高至 448 mA/m^2 , 电压呈线性下降至 184 mV 。当电流密度为 415 mA/m^2 , 外阻 80Ω 时, MFC 的功率密度达到最大值 82 mW/m^2 。图 2-B 线性回归得到的 U-I 图中, 斜率反映了电池的内阻, 为 56.5Ω ; 截距为电池的电动势, 为 0.682 V 。电池内阻的大小在很大程度上影响着功率的输出。图 2 显示实验 MFC 最大功率密度在外接电阻为 $20 - 80 \Omega$ 时获得, 符合当外接电阻等于内阻时回路获得最大输出功率的规律^[15]。

2.3 MFC 对乳酸的降解

MFC 阳极室中 COD 的去除效果、挥发酸的变化见图 3。由图 3-A, 发现进水中的乳酸 COD 浓度为 500 mg/L , 27 h 后浓度降至 120 mg/L , COD 去除效率达到 76% 。结合图 3-B 发现, 乳酸降解过程中, 挥发性脂肪酸 (VFA) 浓度逐渐升高, 表明乳酸

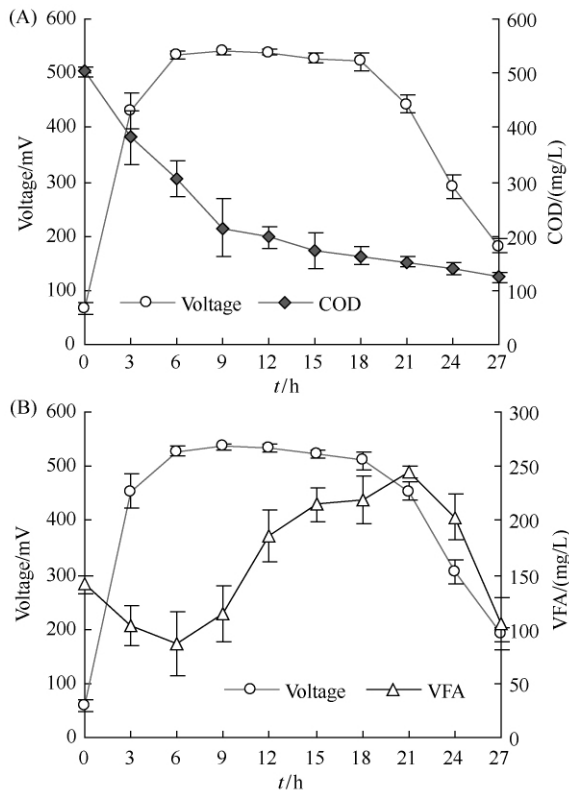


图 3 MFC 电压输出和 COD 关系 (A) 及电压输出与 VFA 的关系 (B)

Fig. 3 The relationship between voltage output and COD (A) and the relationship between voltage output and VFA (B).

降解伴随着 VFA 的产生, 然后 VFA 逐渐降解。

2.4 阳极膜表面的电镜扫描图

取出产电稳定期间的阳极, 进行电极表面扫描电镜观察 (图 4)。从图可见, 微生物几乎均为杆状结构, 大小约为 $0.5 - 2 \mu\text{m}$, 细菌相互粘连形成菌团, 为个体或群体状态紧密附着在阳极膜表面, 整个阳极表面都被微生物所覆盖, 阳极表面微生物数量较大, 但种类有限, 这也通过 DGGE 的结果证实了这一点。

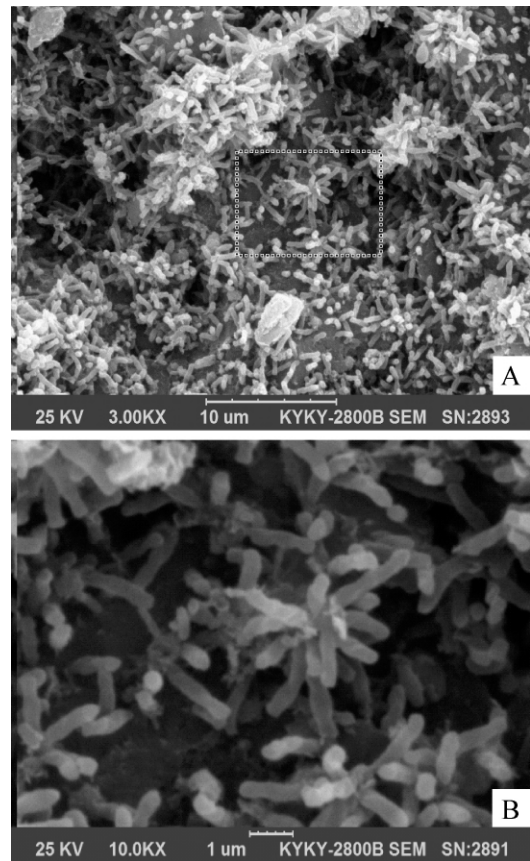


图 4 以乳酸为碳源 MFC 阳极表面生物膜形态 (图 B 为图 A 的局部放大)

Fig. 4 SEM images of bacteria attaching to the anode surface of the MFC, Pattern B is a partial enlarged diagram of pattern A.

2.5 微生物群落的分布特征

为了对微生物群落进行监测, 分别取运行稳性时期的 MFC 阳极电极膜、悬浮溶液、底泥及 MFC 接种泥的微生物样品进行微生物群落结构解析, 并对 DGGE 图谱各泳道进行聚类分析, 结果如图 5, 对 DGGE 图谱中的主要条带进行克隆测序分析, 结果如表 1。

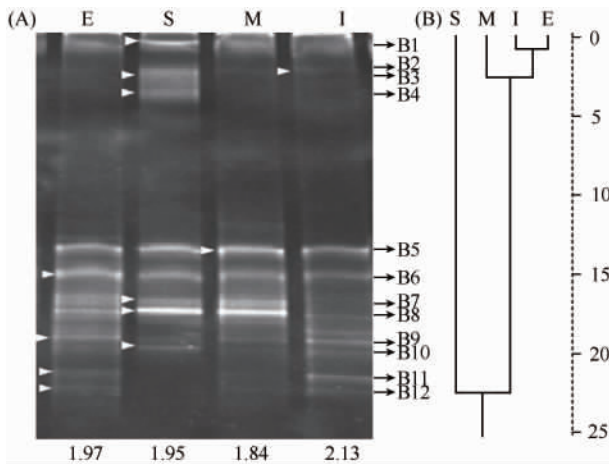


图5 MFC 阳极微生物群落结构的 DGGE 谱图 (A) 及聚类分析 (B)

Fig. 5 DGGE profiles of microbial communities of the MFC (A) and cluster analysis for DGGE profiles. E, Electrode biofilm; S, suspended microorganisms; M, deposit microorganisms; I, seed sludge; The numbers under each lane in pattern A are their Shannon-Weiner indices; the markers on the right of pattern A are the bands to be sequenced; the scale on the right of pattern B is the separation distance (%).

根据 DGGE 图谱,发现 4 种生物相中微生物群落的结构很相似,条带 B5、B6、B7、B8 是各生物相中的优势类群。根据 Shannon-Weiner 多样性指数 (H'),阳极生物膜上的微生物群落多样性仅次于种泥,高于悬浮液和沉淀污泥,聚类结果表明阳极生物膜上的微生物群落结构与种泥最为接近,而与悬浮液微生物相距最远。条带 B1、B2、B3、B4、B10 所指示的微生物类群大量存在于悬浮溶液中,B8 是悬浮溶液及底泥中的优势菌,B9、B11、B12 只存在于种泥及电极上。

通过测序比较,发现这些序列分别为变形杆菌门 (Proteobacteria)、绿弯菌门 (Chloroflexi)、厚壁菌门 (Firmicutes) 中的微生物,其中变形杆菌门的细菌在 3 种生物相中所占比例最大,优势菌群序列与羧基丛毛单胞菌 (*Comamonas testosteroni*) 和布氏弓形菌 (*Arcobacter butzleri*) 等最为相似。

表 1 通过 BLAST 和 SeqMatch 对 16S rRNA 基因序列进行相似性检索

Table 1 The similar results of 16S ribosomal RNA gene sequences retrieved by BLAST and SeqMatch

Band No.	Similar Organisms; GenBank Accession No.	Identity /%	Genus
B1; B9-1; B9-2; B10-1; B11; B12	<i>Arcobacter butzleri</i> ; AY621116	100	<i>Arcobacter</i>
B4-1; B5-1; B5-2; B6-1; B2-2	<i>Comamonas testosteroni</i> ; AF519533	100	<i>Comamonas</i>
B2-1; B10-2	<i>Clostridium propionicum</i> ; X77841	96	<i>Clostridium</i>
B3	Uncultured bacterium; HQ014636	99	<i>Longilinea</i>
B4-2	Uncultured <i>Ochrobactrum</i> sp.; DQ917888	98	<i>Ochrobactrum</i>
B6-2	<i>Desulfovibrio</i> sp.; FJ225426	95	<i>Desulfovibrio</i>
B7-1; B7-2	Uncultured bacterium; JF183794	99	<i>Nannocystis</i>
B8-1	Uncultured bacterium; DQ223081	100	<i>Haliangium</i>
B8-2	Uncultured gamma proteobacterium; FJ517040	97	<i>Chromatiales</i>

3 讨论

3.1 利用乳酸产电的可行性

本研究结果表明,利用双室微生物燃料电池以乳酸为基质可以获得稳定的输出电压。实验对 MFC 极化曲线拟合得到电池的内阻为 56.5 Ω ,最大功率密度 82 mW/m^2 ,最高输出电压 0.56 V,高于易丹等^[16]用乙酸、淀粉为底物时获得的输出电压和功率密度,其双室微生物燃料电池内阻分别为 54 Ω 、295.7 Ω ,获得最大输出电压分别为 0.43 V 和 0.39 V,功率密度仅分别为 36.03、6.32 mW/m^2 。同样,

Chaudhuri 等^[17]利用双室序批式 MFC,以葡萄糖为底物,功率密度也仅达到 31 mW/m^2 。尤世界等^[15]用乙酸作为空气阴极生物燃料电池的底物时所产生的内阻为 281.3 Ω ,比利用同一装置以葡萄糖为底物时的内阻小 36 Ω ,但其输出电压也仅为 0.4 V;Mohan 等^[18]也利用双室装置,以葡萄糖自配废水为底物,功率密度可以达到 119 mW/m^2 。由此可见,本研究所建立的以乳酸为碳源的双室 MFC 效能较好,功率密度高于部分文献中的相关报道。底物种类是影响 MFC 产电的一个重要因素,以乳酸为基质的双室微生物燃料电池的产电性能是可靠的。

3.2 在阳极室中乳酸的梯级降解

通过对 MFC 的电压和阳极室内 COD、挥发酸的检测发现,随着 COD 的降低,挥发酸的浓度逐渐升高。当 COD 由 500 mg/L 逐渐降低至 200 mg/L 时,挥发酸的浓度则从不到 100 mg/L 上升至 300 mg/L 左右。之后,挥发酸才随着电压的下降逐渐降低,表现出与电压的变化一致性。据报道^[19],一些产电菌可以直接利用乳酸产电,如希瓦氏菌属(*Shewanella* spp.)、沼泽红假单胞菌(*Rhodospseudomonas palustris*)、人苍白杆菌(*Ochrobactrum anthropi*)、丁酸梭菌(*Clostridium butyricum*)、丙酸脱硫叶状菌(*Desulfobulbus propionicus*)等,但本研究中未发现上述细菌。但作为发酵型底物,乳酸在被这类为数较少的细菌直接利用的同时也被另外一些发酵菌降解,产生中间产物,中间产物更容易被产电菌利用,也即产电过程与 COD 降解为挥发酸的过程相比,理论上存在滞后性,但由于乳酸降解为挥发酸、挥发酸被产电菌降解利用的过程都在进行,不易将二者分开。有研究表明,大分子有机物在 MFC 中降解的过程均存在梯级利用的过程。Liu 等^[20]利用发酵末端产物中的乙酸、丁酸为底物持续产电的研究证实了发酵型和非发酵型底物在产电过程中的降解途径不同,产电菌可以进一步利用发酵型底物降解生成的中间产物如乙酸产电。张翼峰^[21]在对以葡萄糖、木糖为底物的 MFC 的产物分析中也证明了这一观点。

3.3 MFC 中产电与非产电微生物的协同作用

在 MFC 产电过程中,起决定作用的是电子向阳极的传递,其中能够利用有机物维持生长,氧化有机物并将获得的电子传递到阳极的微生物主要有希瓦氏菌、地杆菌、脱硫细菌、交替单胞菌、埃希氏菌、巴斯德氏杆菌、梭菌、气单胞菌和丛毛单胞菌等^[22-23]。在本研究中,通过 DGGE 分析,检测到丛毛单胞菌属(*Comamonas*)和梭菌属(*Clustridium*)等的序列,而其它微生物序列无法确定其是否可直接产电。这些微生物,包括直接产电微生物以及非产电微生物共存于阳极膜上,对于产电过程可能都是必须的。研究表明^[21],只有当反应器中电极细菌与悬浮细菌共同作用时,MFC 能输出更高电压,缺少任何一方,

电压都会下降。据 Rabaey 等^[7]报道,在以葡萄糖为燃料的 MFC 中,阳极电极上微生物及悬浮溶液都对产电做出了贡献,悬浮细菌为电极上细菌产生电子梭。之后 Rabaey 等^[24]进一步研究证明了绿脓杆菌可以分泌吩嗪,吩嗪有利于其他细菌进行电子传递,从而促进了 MFC 的产电。

在本研究的 MFC 阳极室中,变形杆菌的数量最为丰富,在一些以碳水化合物为底物的 MFC 中也有类似发现^[25-27]。其中,丛毛单胞菌(*Comamonas* spp.)为群落中的重要类群,也是目前普遍公认的产电微生物之一,此菌能够以各种类固醇化合物作为唯一碳源和能源。Juang 等^[28]的研究证明与假单胞菌(*Pseudomonas putida*)、棒状杆菌(*Corynebacterium glutamicum*)、多色节杆菌(*Arthrobacter polychromogenes*)相比,鞣丸酮丛毛单胞菌(*Comamonas testosteroni*)具有最好的产电性能。另外,本研究中发现的布氏弓形菌(*Arcobacter butzleri*)也已经被证实当以乙酸为底物时具有很强的产电能力^[29]。

脱硫弧菌(*Desulfovibrio* sp.)是本研究阳极室具有代表性的细菌之一,是一种能够直接氧化乳酸为乙酸的硫酸盐还原菌^[14]。本研究的种泥来自处理硫酸盐废水的厌氧折流板反应器污泥,脱硫弧菌是该反应器的常驻菌种^[12]。另外,作为悬浮溶液和接种泥中特有的丙酸梭菌(*Clostridium propionicum*)被证明可以发酵乳酸产生丙酸,是一种产酸菌^[30]。电极表面优势菌未必是产电细菌,有些含量较多的细菌多是一些发酵细菌、产酸细菌等,主要对阳极室有机物进行初步降解,为产电细菌提供合适的产电前提物质,对产电具有间接的辅助作用。

由扫描电镜(图 4)可见,阳极表面主要以形态均一的长杆细菌为主,多层分布,附着情况很好,形成宽松的多菌层,之前有研究推断这些菌层可以将发酵型燃料转化为简单的发酵产物^[31-32]。电极和微生物的直接接触是微生物燃料电池电子产生和转移的主要途径之一,附着生长在阳极表面的微生物极有可能自身产生可溶性氧化还原电子中介体,可溶性中介体嵌入阳极表面生物膜形成的多基质层,

使得多层细菌参与底物的转化和电子的传递,从而有利于电能的提升^[24]。

4 结论

本研究以乳酸为碳源,探讨了双室 MFC 反应器的启动过程及产电效能,同时以电镜和 PCR-DGGE 技术解析了阳极室不同位置中微生物群落的空间分布特征,得出以下结论:

(1) 电池的内阻为 56.5 Ω ,最大功率密度 82 mW/m²,最高输出电压 0.56 V,以乳酸为碳源的 MFC 可获得稳定的电流输出;

(2) 阳极生物膜上的微生物群落多样性仅次于种泥,高于悬浮液和沉淀污泥;阳极生物膜上的微生物群落结构与种泥最为接近,而与悬浮液微生物相距最远,种泥群落对产电微生物种类具有重要影响;

(3) DGGE 优势条带序列与已知产电菌鞣花菌(*Comamonas testosteroni*)和布氏弓形菌(*Arcobacter butzleri*)等最为相似。

参考文献

- [1] Lovley DR. Microbial fuel cells: novel microbial physiologies and engineering approaches. *Current Opinion in Biotechnology*, 2006, 17(3): 327-332.
- [2] Liu H, Cheng S, Logan BE. Production of electricity from acetate or butyrate using a single-chamber microbial fuel cell. *Environmental Science & Technology*, 2005, 39(2): 658-662.
- [3] Rabaey K, Clauwaert P, Aeltermann P, Verstraete W. Tubular microbial fuel cells for efficient electricity generation. *Environmental Science & Technology*, 2005, 39(20): 8077-8082.
- [4] Oh S, Logan BE. Hydrogen and electricity production from a food processing wastewater using fermentation and microbial fuel cell technologies. *Water Research*, 2005, 39(19): 4673-4682.
- [5] Teng SX, Tong ZH, Li WW, Wang SG, Sheng GP, Shi XY, Liu XW, Yu HQ. Electricity generation from mixed volatile fatty acids using microbial fuel cells. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2010, 87(6): 2365-2372.
- [6] Freguia S, Teh EH, Boon N, Leung KM, Keller J, Rabaey K. Microbial fuel cells operating on mixed fatty acids. *Bioresource Technology*, 2010, 101(4): 1233-1238.
- [7] Rabaey K, Boon N, Siciliano SD, Verhaege M, Verstraete W. Biofuel cells select for microbial consortia that self-mediate electron transfer. *Applied and Environmental Microbiology*, 2004, 70(9): 5373-5382.
- [8] Zuo Y, Xing D, Regan JM, Logan BE. Isolation of the exoelectrogenic bacterium *Ochrobactrum anthropi* YZ-1 by using a U-tube microbial fuel cell. *Applied and Environmental Microbiology*, 2008, 74(10): 3130-3137.
- [9] Logan B. Exoelectrogenic bacteria that power microbial fuel cells. *Nature Reviews Microbiology*, 2009, 7(5): 375-381.
- [10] Balch WE, Fox GE, Magrum LJ, Woese CR, Wolfe RS. Methanogens: Reevaluation of a unique biological group. *Microbiological Reviews*, 1979, 43(2): 260-296.
- [11] Lee J, Phung NT, Chang IS, Kim BH, Sung HC. Use of acetate for enrichment of electrochemically active microorganisms and their 16S rDNA analyses. *FEMS Microbiology Letters*, 2003, 223: 185-191.
- [12] Wang J-C, Zhao Y-G, Li X-W, Liu R, Zhang J, Wang A-J. Enrichment and community characteristics of acetate-utilizing sulfate reducing microflora. 1st Conference on Environmental Pollution and Public Health, 2010: 883-887.
- [13] APHA (American Public Health Association). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 16th eds. Washington, DC: American Public Health Association, 1985.
- [14] Zhao Y, Ren N, Wang A. Contributions of fermentative acidogenic bacteria and sulfate-reducing bacteria to lactate degradation and sulfate reduction. *Chemosphere*, 2008, 72(2): 233-242.
- [15] 尤世界,赵庆良,姜秋. 废水同步生物处理与生物燃料电池发电研究. *环境科学 (Environmental Science)*, 2006, 27(9): 1786-1790.
- [16] 易丹,陶虎春,李兆飞,梁敏,曾立武. 双室微生物燃料电池利用乙酸钠和淀粉产电研究. *环境科学研究 (Research of Environmental Sciences)*, 2008, 21(3): 141-145.

- [17] Chaudhuri SK, Lovley DR. Electricity generation by direct oxidation of glucose in mediatorless microbial fuel cells. *Nature Biotechnology*, 2003, 21(10): 1229-32.
- [18] Mohan SV, Saravanan R, Raghavulu SV, Mohanakrishna G, Sarma PN. Bioelectricity production from wastewater treatment in dual chambered microbial fuel cell (MFC) using selectively enriched mixed microflora: Effect of catholyte. *Bioresource Technology*, 2008, 99(3): 596-603.
- [19] 李颖, 孙永明, 孔晓英. 微生物燃料电池中产电微生物的研究进展. *微生物学通报 (Microbiology China)*, 2009, 36(9): 1404-1409.
- [20] Liu H, Cheng S, Logan BE. Production of electricity from acetate or butyrate using a single-chamber microbial fuel cell. *Environmental Science & Technology*, 2005, 39(2): 658-662.
- [21] 张翼峰. 不同底物的微生物燃料电池阳极菌群及其产电特性分析. 大连理工大学硕士学位论文, 2008.
- [22] Angenent LT, Karim K, Al-Dahhan MH, Wrenn BA, Domínguez-Espinosa R. Production of bioenergy and biochemicals from industrial and agricultural wastewater. *Trends in Biotechnology*, 2004, 22(9): 477-485.
- [23] Logan BE, Regan JM. Electricity-producing bacterial communities in microbial fuel cells. *Trends in Microbiology*, 2006, 14(12): 512-518.
- [24] Rabaey K, Boon N, Höfte M, Verstraete W. Microbial phenazine production enhances electron transfer in biofuel cells. *Environmental Science & Technology*, 2005, 39(9): 3401-3408.
- [25] Back JH, Kim MS, Cho H, Chang IS, Lee J, Kim KS, Kim BH, Park YI, Han YS. Construction of bacterial artificial chromosome library from electrochemical microorganisms. *FEMS Microbiology Letters*, 2004, 238(1): 65-70.
- [26] Choo YF, Lee J, Chang IS, Kim H. Bacterial communities in microbial fuel cells enriched with high concentrations of glucose and glutamate. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2006, 16(9): 1481-1484.
- [27] Park HI, Sanchez D, Cho SK, Yun M. Bacterial communities on electron-beam Pt-deposited electrodes in a mediator-less microbial fuel cell. *Environmental Science & Technology*, 2008, 42(16): 6243 - 6249.
- [28] Juang DF, Yang PC, Chou HY, Chiu LJ. Effects of microbial species, organic loading and substrate degradation rate on the power generation capability of microbial fuel cells. *Biotechnology Letters*, 2011, 33(11): 2147-2160.
- [29] Fedorovich V, Knighton MC, Pagaling E, Ward FB, Free A, Goryanin I. Novel electrochemically active bacterium phylogenetically related to *Arcobacter butzleri*, Isolated from a Microbial Fuel Cell. *Applied and Environmental Microbiology*, 2009, 75(23): 7326-7334.
- [30] Schweiger G, Buckel W. On the dehydration of (R)-lactate in the fermentation to propionate by *Clostridium propionicum*. *FEBS Letters*, 1984, 171(1): 79-84.
- [31] Kim GT, Webster G, Wimpenny JW, Kim BH, Kim HJ, Weightman AJ. Bacterial community structure, compartmentalization and activity in a microbial fuel cell. *Journal of Applied Microbiology*, 2006, 101(3): 698-710.
- [32] Jong BC, Kim BH, Chang IS, Liew PW, Choo YF, Kang GS. Enrichment, performance, and microbial diversity of a thermophilic mediatorless microbial fuel cell. *Environmental Science & Technology*, 2006, 40(20): 6449-6454.

Electricity generation from lactate using microbial fuel cell and the distribution characteristics of anode microbial community

Ru Liu¹, Yangguo Zhao^{1,2*}, Shanshan Lu¹, Qing Huang¹

¹ College of Environmental Science and Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266100, China

² Key Laboratory of Marine Environment and Ecology (Ocean University of China), Ministry of Education, Qingdao 266100, China

Abstract: [Objective] Two-chamber microbial fuel cells (MFCs) were set up to understand the electrogenic capacity of MFCs fed with lactic acid to investigate the distribution characteristics of microflora in the anode biofilm, supernatant, and sediment. [Methods] Using lactic acid as a carbon source in the anode, we explored the MFCs start-up process and the efficiency of electricity production, and also investigated the spatial distribution of microbial communities using scanning electron microscope (SEM) and PCR-denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) techniques. [Results] The results indicate that the MFCs reached the highest voltage, 0.56 V on the seventh day after startup. When external resistance and current density was 80 Ω and 415 mA/m², respectively, the power density reached its maximum at 82 mW/m². SEM revealed that a massive bacillus was attached tightly to the surface of the positive electrode. DGGE profiles revealed that microorganisms on the anode's surface were most similar to that of inoculated sludge, consistent with the major microorganism groups in anode suspension and sludge substrate. Communities developed on the anodes included exoelectrogenic bacteria, i. e. *Comamonas testosteroni*, and *Arcobacter butzleri*. [Conclusion] This research demonstrates that MFCs fed with lactic acid can generate a high efficiency of current density, and that the dominant microbes on the anodes are similar to that of inoculated sludge.

Keywords: microbial fuel cell, lactic acid, denaturing gradient gel electrophoresis, bacterial community

(本文责编:王晋芳)

Supported by the Scientific Research Foundation for the Excellent Middle-Aged and Youth Scientists of Shandong Province of China (BS2011NJ018) and by the National Natural Science Foundation of China (40801193)

* Corresponding author. Tel: +86-532-66786568; E-mail: ygzhao@ouc.edu.cn

Received: 11 December 2011 / Revised: 22 February 2012