

# Journal of Electrochemistry

---

Volume 20  
Issue 4 *Special Issue on Current  
Electrochemistry (Editor: Professor JIANG Yan-  
xia)*

---

2014-08-28

## Effecting of Dissolved Oxygen on Microbial Fuel Cells Based on *Pseudomonas Aeruginosa*

Chang-li CAO

Li-xiang CHEN

Ran-ran WU

Ken-lin CHANG

Feng ZHAO

*Institute of Urban Environment, Chinese Academy of Sciences, Xiamen 361021, Fujian, China,;*  
fzhao@iue.ac.cn

---

### Recommended Citation

Chang-li CAO, Li-xiang CHEN, Ran-ran WU, Ken-lin CHANG, Feng ZHAO. Effecting of Dissolved Oxygen on Microbial Fuel Cells Based on *Pseudomonas Aeruginosa*[J]. *Journal of Electrochemistry*, 2014 , 20(4): 382-385.

DOI: 10.13208/j.electrochem.131162

Available at: <https://jelectrochem.xmu.edu.cn/journal/vol20/iss4/14>

This Article is brought to you for free and open access by Journal of Electrochemistry. It has been accepted for inclusion in Journal of Electrochemistry by an authorized editor of Journal of Electrochemistry.

DOI: 10.13208/j.electrochem.131162

Artical ID:1006-3471(2014)04-0382-04

Cite this: *J. Electrochem.* 2014, 20(4): 382-385

Http://electrochem.xmu.edu.cn

# 绿脓杆菌阳极的微生物燃料电池 含溶解氧性能研究

曹昌丽, 陈立香, 吴冉冉, 张耿峻, 赵峰\*

(中国科学院城市环境研究所, 福建 厦门 361021)

**摘要:** 本文研究了绿脓杆菌分泌的电子中介体绿脓菌素与电极之间的反应, 并探讨了溶解氧的影响. 通过循环伏安曲线、测试电极开路电位等方法, 确定绿脓菌素阳极反应是受扩散控制的可逆反应. 菌液的溶解氧浓度在一定范围内(0~1.6 mg·L<sup>-1</sup>)对绿脓菌素和电极之间的反应影响不大. 微生物燃料电池的极化曲线表明, 当溶解氧为1.6 mg·L<sup>-1</sup>时, 微生物燃料电池输出电流下降了7%, 对绿脓杆菌阳极的微生物燃料电池影响不大.

**关键词:** 微生物燃料电池; 绿脓杆菌; 阳极; 氧气; 绿脓菌素

中图分类号: O646

文献标识码: A

微生物燃料电池(Microbial Fuel Cells, MFCs)是一种利用微生物将有机物中的化学能转化为电能的装置, 同时具有处理生活污水和工业废水的功能<sup>[1]</sup>. 近年来, 环境污染日益严重, MFCs已成为低耗能废水处理领域的研究热点.

典型的MFCs由阳极室、阴极室和隔膜构成<sup>[2]</sup>. 在阳极区, 微生物代谢所产生的电子通过膜蛋白或者氧化还原中介体传递至阳极, 又经外电路传递至阴极; 在阴极区, 氧气发生还原反应接受电子<sup>[3]</sup>. 常见的阳极产电微生物(如*Geobacter sp.*, *Clostridium sp.*)系厌氧呼吸菌, 暴露于有氧的环境中会失活或失去产电功能<sup>[4]</sup>. 这可能是由于氧气破坏了微生物代谢中的电子传递途径, 进而降低电池库仑效率和功率. 然而, 在实际体系下的阴极室中充当电子受体的氧气能够透过隔膜渗透到阳极室, 使阳极室产生一定浓度的溶解氧(DO)<sup>[5]</sup>. 因此, 研究阳极体系的耐受氧气能力有着重要的实用价值. 目前, 关于耐氧的MFC报道仍较少, 且大多为混菌体系, 耐氧机理复杂<sup>[6-8]</sup>.

本文拟用绿脓杆菌为模式生物, 研究其分泌的电子中介体与电极之间的反应, 探讨溶解氧浓度对阳极反应的影响, 以及MFCs通空气条件下的电化学性能.

## 1 实验

### 1.1 微生物培养

菌株C1分离自台湾台北市山猪窟污水处理厂, 经菌种鉴定其16S rRNA基因序列与*Pseudomonas aeruginosa* DK2具有99%的同源性. 将菌株解冻活化, 接种至假单胞菌培养基<sup>[9]</sup>(PB: 20 g·L<sup>-1</sup>蛋白胨、1.4 g·L<sup>-1</sup> MgCl<sub>2</sub>、10 g·L<sup>-1</sup> K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)中, 恒温(37 °C)震荡(130 r·min<sup>-1</sup>)培养.

### 1.2 电化学测试

由玻碳工作电极、Ag/AgCl参比电极(CHI111, 上海辰华)、碳棒对电极组成三电极体系. 取培养48 h的菌悬液15 mL, 以30 mL·min<sup>-1</sup>速率通入氮气或空气保持体系的无氧或有氧环境. 使用电化学工作站(Autolab, 瑞士万通)测试菌悬液在不同扫描速率下的循环伏安曲线. 以不同流速向菌悬液中通入空气, 测试玻碳电极的开路电压(OCP), 同时使用溶氧仪(550A, 美国YSI)测试不同空气流速下菌液的溶解氧浓度.

由碳毡工作电极和碳棒对电极(面积2×2 cm<sup>2</sup>), Ag/AgCl参比电极在100 mL蓝盖瓶中组成三电极体系, 加入80 mL PB培养基并接种入4 mL菌液, 采用电池测试系统(4300, 美国Maccor)控制电位为0.2 V, 并记录微生物生长过程中的工作电极电流

随时间变化曲线,取样间隔为2 min.

### 1.3 MFCs性能测试

双室电池的阴极和阳极为碳毡( $2 \times 2 \text{ cm}^2$ ),阴极液为 $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ ,阳极液为培养48 h的菌悬液,其体积均为125 mL,中间置阳离子交换膜.以 $15 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 速率向阳极液中通入空气,待开路电压稳定后用电池测试系统进行极化曲线测试,并以无空气的密封体系作参照.

### 1.4 绿脓菌素测定

将培养24 h的菌液20 mL以 $6000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心5 min,去除菌体,收集上清液于梨形分液漏斗中,每次加入5 mL氯仿,分4次萃取后收集氯仿相溶液,又用 $0.2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ HCl}$ 反萃取,将水相用 $0.2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NaOH}$ 调节至中性再用氯仿萃取,收集氯仿相溶液,再用 $0.2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ HCl}$ 萃取.最后于紫外-可见分光光度计(UV-2450,日本岛津)分析水相全光谱<sup>[10]</sup>.

## 2 结果与讨论

### 2.1 绿脓杆菌菌液电化学活性及其组成

循环伏安法能够测定菌液所含物质的氧化还原特性.图1为绿脓杆菌培养24 h后的菌液在不同扫描速率下的循环伏安曲线.从图看出, $-0.4 \sim -0.2 \text{ V}$ 范围内呈现了1对氧化还原峰,其氧化峰与还原峰电流近乎相等,其扫描速率平方根与峰电流呈线性关系,峰电位不随扫描速率变化(图1插图).由于菌液中支持电解质浓度较低( $< 60 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ),这可能是线性轻微偏离原点的原因.上述结果表明,菌液中含氧化还原活性的电子中介体,它与电极之间的反应系受扩散控制的准可逆反应.绿脓杆菌可分泌几种具有氧化还原活性的吩嗪类物质,各种吩嗪类物质在不同pH下有不同的峰电位<sup>[11]</sup>.pH 8菌液的峰电位为 $-0.32 \text{ V}$ ,与绿脓菌素的峰电位一致,说明菌液含电化学活性物质可能为绿脓菌素.图2为提纯菌液的全光谱谱图,其出峰位置和绿脓菌素一致<sup>[12]</sup>,证实了菌液含绿脓菌素.

恒电位下玻碳为工作电极的菌液电流-时间曲线如图3所示.其电流先增加后趋于稳定最后下降,与绿脓杆菌的生长过程一致.绿脓杆菌在菌体生长的对数期开始分泌,在稳定期达到峰值<sup>[13]</sup>,且氧化态的绿脓菌素可被菌体还原<sup>[14]</sup>.绿脓菌素的氧化电位在 $-0.3 \text{ V}$ 左右,因此在 $0.2 \text{ V}$ 电位下会被氧化.其电流-时间曲线说明绿脓菌素在对数期不断分泌且被氧化,绿脓菌素与电极之间是受扩散控

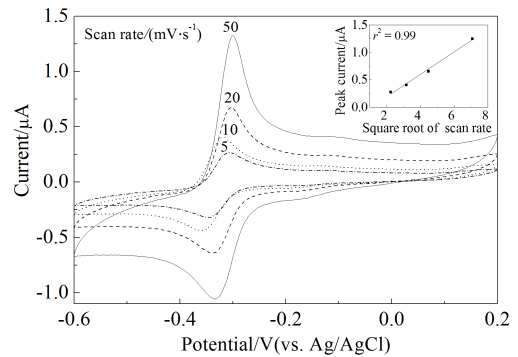


图1 不同扫描速率下菌液的循环伏安曲线(插图为扫描速率平方根与峰电流曲线)

Fig. 1 Cyclic voltammograms of inocula at different scan rates (inset: Plot of peak current vs. square root of scan rate)

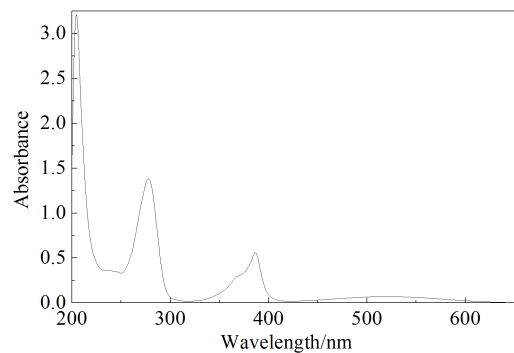


图2 提纯菌液的全光谱谱图

Fig. 2 Absorbance spectrum of purified inocula

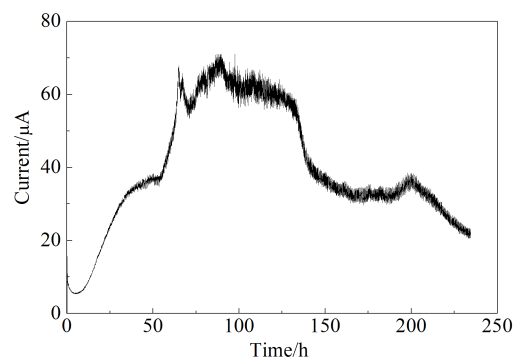


图3 恒电位菌液电流-时间曲线

Fig. 3 Current-time curve of inocula at  $0.2 \text{ V}$

制的可逆反应,随绿脓菌素浓度增加其电流不断增大;在稳定期,绿脓菌素分泌达到峰值,其电流也达到最大值,这时绿脓菌素的氧化与菌体对绿

脓菌素的还原达到平衡, 电流出现稳定期; 而后物质耗尽, 菌体衰亡, 绿脓菌素不再被还原, 只能不断被氧化, 故而电流下降. 电流稳定期的时间可达 120 h, 证实将绿脓杆菌作为MFCs阳极产电的微生物是可行的.

### 2.2 绿脓菌素在含氧气菌液中的电极反应

菌体生长稳定期绿脓菌素产生稳定氧化电流, 故选用稳定期菌液测试与氧气的反应. 图4示出通入不同空气流速下菌液开路电位、溶解氧的变化图. 未通入空气时, 其开路电位为-0.34 V; 通入空气(溶解氧 $0.2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )后, 电极开路电位升至-0.20 V; 而后随流速增加开路电压上升; 空气流速为 $30 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 时, 电极开路电位升至-0.13 V; 空气流速为 $50 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ (溶解氧 $2.2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )时, 空气对体系造成扰动使电极开路电压不能稳定. 菌液中, 绿脓菌素可被氧气氧化, 而后又被菌体还原, 该过程是一个可逆的反应<sup>[4]</sup>. 因此, 通入空气后还原态的绿脓菌素数量减少, 电极开路电位升高; 溶解氧增大, 菌体的还原和氧气的氧化可达到平衡, 使电极开路电位升高并维持稳定; 当溶解氧上升至 $2.2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 体系的平衡可能受破坏, 其电极开路电位不再稳定. MFCs的微生物作用使得阳极保持低电位, 阳极开路电位影响电池反应的势能. 而在绿脓杆菌的菌液中, 当溶解氧 $< 1.6 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 电极开路电位在-0.20 ~ -0.13 V之间变化, 氧气对电极开路电位影响不显著.

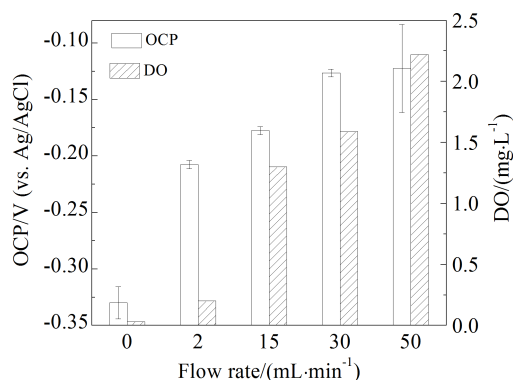


图4 菌液开路电位、溶解氧-空气流速  
Fig. 4 Open circuit potential and dissolved oxygen of inocula at different flow rates of air

当通入菌液的气体(空气或氮气)流速为 $30 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 时, 其循环伏安曲线如图5所示. 在-0.6 ~

-0.4 V范围内, 通入空气(溶解氧 $1.6 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )与通入氮气相比其还原电流有所增加, 而绿脓菌素的氧化峰电流变化 $0.05 \mu\text{A}$ , 说明绿脓菌素反应没有明显受到溶解氧影响, 表明绿脓杆菌可构建阳极并有一定的抗溶解氧干扰能力.

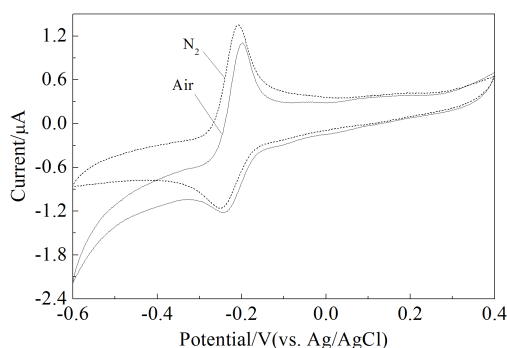


图5 通入空气或氮气菌液的循环伏安曲线  
Fig. 5 Cyclic voltammograms of inocula under different gas at air (solid) and N<sub>2</sub> (dashed) atmospheres

### 2.3 MFCs性能测试

图6示出不同放电条件下MFCs的电压-电流变化曲线. 相比于无空气体系, 通入空气(溶解氧为 $1.6 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )MFCs电流减少量为7%. 无空气体系的最大输出功率为 $4.5 \mu\text{W}$ , 通空气体系为 $4.3 \mu\text{W}$ , 下降了4%, 输出电流下降了3%. 而此前报道的体系, 当阳极的溶解氧为 $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 希瓦氏菌构建的MFCs最大输出功率下降了37%, 输出电流下降了33%<sup>[4]</sup>.

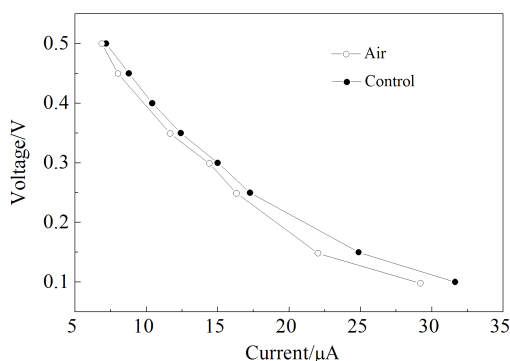


图6 MFCs电压-电流曲线图  
Fig. 6 The output voltage-current curves showing performance of microbial fuel cells

## 3 结 论

绿脓杆菌分泌的绿脓菌素可作为阳极反应的电子中介体。绿脓菌素可被菌体还原,还原态的绿脓菌素将电子传递给电极而氧化,这个过程不断循环,从而实现菌体与电极之间的电子传递。

当菌液溶解氧 $< 1.6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , 电极开路电位在 $-0.20 \sim -0.13 \text{ V}$ 之间, 双室MFC中确定溶解氧对电池的电流输出造成小于7%的下降, 表明含量较低的溶解氧对绿脓菌素和电极之间的反应影响较小。

### 参考文献(References):

- [1] Chen L X(陈立香), Xiao Y(肖勇), Zhao F(赵峰). Biocathodes in microbial fuel cells[J]. Progress in Chemistry(化学进展), 2012, 24(1): 157-162.
- [2] Ci S Q(次素琴), Wu N(吴娜), Wen Z H(温珍海), et al. An overview of electrode materials in microbial fuel cells [J]. Journal of Electrochemistry(电化学), 2012, 18(3): 243-251.
- [3] Wang Z J, Zheng Y, Xiao Y, et al. Analysis of oxygen reduction and microbial community of air-diffusion biocathode in microbial fuel cells[J]. Bioresource Technology, 2013, 144: 74-79.
- [4] Ringeisen B R, Ray R, Little B. A miniature microbial fuel cell operating with an aerobic anode chamber[J]. Journal of Power Sources, 2007, 165(2): 591-597.
- [5] Min B, Cheng S, Logan B E. Electricity generation using membrane and salt bridge microbial fuel cells[J]. Water Research, 2005, 9(39): 1675-1686.
- [6] Ajayi F F, Kim K Y, Chae K J, et al. Effect of hydrodynamic force and prolonged oxygen exposure on the performance of anodic biofilm in microbial electrolysis cells [J]. International Journal of Hydrogen Energy, 2010, 35(8): 3206-3213.
- [7] Fan Y, Han S K, Liu H. Improved performance of CEA microbial fuel cells with increased reactor size[J]. Energy & Environmental Science, 2012, 5: 8273-8280.
- [8] Quan X, Quan Y, Tao K, et al. Comparative investigation on microbial community and electricity generation in aerobic and anaerobic enriched MFCs[J]. Bioresource Technology, 2012, 128: 259-265.
- [9] Essar D W, Eberly L, Hadero A, et al. Identification and characterization of genes for a second anthranilate synthase in *Pseudomonas aeruginosa*: Interchangeability of the two anthranilate synthases and evolutionary implications [J]. Journal of Bacteriology, 1990, 172(2): 884-900.
- [10] Chang P C, Blackwood A C. Simultaneous production of three phenazine pigments by *Pseudomonas aeruginosa* Mac 436[J]. Canadian Journal of Microbiology, 1969, 15(5): 439-444.
- [11] Wang Y, Newman D K. Redox reactions of phenazine antibiotics with ferric (hydr)oxides and molecular oxygen [J]. Environmental Science & Technology, 2008, 42(7): 2380-2386.
- [12] Watson D, MacDermot J, Wilson R, et al. Purification and structural analysis of pyocyanin and 1-hydroxyphenazine[J]. European Journal of Biochemistry, 1986, 159(2): 309-313.
- [13] Dietrich L E P, Price-Whelan A, Petersen A, et al. The phenazine pyocyanin is a terminal signalling factor in the quorum sensing network of *Pseudomonas aeruginosa* [J]. Molecular Microbiology, 2006, 61(5): 1308-1321.
- [14] Hernandez M E, Newman D K. Extracellular electron transfer[J]. Cellular and Molecular Life Sciences, 2001, 58(11): 1562-1571.

## Effecting of Dissolved Oxygen on Microbial Fuel Cells Based on *Pseudomonas Aeruginosa*

CAO Chang-li, CHEN Li-xiang, WU Ran-ran, CHANG Ken-lin, ZHAO Feng\*

(Institute of Urban Environment, Chinese Academy of Sciences, Xiamen 361021, Fujian, China)

**Abstract:** In this work, the reaction between the electron shuttle secreted by *Pseudomonas aeruginosa* and anode was studied by measuring cyclic voltammogram and open circuit potential. The effect of dissolved oxygen on the oxidation reaction of anode was explored. It was demonstrated that the reaction was a diffusion-controlled and reversible process. The anode was a little affected when the dissolved oxygen of inocula was low ( $0 \sim 1.6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ). The polarization curves showed that the current output of microbial fuel cells decreased 7% with the impact of dissolved oxygen.

**Key words:** microbial fuel cells; *Pseudomonas aeruginosa*; anode; oxygen; pyocyanine