

不同碳源对产甲烷生物阴极性能的影响

徐 恒, 汪翠萍, 王凯军

(清华大学环境学院, 环境模拟与污染控制国家重点联合实验室, 北京 100084)

摘要 以“H”型电池为主体装置, 考察和比较了有机和无机碳源对产甲烷生物阴极启动期和稳定运行期性能的影响。结果表明, 有机碳源可以加速产甲烷生物阴极的形成, 并使其在稳定运行期维持较高的运行性能; 有机碳源条件下所形成的产甲烷生物阴极具有较好的电催化活性, 当阴极电势为 -0.75 V (vs. SHE) 时, 其电流密度可达 $(2.34 \pm 0.15)\text{ A/m}^2$; 通过投加有机碳源, 可以实现 CO_2 (或 HCO_3^-) 的原位供给, 与无机碳源直接供给方式相比, 可在一定程度上缓解气液传质限制, 提高微生物的生长速率, 最终使产甲烷生物阴极表面生物量是无机碳源培养下的 4 倍多。从微生物分析角度解释了有机碳源提高产甲烷生物阴极性能的原因。

关键词 有机碳源; 无机碳源; 产甲烷生物阴极; 电流密度; 生物量

中图分类号 O646.5

文献标志码 A

在生物电化学系统(BESs)中, 微生物可以将 CO_2 和水转化为各种燃料或有机物, 如甲烷、乙酸、乙醇和异丁醇等, 它们被统一称之为电基生物商品(E-BCs)^[1]。一方面, 在未来全球石油经济向电力经济转变的趋势下^[2], 可以直接利用可再生电能生产 E-BCs, 以替代传统石油精制过程; 另一方面, E-BCs 技术可以同步实现 CO_2 的捕集和综合利用。近年来, E-BCs 受到了广泛的关注, 尤其是对于易分离、收集且已得到广泛应用的甲烷^[3,4]。通过微生物的接种和驯化, 在电化学系统的阴极表面形成具有催化产甲烷功能的生物膜(简称产甲烷生物阴极)可以实现甲烷生产^[5,6]。相比于传统阴极催化剂, 生物阴极具有容易获取、造价低廉等优点^[6,7]。然而, 生物阴极同时也面临着启动慢及产率低等问题^[8]。可见, 如何快速形成高性能的产甲烷生物阴极成为基于 E-BCs 技术的甲烷生产和应用的重要瓶颈之一。

目前产甲烷生物阴极的作用机制主要分为 2 种: 一种是基于电子直接传递(DIET)机制的生物电甲烷化过程^[5,9]: $\text{CO}_2 + 8\text{H}^+ + 8\text{e}^- \longrightarrow \text{CH}_4 + 2\text{H}_2\text{O}$, 部分产甲烷菌直接从阴极获取电子将 CO_2 还原成 CH_4 ; 另一种是基于氢种间传递(HIT)机制的嗜氢甲烷化过程^[5,9]: $\text{CO}_2 + 4\text{H}_2 \longrightarrow \text{CH}_4 + 2\text{H}_2\text{O}$, 其中 H_2 一般通过产氢细菌催化产生($2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \longrightarrow \text{H}_2$)。基于以上机制, 现有研究主要是利用单一无机碳(CO_2 或 HCO_3^-)作为产甲烷生物阴极启动碳源^[4,5,9]。然而, 根据相关的微生物热力学分析^[10]可知, 与无机碳源相比, 有机碳源条件下微生物具有较高的生长速率; 同时在厌氧条件下, 有机碳源被微生物分解形成 CO_2 (或 HCO_3^-), 进而对阴极产甲烷生物膜起到原位供给无机碳源的作用, 强化了基质传质效果, 因此投加有机碳源可能会促进产甲烷生物阴极的形成。本文考察和比较了有机(葡萄糖)和无机(CO_2)两种碳源在启动期和稳定运行期内对产甲烷生物阴极性能的影响, 以期寻找更加有效的策略来保障产甲烷生物阴极的快速启动和高效运行。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

收稿日期: 2014-08-04. 网络出版日期: 2015-01-22.

基金项目: 国家自然科学基金(批准号: 51278271)和国家水体污染控制与治理科技重大专项项目(批准号: 2012ZX07205-002)资助。

联系人简介: 王凯军, 男, 博士, 教授, 博士生导师, 主要从事厌氧甲烷化研究. E-mail: wkj@tsinghua.edu.cn

有机碳源葡萄糖及用于配制厌氧培养液的常见化学试剂均为分析纯, 购自美国 Sigma 公司. 每升厌氧培养液含有 2.0 g NaHCO_3 , 0.11 g KH_2PO_4 , 0.17 g K_2HPO_4 , 0.05 g Na_2SO_4 , 0.10 g $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 0.05 g $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 10 mL 微量元素储存液^[1]和 10 mL 维生素储存液^[1]. 蛋白质测定用的二喹啉甲酸购于美国 Pierce 公司. 牛血清白蛋白(BSA) 购于美国 Sigma 公司. 所用溶液均由超纯水配制. Nafion 117 质子交换膜购自美国 Electrosynthesis 公司.

G-350 型恒电位仪(美国 Gamry 公司); GC-8A 型气相色谱仪(日本 Shimadzu 公司), 气相色谱仪配备有 2m $\times$ 1/8" 不锈钢 HayeSep DB(100/120 目) 填充柱, 以氦气作为载气, 流速为 21.4 mL/min, 进样口温度和检测器温度均为 110 $^{\circ}\text{C}$, 柱温为 50 $^{\circ}\text{C}$.

1.2 实验系统和过程

搭建了有机碳源和无机碳源两套实验系统(分别简称为 OS 和 IS). 所采用的主体装置为“H”型电池(图 1). 阴极室和阳极室均由外径为 54 mm 的玻璃瓶制成, 总容积约为 300 mL, 两室间连接管外径 22 mm, 中间通过质子交换膜进行分隔. 阴极和阳极均由未抛光的石墨材料制成, 尺寸为 25.4 mm $\times$ 76.2 mm $\times$ 12.7 mm. 以 Ag/AgCl 电极作为参比电极[若无特别说明, 文中所有电势数据均相对于标准氢电极(SHE)], 将其固定在阴极室侧部开孔处. 其它结构性参数、质子交换膜和电极材料的预处理方式参考文献[2].

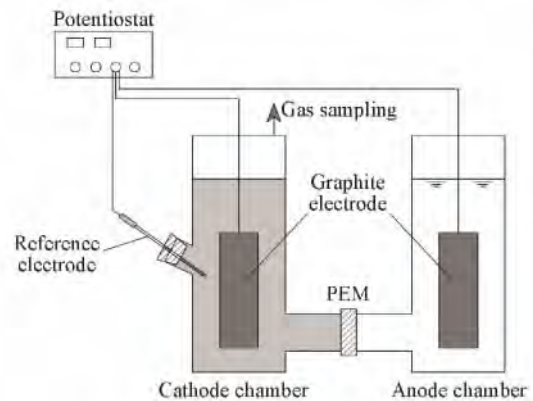


Fig. 1 H-cell used in the experiment

两套系统的构成如下: 对于 OS, 将 250 g 化学需氧量(COD) /L 葡萄糖储存液直接注入“H”型电池的阴极室, 作为培养产甲烷生物阴极的碳源; 对于 IS, 将等量的葡萄糖储存液首先注入驯化良好的厌氧消化瓶(58 mL 血清瓶)中, 经厌氧消化过程分解生成沼气(约含 50% CO_2 和 50% CH_4)后, 再通过软管将沼气导入“H”型电池的阴极室为产甲烷生物阴极培养提供无机碳源 CO_2 .

实验开始前, 两套系统的阴极室均加入 200 mL 厌氧培养液和 0.5 g 经破碎处理的厌氧颗粒污泥, 阳极室也加入 200 mL 同样的培养液(不含维生素), 同时通过缓慢曝气 $[\text{N}_2\text{-CO}_2$ (体积比 80: 20)] 去除产生的氧气. 最后将阴极、阳极和参考电极与恒电位仪连接, 并将阴极电势控制在 -0.70 V (vs. SHE). 两套实验系统均置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温室内, 按间歇实验模式运行. 整个实验过程分为启动期和正式运行期. 在此期间, 每天注入葡萄糖储存液; 所产生沼气统一用 50 mL 注射器从阴极室抽出并计量; 根据反应系统实际运行状况, 不定期将部分阴极室溶液更换为新鲜厌氧培养液; 考虑到阳极室水分损失情况, 定期补充灭菌去离子水到相应液位. 具体实验运行参数如表 1 所示.

Table 1 Operational parameters adopted in the experiment

Stage	Addition of glucose stock solution/mL	Medium replacement time/d	Medium replacement ratio(%)
Startup period(0—14 d)	0.2	3rd, 6th, 12th	20
Experimental period(15—24 d)	0.2	17th, 22nd	40
Experimental period(25—33 d)	0.4	28th	40

1.3 分析方法

电流密度 j ($\text{A} \cdot \text{m}^{-2}$) 利用恒电位仪记录电流 I (A) 变化情况, 根据 $j = I/S$ [其中 S (m^2) 为阴极表面积] 计算得到.

沼气中 CO_2 和 CH_4 含量利用气相色谱仪测定.

极化实验: 通过恒电位仪将阴极电势分别调整到 -0.50, -0.55, -0.60, -0.65, -0.70, -0.75 V, 每个电势条件持续 30 min, 并同时记录输出电流, 对输出的最后 3 个电流值取均值后作为该电势对应的输出电流值并计算电流密度和相应的标准偏差.

生物量测定: 采用二喹啉甲酸法测定从产甲烷生物阴极和其周围液体中所回收的蛋白质总量, 并

以牛血清白蛋白配制不同浓度蛋白质标准液, 绘制标准曲线.

2 结果与讨论

2.1 不同碳源对产甲烷生物阴极启动期的影响

如图 2 所示, 在整个产甲烷生物阴极启动期, OS 和 IS 的电流密度每天都呈先上升后下降的趋势. 这主要是由于每天间歇性投加葡萄糖, 加之葡萄糖立即被分解生成 CO_2 , 两套实验系统的产甲烷生物阴极附近 CO_2 浓度初始时快速升高, 但随着甲烷化过程对 CO_2 的消耗, CO_2 浓度又开始下降, 因而阴极室内 CO_2 浓度每天都会间歇性地升高、降低. 从产甲烷生物阴极作用机制可知, CO_2 (或 HCO_3^-) 直接影响着阴极表面甲烷菌的代谢反应和电子传递速率^[13,14], 并且两者呈正相关关系, 因此电流密度将会出现与 CO_2 浓度相同的变化趋势.

从图 2 还可以看出, 启动期 OS 和 IS 的电流密度都在逐渐升高, 前者上升幅度较大, 且一直高于后者. 实验期间 OS 和 IS 的电流密度最大值分别达到 0.6 和 0.3 A/m^2 左右. 由于电流密度的升高间接反映了生物阴极表面微生物生长速率及其活性的提高, 因此可以推断与无机碳源相比, 有机碳源可以加速产甲烷生物阴极的形成. 另外, 值得注意的是, 如果在葡萄糖投加的同时更换培养液, 电流密度的上升趋势表现得更加明显(图 2). 一方面可能由于给阴极表面微生物及时补充营养, 提高了其催化反应活性; 另一方面更换培养液可以带出一部分有害代谢产物和浮游微生物, 能在一定程度上加速阴极表面生物膜的形成.

2.2 不同碳源对产甲烷生物阴极稳定运行性能的影响

在启动期结束后, 两套系统进入为期 19 d 的正式运行期. 为了考察不同碳源对产甲烷生物阴极稳定运行性能的影响, 选取正式运行期的最后 12 d 作为稳定运行期(图 3 和图 4). 如图 3 所示, 两套系统在稳定运行期的电流密度变化趋势与启动期一致, 但此时 OS 和 IS 的电流密度最大值分别能达到 1.5 和 0.6 A/m^2 , 与之前相比都有大幅度提高. 从图 3 可以看出, 第 25 天提高葡萄糖投加量后, OS 的电流密度仍有一定程度的升高, 前后电流密度最大值分别约为 1.3 和 1.5 A/m^2 , 这可能是由于阴极室内葡萄糖投量增加和 CO_2 浓度升高的缘故. 但其升高的幅度较小, 因此可认为此时的 OS 产甲烷生物阴极已具有稳定性能. 对于 IS 产甲烷生物阴极而言, 葡萄糖投加量增加前后的电流密度变化更小, 说明此时电流密度不受阴极室内 CO_2 浓度的影响, 因此可以推断 IS 中存在着一一定的 CO_2 传质限制^[13]. 相反, OS 中的原位供给策略可明显提高传质效率, 这可能是 OS 维持较高性能的主要原因之一.

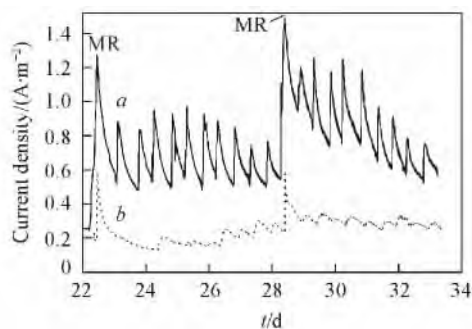


Fig. 3 Current density of methane-producing biocathodes during the stable operation period

MR: medium replacement. a. OS; b. IS.

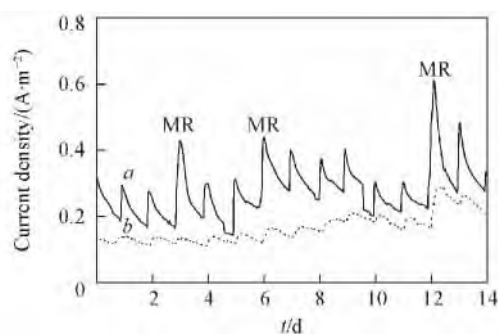


Fig. 2 Startup of methane-producing biocathodes with glucose (OS, a) and CO_2 (IS, b) as carbon sources, respectively

MR: medium replacement.

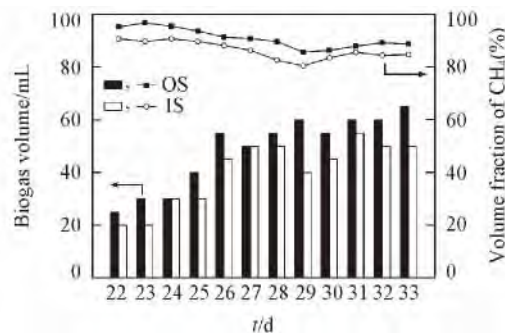


Fig. 4 Volume and CH_4 content of biogas produced during the stable operation period

为了对所形成产甲烷生物阴极的甲烷化效果进行考察, 实验测定了稳定运行期间阴极室内沼气产量和组分. 通常, 葡萄糖经厌氧微生物分解后生成约含 50% (体积分数) CH_4 和 50% (体积分数) CO_2 的沼气^[4], 而根据目前产甲烷生物阴极作用机制, 产甲烷生物阴极可以将沼气中的 CO_2 还原成等量的 CH_4 , 因此阴极室内沼气中 CH_4 含量会得到增加. 如图 4 所示, 两套系统中 CH_4 含量都能达到 80% 以上, 远高于 50%, 证实了产甲烷生物阴极的形成及其较高的活性. 从图 4 还可以看出, 第 24 天葡萄糖投加量增加前后, 不管是沼气产量还是沼气中 CH_4 含量, OS 都要明显优于 IS, 这说明 OS 生物阴极具有更高的甲烷化能力.

2.3 不同碳源对产甲烷生物阴极活性的影响

为了表征和对比两套系统形成的产甲烷生物阴极的电化学活性, 在实验末期开展了极化实验, 结果如图 5 所示. 当阴极电势为 -0.75 V 时, OS 产甲烷生物阴极的电流密度达到 $(2.34 \pm 0.15) \text{ A/m}^2$; 而 IS 产甲烷生物阴极仅达到 $(1.08 \pm 0.10) \text{ A/m}^2$, 这与同样采用无机碳源培养的文献^[4]报道值 $[0.78 \pm 0.20) \text{ A/m}^2]$ 较接近. 因此, 就电化学活性而言, OS 产甲烷生物阴极表现出更加突出的性能, 与其在启动期和稳定运行期具有较高的电流密度是一致的.

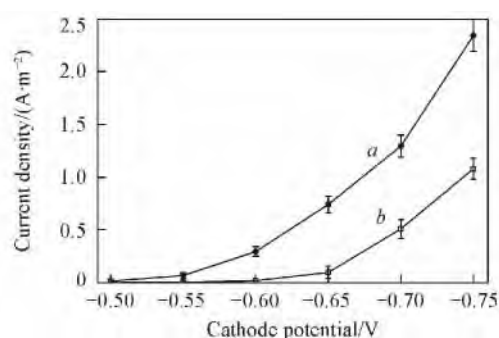


Fig. 5 Polarization curves of methane-producing biocathodes with glucose (OS, *a*) and CO_2 (IS, *b*) as carbon source, respectively

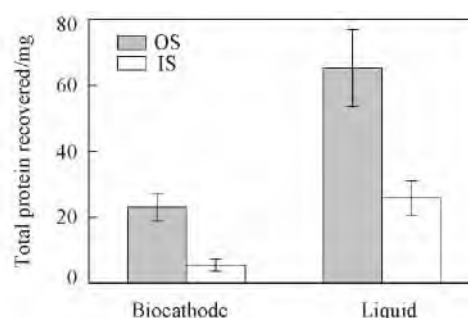


Fig. 6 Total protein recovered from methane-producing biocathodes and their surrounding liquid with glucose (OS) and CO_2 (IS) as carbon sources, respectively

2.4 不同碳源对产甲烷生物阴极生物量的影响

产甲烷生物阴极表面生物量的富集是保障其高性能的重要前提. 蛋白质含量测定可以有效反映样品中活性生物量^[7], 因此为考察不同碳源对产甲烷生物阴极生物量的影响, 对两套系统所形成的产甲烷生物阴极表面以及其周围培养液中的生物量进行回收并测定其中蛋白质总量, 结果如图 6 所示. OS 生物阴极表面回收的蛋白质总量能达到 $(25.8 \pm 5.2) \text{ mg}$; 而 IS 生物阴极表面回收的蛋白质总量仅为 $(5.5 \pm 1.8) \text{ mg}$, 前者约为后者的 4 倍. 同时 OS 生物阴极周围溶液 (约 200 mL) 中蛋白质总量 (约 65 mg) 也明显高于 IS (约 25 mg). 根据前面分析的产甲烷生物阴极两种作用机制^[4,5]可知, 作用微生物主要包括基于电甲烷化和嗜氢甲烷化的甲烷古菌以及催化产氢的细菌. 其中甲烷古菌仅以 CO_2 (或 HCO_3^-) 作为生长碳源, 只能通过改善 CO_2 的传质条件以提高其富集速率; 而对于产氢细菌, 则可利用有机碳源进行快速生长, 因此 OS 能在较短时间内富集形成可观的生物量. 一方面高生物量可以促进电子传递过程, 提升电流密度, 另一方面微生物能从电子传递过程中获取能量, 进一步得到快速生长, 这从微生物分析角度解释了 OS 优于 IS 的原因.

3 结 论

有机碳源可以加速产甲烷生物阴极的形成, 并使其在稳定运行期维持较高运行性能, 包括电流密度和甲烷化效果; 有机碳源条件下所形成的产甲烷生物阴极具有较好的电化学活性; 通过投加有机碳源, 可以实现 CO_2 (或 HCO_3^-) 的原位高效供给, 提高微生物的生长速率, 最终使得产甲烷生物阴极表面生物量是无机碳源培养下的 4 倍多, 从微生物分析角度解释了有机碳源提高产甲烷生物阴极性能的原因.

参 考 文 献

- [1] Lovley D. R., Nevin K. P., *Curr. Opin. Biotechnol.*, **2013**, 24(3), 385—390
- [2] Williams J. H., DeBenedictis A., Ghanadan R., Mahone A., Moore J., Morrow W. R., Price S., Torn M. S., *Science*, **2012**, 335(6064), 53—59
- [3] Marshall C. W., Ross D. E., Ficht E. B., Norman R. S., May H. D., *Appl. Environ. Microbiol.*, **2012**, 78(23), 8412—8420
- [4] Van Eerten-Jansen M., Ter Heijne A., Buisman C. J. N., Hamelers H. V. M., *Int. J. Energ. Res.*, **2012**, 36(6), 809—819
- [5] Cheng S., Xing D., Call D. F., Logan B. E., *Environ. Sci. Technol.*, **2009**, 43(10), 3953—3958
- [6] Zhang J. N., Zhao Q. L., You S. J., Zhang G. D., *Chem. J. Chinese Universities*, **2010**, 31(1), 162—166(张金娜, 赵庆良, 尤世界, 张国栋. 高等学校化学学报, **2010**, 31(1), 162—166)
- [7] Liu R. R., Wang D. J., Leng J., *Chem. Res. Chinese Universities*, **2013**, 29(4), 747—750
- [8] Jeremiasse A. W., Hamelers H. V., Buisman C. J., *Bioelectrochemistry*, **2010**, 78(1), 39—43
- [9] Villano M., Aulenta F., Ciucci C., Ferri T., Giuliano A., Majone M., *Bioresour. Technol.*, **2010**, 101(9), 3085—3090
- [10] Kleerebezem R., van Loosdrecht M. C., *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.*, **2010**, 40(1), 1—54
- [11] Morita M., Malvankar N. S., Franks A. E., Summers Z. M., Giloteaux L., Rotaru A. E., Rotaru C., Lovley D. R., *Mbio.*, **2011**, 2(4), e00159
- [12] Bond D. R., Lovley D. R., *Appl. Environ. Microbiol.*, **2003**, 69(3), 1548—1555
- [13] Desloover J., Arends J. B. A., Hennebel T., Rabaey K., *Biochem. Soc. Trans.*, **2012**, 40(6), 1233—1238
- [14] Harnisch F., Schroder U., *Chem. Soc. Rev.*, **2010**, 39(11), 4433—4448
- [15] Luo G., Johansson S., Boe K., Xie L., Zhou Q., Angelidaki I., *Biotechnol. Bioeng.*, **2012**, 109(4), 1088—1094
- [16] Angelidaki I., Sanders W., *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.*, **2004**, 3(2), 117—129
- [17] Yücesoy E., Lüdemann N., Lucas H., Tan J., Denecke M., *Water Sci. Technol.*, **2012**, 65(8), 1483—1489

Effect of Carbon Sources on the Performance of Methane-producing Biocathodes[†]

XU Heng, WANG Cuiping, WANG Kaijun*

(State Key Joint Laboratory of Environment Simulation and Pollution Control, School of Environment, Tsinghua University, Beijing 100084, China)

Abstract Effects of organic carbon source (OCS) and inorganic carbon source (ICS) on the performance of methane-producing biocathodes were studied. The current density, methanation, polarization curves and bio-mass attached were investigated during both start-up and stable operating periods. The results show that OCS not only accelerated formation of the methane-producing biocathode, but improved its operating performance. As for the polarization tests, the current density of the OCS-associated biocathode could reach (2.34 ± 0.15) A/m² with the cathode potential poised at -0.75 V (vs. SHE), higher than that of the ICS-associated biocathode. Compared to ICS addition, OCS addition could achieve *in-situ* supply of carbon dioxide (CO₂), which would alleviate gas-liquid transfer limitations and promote microorganisms' growth. In this case, the biomass attached on OCS-associated biocathode was more than 4 times as much as that on ICS-associated biocathode, further elucidating the high-performance of OCS-associated methane-producing biocathodes.

Keywords Organic carbon source (OCS); Inorganic carbon source (ICS); Methane-producing biocathode; Current density; Biomass

(Ed.: S, Z, M)

[†] Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 51278271) and the Major Science and Technology Program for Water Pollution Control and Treatment of China (No. 2012ZX07205-002).