

doi:10.3799/dqkx.2012.035

双室电化体系中产电微生物与黄铁矿单晶协同电子转移反应

丁竑瑞, 李 艳, 鲁安怀

北京大学造山带与地壳演化教育部重点实验室, 北京大学地球与空间科学学院, 北京 100871

摘要: 通过构建产电微生物—黄铁矿双室体系, 应用电化学方法对以黄铁矿单晶电极作为产电微生物电子受体时, 两者间的电子转移过程进行表征和分析。结果显示, 与惰性石墨电极相比, 以黄铁矿单晶作为产电微生物电子受体时, 体系最大功率密度提升 132.9%; 电化学阻抗谱显示, 黄铁矿单晶电极极化电阻降低 98.8%, 表现出优良的电化学反应特性, 表明产电微生物与黄铁矿单晶间具有良好的电子转移活性。藉由产电微生物对底物的氧化作用, 与黄铁矿单晶接受产电微生物电子在 0.34 V (相对于饱和甘汞电极) 处发生的还原反应, 构成了两者间完整的协同电子转移过程。

关键词: 黄铁矿; 产电微生物; 微生物还原; 电化学; 矿物学; 环境工程。

中图分类号: P578.2; X78

文章编号: 1000-2383(2012)02-0313-06

收稿日期: 2010-08-12

Electrochemical Study on Electron Transfer Process between Electricigens and Single Crystal Pyrite in a Dual-Chambered Equipment

DING Hong-ruì, LI Yan, LU An-huai

The Key Laboratory of Orogenic Belts and Crustal Evolution, School of Earth and Space Sciences, Peking University, Beijing 100871, China

Abstract: This research built up a dual-chambered electricigens-pyrite equipment. Using single crystal pyrite as electron acceptor of electricigens, and the electron transfer process was analyzed by electrochemical methods. Compared with graphite electrode, the maximum system power density increased by 132.9% and polarization resistance of EIS decreased by 98.8% with a single crystal pyrite electrode. The data show a favorable electron transfer activity between electricigens and single crystal pyrite. The electron transfer process is related to the two electrode reactions, of which one is microbial oxidation by electricigens, and the other is reduction at 0.34 V (vs. SCE) by single crystal pyrite as electron acceptor.

Key words: pyrite; electricigens; microbial reduction; electrochemistry; mineralogy; environmental engineering.

自然环境中, 生物圈中的微生物与作为无机界主要组成之一的矿物有着密切的联系。其中微生物对于矿物的影响主要集中于微生物诱导矿物形成、分解以及对含变价元素矿物的氧化还原转化等。微生物与矿物间的氧化作用主要体现在化能自养微生物通过氧化矿物溶解所释放出来的变价离子或基团获得电子能量; 还原作用则体现在微生物以含变价元素的矿物作为呼吸作用的终端电子受体 (Dong, 2010)。有关微生物通过电子转移过程直接还原矿物的研究, 近年来集中于以异化金属还原菌 *Geobacter*

metallireducens (Childers *et al.*, 2002) 与 *Shewanella putrefaciens* (Kim *et al.*, 2002) 为代表的微生物。此类微生物在自然界中广泛存在, 主要富集于分离自厌氧活性污泥、湖泊底泥、矿山尾矿等处。由于此类微生物可通过自身电子传递系统将电子直接传递至胞外固体电极并最终还原终端电子受体 (Rabaey and Verstraete, 2005), 因此又被称为“产电微生物”。目前对于产电微生物的研究与应用热点之一是通过构建微生物燃料电池 (microbial fuel cell, MFC) 体系, 对此类微生物通过氧化有机底物

转移电子并产生电能的能力进行研究. 该体系中以产电微生物作为阳极, 通过氧化有机底物获得电子, 电子依次经阳极电极、外电路、阴极电极传递至终端电子受体如氧气(Liu and Logan, 2004)、Mn(IV)氧化物(Myers and Nealson, 1988)与 Fe(III)氧化物(Roden *et al.*, 2000)等固体矿物, 最终将其还原并完成转移过程(Logan *et al.*, 2006), 其中氧气是最为普遍的电子受体并通常作为研究体系的参照.

天然黄铁矿(FeS_2)是自然界中主要的含 Fe 矿物之一, 其氧化还原性能十分活跃并成为酸性矿山废水的主要来源之一(Evangelou and Zhang, 1995). 现有研究表明, 在黄铁矿发生氧化还原反应产生酸性矿山废水的过程中, 存在着化能自养型微生物氧化作用的广泛参与(Schippersa and Jørgensen, 2002). 在天然黄铁矿发生氧化反应的同时, 其结构中所含的 Fe、S 等物质也可能发生还原反应, 具有作为产电微生物的电子受体参与其电子转移过程的基础. 现阶段对于天然黄铁矿作为电子受体参与产电微生物电子传递的研究较少, 鉴于黄铁矿具有优异的电化学氧化还原活性, 对于由黄铁矿与产电微生物构成的天然系统, 两者间具有通过电子转移相互耦合的潜力, 其中所涉及电子转移过程的途径及机制有待进一步探索.

本研究构建了基于微生物燃料电池结构的双室产电微生物—黄铁矿体系, 该体系中以富集培养的产电微生物作为阳极, 以天然黄铁矿单晶作为阴极. 研究围绕两者间的电子转移过程展开, 通过对体系电化学性能表征, 考察产电微生物和黄铁矿间的电子转移过程, 重点研究黄铁矿作为电子受体在这一电子转移过程中起到的作用及发生的反应. 同时, 通过对产电微生物与黄铁矿间电子转移过程的研究, 为利用此类体系探索微生物—天然矿物间电子转移机制提供一定的科学基础.

1 实验材料与技术方法

1.1 实验材料与微生物培养

以黄铁矿单晶样品作为电极材料, 沿(111)解理面切割为厚度 5 mm, 表面积 $16 \text{ cm} \times 2 \text{ cm}$ 的片状. 黄铁矿表面依次使用 400 目、800 目、1 200 目、1 500 目砂纸打磨并使用蒸馏水洗净, 以去除表面陈旧氧化层.

实验接种的产电微生物菌群富集自厌氧活性污泥(北京高碑店污水处理厂), 培养基为含磷酸盐缓冲体系的乙酸自配水, 成分包括 1.64 g/L 无水乙酸

钠、10.31 g/L $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 、3.31 g/L $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 、0.31 g/L NH_4Cl 、0.13 g/L KCl 以及 0.5 g/L 酵母浸粉. 培养基 pH 约 7.1, 使用前通无菌氮气 30 min 以降低溶解氧浓度. 除特殊说明外, 实验所用试剂均为分析纯, 涉及溶液均使用去离子水配制, 实验操作均于室温($25 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$)下进行.

1.2 实验体系的搭建

实验装置为双室有机玻璃构型(图 1), 阴阳极两室容积均为 100 mL, 两室间以尺寸 $5 \text{ cm} \times 7 \text{ cm}$ 的阳离子交换膜(CEM, CMI-7000, Ultrex)分隔. 阳极电极为 $5 \text{ cm} \times 7 \text{ cm} \times 0.5 \text{ cm}$ 光滑石墨板(上海弘枫石墨有限公司), 端部植入直径 1 mm 钛丝与外电路连接, 阳极室以 10%(V/V)比例接种富集自厌氧活性污泥的产电微生物菌群并填充乙酸自配水后密封以维持厌氧环境; 使用切割为片状黄铁矿作为阴极电极, 电极顶部固定导电夹并以环氧树脂胶密封连接处后接入外电路, 阴极室填充 1 mol/L 的 KCl 溶液作为电解液, pH 约 5.4, 缓缓鼓入空气, 其中溶解氧能够充当电子受体. 连接阴阳两极的外电路中, 使用 ZX21 型直流多值电阻器作为外负载, 通过 Pico ADC-16 Data logger(pico technologies limited, UK)实时记录负载电压.

对照实验组使用普通光滑石墨板作为惰性阴极电极代替黄铁矿电极, 其他体系条件保持不变.

1.3 电学参数与电化学技术表征

实验体系电学参数的测定, 通过设定一系列的

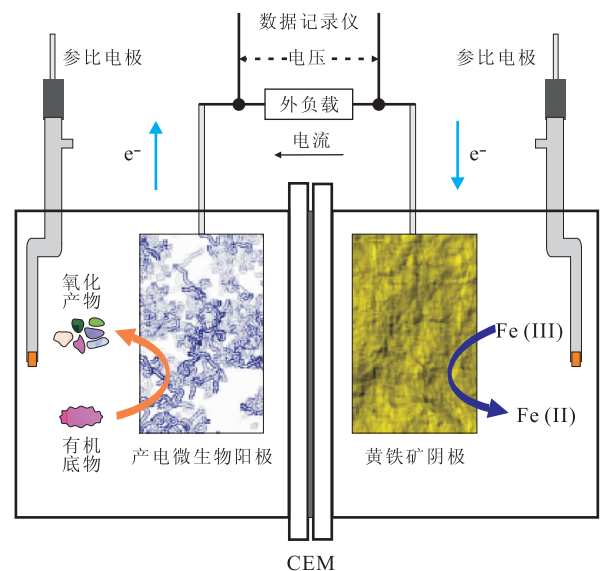


图 1 产电微生物—黄铁矿双室研究体系示意

Fig. 1 Schematic diagram of electricigen-pyrite system in a dual-chambered setup

外负载阻值,于不同电流密度下记录体系负载电压,绘制电流密度—负载曲线,并进一步计算体系功率密度曲线,以体系最大功率密度的提升表征内部电子转移效率的提高(Schröder *et al.*, 2003).同时,以232型饱和甘汞电极(SCE,电极电势0.244 5 V相对标准氢电极,25 °C)为参比电极,使用UT33B型数字万用表测定黄铁矿电极电势的变化情况,并与同等实验条件下的石墨电极进行比较分析.

黄铁矿电极的电化学测试,使用CHI 660C型电化学工作站(上海辰华仪器有限公司).采用单室三电极体系,以待测黄铁矿电极作为工作电极、饱和甘汞电极作为参比电极、213型铂电极作为对电极.反应池容积150 mL,电解液使用1 mol/L KCl,pH约5.4.

电化学阻抗谱(electrochemical impedance spectra, EIS)测试,测试频率范围1 mHz至100 kHz,信号振幅5 mV,初始电位设定为工作电极开路电极电势(open circuit potential, OCP).根据测试结果推测等效电路,并使用仪器随机程序按等效电路对测试结果进行拟合,计算得到各拟合参数.

应用伏安扫描技术,对黄铁矿单晶电极上氧化还原反应的发生情况进行界定(Marshall and May, 2009).其中循环伏安(cyclic voltammetry, CV)测试,扫描范围-1.2~1.2 V(相对于饱和甘汞电极),扫描速度0.1 V/s.初始扫描方向negative,以工作电极开路电极电势(open circuit potential, OCP)作为起始扫描电位,扫描记录3段,1.5个完整循环.分别测定黄铁矿电极与普通石墨电极的CV曲线.线性扫描伏安(line-scan voltammetry, LSV)测试,扫描范围1.2~-0.4 V(相对于饱和甘汞电极),扫描速度0.4 V/s,扫描方向negative. LSV测试中,针对黄铁矿单晶电极在特定氧化还原电势范围内的还原特性,通过通入N₂或O₂的方法改变溶解氧浓度,以判定体系中溶解氧还原相关反应所产生的影响.

2 结果与讨论

2.1 产电微生物—黄铁矿单晶体系电化学性能表征

不同外电路负载下,体系电流密度—负载曲线如图2所示.在相同的负载下,还原黄铁矿电极可以获得较普通惰性石墨电极更高的电流密度.在外负载为1 000 Ω、600 Ω、300 Ω、100 Ω条件下,使用黄铁矿单晶作为电极时,体系电流密度依次为

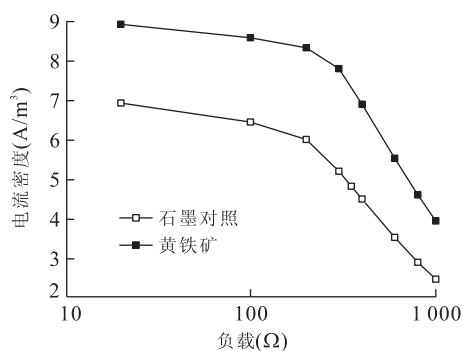


图2 黄铁矿/石墨电极电流密度—负载曲线

Fig. 2 Current density-out loader curve of pyrite and graphite electrode

3.96 A/m³、5.54 A/m³、7.81 A/m³、8.59 A/m³,较同等条件下石墨对照分别提高59.7%、56.5%、61.7%与42.7%.体系电流密度由阴阳两极电极反应性能决定,同时反映系统阴阳两极间的电子转移速率,在阴极使用黄铁矿单晶电极的情况下体系具有较大的电流密度,表明该电极与产电微生物之间的协同电子转移效率较石墨电极更高.

对不同电流密度下的体系功率密度进行计算(图3),使用黄铁矿单晶电极时最大功率密度为1.91 W/m³,相对于普通石墨电极的0.82 W/m³提高132.9%.功率密度的提升反映体系整体反应效率的提高.实验过程中阳极产电微生物端元的电极电势保持平稳,表明其反应维持稳定.相对于石墨阴极下低效的氧气还原过程,黄铁矿单晶电极的使用,改变了原有阴极反应过程,从而大幅提升了体系的整体功率密度.同时,通过对阴极电极电势变化情况的比较(图4),我们发现在产电微生物—黄铁矿体系中,相对于普通的石墨阴极,黄铁矿作为阴极具有更高的电极电势.这一现象说明,黄铁矿单晶作为电子受体时具有更高的氧化还原电势,有利于从阳极

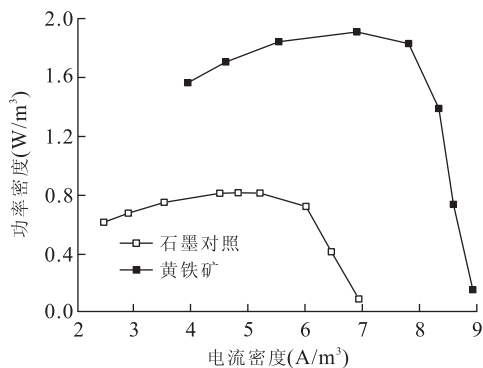


图3 黄铁矿/石墨电极功率密度曲线

Fig. 3 Power density curve of pyrite and graphite electrode

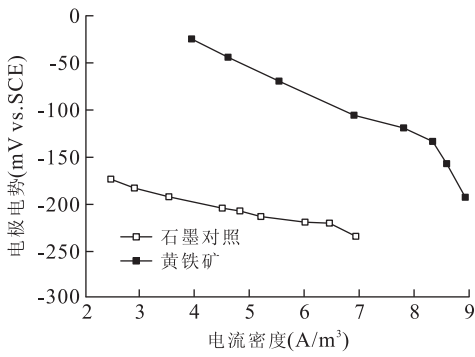


图 4 黄铁矿/石墨电极阴极电极电势—电流密度曲线

Fig. 4 Potential-current density curve of pyrite and graphite electrode as cathode

产电微生物端接受电子并促进电子转移过程的发生。

综合电化学参数的测试结果表明,在双室产电微生物—黄铁矿体系中,黄铁矿单晶电极的引入改变了体系原有的阴极还原反应.这一反应的改变,提升了阴极端电极电势与反应效率,促进了由阳极产电微生物至阴极黄铁矿单晶的电子转移过程。

2.2 黄铁矿单晶电极电化学阻抗特征

分析黄铁矿单晶电极的 EIS 结果,其相角图符合单一时间常数的特征,所以对电极反应按单一时间常数模型(one time constant model,OTCM)进行等效电路拟合,即扩散层电容(C)、反应极化内阻(polarization resistance, R_p)并联后与体系传质电阻(solution resistance, R_s)串联(Manohar *et al.*, 2008).其中 R_s 主要体现反应体系的欧姆性质内阻,而 R_p 的大小则反映电极反应过电势的高低,较小的 R_p 值意味着更低的电极反应势垒同时反应更易于发生(Giorgi *et al.*, 1998).

图 5 为黄铁矿电极与石墨电极的阻抗图拟合结果, $\log Z$ 坐标轴截距反映了 R_p 数值,具体拟合参数结果记录于表 1.结果显示,相对于石墨对照,使用黄铁矿单晶作为电极时 R_p 由 2 523 Ω 下降至 30.35 Ω ,降幅达 98.8%. R_p 的大幅下降表明黄铁矿电极反应过电势远低于作为对照的普通石墨,使用黄铁矿单晶作为电极时,反应发生在动力学层面上更易于进行. EIS 结果与对体系电化学参数的分析相吻合,证明黄铁矿适宜作为产电微生物的电子受体接受电子。

2.3 黄铁矿单晶电极电化学伏安特征

与石墨对照进行对比,黄铁矿单晶电极的循环伏安结果体现出明显区别(图 6).在扫描范围内,作

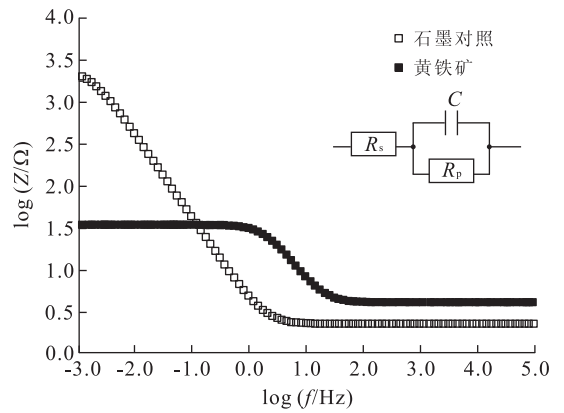


图 5 黄铁矿电极/石墨对照 EIS 拟合结果

Fig. 5 EIS fitting results of pyrite electrode and graphite as control

表 1 黄铁矿电极/石墨对照 EIS 拟合参数

Table 1 Fit parameters for EIS of pyrite electrode and graphite as control

参数	黄铁矿	石墨对照
$R_p(\Omega)$	30.35	2 523
$R_s(\Omega)$	4.059	2.256
$C(F)$	0.002 475	0.037 26

为对照的石墨电极并未表现明显的氧化还原活性,而黄铁矿单晶作为电极材料则表现出良好的电化学反应活性.黄铁矿单晶电极发生的反应主要体现为 -0.66 V(vs. SCE,峰 1)处存在氧化峰,在 -0.98 V(vs. SCE,峰 2)、 0.34 V(vs. SCE,峰 3)处存在还原峰.将其中的峰 1 与峰 2 归属于黄铁矿结构中 Fe(II)与 Fe 的可逆氧化还原反应(Dean, 1991),峰 3 主要源于 Fe(III)的还原反应(Almeida and Giannetti, 2003).对于 Fe(III)的还原反应来说,首先是由于黄铁矿结构中含有部分氧化态的 Fe(III);同时在 $\text{pH} > 3$ 的溶液体系中,黄铁矿表面能够发生公式(1)所示反应,从而生成三价铁氧/氢氧化物(Tao *et al.*, 2003),这一反应生成的氧化态产物是优良电子受体,有利于电子的接受并促进电子转移过程的发生。



在产电微生物还原体系中,作为电子供体的阳极产电微生物通过膜表面电子传递链给出电子的这一过程,其氧化还原电势相对于饱和甘汞电极主要集中于 -400 mV 附近(Schaetzle *et al.*, 2008).因此,对于体系中的黄铁矿单晶电极,受产电微生物电

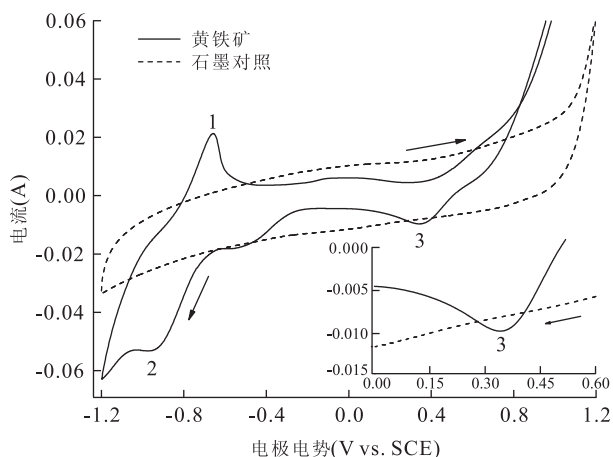


图6 黄铁矿电极/石墨对照循环伏安结果

Fig. 6 CV results of pyrite and graphite electrode

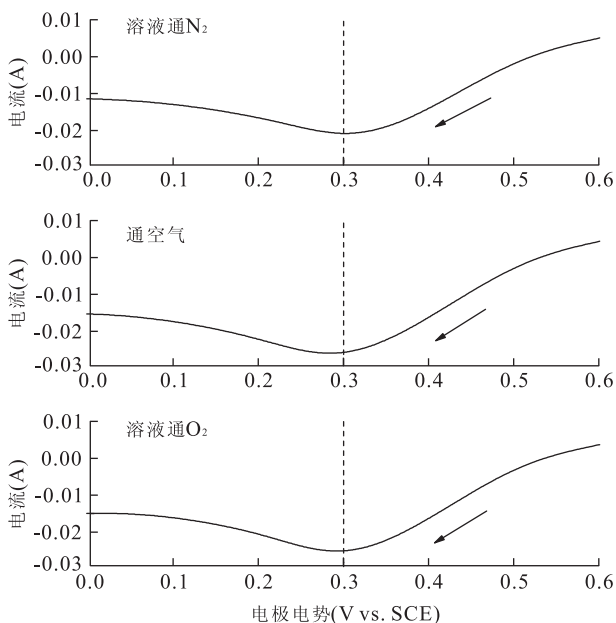


图7 不同溶解氧条件下黄铁矿电极线性扫描伏安结果

Fig. 7 LSV results of pyrite electrode under different DO concentrations

子还原能力限制,发生的反应主要涉及峰3所代表的Fe(III)还原,即在产电微生物-黄铁矿体系中,黄铁矿通过Fe(III)的还原作为电子受体参与产电微生物的电子转移过程。

为排除研究体系中溶解氧对实验的干扰,对氧气还原反应进行了相应的测试。实验条件下,溶解氧的还原反应发生于0.66 V(vs. SCE,生成 H_2O)与0.12 V(vs. SCE,生成 H_2O_2)(Zhao *et al.*, 2006),这一理论计算结果与实验测得的各还原峰位不符。同时,通过对不同溶解氧浓度条件下线性伏安扫描的比对(图7)发现,峰3不随体系溶解氧浓度的改

变而发生迁移,表明在测试范围内,黄铁矿单晶电极发生的Fe(III)还原反应与溶解氧的直接还原反应无关。结果进一步证明,黄铁矿作为电子受体参与产电微生物电子转移的过程,是由其固有特性决定的。

综合电化学伏安扫描结果,认为电化学热力学层面上,由于黄铁矿电极上Fe(III)的还原反应,黄铁矿单晶可以作为电子受体接受阳极产电微生物给出的电子,参与两者间的协同电子转移过程,构成完整的电子转移过程。

3 结语

在本研究构建的产电微生物-黄铁矿双室体系中,产电微生物可以对外给出电子,同时以黄铁矿作为其终端电子受体接受电子,完成两者间的协同电子转移过程。黄铁矿在氧化还原电势0.34 V(vs. SCE)处发生的还原反应,是其作为电子受体参与协同电子转移过程的电化学热力学基础。产电微生物与黄铁矿单晶间具有良好的电子转移活性,以黄铁矿单晶作为电子受体可以在动力学层面有效降低电极反应势垒,提高反应效率,促进两者间电子转移过程的发生。

References

- Almeida, C. M. V. B., Giannetti, B. F., 2003. The electrochemical behavior of pyrite-pyrrhotite mixtures. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 553(30): 27-34. doi: 10.1016/S0022-0728(03)00254-7
- Childers, S. E., Ciuffo, S., Lovley, D. R., 2002. *Geobacter metallireducens* accesses insoluble Fe(III) oxide by chemotaxis. *Nature*, 416(6882): 767-769. doi: 10.1038/416767a
- Dean, J. A., 1991. Lange's handbook of chemistry (13rd Edition). Translated by Shang, J. F., Cao, S. J., Xin, W. M., et al. Science Press, Beijing (in Chinese).
- Dong, H., 2010. Mineral-microbe interactions: a review. *Frontiers of Earth Science in China*, 4(2): 127-147. doi: 10.1007/s11707-010-0022-8
- Evangelou, V. P. B., Zhang, Y. L., 1995. A review: pyrite oxidation mechanisms and acid mine drainage prevention. *Critical Reviews in Environmental Science & Technology*, 25(2): 141-199. doi: 10.1080/10643389509388477
- Giorgi, L., Antolini, E., Pozio, A., et al., 1998. Influence of the PTFE content in the diffusion layer of low-Pt loading electrodes for polymer electrolyte fuel cells. *Electro-*

- chimica Acta*, 43(24): 3675—3680. doi: 10.1016/S0013-4686(98)00125-X
- Kim, H. J., Park, H. S., Hyun, M. S., et al., 2002. A mediator less microbial fuel cell using a metal reducing bacterium, *Shewanella putrefaciens*. *Enzyme and Microbial Technology*, 30(2): 145—152. doi: 10.1016/S0141-0229(01)00478-1
- Liu, H., Logan, B. E., 2004. Electricity generation using an air-cathode single chamber microbial fuel cell in the presence and absence of a proton exchange membrane. *Environmental Science & Technology*, 38(14): 4040—4046. doi: 10.1021/es0499344
- Logan, B. E., Hamelers, B., Rozendal, R., et al., 2006. Microbial fuel cells: methodology and technology. *Environmental Science & Technology*, 40(17): 5181—5192. doi: 10.1021/es0605016
- Manohar, A. K., Bretschger, O., Nealsen, K. H., et al., 2008. The use of electrochemical impedance spectroscopy (EIS) in the evaluation of the electrochemical properties of a microbial fuel cell. *Bioelectrochemistry*, 72(2): 149—154. doi: 10.1016/j.bioelechem.2008.01.004
- Marshall, C. W., May, H. D., 2009. Electrochemical evidence of direct electrode reduction by a thermophilic gram-positive bacterium, *Thermincola ferriacetica*. *Energy & Environmental Science*, 2(6): 699—705. doi: 10.1039/B823237G
- Myers, C. R., Nealsen, K. H., 1988. Bacterial manganese reduction and growth with manganese oxide as the sole electron acceptor. *Science*, 240(4857): 1319—1321. doi: 10.1126/science.240.4857.1319
- Rabaey, K., Verstraete, W., 2005. Microbial fuel cells: novel biotechnology for energy generation. *Trends in Biotechnology*, 23(6): 291—298. doi: 10.1016/j.tibtech.2005.04.008
- Roden, E. E., Urrutia, M. M., Mann, C. J., 2000. Bacterial reductive dissolution of crystalline Fe(III) oxide in continuous-flow column reactors. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(3): 1062—1065. doi: 10.1128/AEM.66.3.1062-1065.2000
- Schaetzle, O., Barrière, F., Baronian, K., 2008. Bacteria and yeasts as catalysts in microbial fuel cells: electron transfer from micro-organisms to electrodes for green electricity. *Energy & Environmental Science*, 1(6): 607—620. doi: 10.1039/B810642H
- Schippers, A., Jørgensen, B. B., 2002. Biogeochemistry of pyrite and iron sulfide oxidation in marine sediments. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 66(1): 85—92. doi: 10.1016/S0016-7037(01)00745-1
- Schröder, U., Nießen, J., Scholz, F., 2003. A generation of microbial fuel cells with current outputs boosted by more than one order of magnitude. *Angewandte Chemie*, 115(25): 2986—2989. doi: 10.1002/ange.200350918
- Tao, D. P., Richardson, P. E., Luttrell, G. H., et al., 2003. Electrochemical studies of pyrite oxidation and reduction using freshly-fractured electrodes and rotating ring-disc electrodes. *Electrochimica Acta*, 48(24): 3615—3623. doi: 10.1016/S0013-4686(03)00482-1
- Zhao, F., Harnisch, F., Schröder, U., et al., 2006. Challenges and constraints of using oxygen cathodes in microbial fuel cells. *Environmental Science & Technology*, 40(17): 5193—5199. doi: 10.1021/es060332p

附中文参考文献

- Dean, J. A., 主编, 1991. 兰氏化学手册, 中文版(第十三版). 尚久方, 操时杰, 辛无名, 等译. 北京: 科学出版社.