doi:10.6043/j.issn.0438-0479.201708013

聚3,4-乙烯二氧噻吩在海洋微生物燃料电池阳极改性中的应用

陈占飞，郑 智，宋宇宁，刘红豆，王 珊，徐方成[[1]](#footnote-1)

（厦门大学化学化工学院，福建 厦门 361005）

**摘要：**采用恒电位仪、扫描电子显微镜、能谱仪、U型微生物燃料电池（MFC）等方法，研究导电聚合物聚3,4-乙烯二氧噻吩（PEDOT）的石墨阳极修饰，并探讨其影响海洋产电菌*Shewanella* sp. S2产电的机制。结果表明，电化学法合成的PEDOT呈片状覆盖在石墨表面，并带有一些颗粒状凸起（直径约200 nm）。PEDOT修饰后，MFC表观内阻从471 Ω下降到390 Ω；稳定期的电流密度（173.6 mA/m2）是未修饰MFC（74.4 mA/m2）的2.33倍。扫描电镜结果显示，PEDOT修饰显著提高了产电菌在阳极表面的吸附量。由于电极表面的粗糙度远小于细菌尺寸，推测MFC产电能力的提高主要是由于PEDOT作用而不是电极表面粗糙度。

**关键词：**聚3,4-乙烯二氧噻吩；微生物燃料电池；*Shewanella* sp. S2；海洋电传菌；导电聚合物

**中图分类号：**O 635.2 **文献标志码：** A **文章编号：**

微生物燃料电池（MFC）是一种特殊的燃料电池，它以微生物为催化剂，废弃生物质、有机废水等有机物作为燃料，通过生物氧化产生电能。常规燃料电池的阳极和阴极都是化学电极，而MFC的阳极是生物电极，阴极仍然是化学电极[1]。因此，MFC的阴极可以借助传统燃料电池技术进行设计，而其阳极必须开展基础研究。传统燃料电池的催化剂一般是一次性固定在电极表面，而MFC的阳极催化剂（也就是阳极表面生物膜）是在MFC启动过程中逐渐形成的。有机物通过扩散传递到生物膜内，被产电菌氧化分解，产生的一部分电子通过胞外电子传递途径传递到细胞外部，再经过生物膜内细胞与细胞之间的传递，最终到达电极表面。现已探明，产电微生物主要通过细胞外膜上的细胞色素C、纳米导线以及通过分泌可溶性电子介体，这3种途径实现胞外电子传递[2-3]。MFC的阳极实际上是微生物与电极相互作用的结果，其性能不仅与产电微生物的种类和电化学活性有关，而且电极材料对其也有重要影响。

目前，MFC的阳极设计仍然缺乏系统的理论指导[4]。一些研究认为金属材料适合作为MFC的阳极，但大多数研究采用碳材料作为MFC的阳极，如石墨块、碳纸、碳布和碳毡[5]。尽管碳材料质量轻、抗腐蚀性好，但碳材料脆性大、二次加工困难，而且也不太容易吸附微生物。高分子聚合物普遍具有耐腐蚀、容易加工、成本低的优点，将导电聚合物涂布在普通基材表面，可以简单、快速地改变电极特性，已经逐渐成为MFC电极改性一个新的发展方向[6]。常见的导电聚合物有聚苯胺、聚吡咯、聚噻吩等以及其衍生物[6]。与其他导电聚合物相比，聚3,4-乙烯二氧噻吩（PEDOT）具有极好的化学稳定性，高导电率和良好的生物相容性，很适合作为MFC的电极涂层。近年来，已有将PEDOT用作MFC的阳极涂层或黏结剂的研究报道[7-9]。Liu等[7]采用电化学聚合法，在碳纸、碳毡表面合成一层PEDOT膜，并认为三维纳米多孔结构是PEDOT提高*Shewanella loihica* 产电的原因。Wang等[8]以大肠杆菌（*Escherichia coli*）为测试菌种，PEDOT作为纳米石墨烯黏结剂，考察了石墨烯对MFC产电的影响。Kang等[9]以活性污泥作为菌种来源，研究了PEDOT修饰石墨板、石墨毡和碳布对产电的影响。Yong等[10]以*Shewanella oneidensis* MR-1作为产电菌，导电聚合物改用聚苯胺作为黏结剂，将纳米石墨烯固定在碳毡表面，考察了石墨烯对MFC产电的影响。这些研究主要采用来自陆地环境的产电菌纯种或活性污泥作为阳极催化剂，并指出MFC产电的提高主要得益于导电聚合物改进了阳极表面的三维立体结构，增加了电极比表面积。

研究PEDOT对MFC产电的作用，不仅要考虑到PEDOT的导电作用和三维立体结构作用，而且应该考虑PEDOT本身的化学性质作用。尽管PEDOT与纳米颗粒的掺杂，能提高PEDOT的导电特性和电极表面的三维立体结构，从而进一步提高MFC产电，但掺杂有可能劣化PEDOT在基材表面的附着能力以及材料的长期稳定性。是采用比较平整的纯PEDDOT膜，还是采用含有高导电率的纳米材料（如石墨烯）掺杂的复合膜，需要从MFC性能、电极制备难易程度、材料长期稳定性等多方面综合考虑，来进一步优化PEDOT在MFC中的应用。

本研究以来自海洋的产电菌*Shewanella* sp. S2作为菌种材料，采用循环伏安法在石墨电极表面聚合形成PEDOT薄膜，探讨其对海洋产电菌产电的影响及其机制。

# 材料与方法

**1.1电极制备和PEDOT膜检测分析**

电极采用大小为28 mm×7 mm×3 mm的高纯石墨块（99.9%，天津艾达恒晟科技发展有限公司），手工钢锯切割后用100~5000目的氧化铝砂纸，从粗到细将石墨表面抛光。再用酸洗、碱洗除去表面的金属氧化物和油污。采用直径0.2 mm 的细钛丝（外面套耐高温绝缘管）与石墨块相连接。

石墨块表面聚合PEDOT薄膜的制备方法如下：石墨块作为工作电极，Ag/AgCl（3 mol/L KCl）和Pt 棒分别作为参比电极和对电极，在电化学工作站CHI660E（上海辰华仪器有限公司）控制下采用循环伏安法聚合；扫描电压范围0~1.2 V，扫描速率为0.01 V，扫描圈数为10 圈；乙烯二氧噻吩（EDOT）的浓度为0.01 mol/L，高氯酸锂作为引发剂。聚合完成后用大量去离子水冲洗，洗掉表面残留的EDOT溶液，制备好的电极浸泡在去离子水中备用。

采用能谱（EDS）仪（日本HITACHI公司，S-4800）通过测量元素C以及PEDOT特征元素（O和S）判断PEDOT是否聚合在石墨基材表面。石墨电极标记为G，PEDOT修饰的石墨电极标记为PEDOT/G。

## 1.2产电菌菌种和培养基

测试菌株来自厦门近海的海洋产电菌*Shewanella* sp. S2[11]，采用2216E培养基（西宝生物科技股份有限公司）好氧培养。配制M6溶液模拟海水基础盐溶液[12]，在M6溶液加入20 mmol/L乳酸钠、１ g/L的氯化铵，作为*Shewanella* sp. S2在MFC阳极室的产电培养基，即阳极溶液。所有化学试剂均为分析纯，购自国药集团化学试剂有限公司。

## 1.3 U型MFC的制作和启动

采用U型MFC分析PEDOT修饰阳极对产电的影响。U型MFC由两个带球形接头的L型玻璃弯管（内径20 mm）对接而成，中间夹一片质子交换膜（杜邦N112，上海河森电气有限公司）和O型密封圈，用平行夹夹紧密封。外接510 Ω电阻，多通道万用数字电表（Keithley 2700，Keithley Instruments, Inc.，美国）测量510 Ω电阻两端电压，每5 min采集一次。阴极溶液为含有50 mmol/L铁氰化钾的0.1 mol/L磷酸溶液（pH 7.0）。两室的装液量均为25 mL左右，预先通过渗透实验用NaCl调整阴极室的离子强度，以保证质子交换膜两侧的渗透压平衡。设立两组MFC，一组阳极为PEDOT/G，另外一组为G。两组MFC的阴极均采用PEDOT/G电极作为阴极。产电菌由2216Ｅ培养基培养到对数末期，在7000 r/min下离心5 min 后，菌泥用M6溶液悬浮后接种到阳极室。阳极溶液中的生物量用溶液在600 nm的吸光度（即菌浊度*OD*600）表示，初始*OD*600 为0.3~0.4。产电培养基中的乳酸钠，待MFC电压曲线的基线平稳后，单独用注射器加入。

## 1.4极化曲线测量和电化学阻抗分析

传统燃料电池的阳极催化剂是固定的，但MFC的阳极催化剂是在人工电子受体（也就是阳极）胁迫下逐步建立起来的。通常在电极表面生物膜达到稳定后，通过外电阻法或线性伏安扫描法获得极化曲线[13]。本研究采用线性伏安扫描法，扫描从开路电压开始，0.0 V 结束，扫描速率为1 mV/s。

本研究EIS测量的工作电极为纯石墨电极和PEDOT修饰电极，参比电极和对电极分别为Ag/AgCl电极和Pt 网电极。测试参数：振幅为10 mV，频率从1000 kHz到0.01 Hz，起始电压为开路电压。本研究采用Lu等[14]报道的EIS方法和等效电路模型：将整个MFC简化为*R*0(*R*1*C*1)(*R*2*C*2) 等效电路，其中*R*0代表溶液和隔膜的电阻，*R*1和*C*1分别表示阳极的电阻和电容，*R*2和*C*2分别表示阴极的电阻和电容。电化学阻抗模拟软件为ZsimDemo 3.30d。

## 1.5 阳极表面细胞形态分析

MFC运行结束之后，取出阳极，先在2.5%（体积分数）戊二醛溶液中浸泡4 h以灭活细胞，然后在装有0.1 mol/L磷酸缓冲液的离心管（5 mL）中换液浸泡2~3次，每次15 min左右。最后阳极依次浸入梯度乙醇溶液（30%，50,%，70%和100%）进行脱水处理，每个梯度浸泡15 min。完成上述预处理的阳极放入真空干燥箱内保存。用S-4800扫描电镜（SEM，日本HITACHI公司）观察产电菌在电极表面的形态。

# 实验结果

## 阳极PEDOT修饰

从图1可知，在0~0.1 V，氧化电流从 -2 mA增加到1 mA，在0.1~0.7 V，氧化电流基本没有变化，0.7~1.2 V区间氧化电流由1 mA迅速增加到12 mA左右，这表明PEDOT是在高电位下聚合而成的。在高电位，EDOT单体在高氯酸锂的氧化下形成阳离子自由基，然后自由基之间发生聚合形成短链，随着反应时间增加聚合链长度不断延长，最终形成PEDOT薄膜。图2是两种电极的SEM和EDS的表征结果。从SEM结果看，在500 nm的分辨率下，G电极表面比较平坦；PEDOT在电极表面总体呈片状，并带有一些颗粒状凸起（直径约200 nm）。EDS分析表明，未修饰的G电极只有C元素，而修饰后的PEDOT/G电极除了C元素以外还有O和S元素，这两种元素只能来自PEDOT分子，说明PEDOT已经聚合到石墨电极表面。

C:\Users\shuphil\Desktop\石墨块电极表面聚合PEDOT的CV图.tif

0.01 mol/L EDOT溶液，扫描速率10 mV/s，扫描范围0.0~1.2 V (vs. Ag/AgCl).

图1石墨阳极表面聚合PEDOT的循环伏安图  
Fig. 1 Cyclic voltammograms of PEDOT modification on graphite anode

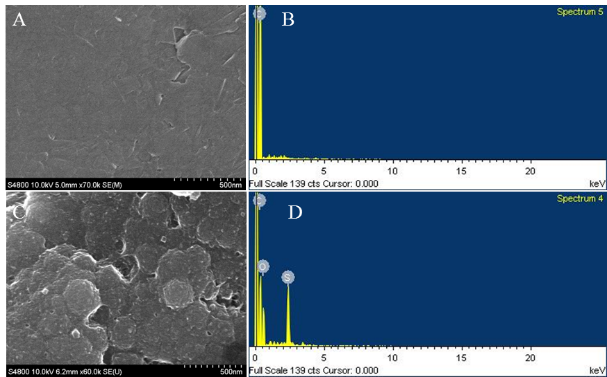


图2石墨阳极（A、B）和PEDOT修饰后阳极（C 、D）的SEM和EDS图  
Fig. 2 SEM and EDS images of pure graphite anodes (A and B) and PEDOT modified graphite anodes (C and D)

## MFC产电分析

MFC的产电曲线如图3所示，开始产生的电流不是产电菌产生的电流，而是阳极室、阴极室的离子强度不相等等因素造成的电流信号。由于加入的产电菌本身也是一类特殊的带电粒子，有一定的离子强度，但无法精确估计。因此，先不加乳酸钠，等电压信号基本归零（基线平稳）后，再用注射器将乳酸钠注入到阳极室。从图3可知，加入乳酸钠后MFC电流迅速上升（箭头所示为乳酸钠加入时间点）。在稳定期，以PEDOT/G为阳极的MFC的电流密度可以达到约173.6 mA/m2，是以G为阳极的（74.4 mA/m2）2.33倍。前期研究[11]表明，采用以G为阳极的H型MFC时，*Shewanella* sp. S2的电流密度可以达到66.1 mA/m2，本研究采用U型MFC，减少了阳极、阴极之间的距离从而减少了内阻，提高了产电，但提高幅度不大。而采用PEDOT修饰后，电流密度得到显著提高，说明PEDOT修饰是一种提高MFC产电的非常有效的方法。产电结束时乳酸钠已经消耗完毕，理论上产电量为289.5 C，利用Origin软件对产电曲线进行积分和换算，以G和PEDOT/G为阳极的MFC的产电量分别为33.8和98.6 C，则二者的库伦效率分别为11.7%和34.1%。

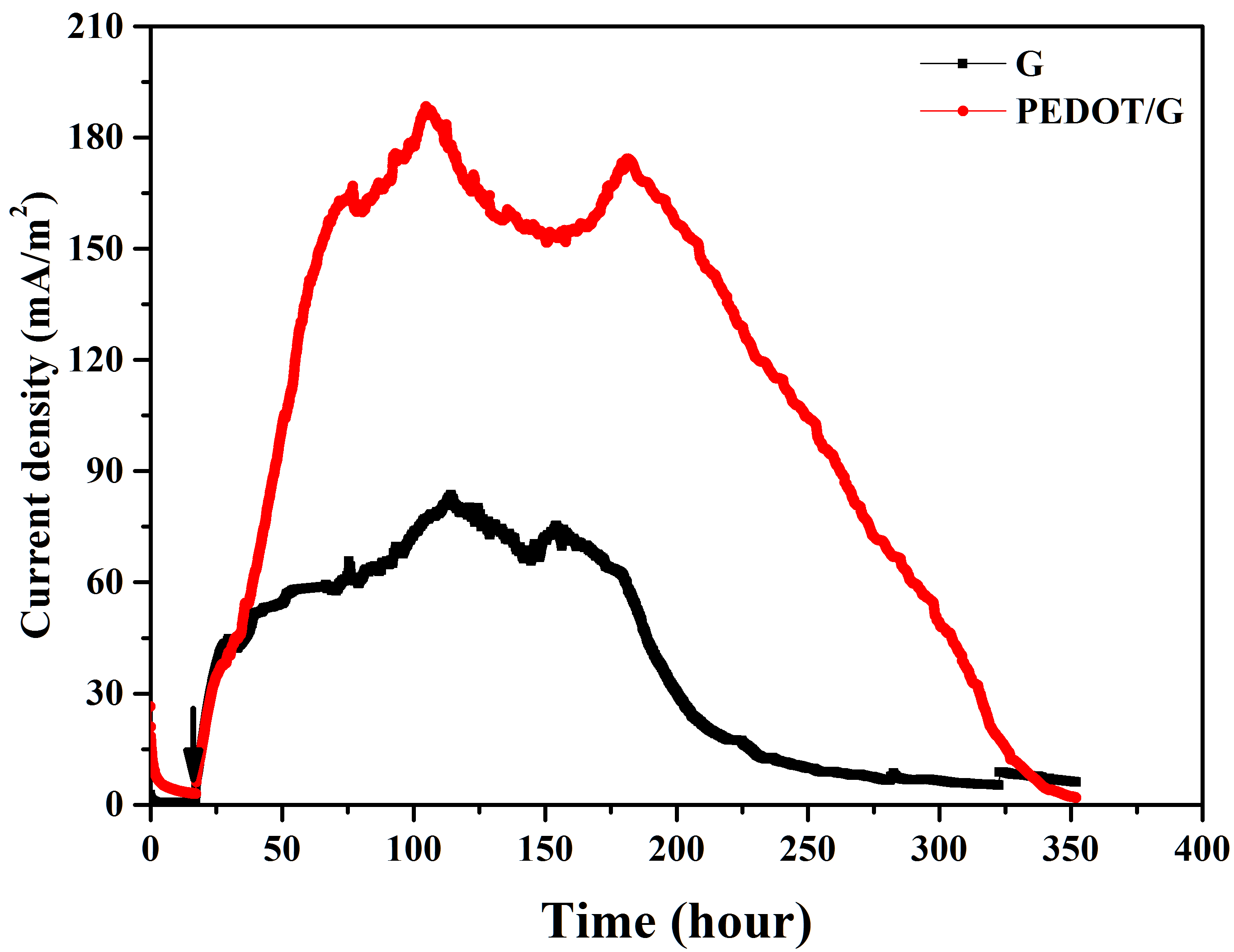


图3 PEDOT修饰石墨阳极对产电的影响  
Fig. 3 Effects of PEDOT modified anodes on MFC current production

## 极化曲线分析

当MFC运行一定时间后，产电曲线基本稳定，达到相对稳态，此时将MFC装置与电化学工作站相连接，进行线性伏安扫描测得MFC的极化曲线。再将极化曲线进行线性拟合，所得斜率的绝对值即为电池的表观内阻。如图4所示，黑色曲线为电池的极化曲线，蓝色为电池的功率密度曲线。通过线性拟合得到，以PEDOT/G为阳极的MFC的电池表观内阻为390 Ω，是以G为阳极的（471 Ω）83%。二者的最大功率密度分别为40和26 mW/m2。

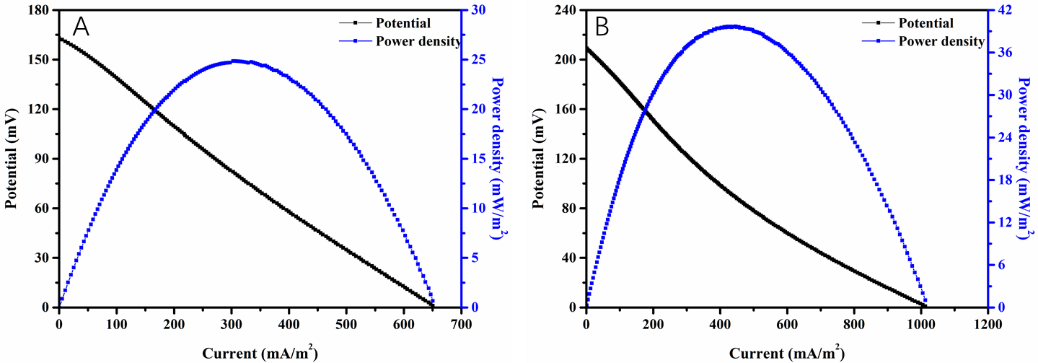
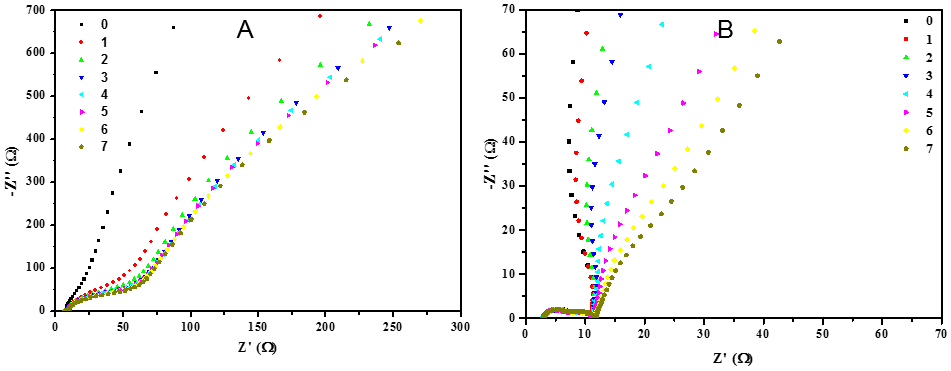


图4未修饰（A）和PEDOT修饰石墨阳极（B）的MFC产电和功率密度曲线  
Fig.4 Polarization and power density curves of unmodified (A) and PEDOT modified anode (B) of MFCs

## 电化学阻抗谱的比较

从图3可知，运行到第7天，两种MFC的产电都进入稳定期，因此，图5的EIS分析只记录前7天的数据。采用等效电路图*R*0(*R*1*C*1)(*R*2*C*2) 拟合图5的阻抗数据，得到两种MFC的阳极电阻和电容（图6）。结果表明，无论是PEDOT/G 电极还是G 电极，阳极内阻*R*1均随着MFC运行时间增加呈下降趋势。起始阶段，PEDOT/G和G 电极的*R*1分别约为8.1和19 kΩ；运行7 天后，阳极电阻分别降至0.135和2 kΩ左右。从图3可知，第0天生物膜还没有形成，第7天生物膜已经达到稳定值。EIS模拟结果表明，无论有或者没有形成生物膜，PEDOT修饰后的*R*1都小于未修饰的石墨阳极，但阳极电容*C*1则都大于未修饰的石墨阳极趋势。EIS的阻抗模拟结果表明，PEDOT修饰石墨电极能降低阳极电阻和增大电容。



A：G 阳极的MFC；B：PEDOT/G 的MFC.

图5 启动阶段两种MFC电化学阻抗Nyquist图

Fig. 5 Nyquist plots of EIS test during start-up stage

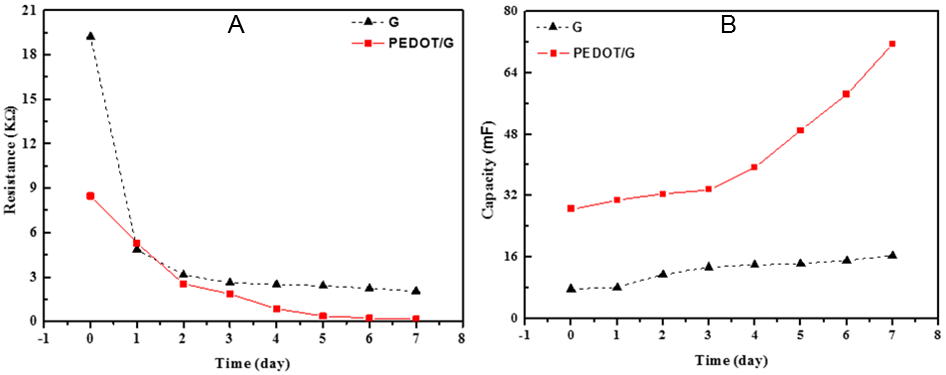


图6 两种 MFC启动阶段的阳极电阻*R*1（A）和*C*1电容（B）

Fig. 6 Resistance (A) and capacitance (B) of anodes obtained by EIS modeling during start-up stage

# 讨 论

原核生物的呼吸链在细胞膜上，其呼吸作用属于胞内电子传递。产电菌用的是胞外电子传递链，代谢产生的电子沿着呼吸链传递一段距离后，最终通过细胞表面的细胞色素C或纳米导线传递给电极。MFC的阳极是生物电极，阳极电位不仅与外膜上的氧化还原载体种类和数量有关，而且还和胞外电子传递路线、生物膜结构等很多因素有关[15]。 50 mmol/L铁氰化钾的氧化还原电位在0.2 V（vs. Ag/AgCl）左右，结合极化曲线图（图4），可知在本研究条件下阳极电势在0 V（vs. Ag/AgCl）左右。从图1可知，在0~0.6 V（vs. Ag/AgCl）范围内PEDOT没有氧化还原峰，说明PEDOT用于*Shewanella* sp. S2产电的电化学性质是稳定的。与陆地来源的产电菌或活性污泥一样，PEDOT能促进海洋产电菌*Shewanella* sp. S2产电（图3）。

关于PEDOT促进MFC产电机制，目前还缺乏详实的研究数据和结论。很多学者认为PEDOT促进电极表面形成高度立体结构，提高电极比表面积从而提高产电[7-9, 16]。因此，把PEDOT和聚苯胺等导电聚合物用作黏结剂，将氧化石墨烯等高导电物质黏结在电极表面以提高MFC产电[8, 10]。但本研究中，如图2所示，导电聚合物PEDOT在石墨基材表面比较平整，有一些直径200 nm左右的PEDOT凸起（表面粗糙度），并未形成明显的三维结构，而海洋产电菌*Shewanella* sp. S2为直径0.7 m、长1.5 m的杆菌，其宽度和长度远大于阳极表面的粗糙度，因此，可以排除PEDOT的三维立体结构作用，且粗糙度对单位电极表面产电菌的数量的影响几乎可以忽略不计。从图7可知，海洋产电菌*Shewanella* sp. S2没有完全覆盖2种电极，但PEDOT修饰电极表面的细菌密度明显高于未修饰的石墨电极。PEDOT是带正电的高分子聚合物，而细胞表面通常是带负电的，电荷的相互作用促进了更多产电菌在电极表面吸附。产电菌增加意味着阳极有更多的催化剂用于催化分解有机物，从而提高MFC产电。这说明MFC产电的提高主要是由于PEDOT本身的化学特性，而不是其空间几何形态。

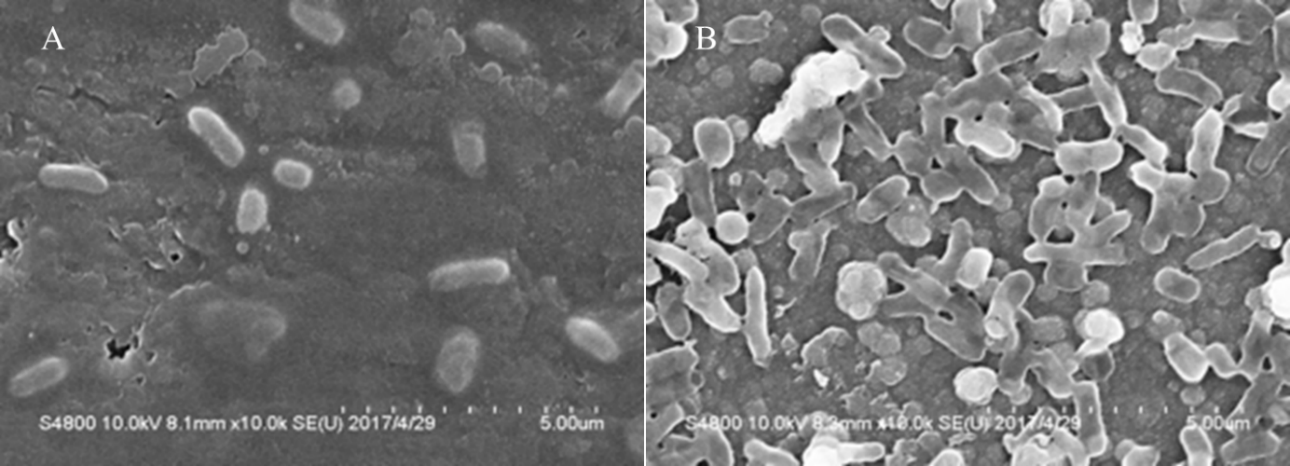


图7 未修饰（A）和PEDOT修饰（B）的石墨阳极吸附产电菌的SEM图  
Fig. 7 SEM images of exoelectrogenic cell adsorption on unmodified graphite anode (A) and PEDOT modified graphite anode (B)

# 结 论

本研究采用循环伏安法在石墨电极表面聚合PEDOT薄膜，制备的以PEDOT/G为阳极的MFC在稳定期的电流密度达到173.6 mA/m2，产电量为98.6 C，库伦效率为34.1%，最大功率密度为40 mW/m2，均比以G为阳极的MFC有明显提高，且PEDOT修饰石墨电极后，电池表观内阻、阳极的电阻均有所下降，而电容上升。SEM结果显示，PEDOT修饰电极表面的粗糙度远小于产电菌的尺寸，推测其MFC产电能力的提高主要是由于PEDOT与产电菌间的电荷相互作用，提高了修饰电极表面的产电菌吸附量。

# 参考文献

[1] LOGAN B E. Microbial fuel cells[M]. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, Inc., 2008:4-6.

[2] LOVLEY D R. Microbial fuel cells: novel microbial physiologies and engineering approaches[J]. Current Opinion in Biotechnology, 2006, 17(3): 327-332.

[3] FRAIWAN A, CALL D F, CHOI S. Bacterial growth and respiration in laminar flow microbial fuel cells[J]. Journal of Renewable and Sustainable Energy, 2014, 6(2): 023125.

[4] LOGAN B E. Scaling up microbial fuel cells and other bioelectrochemical systems[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2010, 85(6): 1665-1671.

[5] FOLEY J M, ROZENDAL R A, HERTLE C K, et al. Life cycle assessment of high-rate anaerobic treatment, microbial fuel cells, and microbial electrolysis cells[J]. Environmental Science & Technology, 2010, 44(9): 3629-3637.

[6] ATES M, KARAZEHIR T, SARAC S A. Conducting polymers and their applications[J]. Current Physical Chemistry, 2012, 2(3): 224-240.

[7] LIU X, WU W G, GU Z Z. Poly (3,4-ethylenedioxythiophene) promotes direct electron transfer at the interface between *Shewanella loihica* and the anode in a microbial fuel cell[J]. Journal of Power Sources, 2015, 277: 110-115.

[8] WANG Y, ZHAO C E, SUN D, et al. A graphene/poly(3,4-ethylenedioxythiophene) hybrid as an anode for high-performance microbial fuel cells[J]. ChemPlusChem, 2013, 78(8): 823-829.

[9] KANG Y L, IBRAHIM S, PICHIAH S. Synergetic effect of conductive polymer poly (3, 4-ethylenedioxythiophene) with different structural configuration of anode for microbial fuel cell application[J]. Bioresource Technology, 2015, 189: 364-369.

[10] YONG Y C, DONG X C, CHAN-PARK M B, et al. Macroporous and monolithic anode based on polyaniline hybridized three-dimensional graphene for high-performance microbial fuel cells[J]. Acs Nano, 2012, 6(3): 2394-2400.

[11] 王彪, 黄杰勋, 章晓波, 等. 一株海洋产电菌*Shewanella* sp. S2的筛选和产电分析[J]. 微生物学通报, 2010, 37(3):342-348.

[12] XU F, MOU Z, GENG J, et al. Azo dye decolorization by a halotolerant exoelectrogenic decolorizer isolated from marine sediment[J]. Chemosphere, 2016, 158: 30-36.

[13] PÉREZ-RODRÍGUEZ P, OVANDO-MEDINA V M, MARTÍNEZ-AMADOR S Y, et al. Bioanode of polyurethane/graphite/polypyrrole composite in microbial fuel cells[J]. Biotechnology and Bioprocess Engineering, 2016, 21(2): 305-313.

[14] Lu Z, Girguis P, Liang P, et al. Biological capacitance studies of anodes in microbial fuel cells using electrochemical impedance spectroscopy [J]. Bioprocess and Biosystems Engineering, 2015, 38(7): 1325-1333.

[15] BARON D, LABELLE E, COURSOLLE D, et al. Electrochemical measurement of electron transfer kinetics by *Shewanella oneidensis* MR-1[J]. Journal of Biological Chemistry, 2009, 284(42): 28865-28873.

[16] CYSEWSKA K, KARCZEWSKI J, JASIŃSKI P. Influence of electropolymerization conditions on the morphological and electrical properties of PEDOT film[J]. Electrochimica Acta, 2015, 176:156-161.

**Application of Poly 3,4-ethylenedioxythiophene in Marine Microbial Fuel Cells**

CHEN Zhanfei, ZHENG Zhi, SONG Yuning, LIU Hongdou, WANG Shan,

XU Fangcheng \*

(College of Chemistry and Chemical Engineering, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

**Abstract：**In this study, poly (3,4-ethylenedioxythiophene) (PEDOT) was used to modify the graphite anode and its effects on current generation of microbial fuel cells was evaluated with methods such as potentiostat, scanning electron microscope (SEM), energy disperse spectroscopy (EDS) and U-shaped microbial fuel cells (MFCs ). The results showed that PEDOT was electrochemically polymerized and covered mainly in sheet-like form with 200 nm-size dots on the anode surface. Polarization tests of the MFCs showed that, compared with the unmodified anode, apparent internal resistance was declined to 390 Ω from 471 Ω. Consequently, the current density at plateau stage was enhanced greatly (2.33 times), *i.e.*, 173.6 mA/m2 for PEDOT modified type vs. 74.4 mA/m2 for unmodified type. Analysis of SEM showed there was great more S2 cells adsorbed on the anode surface of the PEDOT modified type than that of unmodified. The overall results confirmed that it was mainly the property of PEDOT rather than the roughness improving marine MFC current production, because the roughness of both the modified and unmodified anode was much smaller than the size of S2 cells.

**Key words:** poly (3,4-ethylenedioxythiophene) (PEDOT); microbial fuel cells (MFCs); *Shewanella* sp. S2; marine exoelectrogens; conductive polymer

1. **收稿日期：**2017-08-10 **录用日期：**2017-12-01

   **基金项目：**国家自然科学基金（21273181）；中国大洋重点项目（DY135-B-04，DY125-15-T-08）；海洋地质国家重点实验室开放基金（MGK1207）；清华大学环境模拟与污染控制国家重点实验室开放基金（11K08ESPCT）

   **\* 通信作者：**fcxu@xmu.edu.cn [↑](#footnote-ref-1)