

УДК 579.088;158.54

Є.В. Кузьмінський, П.І. Гвоздяк, Н.Б.Голуб

Національний технічний університет України «КПІ»,
пр. Перемоги 37, 4 корпус, Київ, 03056, Україна;
тел/факс: 8 (044) 24 168 84,
e-mail: kuzminskiy@fbt.ntu-kpi.kiev.ua;
ecobio@i.com.ua, <http://www.ntu-kpi.kiev.ua/keb>

БІОПАЛИВНІ ЕЛЕМЕНТИ — ПРОБЛЕМИ І ПЕРСПЕКТИВИ РОЗВИТКУ II. МІКРОБНІ БІОПАЛИВНІ ЕЛЕМЕНТИ*

В оглядовій роботі здійснено аналіз стану, розглянуто проблеми та визначено перспективи розвитку біопаливних елементів — електрохімічних пристроїв, в яких за допомогою мікроорганізмів здійснюється пряме перетворення хімічної енергії різноманітних речовин (вуглеводів, жирів, білків та ін.) в електричну в результаті біохімічних трансформацій.

К л ю ч о в і с л о в а : мікробні біопаливні елементи, прокаріоти, еукаріоти, медіатори, ферменти, субстрати, анод, катод.

Мікробний біопаливний елемент — це пристрій, в якому здійснюється перетворення енергії хімічних зв'язків в електричну з використанням ферментів, що знаходяться в живому мікроорганізмі. Рушійна сила МПЕ (мікробний паливний елемент) — система окисно-відновних реакцій, що перебігають у живих клітинах.

В науковій літературі розглядається два базових типи МПЕ:

— опосередкований МПЕ — в цьому МПЕ первинне паливо, яке не є електрохімічно активним, за допомогою ферментних систем мікроорганізмів перетворюється в активні метаболіти, які й забезпечують електричний струм на аноді;

— прямий МПЕ — у цьому випадку мікроорганізми генерують електрони, які передаються на анод, чим і забезпечується електричний струм.

Такий поділ є досить умовним, оскільки мікроорганізми мають широкі метаболічні можливості, що дозволяє перебігати множині біохімічних перетворень одночасно. Прикладом МПЕ, який складно віднести до якогось певного типу, можуть бути так звані седиментні (донні) МПЕ. Інтерес до седиментних МПЕ обумовлений тим, що в донних відкладеннях морів, річок та інших водойм, за рахунок діяльності

* Першу частину огляду «Біопаливні елементи — проблеми і перспективи розвитку. I. Ферментні паливні елементи» дивись «Мікробіологія і біотехнологія» № 3, 2008; стор. 21.



анаеробної мікрофлори по розкладанню органічних речовин, що накопичуються, встановлюється негативний окисно-відновний потенціал середовища. При зануренні анода в таке середовище, а катода — у поверхневий шар води, що аерується і має позитивний потенціал, виникають умови для генерації електричного струму. Через екстенсивний характер процесу питома потужність такого МПЕ досить низька — порядку 0,01 Вт/м² електрода, але, з огляду на величезні обсяги донних відкладень, які американські дослідники [7,32] навіть називають «похованими скарбами», такий метод одержання електроенергії представляється перспективним, хоча і вимагає розробки ряду принципово нових технічних рішень.

Мета даної роботи — аналіз стану, розгляд і визначення проблем та перспектив розвитку новітнього напрямку технічної біоенергетики — біопаливних елементів (зокрема мікробних Біо-ПЕ) — пристроїв, в яких за допомогою мікроорганізмів здійснюється пряме перетворення хімічної енергії різноманітних речовин (вуглеводів, жирів, білків та ін.) в електричну в результаті біохімічних трансформацій.

1. Опосередковані МПЕ

Опосередковані МПЕ можуть бути виконані у двох конфігураціях:

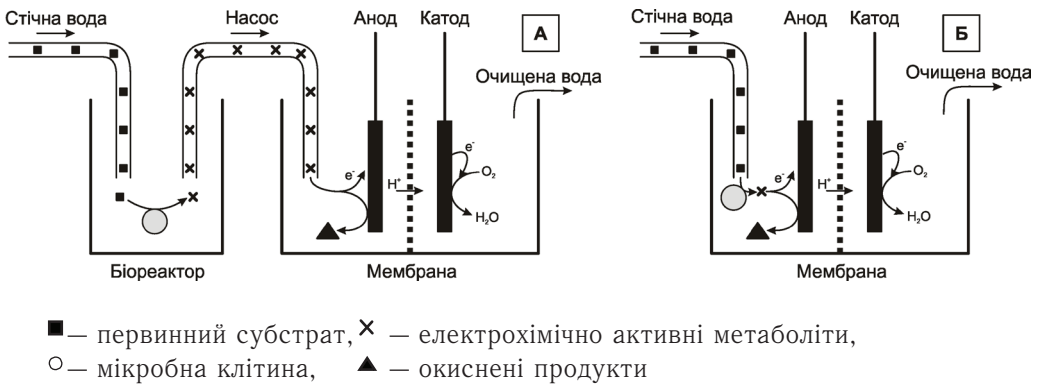


Рис.1. Схематичне зображення конфігурацій опосередкованого МПЕ:

А — опосередкований МПЕ з відділеним мікробним біореактором;

Б — опосередкований МПЕ з інтегрованим біореактором

Fig. 1. Schemetic picture of MFE configurations;

A — MFE with the separated microbial bioreactor; B — MFE with the integrated bioreactor

— опосередкований МПЕ з відокремленим мікробним біореактором — у цьому випадку паливо і мікроорганізми відділені від анодної зони електрохімічної комірки (рис.1, А). Ця конфігурація часто використовується при біологічному напрацюванні газоподібного водню для його послідуного електрохімічного окиснення в хімічному паливному елементі. У ролі палива в системах цього типу також можуть застосовуватися й інші метаболічні продукти (наприклад, форміат чи сірководень);

— опосередкований МПЕ з інтегрованим біореактором — без відділення палива і мікроорганізмів від анодної зони електрохімічної комірки (рис.1, Б). У цьому випадку процес мікробної ферментації відбувається безпосередньо в анодному відділенні паливної комірки. Робочі умови в анодному просторі диктує біологічна система, тому вони значно відрізняються від тих, що мають місце у звичайних

хімічних паливних елементах. У цьому випадку ми маємо дійсно мікробний біо-паливний елемент, а не просто комбінацію біореактора з паливним елементом.

Важливим для нашої проблематики є відомий факт, що різні бактерії та морські водорості, наприклад, *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Clostridium butyricum*, *Clostridium acetobutylicum*, *Clostridium perfringens* здатні виділяти водень за анаеробних умов [2,25]. Найефективніший процес виробництва водню був зафіксований при ферментації глюкози *Clostridium butyricum* (штам IFO: 3847 ммоль H_2 на годину в присутності 1г мікроорганізмів, при 37 °C) [5]. Треба відмітити, що іммобілізація бактерій також має велике значення, тому що стабілізує відносно нестійку гідрогеназну систему. Для стабілізації біокаталітичного процесу бактерії вводять у полімерні матриці, наприклад, поліакриламід [35], агаровий гель [18,34] та фільтрувальний папір [36], ефективним також може виявитися електроутримання [1]. Іммобілізовані мікробні клітини безперервно виробляли H_2 в анаеробних умовах протягом тижнів, тоді як не іммобілізовані клітини були повністю дезактивовані швидше, ніж за два дні [18]. Наприклад, воднево—кисневий хімічний паливний елемент (анод у вигляді сітки з платинової черні, а катод — сітка з паладійової черні, які розділені нейлоновим фільтром) був сполучений з біореактором, який виробляв водень [18,34]. Отриманий у такий спосіб H_2 збирали і транспортували до анодного відділення паливного елемента, де газ використовували у якості палива. Струм та напруга на виході залежали від швидкості продукування водню у біореакторі, і при потоці H_2 зі швидкістю 40 мл/хвилину було отримано напругу відкритого ланцюга 0,95 В з густиною струму 40 мА /см² [34].

Таблиця 1 містить інформацію про характеристики МПЕ, що використовують природні продукти мікробної ферментації (наприклад, H_2 , H_2S), у якості струмотворювальних речовин.

Таблиця 1

Приклади МПЕ, що використовують продукти мікробного метаболізму для окиснення на аноді ^a

Table 1

Examples of MFE used microbial metabolism products for anodic oxidation

Мікроорганізм	Поживний субстрат	Продукт ферментації	Напруга на МПЕ	Густина струму, МПЕ	Анод МПЕ ^a	Джерело
<i>Clostridium butyricum</i>	Стічні води	H_2	0,62 В (при 1 Вт)	0,8 А (при 2,2 Вт)	Ni, покритий Pt, 165 см ² (5 анодів)	[18]
<i>Clostridium butyricum</i>	Меляса	H_2	0,66 В (при 1 Вт)	40 мА/см ² (при 1 Вт)	Ni, покритий Pt, 85 см ²	[34]
<i>Clostridium butyricum</i>	Лактат	H_2	0,6 В ^b	120 мкА/см ² ^c	Pt чернь, 50 см ²	[15]
<i>Enterobacter aerogenes</i>	Глюкоза	H_2	1,04 В ^c	60 мкА/см ² ^d	сталь, покрита Pt, 25 см ²	[39]
<i>Desulfovibrio desulfuricans</i>	Декстро-за	H_2S	2,8 В ^c	1 А	Графіт, активований Co(OH) ₂ (3 аноди)	[10,13]

Примітки: ^a У більшості досліджень анод МПЕ був об'єднаний з O_2 -катодом.

^b Площа поверхні анода дається як геометрична (видима) поверхня.

^c Вимірювання з розімкнутим електричним ланцюгом МПЕ.

^d Вимірювання з замкнутим електричним ланцюгом МПЕ.



2. Прямі мікробні біопаливні елементи

Цей тип МПЕ імітує біологічну систему, з тою лише різницею, що мікроорганізми транспортують утворені ними в результаті катаболізму потоки електронів не на свої природні кінцеві акцептори, а на анод, з якого через систему зняття потужності вони кінець кінцем попадають на катод:

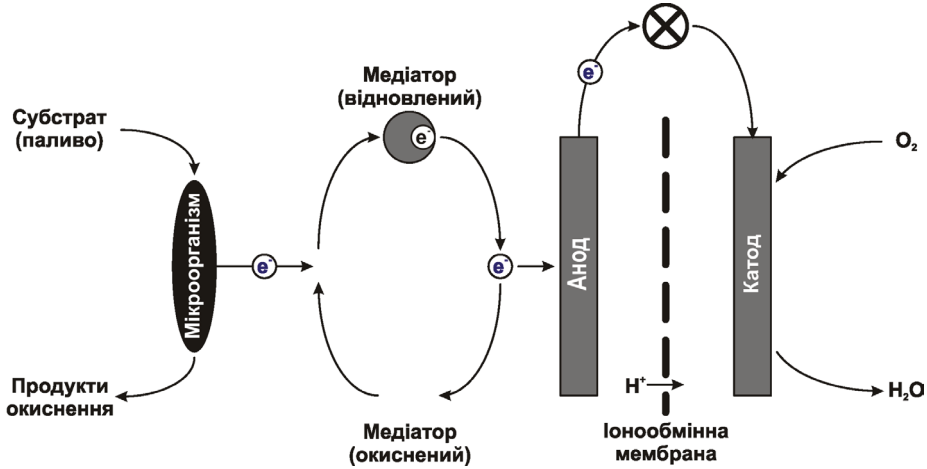


Рис. 2. Схематичне зображення прямого МПЕ

Fig. 2. Schematic picture of direct MFE

У такий спосіб хімічна енергія, що міститься в субстраті (паливі), за допомогою каталітичних систем мікроорганізмів перетворюється в електричну.

Перенесення електронів від внутрішньоклітинних відновників до електрода в прямому МПЕ може здійснюватися наступними шляхами:

- за допомогою штучних чи природних медіаторів електронного переносу;
- за участю цитохромів, розміщених у зовнішній мембрані мікроорганізму;
- за допомогою електропровідних пілій — «нано-проводів — nanowires» (рис. 6);
- за іншими, ще не з'ясованими, механізмами.

Отже, в МПЕ розглядається декілька механізмів електронного переносу, виходячи з яких прямі МПЕ можна умовно розділити на наступні типи:

- прямий медіаторний — МПЕ функціонує тільки за використання штучного медіатора електронного переносу;
- безмедіаторний — МПЕ не потребує обов'язкового використання штучного медіатора електронного переносу.

2.1. Прямі медіаторні МПЕ

Відновники, що утворюються в метаболічних процесах у мікробних клітинах, ізольовані від навколишнього середовища мікробною мембраною. Тому контакт мікробних клітин з електродом звичайно пов'язаний з перенесенням електрона через клітинну мембрану [3]. Це завдання може вирішуватися за допомогою медіаторів, які, входячи в клітину, окиснюють клітинні кофактори, наприклад, НАДН. Виходячи із клітини, медіатори переносять заряд на електрод, при цьому НАД⁺ залишається всередині клітини.

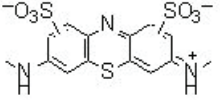
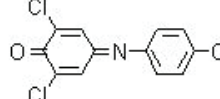
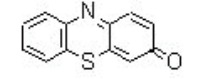
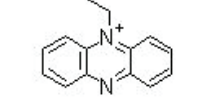
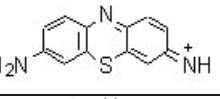
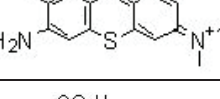
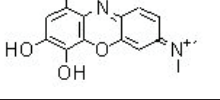
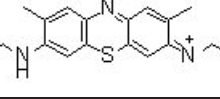
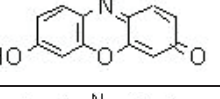
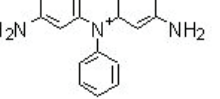
З наукової літератури відомі різні види медіаторів, а найбільш уживані в МПЕ наведено в табл.2.

Таблиця 2

Стандартні окисно-відновні потенціали E° (відносно нормального водневого електрода) медіаторів електронного переносу в МПЕ та швидкість їх відновлення мікробними клітинами [33]

Table 2

Standart oxidative renewed potential E° of electronic mediators transformation (relatively to normal hydrogen electrode) and rate of their renovation by microbial cells [33]

Медіатор	Структурна формула	E° , В	Швидкість відновлення ^b , мкмоль ⁻¹ с ⁻¹
<i>N,N</i> -диметил-дисульфонат тіонін		+0,220	0,33
2,6-дихлорфенол-індофенол		+0,217	0,41
Фенотіазинон		+0,130	1,43
Феназин етосульфат		+0,065	8,57
Тіонін		+0,064	7,10
Синій толуїдин-О		+0,034	1,47
Галоцианін		+0,021	0,53
Новий метиленовий синій		-0,021	0,20
Резорфін		-0,051	0,61
Сафранін-О		-0,289	0,07

^a E° при рН 7.0

^b Відновлення барвника за допомогою *Proteus vulgaris* при 30°C, 50 мкмоль барвника та 0,10-0,15 мг (суха маса мікробних клітин) /мл; субстрат — глюкоза.



Так, тіонін забезпечує електронний перенос від *Proteus vulgaris* [6,20] і *E.coli* [15,18]. Інші органічні барвники, перевірені на предмет участі в електронному транспорті, включають бензилвіологен, 2,6-дихлорофенол-індофенол, 2-гідрокси-1,4-нафтохінон, феназини (феназин етосульфат, сафранін), фенотіазин (алізарин діамантовий синій, *N, N*-диметил-дисульфонат тіонін, метиленовий синій, фенотіазин, синій толуїдин-О), і феноксазини (діамантовий крезоловий синій, галоціанін, резорфін) [12,16,23,33]. Для більшості мікроорганізмів, серед досліджених барвників, феноксазин, фенотіазин, феназин, індофенол, біпіридилні похідні, тіонін і 2-гідрокси-1,4-нафтохінон виявилися найбільш ефективними щодо підтримки високого рівня напруги МПЕ [12]. Також встановлено, що хелатні комплекси заліза (наприклад, Fe (III) – етилендіамінтетраацетат – ЕДТА) успішно переносять електрони в системі з *Lactobacillus plantarum*, *Streptococcus lactis* і *Erwinia dissolvens* [41]. У свою чергу, моно- і дисульфовані похідні тіоніну застосовуються для визначення впливу гідрофільних замісників на ефективність медіаторного електронного переносу від *E. coli* до анода [26]. Заміщення тіоніну до 2-сульфованого та 2,6-дисульфованого тіоніну призводить до збільшення ефективності медіаторного електронного переносу, що відображається у рості величини електричного струму МПЕ.

Слід також зазначити, що вибір медіатора є досить непростим завданням, яке вимагає серйозних наукових досліджень, що зв'язано зі специфічністю взаємодії медіатора і бактеріальної клітини. Деякі медіатори, що добре проявили себе для одного виду мікроорганізмів, можуть бути неприйнятними, наприклад, через токсичність, для інших видів. У випадку використання в МПЕ асоціації мікроорганізмів доцільним може бути застосування низки спеціально підібраних медіаторів. Проте, виходячи із виконаного нами аналізу, можна висунути ряд загальних вимог, яким повинен відповідати обраний для прямого МПЕ медіатор:

- бути електрохімічно активним в анодному просторі МПЕ;
- окиснювально-відновний потенціал медіатора має бути достатньо позитивним для забезпечення швидкого електронного переносу від метаболіту, і при цьому не повинен бути занадто позитивним, щоб запобігти істотному зниженню електрорушійної сили (ЕРС);
- мати достатню проникність через клітинну мембрану як в окисненому, так і у відновленому стані;
- бути резистентним до руйнівної дії ферментних систем мікроорганізму та не бути токсичним для самого мікроорганізму;
- демонструвати стабільність протягом тривалого часу експлуатації;
- не повинен адсорбуватися на бактеріальних клітинах або на поверхні електрода.

Оскільки медіатор електронного переносу повинен відповідати низці вимог, деякі з яких є взаємовиключними, неможливо досягти ідеальних умов для здійснення електронного переносу з бактеріальної клітини на електрод. За таких умов перевагу може мати сумісне використання двох (і більше) медіаторів для підвищення ефективності переносу електронів. Розчин, що містить тіонін і комплекс Fe (III)-ЕДТА як медіатори електронного переносу, був застосований для забезпечення електронного переносу від *Escherichia coli* до анода, за використання глюкози як первинного субстрату [38]. Хоча обидва медіатори можуть бути відновлені за допомогою *E. coli*, тіонін відновлюється більш ніж в 100 разів швидше, ніж Fe (III)-ЕДТА. Однак електрохімічне окиснення відновленого тіоніну перебігає набагато повільніше, ніж окиснення Fe (II)-ЕДТА. Тому електрони, отримані при



окисненні глюкози в присутності *E. coli*, переносяться головним чином на тіонін. Відновлений тіонін швидко окиснюється за допомогою Fe (III)-ЕДТА, причому, як було показано [38], швидкість даного процесу дуже велика. Нарешті, відновлений хелатний комплекс Fe (II)-ЕДТА переносить електрони до анода за допомогою електродної реакції Fe (III)-ЕДТА / Fe (II)-ЕДТА з досить великою константою швидкості ($k = 1,5 \cdot 10^{-2} \text{ см} \cdot \text{с}^{-1}$).

Існують різні схеми взаємодії медіатора, мікроорганізму і анода. Перша — це коли медіатор ковалентно зв'язаний з анодною поверхнею, а клітини можуть вільно переміщуватися поблизу анода (Рис. 3).

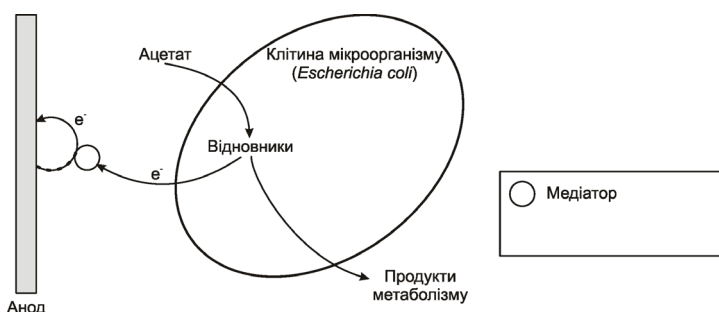


Рис. 3. Схема взаємодії мікробних клітин з медіатором — медіатор ковалентно зв'язаний з анодною поверхнею, а клітини вільно переміщуються поблизу анода

Fig. 3. Scheme of microbial cells and mediator interaction: the mediator is covalently connected with anodic surface, cells are moving easily nearby anode

Так, наприклад, щоб такий органічний барвник як нейтральний червоний став ефективним дифузійним медіатором електронного переносу від *E. coli*, його ковалентно «пришивали» до поверхні графітового електрода за допомогою амідного зв'язку між карбоксильною групою на поверхні електрода і аміногрупою барвника [29,30]. Потім модифікований у такий спосіб медіатором електрод використовувався як анод у присутності *E. coli*, при цьому медіатор забезпечував електронний перенос від мікробних клітин до провідної підкладки в анаеробних умовах.

Згідно другої схеми, медіатор перебуває між анодом і ковалентно зв'язаними з поверхнею електрода клітинами мікроорганізму (Рис.4).

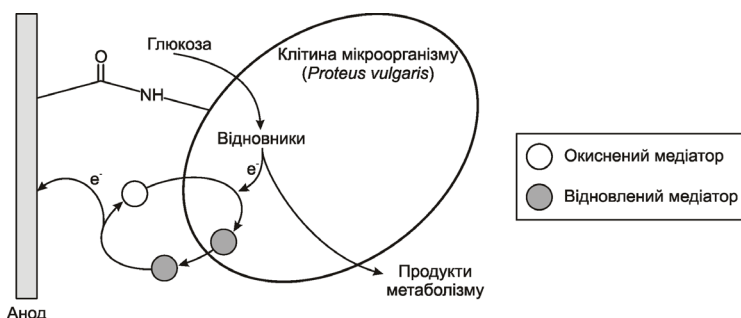


Рис.4. Схема взаємодії мікробних клітин з медіатором — медіатор знаходиться між анодом і клітинами мікроорганізму, які ковалентно зв'язані з поверхнею електрода

Fig. 4. Scheme of microbial cells and mediator interaction: the mediator is situated between anode and microorganism cells, connected covalently with electrode surface

Так, у роботі [41] мікробні клітини *Proteus vulgaris* ковалентно зв'язували з окисненою поверхнею вуглецевого електрода за допомогою амідного зв'язку між карбоксильними групами на поверхні електрода і аміногрупами мікробної мембрани. Електрод, модифікований прикріпленими мікроорганізмами, застосовувався як анод прямого МПЕ за використання глюкози в ролі первинного субстрату і тіоніну у якості дифузійного медіатора електронного переносу. Модифікований бактеріями анод продемонстрував більш високі значення струму і кращу стабільність у порівнянні із системою, до складу якої входили ті ж компоненти, але з не іммобілізованими клітинами.

За третьою схемою медіатор адсорбовано на клітинах іммобілізованого мікроорганізму.

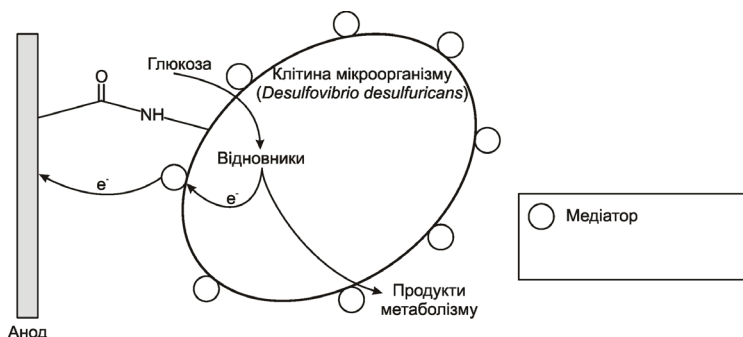


Рис.5. Схема взаємодії мікробних клітин з медіатором: медіатор адсорбовано на клітинах мікроорганізму

Fig. 5. Scheme of microbial cells and mediator interaction: the mediator is adsorbed on microorganism cells

У цьому випадку медіатор здійснює електронний транспорт із клітин до анода в результаті їхнього безпосереднього контакту. У роботі [28] досліджувався такий прямий МПЕ, в якому використовувалися клітини *Desulfovibrio desulfuricans* з адсорбованим на поверхні полімерним похідним віологену і тетраціанохінондиметану (TCNQ).

У таблиці 3 наведено характеристики деяких медіаторних МПЕ, описаних у наукових публікаціях.

2.2. Прямі безмедіаторні МПЕ

Щодо іншого типу так званих безмедіаторних прямих МПЕ, то в них використовуються такі металвідновлюючі бактерії як *Geobacter sulfurreducens* чи *Shewanella putrefaciens*, які містять специфічні цитохроми зовні цитоплазматичної мембрани [27]. Ці електронні переносники здатні генерувати анодний струм у відсутності кінцевих акцепторів електронів в анаеробних умовах [7,8,17- 19]. Дані бактерії, як правило, знаходяться у відкладеннях, де вони використовують нерозчинні акцептори електронів — такі як Fe (III) та Mn (IV). Окрім уже названих, до металвідновлюючих мікроорганізмів, які застосовуються у МПЕ, відносяться такі як *Geobacter metallireducens* та *Desulfuromonas acetoxidans* [7], *Rhodoferrax ferrireducens* [9].

Таблиця 3

Характеристики деяких МПЕ, які використовують штучні медіатори електронного переносу*

Table 3

Characteristics of some MFE used artificial electronic mediators of transformation

Мікроорганізм	Поживний субстрат	Медіатор	Напруга	Струм (густина струму)	Анод ¹	Джерело
<i>Pseudomonas methanica</i>	CH ₄	1-нафтол-2-сульфонат індо-2,6-дихлорфенол	0,5–0,6В ²	2,8 мкА/см ² (при 0,35 В)	Pt грубодисперсна 12,6 см ²	[37]
<i>Escherichia coli</i>	Глюкоза	Метиленовий синій	0,625 В ^c	-	Pt, 390 см ²	[11]
<i>Proteus vulgaris</i> <i>Bacillus subtilis</i> <i>Escherichia coli</i>	Глюкоза	Тіонін	0,64 В ^c	0,8 мА (при 560 Вт)	Пористий вуглець, 800 см ²	[12]
<i>Proteus vulgaris</i>	Глюкоза	Тіонін	350 мВ (при 100 Вт) ³	3,5 мА (при 100 Вт)	Пористий вуглець, 800 см ²	[21]
<i>Proteus vulgaris</i>	Сахароза	тіонін	350 мВ (при 100 Вт) ^d	3,5 мА (при 100 Вт)	Графіт	[6]
<i>Escherichia coli</i>	Глюкоза	тіонін	390 мВ (при 560 Вт) ^d	0,7 мА (при 560 Вт)	-	[26]
<i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Streptococcus lactis</i>	Глюкоза	Fe (III)-ЕДТА	0,2 В ^c	90 мкА (при 560 Вт) ^d	-	[41]
<i>Erwinia dissolvens</i>	Глюкоза	Fe (III)-ЕДТА	0,5 В ^c	0,7 мА (при 560 Вт) ^d	-	[41]
<i>Proteus vulgaris</i>	Глюкоза	2-гідрокси-1,4-нафтахінон	0,75 В ^c	0,45 мА (при 1 кОм)	Графітова повсть, 1 г (0,47 м ² г ⁻¹)	[28]
<i>Escherichia coli</i>	Ацетат	Нейтральний червоний	0,25 В ^c	1,4 мкА/см ² ⁴	Графіт, 100 см ²	[30]
<i>Escherichia coli</i>	Глюкоза	Нейтральний червоний	0,85 В ^c	17,7 мкА/см ² ^e	Графітова повсть, 12 г (0,47 м ² г ⁻¹)	[30]
<i>Escherichia coli</i>	Глюкоза	2-гідрокси-1,4-нафтахінон	0,53 В (при 10 кОм)	0,18 мА/см ² ^e	Скловуглець, 12,5 см ²	[33]

Примітка:

* У більшості досліджень анод МПЕ був об'єднаний з O₂-катодом.¹ Площа поверхні анода дається як геометрична (видима) поверхня.² Вимірювання з розімкнутим електричним ланцюгом МПЕ.³ Значення, розраховане на підставі інших даних за використання закону Ома.

Rhodofera ferrireducens, специфічно виділений із анаеробних відкладень, здатен до ефективної передачі електрона до графітового електрода, використовуючи глюкозу у якості єдиного джерела вуглецю [9]. Ця бактерія є першим з описаних штамів, який здатен повністю метаболізувати глюкозу до вуглекислого газу, супроводжуючи це генерацією електричного струму із ефективністю 90 %.

Слід також відзначити, що прямі МПЕ, які використовують змішані металвідновлюючі бактеріальні культури, мають наступні важливі переваги перед тими, що використовують чисті анаеробні культури:

- більша стійкість до зміни умов роботи;
- високий рівень споживання субстрату;
- велике різноманіття субстратів, які можуть споживатися;
- висока питома потужність.

У табл. 4 наведені характеристики роботи деяких МПЕ на чистих і змішаних культурах, які працюють без додавання медіаторів.

Таблиця 4

Характеристики деяких МПЕ, які працюють без додавання штучних медіаторів електронного переносу

Table 4

Characteristics of some MFE working without any artificial mediators of electronic transformation

Мікроорганізм	Субстрат	Матеріал анода	Струм (мА)	Питома потужність (мВт/м ²)	Джерело
<i>Shewanella putrefaciens</i>	лактат	графітова тканина	0,031	0,19	[21]
<i>Geobacter sulfurreducens</i>	ацетат	графіт	0,40	13	[8]
<i>Rhodofera ferrireducens</i>	глюкоза	графіт	0,2	8	[9]
<i>Rhodofera ferrireducens</i>	глюкоза	графітова тканина	0,57	17,4	[9]
<i>Rhodofera ferrireducens</i>	глюкоза	пористий графіт	74	33	[9]
Змішана культура з морської води	ацетат	графіт	0,23	10	[40]
Змішана культура з морської води	сульфід / ацетат	графіт	60	32	[40]
Змішана культура з активного мулу	ацетат	графіт	5	-	[24]
Змішана культура з активного мулу	глюкоза	графіт	30	3600	[31]
Змішана культура з активного мулу	стоки	графітова тканина	0,2	8	[22]

¹ Вимірювання з замкнутим електричним ланцюгом МПЕ.



При передачі електронів металвідновлюючими бактеріями на малорозчинні мінерали можуть використовуватися не тільки мембранні цитохроми і медіатори електронного переносу. Так, наприклад, останнім часом дослідниками було зафіксовано утворення деякими мікроорганізмами електропровідних пілій — так званих «нано-проводів» (nanowires) [42]. Мікроорганізми *Shewanella oneidensis* культивували у хемостаті в анаеробних умовах при слабкому перемішуванні (50 обертів за хвилину). При цьому спостерігалось утворення пілійподібних відростків діаметром 50 — 150 нм та довжиною у декілька десятків мікрон. Також була доведена можливість утворення «нано-проводів» іншими мікроорганізмами [14]. На рис. 6 наведена фотографія «нано-проводів», утворених між *P. thermopropionicum* та *M. thermoautotrophicus*, яка була зроблена за допомогою скануючого електронного мікроскопа.

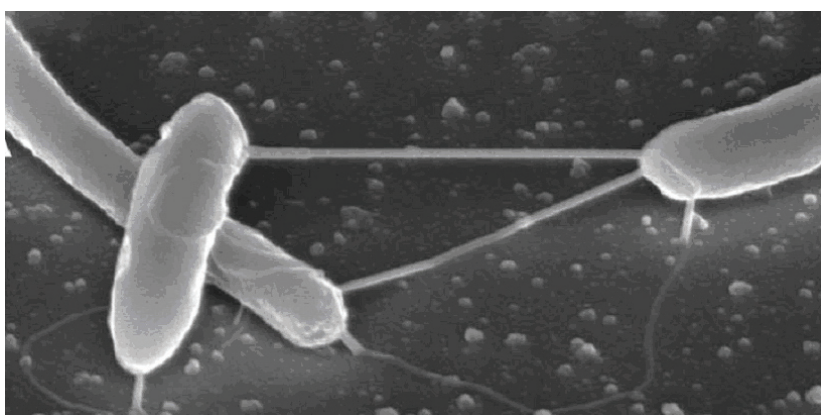


Рис.6. Фотографія «нано-проводів», утворених між мікроорганізмами *P. thermopropionicum* та *M. thermoautotrophicus* (зроблена за допомогою скануючого електронного мікроскопа) [14]

Fig. 6. Photo of “nanowires” created between *P. thermopropionicum* and *M. thermoautotrophicus*, microorganisms (made with the help) of scanning electronic microscope [14]

І, нарешті, проаналізувавши наявну в наукових джерелах інформацію щодо стану розробки різних типів Біо-ПЕ, можна запропонувати наступну класифікацію біопаливних елементів (рис.7).

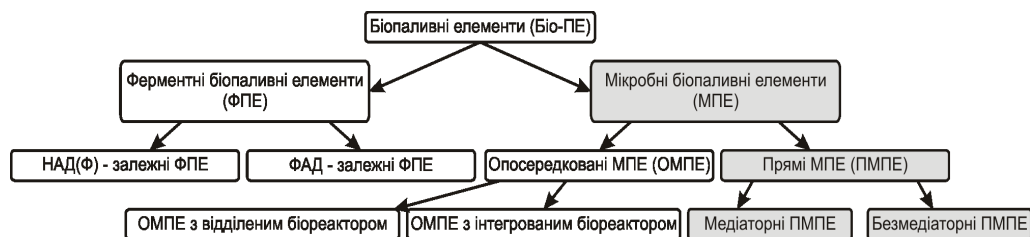


Рис.7. Класифікація біопаливних елементів

Fig. 7. Classification of biofuel elements



3. Висновки

Мікробний біопаливний елемент імітує біологічну систему, з тою лише різницею, що мікроорганізми транспортують утворені ними в результаті катаболізму потоки електронів не на свої природні кінцеві акцептори, а на анод, з якого через систему зняття потужності вони кінець кінцем попадають на катод. Оптимальним катодом є кисневий електрод, оскільки кисень — доступний окисник, має високий окисно-відновний потенціал, використовує протони та продукує екологічно чистий продукт — воду. Проте, слід зазначити, що застосування кисню на електродах є складним завданням та вимагає дорогих каталізаторів.

Існує два базових типи МПЕ — опосередкований і прямий — у цьому випадку мікроорганізми генерують електрони, які безпосередньо передаються на анод, чим і забезпечується електричний струм. Прямі МПЕ, в яких застосовують змішані металвідновлюючі бактеріальні культури, мають важливі переваги перед тими, в яких використовують чисті анаеробні культури — більшу стійкість до зміни умов роботи; високий рівень і велике різноманіття субстратів, які можуть споживатися; високу питому потужність. В свою чергу, прямі МПЕ можна умовно розділити на безмедіаторні — МПЕ не потребує обов'язкового використання штучного медіатора електронного переносу та прямі медіаторні — МПЕ функціонує тільки за використання штучного медіатора електронного переносу. Обраний для прямого МПЕ медіатор — бути електрохімічно активним в анодному просторі МПЕ; окиснювально-відновний потенціал медіатора має відповідати потенціалу метаболіту — відновника; мати достатню проникність через клітинну мембрану як в окисненому, так і у відновленому станах; бути резистентним до руйнівної дії ферментних систем мікроорганізму та не бути токсичним для самого мікроорганізму; демонструвати стабільність протягом тривалого часу експлуатації; не повинен адсорбуватися на бактеріальних клітинах або поверхні електрода.

Мікробні біопаливні елементи характеризуються відносно простими технологіями отримання клітин мікроорганізмів (відсутня необхідність примусового оновлення біокаталізатора), високим рівнем саморегуляції при зміні складу середовища та доступністю конструктивних рішень. На відміну від чистих ферментів цілі мікроорганізми у МПЕ здатні до саморегуляції, тому можуть застосовуватися до субстратів змінного складу та багатокомпонентних середовищ (наприклад, стоків) і самостійно коригувати інгібування ферментів. На нашу думку, саме можливість застосування МПЕ для очищення стоків з одночасною генерацією електричного струму та простота конструкції надає їм певні переваги у порівнянні з ферментними паливними елементами.

Стічні води, що мають у своєму складі забруднення органічного походження, є найбільш привабливим об'єктом для впровадження прямих МПЕ, бо окупність останніх буде визначатись не тільки отриманою електроенергією, а й витратами на очищення стічної води. Найбільш перспективними в цьому контексті є МПЕ на основі гетеротрофних, фотогетеротрофних і так званих седиментних мікроорганізмів; при цьому МПЕ можуть бути реалізовані як з використанням медіаторів, так і без них. Водночас варто мати на увазі, що вона є багатокомпонентною та змінною в часі системою, склад якої не завжди можна змодельовати та передбачити.



ЛІТЕРАТУРА

1. Гвоздяк П. И. Исследование микробной деструкции синтетических азотсодержащих веществ и электроудерживание микроорганизмов в связи с очисткой воды // автореферат докт. дис. 14.03.76/ Інститут мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАНУ, Київ-1976.-34. с.
2. Akiba T., Bennetto H. P., Stirling J. L., Tanaka K. Electricity production from alkalophilic organisms. // *Biotechnol. Lett.* — 1987. — v.9. — N 9. — P. 611–616.
3. Allen M. J. Biofuel Cells in “Methods in Microbiology”(eds Norris J. R., Ribbon D. W.), Academic Press, New York, 1972.-P. 247-283.
4. Allen R. M., Bennetto H. P. Microbial fuel cells — Electricity production from carbohydrates. // *Appl. Biochem. Biotechnol.* — 1993. — N 39/40. — P. 27–40.
5. Bennetto H. P., Stirling J. L., Tanaka K., Vega C. A. Anodic reaction in microbial fuel cells. // *Biotechnol. Bioeng.* — 1983. — N 25. — P. 559–568.
6. Bennetto H. P., Delaney G. M., Mason J. R., Roller S. D., Stirling J. L., Thurston C. F. The sucrose fuel cell: efficient biomass conversion using a microbial catalyst. // *Biotechnol. Lett.* — 1985. — v. A. — N 7. — P. 699–705.
7. Bond D. R., Holmes D. E., Tender L. M. and Lovley D. R. Electrode-reducing microorganisms that harvest energy from marine sediments // *Science*.-2002.-v.295(5554).- P.483-485.
8. Bond, D. R. and Lovley, D. R. Electricity production by *Geobacter sulfurreducens* attached to electrodes. // *Appl. Environ. Microbiol.* — 2003. — v.69.— N 3. — P. 1548–1555.
9. Chaudhuri, S. K. and Lovley, D. R. Electricity generation by direct oxidation of glucose in mediator-less microbial fuel cells. // *Nat. Biotechnol.* — 2003. — v.21.— P. 1229–1232.
10. Cooney M. J., Roschi E., Marison I. W., Comniellis C., von Stockar U. Physiologic studies with the sulfate-reducing bacterium *Desulfovibrio desulfuricans*: evaluation for use in a biofuel cell// *Enzyme Microbial. Technol.*-1996.-v. 18.-N 2.-P. 358-365.
11. Davis J. B., Yarbrough H. F. Preliminary experiments on a microbial fuel cell// *Science*.-1962.-v. 137.-P. 615-616.
12. Delaney G. M., Bennetto H. P., Mason J. R., Roller S. D., Stirling J. L., Thurston C. F. Electron transfer coupling in microbial fuel cells: 2. Performance of fuel cells containing selected microorganism-mediator-substrate combination// *J. Chem. Technol. Biotechnol. B*.-v. 34.-P. 13-27.
13. Habermann W., Pommer E. H. Biological fuel cells with sulphide storage capacity // *Appl. Microbiol. Biotechnol.*.-1991.-v. 35.-N1.- 128-133.
14. Ishii S., Kosaka T., Hori K., Hotta Y. & Watanabe K. Coaggregation facilitates interspecies hydrogen transfer between *Pelotomaculum thermopropionicum* and *Methanothermobacter thermautotrophicus*. // *Appl. Environ. Microbiol.* — 2006. — v.71.— N 12.— P. 7838–7845.
15. Karube I., Matsunaga T., Tsuru S., Suzuki S. Biochemistry fuel cell utilizing immobilized cells of *Clostridium hutyricum*// *Biotechnol. Bioeng.* — 1977. — v. 19. — P. 1727–1733.
16. Kharitonov A. B., Alfonta L., Katz E., Willner I. Probing of bioaffinity interactions at interfaces using impedance spectroscopy and chronopotentiometry // *J. Electroanal. Chem.* — 2000. — v. 487. — P. 133–141.



17. Kim B. H., Kim H. J., Hyun M. S., Park D. H. Direct electrode reaction of Fe (III) reducing bacterium, *Shewanella putrefaciens*. // J. Microbiol. Biotechnol. — 1999. — v.9a. — P. 127–131

18. Kim, H. J., Hyun M. S., Chang I. S., Kim B. H. A microbial fuel cell type biosensor using a metal-reducing bacterium, *Shewanella putrefaciens*. // J. Microbiol. Biotechnol. — 1999. — v.9. — N 3. — P. 365–367.

19. Kim B. H., Ikeda T., Park H. S., Kim H. J., Hyun M. S., Kano K., Takagi K. and Tatsumi H. Electrochemical activity of an Fe (III)-reducing bacterium, *Shewanella putrefaciens* IR-1, in the presence of alternative electron acceptors. // Biotechnol. Tech. — 1999. — v.13.— N 7. — P. 475–478.

20. Kim N., Choi Y., Jung S., Kim S. Effect of initial carbon sources on the performance of microbial fuel cells containing *Proteus vulgaris* // Biotechnol. Bioeng. — 2000. — N 70. — P. 109–114.

21. Kim H. J., Park H. S., Hyun M. S., Chang I. S., Kim M. and Kim B. H. A mediator-less microbial fuel cell using a metal reducing bacterium, *Shewanella putrefaciens*// Enzyme Microb. Technol.- 2002.-v. 30(2).-P.145-152.

22. Kim B. H., Park H. S., Kim H. J., Kim G. T., Chang I. S., Lee J. and Phung N. T. Enrichment of microbial community generating electricity using a fuel-cell-type electrochemical cell// Appl. Microbiol. Biotechnol.-2004.- v. 63(6).-P.672-681.

23. Kreysa G., Sel D. I, Krömer P. Bioelectrochemical fuel cells. // Ber Bunsenges. Phys. Chem. (West Germany), Berichte der Bunsengesellschaft für Physikalische Chemie. — 1990. — v.94.— N 9. — P. 1042–1045.

24. Lee J., Phung N. T., Chang I. S., Kim B. H. and Sung H. C. (2003) Use of acetate for enrichment of electrochemically active microorganisms and their 16S rDNA analyses FEMS//Microbiol. Lett.-2003.- v. 223(2).- P.185-191.

25. Lewis K. Symposium on bioelectrochemistry of microorganisms. IV. Biochemical fuel cells. // Bacteriol. Rev. — 1966. — v.30. — N 1. — P. 101–113.

26. Lithgow A. M., Romero L., Sanchez I. C., Souto F. A., Vega C. A. Interception of electron-transport chain in bacteria with hydrophilic redox mediators. // J. Chem. Res. Synop. — 1986. — N 5. — P. 178–179.

27. Myers C. R., Myers J. M. Localization of cytochromes to the outer membrane of anaerobically grown *Shewanella putrefaciens* MR-1. // J. Bacteriol. — 1992. — v.174.— N 11. — P. 3429–3438.

28. Park D. H., Kim B. H., Moore B., Hill H. A. O., Song M. K., Rhee H. W. Electrode reaction of *Desulfovibrio desulfuricans* modified with organic conductive compounds. // Biotechnol. Techniques. — 1997. — v.11.— N 3. — P. 145–148.

29. Park D. H., Kim S. K., Shin I. H., Jeong Y. J. Electricity production in biofuel cell using modified graphite electrode with neutral red. // J. Biotechnol. Lett. — 2000. — v. 22. — P. 1301-1304.

30. Park D. H., Zeikus J. G. Electricity generation in microbial fuel cells using neutral red as an electronophore. // Appl. Environm. Microbiol. — 2000. — v. 66. — P. 1292–1297.

31. Rabaey K., Lissens G., Siciliano S. D. and Verstraete W. A microbial fuel cell capable of converting glucose to electricity at high rate and efficiency// Biotechnol. Lett.-2003.- v. 25(18).-P. 1531-1535

32. Reimers, C. E., Tender, L. M., Fertig, S. & Wang, W. Harvesting energy from the marine sediment-water interface. // J. Environ. Sci and Technol.— 2001. — v.35. — N 2. — P. 192–195.



33. Roller S. D., Bennetto H. P., Delaney G. M., Mason J. R., Stirling S. L., Thurston C. F. Electron-transfer coupling in microbial fuel cells: 1. Comparison of redox mediator reduction rates and respiratory rates of bacteria // J. Chem. Technol. Biotechnol. B.-1984.-v. 34.-P. 3-12.
34. Suzuki S., Karube I., Matsunaga T., Kuriyama S., Suzuki N., Shirogami T., Takamura T. Biochemistry energy conversion using immobilized whole cells of *Clostridium hutyticum*// Biochimie.-1980.-v. 62.-P. 353-358.
35. Suzuki S., Karube I. Energy production with immobilized cells. // Appl. Biochem. Bioeng. — 1983. — v.4. — N 3. — P. 281—310.
36. Suzuki S., Karube I., Matsuoka H., Ueyama S., Kawakubo H., Isoda S., Murahashi T. Biochemistry energy conversion by immobilized whole cells// Ann. N. Y. Acad. Sci.-1983.-v. 413.- 133-143.
37. Shukla A. K., Suresh P., Berchmans S., Rajendran A. Biological fuel cells and their applications // Current Sci. — 2004.-v.87.-N 4.-P.455-468.
38. Tanaka K., Vega C. A., Tamamushi R. Thionine and ferric chelate compounds as coupled mediators in microbial fuel cells. // Bioelectrochem. Bioenerg. — 1983. — N 11. — P. 289—297.
39. Tanisho S., Suzuki Y., Wakao N., Fermentative hydrogen evolution by *Enterobacter aerogenes* stain E.82005 // J. Hydrogen Energy. — 1987. — v. 12. — N 9. — P. 623-627.
40. Tender L. M., Reimers C. E., Stecher H. A., Holmes D. E., Bond D. R., Lowy D. A., Pilobello K., Fertig S. J. and Lovley D. R. Harnessing microbially generated power on the seafloor//Nat. Biotechnol.-2002.- v. 20(8).- P.821-825.
41. Vega C. A., Fernández I. Mediating effect of ferric chelate compounds in microbial fuel cells with *Lactobacillus Plantarum*, *Streptococcus Lactis*, and *Erwinia Dissolvens* // Bioelectrochem. Bioenerg. — 1987. — N 17. — P. 217—222.
42. Yuri A. Gorby, Svetlana Yanina, Jeffrey S. McLean, Kevin M. Rosso, et al. Electrically conductive bacterial nanowires produced by *Shewanella oneidensis* strain MR-1 and other microorganisms. // Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. — 2006. — v.103.— N 30.— P. 11358—11363.



Е.В. Кузьминский, П.И. Гвоздяк, Н.Б. Голуб

Национальный технический университет Украины «КПИ»,
пр. Победы 37, 4 корпус, Киев, 03056, Украина;
тел/факс: 8 (044) 24 168 84, e-mail: kuzminskiy@ibt.ntu-kpi.kiev.ua;
ecobio@i.com.ua, <http://www.ntu-kpi.kiev.ua/keb>

**БИОТОПЛИВНЫЕ ЭЛЕМЕНТЫ –
ПРОБЛЕМЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ.
II. МИКРОБНЫЕ БИОТОПЛИВНЫЕ ЭЛЕМЕНТЫ**

Реферат

В обзорной работе сделан анализ состояния, рассмотрены проблемы и определены перспективы развития биотопливных элементов— электрохимических приспособлений, в которых с помощью микроорганизмов осуществляется прямое преобразование химической энергии различных веществ (углеводов, жиров, белков и др.) в электрическую в результате биохимических трансформаций.

К л ю ч е в ы е с л о в а: микробные биотопливные элементы, прокариоты, эукариоты, медиаторы, ферменты, субстраты, анод, катод.

E.V. Kuzminskiy, P.I. Gvozdyak, N.B. Golub

National Technical University of Ukraine “KPI”, 37 Prospekt Peremogy Str.,
Kyiv, 03056, Ukraine; tel/fax: 8 (044) 24 168 84, e-mail: kuzminskiy@ibt.kiev.ua;
ecobio@i.com.ua, <http://www.ntu-kpi.kiev.ua/keb>

**BIOFUEL ELEMENTS — THE PROBLEMS AND PERSPECTIVES
OF DEVELOPMENT. II. MICROBIAL FUEL ELEMENTS**

Summary

In this review the condition of biofuel elements was analyzed. Biofuel elements are the electrochemical devices in which by the help of microorganisms the direct transformation of chemical energy of different substances (carbohydrates, fats, proteins etc.) into electrical energy occurs as the result of biochemical transformations. The problems and perspectives of biofuel elements development were discussed and determined.

K e y w o r d s: microbial fuel elements, procariotes, eukariotes, mediators, anode, cathode.

