



文章栏目：环境生物技术

DOI 10.12030/j.cjee.202108060

中图分类号 X703.1

文献标识码 A

王义安, 张学洪, 郑君健, 等. 不同基质碳源下人工湿地微生物燃料电池的电化学性能及微生物群落结构[J]. 环境工程学报, 2021, 15(11): 3696-3706.

WANG Yian, ZHANG Xuehong, ZHENG Junjian, et al. Electrochemical properties and microbial community structure of constructed wetland microbial fuel cell under different matrix carbon source[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2021, 15(11): 3696-3706.

不同基质碳源下人工湿地微生物燃料电池的电化学性能及微生物群落结构

王义安^{1,2}, 张学洪^{1,2,3}, 郑君健³, 张媛媛³, 林华^{1,2,✉}

1. 桂林理工大学环境科学与工程学院, 桂林 541000

2. 桂林理工大学广西岩溶地区水污染控制与用水安全保障协同创新中心, 桂林 541000

3. 桂林电子科技大学生命与环境科学学院, 桂林 541000

第一作者: 王义安(1996—), 男, 博士研究生。研究方向: 人工湿地微生物燃料电池。E-mail: 873316639@qq.com

✉通信作者: 林华(1984—), 男, 博士, 副教授。研究方向: 水污染控制。E-mail: linhua5894@163.com

摘 要 通过设计一种下流式人工湿地微生物燃料电池(CW-MFC)系统, 研究了以葡萄糖(S.G.)和乙酸钠(S.S.)为基质碳源时系统的电化学性能及其微生物群落结构, 揭示了该系统在不同基质碳源下的产电特性。结果表明, S.S.发电电压可达 483 mV, 最大功率密度为 48.14 mW·m⁻², 优于 S.G.(42.61 mW·m⁻²)。S.S.对水体 COD 的去除率比 S.G.(70.1%) 高出 5%。电化学性能表征结果表明, S.S.比 S.G.具有更快的电子转移能力, S.S.的电荷转移电阻(45.2 Ω)小于 S.G.(197 Ω)。与 S.G.相比, 在 S.S.中发现 *Clostridium_sensu_stricto_1*(梭状芽胞杆菌)和 *Pseudomonas*(假单胞菌)丰度的降低, *Acinetobacter*(不动杆菌)、*Acetobacteroides*(类醋酸杆菌)、*Lactococcus*(乳球菌)和 *Geobacter*(地杆菌)丰度的升高。此外, 结合 FAPROTAX 预测结果可知, 与发电有关细菌的相对丰度在 S.S.中高于 S.G.。以上研究结果证明了乙酸钠可作为 CW-MFC 基质碳源的潜力, 同时本研究设计的下流式 CW-MFC 系统有助于为后续污染水体的治理提供参考。

关键词 下流式; 人工湿地微生物燃料电池; 电化学性能; 微生物群落

人工湿地微生物燃料电池(constructed wetland - microbial fuel cell, CW-MFC)是一种结合人工湿地(CW)和微生物燃料电池(MFC)的新兴技术, 该技术能在对污水净化的同时高效产电, 具有广阔的应用前景和实际价值, 在近些年得到广泛关注^[1]。目前, 大量的研究集中在上流式 CW-MFC 方面, 但最大输出功率密度通常仅为 10~30 mW·m⁻²^[2-3]。上流式 CW-MFC 可能由于长时间的运行, 从而形成污泥堵塞效应, 导致系统的内阻变大, 影响电子量转移, 进而引起产电性能下降^[4-5]。DOHERTY 通过下流式与上流式协同作用将系统的最大输出功率密度由单一上流式的 16.8 mW·m⁻²提高至 27.6 mW·m⁻²^[6], 由此可知, 下流式作用是不可忽视的。然而, 关于一体化下流式 CW-MFC

收稿日期: 2021-08-11; 录用日期: 2021-10-25

基金项目: 国家自然科学基金面上资助项目(52070051); 广西科技计划项目(2020GXNSFAA297256); 广西科技基地和人才专项“澜沧江-湄公河水环境技术创新平台”(桂科 AD19110156); 广西高等学校高水平创新团队及卓越学者计划资助(桂财教函[2018]319); 广西八桂学者和特聘专家项目

产电性能的研究鲜有报道。

CW-MFC 运行时通常采用葡萄糖或乙酸钠作为基质碳源^[7-8]，然而不同基质碳源(乙酸钠、葡萄糖和丙酸)会影响阳极生物的形成和系统内阻^[9]，同时会影响系统的产电性能。当以葡萄糖和乙酸钠为下流式 CW-MFC 的基质碳源时，对系统启动时间及电化学性能的影响如何，目前尚未见报道。为了降低植物对实验的影响及复杂性，在设计构建的下流式 CW-MFC 系统中通常不种植植物。为了解基质碳源对下流式 CW-MFC 的电化学行为影响，本研究分析了其产电性能和电化学行为，并通过微生物群落结构分析及 FAPROTAX 功能预测从微生物学角度探究葡萄糖和乙酸钠作为基质碳源下的功能菌群，以期为一体化的下流式 CW-MFC 在实现同时高效产电与治理污染水体的研究中提供参考。

1 材料和方法

1.1 集电极及电极的制作

本研究所用的电极材料采用石墨毡(北京晶龙特碳石墨厂)，制成厚度为 2 cm 表面为 256 cm² 的阴极以及表面为 64 cm² 的阳极(图 1)，并浸泡在 0.1 mol·L⁻¹ HCl 中 24 h 进行预处理，以去除其表面的油渍和金属离子污染物，再用蒸馏水洗涤干净后备用^[6]。采用具有价格低廉的不锈钢丝网(5 目 304 不锈钢丝网，钢丝丝粗直径为 0.6 mm)作为集电极，有助于增强电子的传递，提高导电性，避免出现集电死区^[10]。将不锈钢丝网在 1 mol·L⁻¹ H₂SO₄ 溶液中浸泡 4 h 以去除表面的钝化层增加表面粗糙度，这有助于微生物富集和降低电荷转移内阻^[11]。将其制成边长为 8 cm 正方形埋入阳极中，以及制成能够包裹阴极的尺寸包裹阴极形成一个整体，至此电极构建完成。

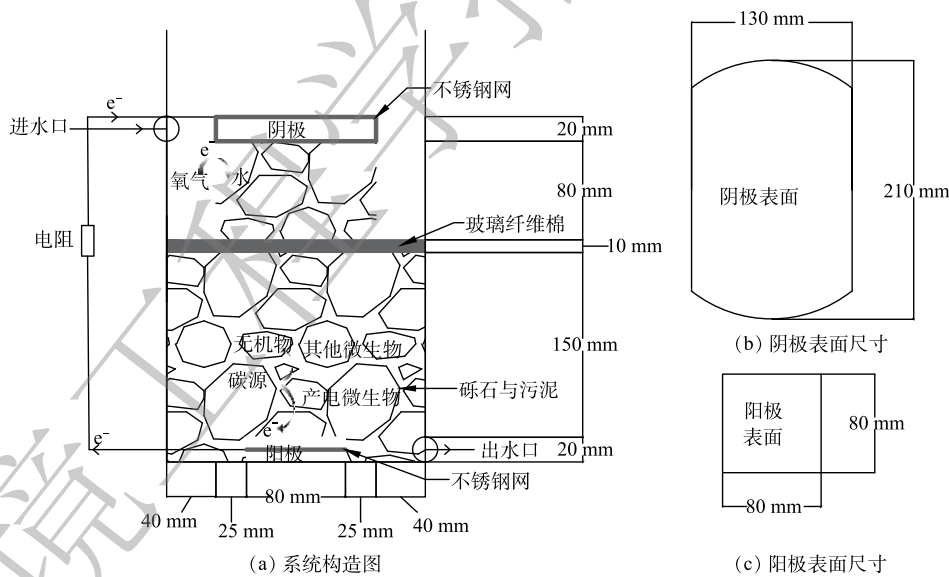


图 1 下流式未种植植物 CW-MFC 系统构造图及阴极和阳极表面尺寸

Fig. 1 Structure diagram of downflow unplanted CW-MFC system, and the surface size of cathode and anode

1.2 系统的设计与构建

本研究构建了下流式未种植植物 CW-MFC 实验装置，其构造见图 1。反应器使用的是直径 21 cm 高 42 cm 的圆柱桶，有效高度为 28 cm。填充直径为 0.3~0.6 cm 的砾石共 (12.15±0.1) kg 作为支撑层，以改善废水在湿地中的分布并起到承托的作用^[12]。整个反应器的总有效液体体积为 (2.92±0.08) L，反应器中距底部 18~28 cm 的区域作为阴极区，中间隔层采用厚度为 15 mm 压缩至 10 mm 且直径为 21 cm 的玻璃纤维棉，这样可以防止阴极区的氧气向阳极扩散，有助于降低氧气传质系数，对电子

的逆向流动起缓解作用,有助于提高产电性能^[13-15]。在阴极区左右两侧空出的区域用于测定时放置参比电极。由直径为1 mm的铜导线连接阳极、阴极和外接可变电阻箱电阻(2 000 Ω)形成闭合回路^[16],并使液面处于阴极下表面在构成闭合回路的同时形成空气阴极,加入适量蒸馏水至原水位以防止水分的正常蒸发造成液面下降,从而影响反应器的运行^[17]。

1.3 CW-MFC的接种和启动

污泥取自中国广西桂林市七星区七里店污水处理厂(公共自行车污水净化厂站旁)的厌氧池。污泥在投入反应器之前先进行厌氧培养(每天采用浓缩溶液更换厌氧培养液体0.6 L,1 L浓缩溶液的基本成分包括9.38 g葡萄糖、0.75 g NH_4Cl 、0.65 g KCl 、6.8 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 、0.95 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 以及5 mL微量营养液),共培养60 d。厌氧培养后的混合液悬浮固体质量浓度(MLSS)为6.89 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$,为确保污泥来源一致,将培养后的污泥稀释1倍并同步从各反应器的底部通入直到充满至阴极下表面以进行接种,静置1 d后形成生物膜。静置完成后,人工配置溶液以1.5 d的水力停留时间并在 $(30 \pm 2)^\circ\text{C}$ 下通过蠕动泵(雷弗BT101L DG10-2,保定,中国)从顶部连续进水,底部出水(图1)。1 L人工配置溶液的基本成分包括5 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 磷酸盐缓冲液(0.5 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 和0.64 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$)、0.281 5 g葡萄糖(S.G.)或者0.384 5 g乙酸钠(S.S.)(理论COD值均为300 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)、0.15 g NH_4Cl 、0.13 g KCl 以及1 mL微量营养液。微量营养液的配制参考LIU等^[2]的方法。并通过 $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 或 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 调节进水溶液pH为6.5^[18]。系统运行至电压稳定时,则视为驯化成功^[19]。

1.4 电化学性能分析

1) 电压、电势和功率密度曲线。采用联想扬天V110-15电脑连通LabQuest mini主机并连接电压传感器DVP-BTA(威尼尔软件与技术公司,美国),每隔30 min采集1次外接电阻的两端电压^[18]。当系统输出稳定后,开路电压达到最大值时,接入电阻箱,并采用恒阻放电法测定极化曲线。通过调节外接电阻箱的不同电阻值,稳定30 min后,读取电压并绘制极化曲线^[2,20]。用万用表(福禄克F18B,淘宝,中国)测量阴极和阳极电势。通过功率($P=I^2 \cdot R^{-1}$)除以阳极表面(64 cm^2)计算出功率密度,绘制功率密度曲线^[15,21]。

2) 电化学测定。循环伏安法(CV)曲线、线性扫描伏安法(LSV)曲线、塔菲尔(TAFEL)曲线和电化学阻抗(EIS)测量使用CHI604E电化学工作站(上海辰华仪器有限公司,中国),并采用三电极系统即工作电极、对电极和参比电极(Ag/AgCl)电极^[22-23]。CV扫描范围为-2.0~1.8 V,扫描速度为30 $\text{mV} \cdot \text{s}^{-1}$ 。LSV扫描范围为0~1.0 V,扫描速度为30 $\text{mV} \cdot \text{s}^{-1}$ ^[24]。电容C根据CV曲线和式(1)进行计算。Tafel测试的扫描电压为-2.0~2.0 V并以10 $\text{mV} \cdot \text{s}^{-1}$ 的扫描速度进行扫描,记录工作电极的Tafel图^[25-26]。EIS测量在0.01~1 MHz,使用5 mV的交流电信号。通过测量EIS来拟合等效电路 $R(Q(RW))$,可以得到电化学欧姆电阻、电荷传递电阻和传质电阻等重要参数。用Nova 2.1.4软件分析阻抗谱(Nyquist plot)^[25,27]。

$$C = \frac{S}{v\Delta V} \quad (1)$$

式中: S 为循环伏安环的积分面积, $\text{V} \cdot \text{A}$; v 为扫描速率, $\text{V} \cdot \text{s}^{-1}$; ΔV 为扫描电位区间,V。

1.5 出水COD的测定

在完成各系统电化学性能指标测定后,对各反应器的出水口取约10 mL水样,取3次。耗氧有机污染物浓度(以COD计)的测定采用哈希COD消解仪(DRB200, HACH, 美国)进行快速消解,并利用COD测定仪(DR1010, HACH, 美国)进行测定。采用SPSS 24.0软件进行差异显著性分析。

1.6 阳极微生物群落样品

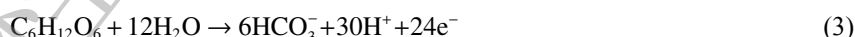
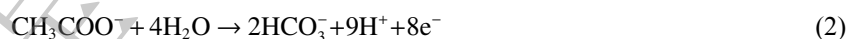
实验结束后(第15天),取出阳极置于 $\text{pH}=7.0$ 的20 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 磷酸盐缓冲液中,用UC-6超声波振荡器(上海泰坦科技有限公司35 kHz)处理10 min,并摇匀溶液^[27]。最后,用0.45 μm 滤膜过滤溶

液。将过滤膜上附着的微生物样品送至苏州帕诺米克生物医药科技有限公司 (BioNovoGene) 进行高通量焦磷酸测序分析, 以研究微生物群落结构。采用十六烷基三甲基溴化铵 (CTAB)/十二烷基硫酸钠 (SDS) 法提取样品 DNA^[28]。引物 515F/806R 用于 PCR 扩增细菌 V3~V4 区 16S rRNA 基因。配对末端 rRNA 测序在 Illumina NovaSeq6000 平台 (Illumina, 圣迭戈, 美国) 上进行。通过 SILVA138 的 SSUrRNA 数据库 (<http://www.arb-silva.de/>), 进行物种注释分析 (阈值为 0.8~1), 获得分类学信息, 并分别在门和属水平上统计每个样本的群落组成。所有样本归一化后, 使用 R 软件 (Version 4.0.4) 绘制维恩图, 分析不同样本之间的共同和独特的 OTU。使用 Qiime 软件 (Version 1.9.1) 计算有效 OTUs、Chao1、Shannon、Simpson 和 ace 指数。根据扩增子物种注释结果, 进行 FAPROTAX^[29] 环境功能预测分析。

2 结果与讨论

2.1 产电性能与水体 COD

图 2 表明, S.S. 的产电性能优于 S.G., S.G. 和 S.S. 从开始启动至稳定所需时间分别为 75 h 和 80 h (图 2(a)), 电压可分别达到 0.391 V 和 0.483 V。以乙酸钠和葡萄糖为基质碳源的阳极反应分别见式 (2) 和式 (3)^[30]。由阴阳极电势 (图 2(b)) 可知, S.S. 和 S.G. 的阳极电势差异均比阴极大, 表明阴极发生更多的还原反应, 但由于电阻的减少造成电子流出阳极的速度较大, 从而正电荷的累积使得阳极电势向正方向移动。当电流密度由 $0 \text{ mA} \cdot \text{m}^{-2}$ 增加到 $300 \text{ mA} \cdot \text{m}^{-2}$ 时, S.S. 和 S.G. 的阳极电势分别提高了 55.5% 和 81.3%, S.S. 的阳极电势随着电流密度增加的变化幅度较小, 说明 S.S. 的阳极性能更好, 生物膜稳定性更高^[31]。在 $390 \text{ mA} \cdot \text{m}^{-2}$ 的电流密度下, S.S. 可以维持 -66 mV 的阴极电势以及 -91 mV 的阳极电势, 从而在高电流密度下 S.S. 依然可以保持更高的外电压进而增加功率的输出。S.S. 和 S.G. 的最大输出功率密度分别为 $48.14 \text{ mW} \cdot \text{m}^{-2}$ 和 $42.61 \text{ mW} \cdot \text{m}^{-2}$ (图 2(c))。S.G. 的电压降比 S.S. 更为明显, 这主要由于欧姆极化和传质损耗, 更高的欧姆损耗是由膜的电阻引起的, 而传质损耗是由于还原化合物的有限放电能力或向电极供应氧化化合物有限所导致的^[24]。S.G. 具有更大内阻在 EIS 结果中被证实。



本研究所采用的下流式未种植植物 CW-MFC 与其他已报道 CW-MFC 发电性能的比较见表 1。可以看出, 本研究构建的下流式 CW-MFC 在发电性能上优于其他 CW-MFC 系统, 所产生的输出功率密度提高了 74.4%~187%。因此, 尽管上流式是目前主流形式, 但下流式 CW-MFC 应得到更多关注。

S.S. 出水口 COD 为 $74.7 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 去除率达到 75.1%, 而 S.G. 的 COD 去除率仅为 70.1% (图 3)。S.S. 表现出更高的水体 COD 去除效果, 可能是由于 S.S. 基质碳源更容易被微生物所利用。

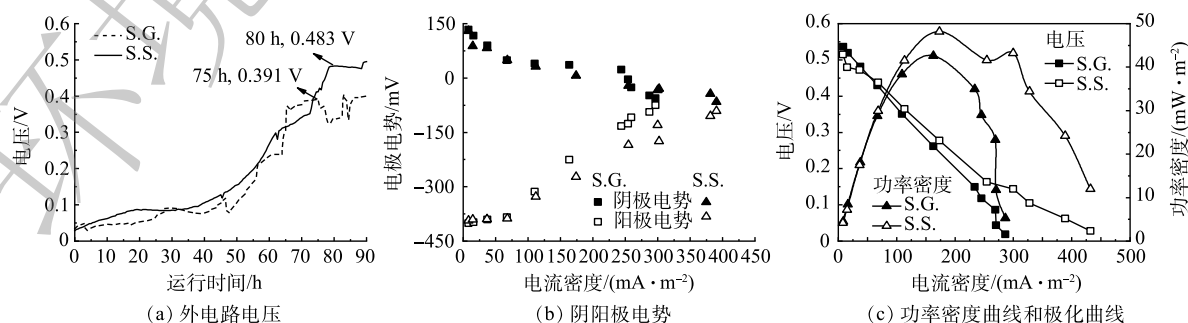


图 2 S.G. 和 S.S. 的外电路电压、阴阳极电势、功率密度曲线和极化曲线

Fig. 2 Voltage, anode and cathode potential, power density curve and polarization curve of S.G. and S.S.

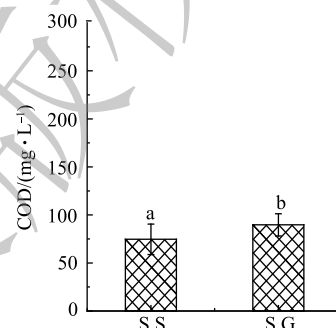
表1 与其他已报道 CW-MFC 在发电性能上的比较

Table 1 Compared with other reported CW-MFC on the power generation performance

进水流动形式	HRT/d	基质碳源	进水COD/(mg·L ⁻¹)	输出电压/mV	功率密度/(mW·m ⁻²)	文献来源
下流式	1.5	葡萄糖	300	391	42.61	本研究
下流式	1.5	乙酸钠	300	483	48.14	
同时上下流	1	生猪废水	583	434	27.6	[6]
上流式	1	生猪废水	583	309	16.8	
上流式	1.5	葡萄糖	640	328	2.67	[32]
上流式	2.75	葡萄糖	187	130	—	[33]
上流式	0.77	乙酸钠	780	74	25.78	[8]
上流式	5	乙酸钠	500	—	25.16	[34]

2.2 电化学行为

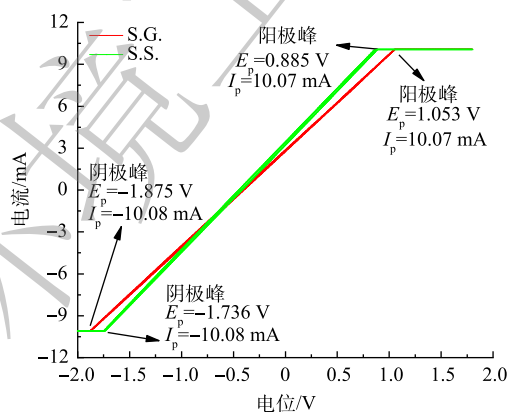
通过电化学实验考察了 S.G. 和 S.S. 阳极的生物电化学活性。CV 通常用于分析基于生物膜的胞外电子传递机制^[35]。S.S. 与 S.G. 的氧化电流同为 10.07 mA(图 4(a))，其还原电流/氧化电流为 1.001，基本接近 1，代表 S.S. 与 S.G. 均具有高可逆程度。S.G. 的氧化与还原峰的峰电位差 ΔE 大于 S.S. 的 ΔE ，由于 ΔE 与转移的电子数 n 呈反比例关系^[36]，可见 S.S. 有着更强的产电能力。这清楚地表明 S.S. 具有更高的微生物活性和更快的电子转移，这可能与阳极中富集的氧化还原介质或大量参与电子传递的胞外膜蛋白覆盖在阳极有关。在 JADHAV、PAREEK 等的研究中^[37-38] 也出现类似的原位 CV 扫描图。由图 4(a) 中可以看出，S.S. 比 S.G. 更接近超级电容器。这是因为超级电容器的理想形状是矩形的^[39]。S.S. 与 S.G. 的电容分别为 440 F 和 412 F，鉴于两者采用的阳极材料一致，因此 S.S. 的比电容比 S.G. 高 6.7%。这是由于醋酸盐溶液的介电常数大于葡萄糖导致溶液电容的增大，并受限于位于电极及砾石上附着的生物膜自身膜电容会小于溶液电容^[40]。



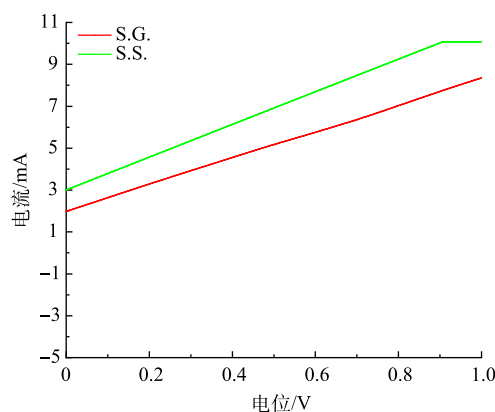
注：小写英文字母不同者代表差异显著($P < 0.05$)。

图3 S.S.和S.G.的出水口 COD

Fig. 3 COD of water outlet of S.S. and S.G.



(a) 循环伏安曲线



(b) 线性扫描伏安曲线

图4 S.G.和S.S.的循环伏安曲线和线性扫描伏安曲线

Fig. 4 Cyclic voltammetry curve and linear sweep voltammetry curve of S.G. and S.S.

S.S.的阳极比 S.G.表现出更高的电流响应 (图 4(b)), 表明微生物对乙酸钠的利用优于葡萄糖, 并表明 S.S.具有更强的氧化能力进而有助于电子转移。

图 5 显示了 S.G.和 S.S.的阳极 Tafel 曲线和在 0.3~0.5 V 过电位区间的线性拟合曲线。将 Tafel 曲线外推至 0 V 过电位, 计算出 S.G.和 S.S.交换电流 (i_0) 分别为 3.083×10^{-3} A 和 4.019×10^{-3} A。S.S.阳极的 i_0 比 S.G.高 30.38%, 表明 S.S.阳极具有更高的动力学活性, 更快的氧化还原速率, 更小的活化损失。这与 CV 测量的电子传递速度较快的结果一致。结合 LSV(图 4(b))曲线结果可知, S.S.的阳极反应更容易发生, 并具有更强的去极化作用。这进一步说明 S.S.具有更高的功率密度输出。

在 EIS 分析中, 奈奎斯特图表明系统的内阻决定了不同基质碳源下系统的性能。其中, 高频区域的半圆与阳极生物膜的电性能有关。测量阻抗谱通常是由极化电阻 (电荷转移电阻, R_p)^[41]、溶液电阻 (欧姆电阻, R_s)、韦伯阻抗扩散元件 (W) 与常相角元件 (CPE) 组合而成。S.S.和 S.G.的 R_p 分别为 45.2 Ω 和 197 Ω (图 6), 由于 R_p 与 i_0 成反比, 故此结果进一步表明 S.S.阳极生物膜促进了电子从乙酸钠分子向阳极进行转移, 提高了乙酸钠的氧化速率^[37], 亦说明 S.S.有更强的阳极电荷转移能力。之所以没有观察到完整的半圆电弧, 是因为仪器的最大频率限制。同时, S.G.拟合的 R_s 为负值的原因可能是由于在电子学中某些电路和器件的特性, 例如在 BOINOVICH 等的研究中也未显示出 R_s 的结果^[42]。EIS 分析结果还显示, S.S.的韦伯阻抗电阻为 3.36×10^{-4} Ω , 小于 S.G. (6.35×10^{-4} Ω), 从而使 S.S.形成的离子向电极界面的扩散能力更强, 并有助于提高电荷传递能力^[43]。葡萄糖分子较乙酸钠分子大, 会导致形成的离子半径大, 进而在运动时存在的空间位阻就越大, 而且其黏度大^[44-45]易造成局部运动能力下降, 使得离子扩散受阻, 这可能是 S.G.内阻较大的原因。S.S.的界面电容达到 1.5×10^{-8} F, 远大于 S.G.的 6.18×10^{-9} F, 这意味着 S.S.能够传递更多的电流。S.S.的 N 值为 0.939, 比 S.G.的 0.807 更接近于 1, 说明 S.S.离理想电容的偏离度更小。这些结果均与本节所述 CV、LSV 和 TAFEL 结果一致。本研究所构建的一体化下流式 CW-MFC, 无论

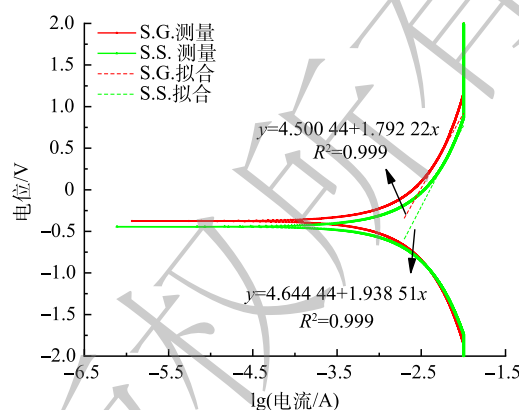
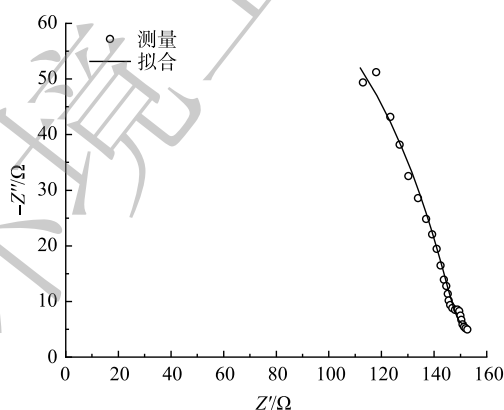
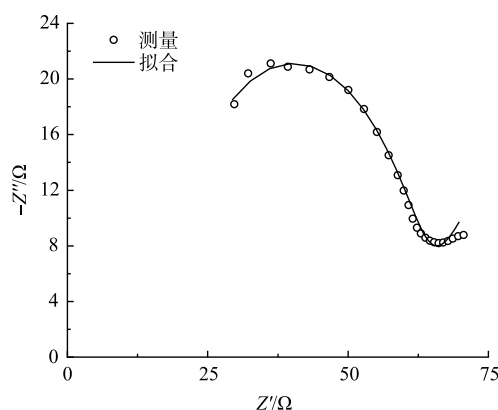


图 5 S.G.和 S.S.的 Tafel 曲线

Fig. 5 Tafel curve of S.G. and S.S.



(a) S.G.的电化学阻抗奈奎斯特图



(b) S.S.的电化学阻抗奈奎斯特图

图 6 S.G.和 S.S.的电化学阻抗奈奎斯特图

Fig. 6 Nyquist plot of electrochemical impedance of S.G. and S.S.

是以乙酸钠还是葡萄糖作为基质碳源所产生的内阻均远低于 YE 等^[46]的研究结果。同时考虑到 S.G.和 S.S.两者的设计和运行条件都是相同的,唯独基质碳源不一样,故氧化还原活性的变化还可能与微生物代谢基质碳源有关。综上所述,乙酸钠作为基质碳源有助于在阳极上形成有效地电活性生物膜并促进电子的转移,能够实现高电压及功率密度输出,并有助于水体 COD 的去除。

2.3 微生物群落结构及功能预测

为了证明 S.S.系统的发电性能优于 S.G.,对 S.G.和 S.S.阳极中的微生物群落进行了结构分析及 FAPROTAX 功能预测。S.G.和 S.S.的前 4 种优势门均被定义为 MFC 系统中主要的活性细菌,属于传统厌氧消化器中的关键门^[47-49]。S.G.的前 4 种门的相对丰度之和为 91.6%,其由 *Firmicutes* (42.0%)、*Proteobacteria* (36.0%)、*Bacteroidota* (12.3%) 和 *Desulfobacterota* (1.3%) 组成;S.S.的前 4 种优势门的相对丰度之和为 95.3%,其由 *Firmicutes* (27.9%)、*Proteobacteria* (38.6%)、*Bacteroidota* (24.2%) 和 *Desulfobacterota* (4.6%) 组成(图 7(a))。

基于 ACE 和 Chao 指数的 alpha 多样性分析结果见表 2。由于 S.S.具有较高的选择性,故其微生物物种多样性更低。在属水平上(图 7(b)),与 S.G.相比,在 S.S.中观察到 *Clostridium_sensu_stricto_1* (梭状芽胞杆菌)相对丰度的降低,以及 *Acinetobacter*(不动杆菌属)、*Acetobacteroides*(类醋酸杆菌属)和 *Lactococcus*(乳球菌属)相对丰度的升高。*Clostridium_sensu_stricto_1* 和 *Proteiniphilum* 主要是沼液中的细菌,其能将有机质分解成小分子糖和小分子酸,可为产电微生物提供直接的分解基质碳源^[50]。*Acetobacteroides* 由 S.G.的 5.707% 增加至 S.S.中的 8.671%,该菌是一种产生 H₂ 和乙酸的细菌,可以降解细菌代谢的分泌物(细胞外聚合物)和死亡细菌,并能增加和丰富电子供体的数量和种类,有利于其他细菌的生长^[51-52]。众所周知,电活性微生物 *Geobacter*(地杆菌属)的首选电子供体是醋酸盐^[53],其相对丰度由 S.G.的 0.621% 增加至 S.S.的 2.584%。*Pseudomonas*(假单胞菌属)可以通过电子穿梭传递电子。与其他研究^[48]结果相同,*Pseudomonas* 的相对丰度与 *Geobacter*相反,该菌由 S.G.的 1.533% 降低至 S.S.的 0.884%。*Acinetobacter* 由 S.G.的 8.879% 大幅增至 S.S.的 24.718%,

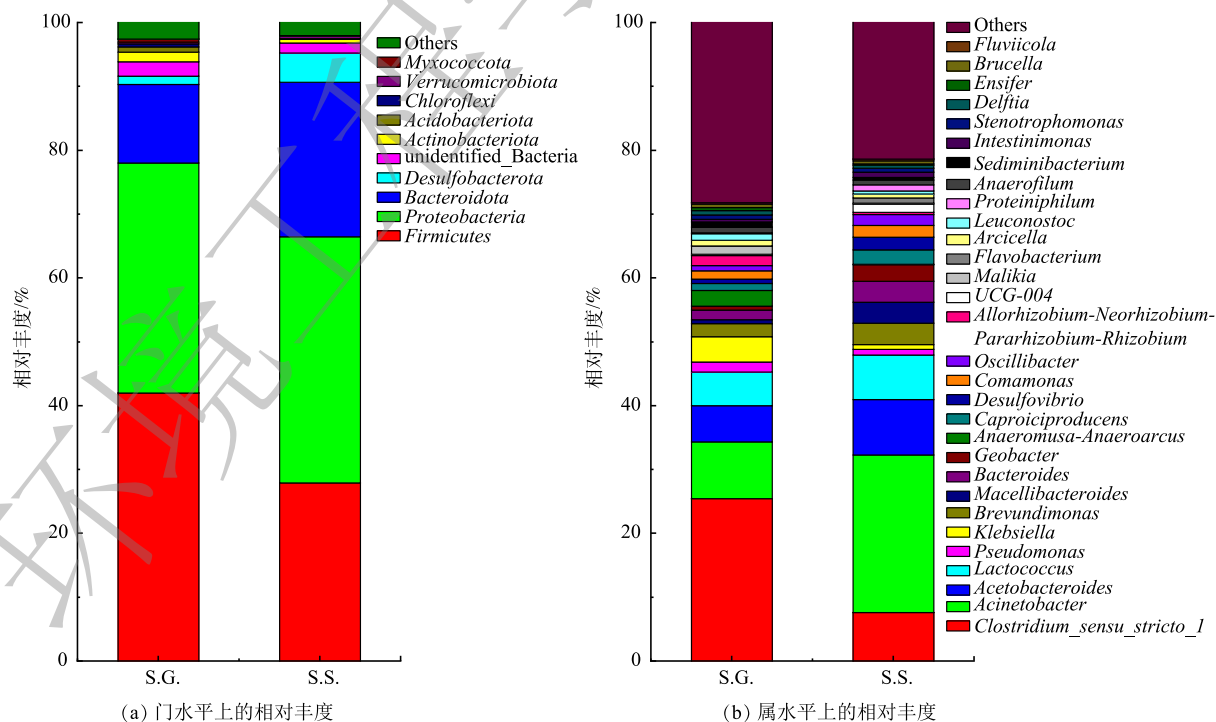


图 7 门和属水平上的相对丰度

Fig. 7 Relative abundance at the phylum and genus levels

这进一步说明 *Acinetobacter* 在发电过程中起着重要作用。SCIARRIA 等^[54] 也得出了类似的结果。*Lactococcus* 从 S.G.的 5.259% 增至 S.S.的 6.972%，其可以介导电子向细胞外电子受体的转移，并进行细胞外电子向阳极的转移，同时与其他微生物一起负责更高的功率密度输出^[55]。本研究发现了一个有趣的现象，*Brevundimonas* (短波单胞菌属) 由 S.G.的 2.052% 增至 S.S.的 3.366%，能将硝酸盐还原为亚硝酸盐^[56]。这进一步说明电子除供给给阴极以形成高电压外，还可以供给于反硝化作用。总之，S.S.系统中存在着更多的电活性微生物，但这些微生物共存对发电性能的影响还有待进一步的研究。

根据 FAPROTAX 功能预测结果 (图 8) 可知，S.G.的 *fermentation* 的相对丰度比 S.S.高 2.047%，表明 S.G.系统有着更多的细菌 (*Clostridium_sensu_stricto_1*) 代谢葡萄糖。乙酸钠有助于细菌生长和繁殖，因此 S.S.的呼吸细菌 (*iron_respiration*、*nitrogen_respiration*、*sulfur_respiration* 和 *sulfate_respiration*) 相对丰度比 S.G.高。由于呼吸细菌在电子传递过程中起着重要的作用，故可以氧化电子供体并伴随其他物质的还原，同时为生命活动储存能量。呼吸细菌自身还可以作为电极催化剂，促进电子从基质碳源向电极转移^[57]，S.S.的呼吸细菌相对丰度更高进一步表明 S.S.能够具有更强的产电性能和电化学性能。S.S.比 S.G.有更高的产电性能还可能是由于 *aromatic_compound_degradation* 和 *xylanolysis* 细菌能够降解有机物，S.S.中的 *aromatic_compound_degradation* 和 *xylanolysis* 分别比在 S.G.高出 4.1% 和 0.34%。此外，以牺牲另一有机体 (宿主) 为代价生长的 *animal_parasites_or_symbionts* 从 S.G.的 5.6426% 增至 S.S.的 10.4624%，其变化趋势与 *Acetobacteroides* 相似。在 S.S.中，*dark_hydrogen_oxidation* 比在 S.G.高 0.3262%，其属于无机自养细菌可以利用 H₂ 作为电子供体并同化 CO₂，因此，在 S.S.中可以进一步产生更多的电子。同时还观察到，*nitrite_ammonification* 在 S.G.和 S.S.的相对丰度分别为 0.272% 和 0.709%，*nitrate_ammonification* 在 S.G.和 S.S.的相对丰度分别为 0.262% 和 0.698%。这种氨化菌可以以氨化合物为基质进行除氨并产电^[58]。因此，与产电有关的一些细菌的相对丰度在 S.S.中高于在 S.G.中。

3 结论

- 1) 乙酸钠相比葡萄糖更适合作为 CW-MFC 的基质碳源，所设计的下流式未种植植物 CW-MFC 可产生 483 mV 输出电压并具有高功率密度输出 (48.14 mW·m⁻²)。
- 2) S.S.具有更强的去极化能力和电荷转移能力，以及更低的 *R*_p(45.2 Ω)，并具有更大的界面电容 (1.5×10⁻⁸ F)。
- 3) 基于相同的体系在不同的基质碳源下观察到微生物群落结构及 FAPROTAX 功能预测结果，

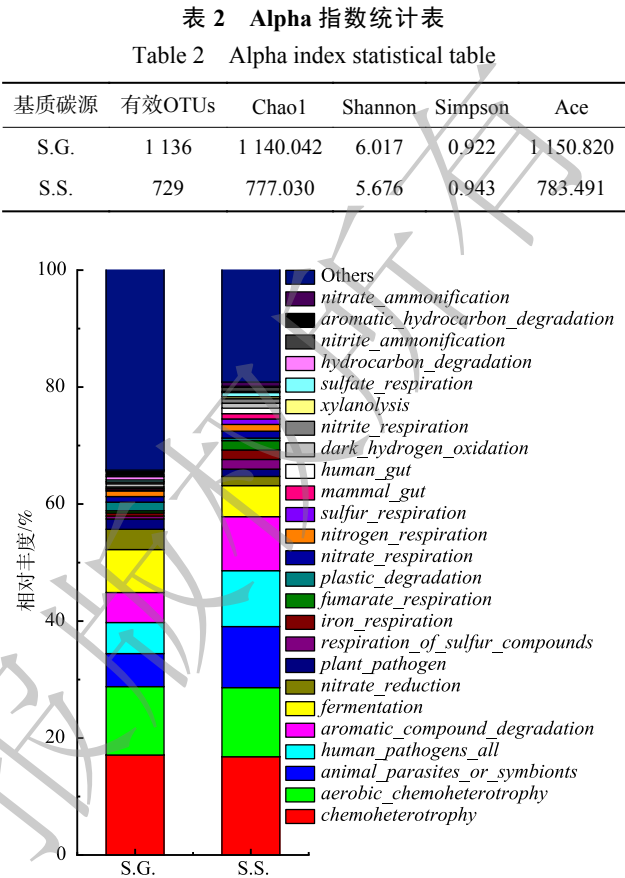


图 8 FAPROTAX 功能注释的相对丰度
Fig. 8 Relative abundance of FAPROTAX functional annotations

证实了与发电相关的细菌的相对丰度在 S.S. 中高于 S.G.。

参考文献

- [1] GUITTONNY-PHILIPPE A, MASOTTI V, HOEHENER P, et al. Constructed wetlands to reduce metal pollution from industrial catchments in aquatic mediterranean ecosystems: A review to overcome obstacles and suggest potential solutions[J]. *Environment International*, 2014, 64: 1-16.
- [2] LIU S T, SONG H L, WEI S Z, et al. Bio-cathode materials evaluation and configuration optimization for power output of vertical subsurface flow constructed wetland-microbial fuel cell systems[J]. *Bioresource Technology*, 2014, 166: 575-583.
- [3] LI H, ZHANG S, YANG X L, et al. Enhanced degradation of bisphenol A and ibuprofen by an up-flow microbial fuel cell-coupled constructed wetland and analysis of bacterial community structure[J]. *Chemosphere*, 2019, 217: 599-608.
- [4] REYES-CONTRERAS C, MATAMOROS V, RUIZ I, et al. Evaluation of PPCPs removal in a combined anaerobic digester-constructed wetland pilot plant treating urban wastewater[J]. *Chemosphere*, 2011, 84(9): 1200-1207.
- [5] CORBELLÀ C, GARCÍA J, PUIGAGUT J. Microbial fuel cells for clogging assessment in constructed wetlands[J]. *Science of the Total Environment*, 2016, 569-570: 1060-1063.
- [6] DOHERTY L, ZHAO X H, ZHAO Y Q, et al. The effects of electrode spacing and flow direction on the performance of microbial fuel cell-constructed wetland[J]. *Ecological Engineering*, 2015, 79: 8-14.
- [7] DI L Y, LI Y, NIE L K, et al. Influence of plant radial oxygen loss in constructed wetland combined with microbial fuel cell on nitrobenzene removal from aqueous solution[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2020, 394: 122542.
- [8] WANG L M, PANG Q Q, PENG F Q, et al. Response characteristics of nitrifying bacteria and archaea community involved in nitrogen removal and bioelectricity generation in integrated tidal flow constructed wetland-microbial fuel cell[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2020, 11: 1385.
- [9] ZHENG J Z, LI J C, XU K D, et al. Effects of different substrates on MEC anode film formation and extracellular polymer[J]. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 2020, 555: 012124.
- [10] FANG Z, SONG H L, YU R, et al. A microbial fuel cell-coupled constructed wetland promotes degradation of azo dye decolorization products[J]. *Ecological Engineering*, 2016, 94: 455-463.
- [11] PENG X W, CHEN S L, LIU L, et al. Modified stainless steel for high performance and stable anode in microbial fuel cells[J]. *Electrochimica Acta*, 2016, 194: 246-252.
- [12] XU L, ZHAO Y Q, DOHERTY L, et al. Promoting the bio-cathode formation of a constructed wetland-microbial fuel cell by using powder activated carbon modified alum sludge in anode chamber[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 26514.
- [13] HARTL M, BEDOYA-RIOS D F, FERNANDEZ-GATELL M, et al. Contaminants removal and bacterial activity enhancement along the flow path of constructed wetland microbial fuel cells[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 652: 1195-1208.
- [14] YADAV A K, DASH P, MOHANTY A, et al. Performance assessment of innovative constructed wetland-microbial fuel cell for electricity production and dye removal[J]. *Ecological Engineering*, 2012, 47: 126-131.
- [15] XU L, ZHAO Y Q, TANG C, et al. Influence of glass wool as separator on bioelectricity generation in a constructed wetland-microbial fuel cell[J]. *Journal of Environmental Management*, 2018, 207: 116-123.
- [16] GUO Y T, WANG G Z, ZHANG H, et al. Effects of biofilm transfer and electron mediators transfer on *Klebsiella quasipneumoniae* sp. 203 electricity generation performance in MFCs[J]. *Biotechnology for Biofuels*, 2020, 13: 162.
- [17] ZHOU Y, XU D, XIAO E R, et al. Relationship between electrogenic performance and physiological change of four wetland plants in constructed wetland-microbial fuel cells during non-growing seasons[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2018, 70: 54-62.
- [18] WANG G Z, GUO Y T, CAI J Y, et al. Electricity production and the analysis of the anode microbial community in a constructed wetland-microbial fuel cell[J]. *RSC Advances*, 2019, 9(37): 21460-21472.
- [19] WANG J, HE M F, ZHANG D L, et al. Simultaneous degradation of tetracycline by a microbial fuel cell and its toxicity evaluation by zebrafish[J]. *RSC Advances*, 2017, 7(70): 44226-44233.
- [20] SASAKI D, SASAKI K, TSUGE Y, et al. Less biomass and intracellular glutamate in anodic biofilms lead to efficient electricity generation by microbial fuel cells[J]. *Biotechnology for Biofuels*, 2019, 12(1): 72.
- [21] WANG J F, SONG X S, WANG Y H, et al. Bioelectricity generation, contaminant removal and bacterial community distribution as affected by substrate material size and aquatic macrophyte in constructed wetland-microbial fuel cell[J]. *Bioresource Technology*, 2017, 245: 372-378.
- [22] ISLAM M A, KARIM A, WOON C W, et al. Augmentation of air cathode microbial fuel cell performance using wild type *Klebsiella variicola*[J]. *RSC Advances*, 2017, 7(8): 4798-4805.
- [23] ZHAO S, LIU P, NIU Y Y, et al. A novel early warning system based on a sediment microbial fuel cell for in situ and real time hexavalent

- chromium detection in industrial wastewater[J]. *Sensors*, 2018, 18(3): 642.
- [24] RAYCHAUDHURI A, BEHERA M. Ceramic membrane modified with rice husk ash for application in microbial fuel cells[J]. *Electrochimica Acta*, 2020, 363: 137261.
- [25] LOWY D A, TENDER L M, ZEIKUS J G, et al. Harvesting energy from the marine sediment-water interface II Kinetic activity of anode materials[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2006, 21(11): 2058-2063.
- [26] TAFEL J. Über die polarisation bei kathodischer wasserstoffentwicklung[J]. *Zeitschrift für Physikalische Chemie*, 1905, 50U(1): 641-712.
- [27] FU X W, WU D. Effect of di-(2-ethylhexyl) phthalate on the microbial community in vegetables phyllosphere[J]. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*, 2020, 16(1): 25-31.
- [28] LI X R, YANG R W, JU H P, et al. Identification of dominant spoilage bacteria in sea cucumber protein peptide powders (SCPPs) and methods for controlling the growth of dominant spoilage bacteria by inhibiting hygroscopicity[J]. *LWT*, 2021, 136: 110355.
- [29] SANSUPA C, WAHDAN S F M, HOSSEN S, et al. Can we use functional annotation of prokaryotic taxa (FAPROTAX) to assign the ecological functions of soil bacteria?[J]. *Applied Sciences*, 2021, 11(2): 688.
- [30] 樊磊, 赵煜, 李婷, 等. 葡萄糖乙酸钠不同基质微生物燃料电池电化学性能对比研究[J]. *电化学*, 2016, 22(1): 81-87.
- [31] 周宏宏. 微生物燃料电池处理含氮废水的研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2018.
- [32] FANG Z, SONG H L, CANG N, et al. Electricity production from azo dye wastewater using a microbial fuel cell coupled constructed wetland operating under different operating conditions[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2015, 68: 135-141.
- [33] VILLASEÑOR CAMACHO J, RODRÍGUEZ ROMERO L, FERNÁNDEZ MARCHANTE C M, et al. The salinity effects on the performance of a constructed wetland-microbial fuel cell[J]. *Ecological Engineering*, 2017, 107: 1-7.
- [34] XU L, ZHAO Y Q, WANG X D, et al. Applying multiple bio-cathodes in constructed wetland-microbial fuel cell for promoting energy production and bioelectrical derived nitrification-denitrification process[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2018, 344: 105-113.
- [35] YANG Y, SHEN Q Y. Electrochemical properties and pollution remediation mechanism of P-MFC anode under cadmium stress[J]. *Polish Journal of Environmental Studies*, 2019, 28(5): 3985-3992.
- [36] SANDFORD C, EDWARDS M A, KLUNDER K J, et al. A synthetic chemist's guide to electroanalytical tools for studying reaction mechanisms[J]. *Chemical Science*, 2019, 10(26): 6404-6422.
- [37] JADHAV D A, JAIN S C, GHANGREKAR M M. Cow's urine as a yellow gold for bioelectricity generation in low cost clayware microbial fuel cell[J]. *Energy*, 2016, 113: 76-84.
- [38] PAREEK A, SRAVAN J S, MOHAN S V. Fabrication of three-dimensional graphene anode for augmenting performance in microbial fuel cells[J]. *Carbon Resources Conversion*, 2019, 2(2): 134-140.
- [39] XIANG C C, LI M, ZHI M J, et al. A reduced graphene oxide/Co₃O₄ composite for supercapacitor electrode[J]. *Journal of Power Sources*, 2013, 226: 65-70.
- [40] TAJPARAST M, GLAVINOVIĆ M I. Effect of ion concentration, solution and membrane permittivity on electric energy storage and capacitance[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, 2018, 1860(11): 2385-2403.
- [41] SHARMA M, ALVAREZ-GALLEGO Y, ACHOUAK W, et al. Electrode material properties for designing effective microbial electrosynthesis systems[J]. *Journal of Materials Chemistry A*, 2019, 7(42): 24420-24436.
- [42] BOINOVICH L B, GNEDENKOV S V, ALPYSBAEVA D A, et al. Corrosion resistance of composite coatings on low-carbon steel containing hydrophobic and superhydrophobic layers in combination with oxide sublayers[J]. *Corrosion Science*, 2012, 55: 238-245.
- [43] SALARI M, KONSTANTINOV K, LIU H K. Enhancement of the capacitance in TiO₂ nanotubes through controlled introduction of oxygen vacancies[J]. *Journal of Materials Chemistry*, 2011, 21(13): 5128.
- [44] TELIS V R N, TELIS-ROMERO J, MAZZOTTI H B, et al. Viscosity of aqueous carbohydrate solutions at different temperatures and concentrations[J]. *International Journal of Food Properties*, 2007, 10(1): 185-195.
- [45] KHARAT S J. Density, viscosity and ultrasonic velocity studies of aqueous solutions of sodium acetate at different temperatures[J]. *Journal of Molecular Liquids*, 2008, 140: 10-14.
- [46] YE D D, YANG Y, LI J, et al. Performance of a microfluidic microbial fuel cell based on graphite electrodes[J]. *International Journal of Hydrogen Energy*, 2013, 38(35): 15710-15715.
- [47] WANG J F, SONG X S, WANG Y H, et al. Nitrate removal and bioenergy production in constructed wetland coupled with microbial fuel cell: establishment of electrochemically active bacteria community on anode[J]. *Bioresource Technology*, 2016, 221: 358-365.
- [48] CHU N, ZHANG L X, HAO W, et al. Rechargeable microbial fuel cell based on bidirectional extracellular electron transfer[J]. *Bioresource Technology*, 2021, 329: 124887.
- [49] LV J H, TU M M, CHEN X Y, et al. Effect of potassium persulphate addition on sludge disintegration of a mesophilic anaerobic fermentation system[J]. *Environmental Technology*, 2020, 1: 1-14.
- [50] JABLONSKA M A, RYBARCZYK M K, LIEDER M. Electricity generation from rapeseed straw hydrolysates using microbial fuel cells[J]. *Bioresource Technology*, 2016, 208: 117-122.
- [51] TIAN T, QIAO S, YU C, et al. Bio-electrochemically assisting low-temperature anaerobic digestion of low-organic strength wastewater[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2018, 335: 657-664.

- [52] ZHANG J, GUO R B, QIU Y L, et al. Bioaugmentation with an acetate-type fermentation bacterium *Acetobacteroides hydrogenigenes* improves methane production from corn straw[J]. *Bioresource Technology*, 2015, 179: 306-313.
- [53] LI T, ZHOU Q X, ZHOU L A, et al. Acetate limitation selects *Geobacter* from mixed inoculum and reduces polysaccharide in electroactive biofilm[J]. *Water Research*, 2020, 177: 115776.
- [54] SCIARRIA T P, ARIOLI S, GARGARI G, et al. Monitoring microbial communities' dynamics during the start-up of microbial fuel cells by high-throughput screening techniques[J]. *Biotechnology Reports*, 2019, 21: e00310.
- [55] LI Y L, ZHANG B G, CHENG M, et al. Spontaneous arsenic (III) oxidation with bioelectricity generation in single-chamber microbial fuel cells[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2016, 306: 8-12.
- [56] SIMA W P, MA R X, YIN F X, et al. Prompt nitrogen removal by controlling the oxygen concentration in sediment microbial fuel cell systems: the electrons allocation and its microbial mechanism[J]. *Water Science and Technology*, 2020, 81(6): 1209-1220.
- [57] GAO Y H. Syntrophic interactions between anode-respiring bacteria and non-anode-respiring bacteria in microbial electrochemical cells[D]. Waterloo, Ontario, Canada: the University of Waterloo, 2015.
- [58] EKO S, ENDANG S S. Bioelectricity generation by biomass of ammonification bacteria consortia in a mediatorless microbial fuel cell (MFC)[J]. *International Journal of Environment and Bioenergy*, 2012, 3(1): 1-11.
- (责任编辑: 曲娜)

Electrochemical properties and microbial community structure of constructed wetland microbial fuel cell under different matrix carbon source

WANG Yian^{1,2}, ZHANG Xuehong^{1,2,3}, ZHENG Junjian³, ZHANG Yuanyuan³, LIN Hua^{1,2,*}

1. College of Environmental Science and Engineering, Guilin University of Technology, Guilin 541000, China

2. Guangxi Collaborative Innovation Center for Water Pollution Control and Water Safety in Karst Areas, Guilin University of Technology, Guilin 541000, China

3. College of Life and Environmental Science, Guilin University of Electronic Technology, Guilin 541000, China

*Corresponding author, E-mail: linhua5894@163.com

Abstract For revealing the electricity generation and other characteristics of downflow constructed wetland microbial fuel cell(CW-MFC), it is needed to identify the electricity generation voltage, output power density, electrochemical performance, microbial community structure and FAPROTAX prediction result of downflow CW-MFC. In this study, the electrochemical properties and microbial community structure of downflow CW-MFC under the matrix carbon source of glucose(S.G.) and sodium acetate(S.S.) were compared. The results indicates that the electricity generation voltage of S.S. could reach 483 mV, and the maximum power density was $48.14 \text{ mW} \cdot \text{m}^{-2}$, which was higher than S.G. ($42.61 \text{ mW} \cdot \text{m}^{-2}$). The COD removal rate of S.S. was 5% higher than that of S.G. (70.1%). Electrochemical performance indicates that the S.S. had a faster electron transferability compared with S.G. The charge transfer resistance of S.S. (45.2Ω) was lower than that of S.G. (197Ω). Compared with S.G. based CW-MFC, a decreased abundance of *Clostridium_sensu_stricto_1* and *Pseudomonas*, and accompanied by an increase of *Acinetobacter*, *Acetobacteroides*, *Lactococcus* and *Geobacter* occurred in the S.S. based CW-MFC. The relative abundance of bacteria associated with electricity generation in S.S. was higher than that in S.G., which was found by the results of FAPROTAX prediction. The potential of sodium acetate as matrix carbon source for CW-MFC was confirmed. At the same time, this study can provide a reference for the follow-up research on the electricity generation and polluted water treatment by this designed downflow CW-MFC system.

Keywords downflow; constructed wetland microbial fuel cell; electrochemical performance; microbial community