

Katarzyna Markowska<sup>1\*</sup>, Anna Maria Grudniak<sup>1</sup>, Krystyna Izabella Wolska<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Zakład Genetyki Bakterii, Instytut Mikrobiologii, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski, Warszawa

Wpłynęło w czerwcu 2012 r.

1. Wstęp. 2. Zasada działania i rodzaje MFC. 3. Mikroorganizmy wytwarzające elektryczność. 4. Transfer elektronów na anodę. 5. Wydajność pracy MFC. 6. Optymalizacja pracy ogniwa. 7. Wykorzystanie ogniwi mikrobiologicznych. 8. Podsumowanie

### Microbial fuel cells: rationale, limitations and potential applications of the technology

**Abstract:** Microbial fuel cells (MFC) are devices which use electrochemically active microorganisms to generate an electrical current from a wide range of substrates. Because of the promise of sustainable energy production from organic wastes and wastewaters, this technology is of interest to many scientists. This article describes the rationale and limitations of this technology. The performance of MFC depends on a complex system of parameters. Apart from technical variables like the fuel cell design, mechanisms of the bioelectrochemical energy conversion decisively determine the MFC power and energy output. Current limitations make this technology inefficient in electricity generation. Therefore some researchers focus on the ability of electrochemically active microorganisms to degrade wastes and toxic chemicals as their greatest value. Still continuous efforts are exerted to optimize performance. This article presents the most interesting current and potential applications of microbial fuel cells are highlighted.

1. Introduction. 2. The principle of operation and types of MFC. 3. Microorganisms that produce electricity. 4. Electron transfer to the anode. 5. MFC work efficiency. 6. Optimization of the fuel cells. 7. Application of MFC. 8. Summary

**Słowa kluczowe:** elektryczność, mikrobiologiczne ogniwo paliwowe (MFC), mikroorganizmy aktywne elektrochemicznie, zewnątrzkomórkowy transfer elektronów

**Key words:** electricity, electrochemically active microorganisms, extracellular electron transfer, microbial fuel cell (MFC)

## 1. Wstęp

W obliczu wciąż wzrastającego zapotrzebowania na energię elektryczną i szybko zmniejszających się zasobów paliw kopalnych, wyzwaniem dla ludzkości staje się konieczność poszukiwania źródeł energii, które są zarówno neutralne wobec efektu cieplarnianego, jak i odnawialne. Od wielu lat obserwuje się wzmożone zainteresowanie badaczy rozwiązaniem, które umożliwia pozyskanie zarówno energii jak i surowców z odpadów ciekłych na drodze biokonwersji. Takim rozwiązaniem mogą być mikrobiologiczne ogniwa paliwowe (MFC, *Microbial Fuel Cells*), które pozwalają na bezpośrednią produkcję energii z surowców biodegradowalnych, zazwyczaj zredukowanych, z wykorzystaniem komórek bakterii lub grzybów [56]. Jak wiadomo, w ściekach zgromadzona jest energia w ilości dziewięciokrotnie przekraczającej tę potrzebną do ich utylizacji metodami konwencjonalnymi, a ogniwa mikrobiologiczne są właśnie technologią umożliwiającą wykorzystanie tego potencjału [15].

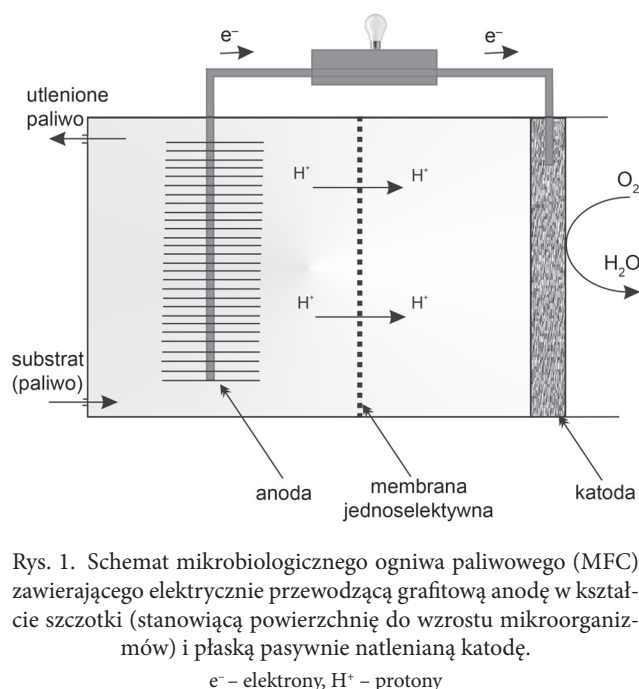
Pomysł zastosowania mikroorganizmów jako biokatalizatorów w ogniwach paliwowych nie jest nowy, datuje się go na ponad 100 lat, a badania w tej dziedzinie prowadzono już stosunkowo intensywnie w latach

60-tych i 70-tych ubiegłego wieku [16, 40]. Sądzono wówczas, że do wydajnej produkcji energii elektrycznej przy pomocy MFC niezbędny jest dodatek kosztownych egzogennych mediatorów. Jednakże w 1999 roku K i m i wsp. skonstruowali ogniwo, w którym energia generowana była przez naturalnie istniejące konsorcjum bakterii bez udziału zewnętrznych mediatorów [29]. Uzyskane rezultaty spowodowały ponowne zainteresowanie się naukowców tym tematem, zwłaszcza w obliczu konieczności poszukiwania alternatywnych źródeł energii odnawialnej. Mikrobiologiczne ogniwa paliwowe są obecnie traktowane jako obiecująca technologia umożliwiająca pozyskiwanie energii elektrycznej [41].

## 2. Zasada działania i rodzaje MFC

W ogniwach mikrobiologicznych to mikroorganizmy przekształcają materię organiczną w elektryczność. Wydaje się, że do produkcji energii może być tu wykorzystane każde biodegradowalne źródło materii organicznej, począwszy od czystych związków (np. octan, glukoza, cysteina, etanol), a skończywszy na mieszaninach związków organicznych, włączając w to ciekłe odpady komunalne i zwierzęce, odcieki ze składowisk

\* Autor korespondencyjny: Zakład Genetyki Bakterii, Instytut Mikrobiologii, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski, ul. Ilji Miecznikowa 1, 02-096 Warszawa; tel.: +48-554-14-23; fax.: +48-554-14-04; kgrzes@biol.uw.edu.pl



Rys. 1. Schemat mikrobiologicznego ogniwa paliwowego (MFC) zawierającego elektrycznie przewodzącą grafitową anodę w kształcie szczotki (stanowiącą powierzchnię do wzrostu mikroorganizmów) i płaską pasywnie natlenianą katodę.

$e^-$  - elektrony,  $H^+$  - protony

czy ciekłe odpady pochodzenia rolniczego i przemysłowego [37, 73]. Substraty szeroko stosowane w MFC zostały wymienione w pracy przeglądowej przez P a n t a i wsp. [48]. To dzięki zdolności mikroorganizmów do wykorzystywania różnych źródeł materii organicznej MFC wydają się być idealną technologią do produkcji energii z biomasy [34].

Mikrobiologiczne ogniwo paliwowe składa się zazwyczaj z dwóch przedziałów: anodowego oraz katodowego, oddzielonych od siebie półprzepuszczalną membraną wymiany protonów (PEM; *Proton Exchange Membrane*), co zapewnia beztlenowe warunki w przedziale anodowym [78]. Schemat ogniwa przedstawiono na rys. 1. Zasada działania najprostszego MFC opiera się na przekształceniu energii chemicznej zawartej w związkach organicznych bezpośrednio w energię elektryczną. Jest to możliwe dzięki utlenieniu materii organicznej przez znajdujące się w przedziale anodowym komórki mikroorganizmów (pełnią one rolę swoistych biokatalizatorów) i przekazaniu elektronów na znajdującą się w pobliżu elektrodę z jednoczesnym uwolnieniem protonów do roztworu. Proces ten zachodzi w warunkach beztlenowych. Uwolnione elektrony przemieszczają się następnie w kierunku katody poprzez zewnętrzny obwód elektryczny, co w sytuacji występowania różnicy potencjałów między anodą i katodą, powoduje wytworzenie prądu. Równocześnie protony powstałe na anodzie migrują przez półprzepuszczalną membranę do natlenianej katody. Na katodzie ma miejsce chemiczny lub mikrobiologiczny proces redukcji, gdzie protony w połączeniu z elektronami i tlenem tworzą wodę [33, 73].

Ogniwo dwukomorowe było pierwszym, najprostszym modelem MFC, lecz ogniwa mikrobiologiczne

mogą funkcjonować także w innych konfiguracjach. Ze względu na konieczność napowietrzania roztworu w przedziale katodowym w celu dostarczenia tlenu do reakcji redukcji, rozpoczęto modyfikacje tego podstawowego modelu. Zmiany miały na celu głównie obniżenie kosztów procesu oraz zwiększenie wydajności pracy MFC. Skonstruowano m.in. ogniwa jednokomorowe, w których zrezygnowano z membrany oddzielającej obie elektrody, a katoda miała stały bezpośredni kontakt z powietrzem [32, 33]. Proponowano także ogniwa o konfiguracji płaskiej [41], cylindrycznej, tubularnej [53] czy zgrupowane w układy pozwalające na wydajną ciągłą pracę tych bioreaktorów [3]. Wprowadzane różnice dotyczyły również sposobu zasilania ogniwa paliwem, np. substrat dozowano do przedziału anodowego partiami bądź przepływał przez system w sposób ciągły [40]. Z kolei w układach osadowych otwartych wykorzystano kombinację elektrod do pozyskania energii służącej do zasilania urządzeń telemetrycznych na dnie morza czy oceanu [57]. Poza powyższym, proponuje się obecnie także inne podziały ogniwa mikrobiologicznych, np. na trzy główne typy MFC: fotoautotroficzne, heterotroficzne i osadowe [55]. W innym przypadku systematyka uwzględnia m.in. sposób transportu elektronów z komórek mikroorganizmów do anody [66].

### 3. Mikroorganizmy wytwarzające elektryczność

Produkcja energii w ogniwie jest możliwa dzięki mikroorganizmom, głównie bakteriom, które po utlenieniu substratu do dwutlenku węgla z jednoczesnym uwolnieniem protonów i elektronów, są zdolne do transportu tych ostatnich na zewnątrz komórki. Część gatunków dodatkowo zamiast transportować elektrony na egzogenny akceptor, przekazuje je bezpośrednio na anodę. Takie zjawisko nazwano elektrogenezą, a grupy elektrochemicznie aktywne mikroorganizmów [13] zdolnych do przeprowadzania tego procesu to egzoelektrogeny [35, 37] elektrogeny [9] czy elektricigeny [39, 60].

Źródłem pozyskania organizmów do MFC są zwykle bogate w mikroorganizmy osady dennie, próbki gleby czy ścieków [3, 31, 62]. Ponadto często wykorzystuje się próby uprzednio aktywowanych osadów pochodzących z procesów oczyszczania ścieków przez rośliny czy z innego wcześniej działającego MFC [49, 50, 68, 80]. Zważywszy na stosowany różnorodny rodzaj *inoculum*, w przedziale anodowym odnajduje się przedstawiciele różnych gatunków mikroorganizmów. Poza licznymi niezidentyfikowanymi organizmami, są wśród nich bakterie należące do klas: *Alfaproteobacteria*, *Betaproteobacteria*, *Gammaproteobacteria*, *Deltaproteobacteria*, *Clostridia*, *Bacteroidetes*, *Flavobacteria*, *Sphingobacteria*, *Deferribacteres*, *Spirochaetes*, *Planctomycetes*, *Nitrospirales* ale również grzyby, np. z rodzaju *Saccharomyces*

czy *Pichia* [14, 31, 43, 52]. Niewątpliwie właśnie bakterie są wykorzystywane właściwie we wszystkich bieżących MFC [63].

O zróżnicowaniu społeczności mikroorganizmów w obrębie MFC decyduje nie tylko pochodzenie próbki stanowiącej *inoculum*, ale także rodzaj paliwa stosowanego do zasilania ogniwa, obecność mediatorów redoks czy warunków tlenowych w bioreaktorze [63]. Aby uniknąć konkurencji tlenu z przenośnikami elektronów (mediatorami), anoda w większości MFC powinna być umiejscowiona w warunkach beztlenowych [14]. W systemach generujących energię w obecności ściśle beztlenowych warunków, *Geobacter* sp., stanowią ponad 70% wszystkich mikroorganizmów obecnych na powierzchni anody, dlatego początkowo podejrzewano, że ten rodzaj bakterii odgrywa główną rolę w generowaniu energii. Jednak w innych MFC, gdzie reaktor pozwala na przeciek tlenu do przedziału anodowego, dominują organizmy bardziej tolerancyjne w stosunku do tlenu [40]. W większości przypadków w społecznościach mikroorganizmów przeważają przedstawiciele Gram-ujemnych gatunków bakterii należących do typu *Proteobacteria*, chociaż skład gatunkowy i ilość przedstawicieli należących do poszczególnych klas w obrębie tej grupy filogenetycznej zmienia się w zależności od rodzaju *inoculum* wykorzystanego w ogniwie, czy też materiału z którego została wykonana anoda [31, 69]. Skład konsorcjum na anodzie może ponadto zależeć od rodzaju zastosowanej katody (jej modyfikacji) oraz czasu działania ogniwa [80]. Należy też zaznaczyć, że czynnikiem różnicującym skład bioanody jest nie tylko rodzaj, ale także sposób dostarczania substratu do ogniwa. MFC działające w trybie dozowanym lub przepływowym różnią się nie tylko występującymi mikroorganizmami, ale również preferowanymi mechanizmami transferu elektronów na anodę, np. w systemie dozowanym obserwuje się selekcję w kierunku mikroorganizmów produkujących związki funkcjonujące jako mediatory. To rozwiązanie z kolei wydaje się mieć mniejsze znaczenie dla produkcji energii w systemach przepływowych, gdzie mamy do czynienia z częstą wymianą płynów wokół anody [40]. Zastanawiający jest jednocześnie fakt, że chociaż wiele różnych gatunków mikroorganizmów jest zdolnych do produkcji energii w MFC, gdy funkcjonują w ogniwie jako czyste kultury generują jedynie niskie napięcie [34]. Przeprowadzone ostatnio badania dowiodły, że wzbogacenie bioanody z *Geobacter sulfurreducens* w kulturę bakterii nieaktywnej elektrochemicznie (*Escherichia coli*) usprawniło działanie systemu i zwiększyło ilość generowanej energii w stosunku do czystej kultury elektricigenu *G. sulfurreducens*. Prawdopodobną przyczynę tego zjawiska upatruje się w redukowaniu przez *E. coli* tlenu w przedziale anodowym, przy czym obecność gazu w pobliżu bioanody była spowodowana przeciekiem z przedziału katodowego [47]. Z tego powodu postu-

luje się istotną rolę konsorcjów, tj. całych społeczności mikroorganizmów, elektrochemicznie aktywnych, na wydajność działania MFC [50].

Badania prowadzone w latach 90-tych ubiegłego stulecia sugerowały, że immobilizacja komórek bakterii na powierzchni elektrody zwiększa wydajność transportu elektronów pomiędzy komórką bakterii a elektrodą. Dzięki temu możliwe było utworzenie stabilnej bioanody zdolnej do wytwarzania mocy nawet przez kilka dni [1]. Obecnie projektuje się MFC, w których bakterie rosną na powierzchni anody w postaci biofilmu [7, 53]. Wykazano, że struktura ta jest kluczowa dla transferu elektronów z powierzchni komórki na anodę, co jak wiadomo jest podstawą funkcjonowania samego ogniwa, ponieważ wzrost bakterii w postaci biofilmu umożliwia bezpośredni kontakt komórek elektricigenów z powierzchnią elektrody [82]. Biofilmy tworzone na anodzie są wielogatunkowymi skupiskami mikroorganizmów o zróżnicowanej strukturze przestrzennej. Dowiedzono, że grubość tych struktur nie jest stała, a w zależności od rodzaju dostarczanego do ogniwa substratu, zaobserwowano nie tylko różnice w strukturze i składzie gatunkowym biofilmów, ale również zmiany kształtu tworzących je komórek bakterii [79, 82]. Jednak mała ilość badań poruszających to zagadnienie nie pozwala na dokładniejsze jego zgłębienie.

Jak do tej pory najwyższe wartości mocy generują MFC z wielogatunkową bioanodą, gdzie mikroorganizmy rosną w postaci biofilmu [61]. Mieszane kultury albo konsorcja mikroorganizmów wydają się być solidne i bardziej wydajne niż pojedyncze szczepy, a ich izolacja ze źródeł naturalnych jest dużo łatwiejsza. Stosowanie czystych kultur ma z kolei pewne ograniczenia techniczne, głównie ze względu na konieczność zapewnienia warunków sterylnych i wysokie koszty procesu [49]. Próby produkcji energii w mikrobiologicznych ogniwach paliwowych prowadzi się także z wykorzystaniem monokultur bakterii, np. elektricigenów nie wymagających dodatku egzogennej mediatorów tj. *Geobacter* sp. czy *Shewanella* sp. [8, 59]. Badania tych bakterii redukujących związki żelaza lub manganu (*Deltaproteobacteria*) nie tylko pozwoliły na scharakteryzowanie wspomnianej grupy mikroorganizmów aktywnych elektrochemicznie, ale również dostarczyły ważnych informacji o sposobach elektrotransferu, który bezpośrednio wpływa na wydajność pracy MFC [18, 82]. Jak dotąd dowiedziono, że czyste kultury *Geobacteraceae* są zdolne do pozyskiwania energii niezbędnej do wzrostu przez całkowite utlenianie octanu i innych związków organicznych do CO<sub>2</sub> z jednoczesnym wykorzystaniem elektrody jako akceptora elektronów. W tym przypadku zdolność *Geobacteraceae* do produkcji elektryczności jest prawdopodobnie związana ze zdolnością bakterii do transferu elektronów na tlenki żelaza (III) i manganu (IV), znajdujące się na zewnątrz komórki, które są

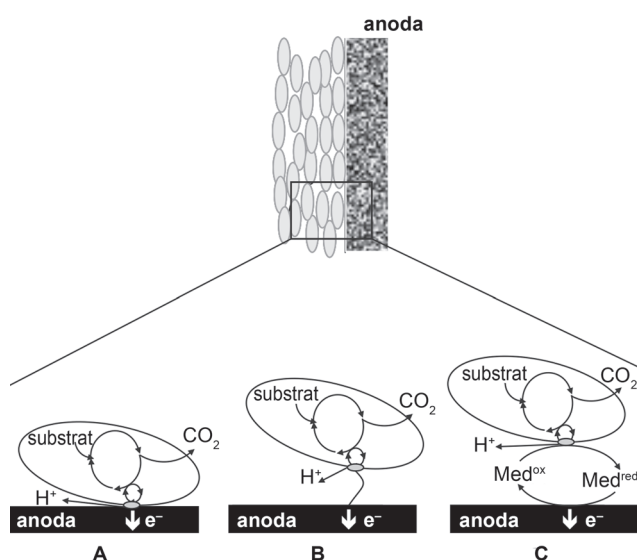
nierozpuszczalnymi zewnątrzkomórkowymi akceptorami elektronów [7]. Wyniki badań ekspresji genów *Geobacter sulfurreducens*, wykazały, że wiele spośród białek biorących udział w transferze elektronów na zewnętrzne akceptory (np. cytochromy OmcB, OmcS i OmcE) jest także zaangażowane w elektrotransfer na anodę [18, 21], co wykazało, że elektricigeny wykorzystują elektrochemicznie aktywne enzymy redoks. Odkrycie u *Shewanella* sp. charakterystycznych pili, wykazało jednak, że nie jest to jedyny wykorzystywany sposób transportu elektronów [19, 59]. Co więcej, *Shewanella oneidensis* produkuje dodatkowo flawiny, funkcjonujące jako przenośniki elektronów, a to wskazuje na wykorzystywanie wielu dróg elektrotransferu przez ten gatunek bakterii [10]. Wszystkie poznane jak dotąd sposoby przekazywania elektronów na elektrodę zostaną dokładniej przedstawione w kolejnym rozdziale.

#### 4. Transfer elektronów na anodę

Podstawa procesu generowania prądu przez ogniwo leży w naturze mikroorganizmów, które przekazują elektrony ze zredukowanego donora elektronów, o niskim potencjale elektrochemicznym, na akceptor, o wyższym potencjale, jak np. tlen [76]. Elektrony generowane przez bakterie w procesach katabolicznych, przechowywane są w komórkach bakterii w formie intermedatów, jak np. NADH. Mediatory redoks obecne w roztworze dyfundują do wnętrza komórek mikroorganizmów, gdzie konkurują z tlenem w utlenianiu części spośród tych elektronów a następnie dyfundują do zewnętrznych osłon komórkowych, skąd mogą być przekazane na zewnątrzkomórkowy akceptor elektronów [14]. W przedziale anodowym MFC nie ma jednak tlenu, a obecność elektrody determinuje w pewien sposób metabolizm bakterii [2]. W sytuacji, gdy anoda ma wyższy potencjał niż inne dostępne dla bakterii akceptory elektronów, np. siarczki obecne w dostarczonym źródle materii organicznej, to właśnie ona jest preferowanym akceptorem elektronów. Zysk energetyczny bakterii w przypadku przekazania elektronów na anodę jest wyższy, a taka sytuacja determinuje metabolizm bakterii w kierunku elektrogeny [56]. Wiadomo jednak, że niektóre mikroorganizmy obecne w przedziale anodowym, w warunkach beztlenowych, prowadzą alternatywny metabolizm, tj. fermentację, metanogenezę lub wykorzystują alternatywne akceptory elektronów, które nie prowadzą do produkcji energii [82].

Transfer elektronów pomiędzy komórką bakterii a elektrodą może odbywać się na cztery sposoby. (i) Bezpośrednio (rys. 2A), co ma miejsce w sytuacji, gdy centra aktywne enzymów błonowych, np. wspomnianych cytochromów, znajdują się w bezpośrednim kontakcie z anodą (DET, *Direct Electron Transfer*). W tym przypadku tempo transferu elektronów może być bardzo

niskie ze względu na odizolowanie miejsca aktywnego enzymu od powierzchni elektrody, spowodowane jego lokalizacją wewnątrz cząsteczki białka lub zakotwiczeniem enzymu głęboko w osłonach bakteryjnych [64]. Enzymy redoks niektórych gatunków egzoelektrogenów zaangażowane w transfer elektronów na anodę mogą być jednak zlokalizowane na powierzchni osłon mikroorganizmu, a ich centra aktywne obecne w zewnętrznych partiach cząsteczek białkowych, umożliwiając tym samym bezpośredni ich kontakt z podłożem albo elektrodą [59]. W takich okolicznościach (np. u *G. sulfurreducens*) obserwuje się transfer elektronów na stosunkowo wysokim poziomie [18]. (ii) Transport bezpośredni może odbywać się także z wykorzystaniem pili określanych także jako nanodruły (*nanowires*) (rys. 2B). Są to fibrylarne struktury białkowe o długości 2–3  $\mu\text{m}$ , po raz pierwszy opisane u *S. oneidensis* MR-1, a występujące u nielicznych gatunków bakterii, które prawdopodobnie ułatwiają transfer elektronów przez stabilizowanie kontaktu bakterii z powierzchnią rudy tlenku metalu czy, w przypadku MFC, z elektrodą. Co ważne, są one dobrymi przewodnikami i sugeruje się, że mogą pośredniczyć także w kontakcie między komórkami bakterii [59, 62]. (iii) Pośrednio (rys. 2C) elektrony są transportowane z udziałem mediatorów (MET, *Mediated Electron Transfer*). W tym przypadku obserwuje się znacznie wyższe tempo niż dla bezpośredniego transferu, co umożliwia dodanie wcześniej (egzogenne) lub naturalnie występujące tj. wytwarzane przez bakterie, mediatorów redoks. Są to stabilne, występujące w dwóch stanach (zredukowanym lub utlenio-



Rys. 2. Biofilm na powierzchni anody. Schematycznie przedstawiono komórki mikroorganizmów i sposoby transferu elektronów na pobliską elektrodę: bezpośredni z wykorzystaniem enzymów błonowych (A), transport przez przewodność elektryczność nanodruły (B), pośredni z użyciem mediatorów (C).

$\text{Med}^{\text{ox}}$  – mediator w stanie utlenionym,  $\text{Med}^{\text{red}}$  – mediator w stanie zredukowanym,  $e^-$  – elektrony,  $\text{H}^+$  – protony

nym) związki niskocząsteczkowe, które mogą szybko dyfundować przez kanały enzymatyczne, a przez to efektywnie transportować elektrony z miejsca aktywnego enzymu do powierzchni elektrody. Zastosowanie egzogennych mediatorów (np. naturalnej czerwieni czy 1,4-naftochinonu) stwarza problemy, gdyż dodanie do roztworu rozpuszczalnych substancji w procesie oczyszczania wody (z czym wiąże się potencjalne zastosowanie MFC) jest niezgodne z założonym pierwotnie celem i znacznie podnosi koszty procesu [51]. Dlatego dużo większe znaczenie aplikacyjne ma transfer pośredni poprzez przenośniki wytwarzane przez same elektrochemicznie aktywne bakterie. Wykazano, że obecność cząsteczek przenośników wzmacnia transfer w obrębie wielowarstwowych biofilmów na anodzie [62]. (iv) Innym mechanizmem jest bezpośrednie utlenianie na anodzie produktów metabolizmu eksportowanych przez mikroorganizmy [62]. W tym procesie przeprowadzonym na powierzchni anody bakterie mogą wykorzystywać zarówno produkty metabolizmu pierwotnego, jak i wtórnego. Szerzej to zagadnienie opisali *Herandez i Newman* [20]. Zanotowano w tym przypadku możliwość uzyskania wysokiego napięcia w MFC, jednak w procesie powstają także produkty bez znaczenia elektrochemicznego, co wpływa negatywnie na wydajność pracy ogniwa, obniżając jego sprawność kulombowską [64] (to zagadnienie będzie wyjaśnione w rozdziale poświęconym wydajności MFC)

Gdy organizmy rosną na powierzchni anody w formie biofilmu, tylko nieliczne komórki mają możliwość bezpośredniego kontaktu z elektrodą i to właśnie one mogą transportować elektrony w sposób bezpośredni. Z drugiej strony, wiadomo, że w biofilmach monokulturowych (np. *G. sulfurreducens*) wszystkie komórki pozostają metabolicznie aktywne i współuczestniczą w generowaniu napięcia [18]. W wielowarstwowych strukturach biofilmów, które przekraczają niekiedy nawet 50  $\mu\text{m}$ , większość komórek mikroorganizmów może zatem kontaktować się z anodą jedynie za pośrednictwem innych komórek. Z tego wynika, że większość organizmów przekazuje elektrony w kierunku elektrody przez nanodrudty, a transport ten może być również usprawniany przez mobilne cząsteczki mediatorów obecne w macierzy zewnątrzkomórkowej w biofilmu [56].

## 5. Wydajność pracy MFC

Wydajność pracy ogniw mikrobiologicznych jest kluczowym zagadnieniem w kontekście wykorzystania ich jako konkurencyjnej technologii do produkcji odnawialnej energii elektrycznej. Dlatego głównym wyzwaniem badaczy jest utworzenie takiego ogniwa, które generowałoby dużą ilość mocy przy zasilaniu odpadami przemysłowymi. Najczęściej ilość wytwarzanej przez MFC

energii elektrycznej podawana jest w postaci mW lub mA w przeliczeniu na metr kwadratowy powierzchni użytej w ogniwie anody [56]. Natomiast wydajność pracy ogniwa charakteryzuje się za pomocą różnych parametrów takich jak: sprawność kolumbowska, określająca liczbę transportowanych elektronów w stosunku do liczby elektronów teoretycznie generowanych przez substrat, czy tempo biokonwersji substratu [3]. Często wykorzystywany jest także parametr biologiczny jakim jest chemiczne zapotrzebowanie na tlen (COD, *Chemical Oxygen Demand*), który zależy zarówno od ilości komórek bakteryjnych, jak i kinetyki procesów przeprowadzanych przez bakterie, czy dostępności biomasy organicznej w dostarczonym paliwie [54].

W latach 90-tych ubiegłego stulecia, wykorzystywane dotychczas systemy były w stanie generować jedynie prąd o bardzo niskiej mocy, tj. poniżej 0,1 mW/m<sup>2</sup> [29]. Niskie wartości były w głównej mierze konsekwencją organizacji ogniwa, elektrod, jak również oporu wewnętrznego ogniwa [1]. Późniejsze, nieustanne udoskonalenia tej technologii pozwoliły na osiągnięcie mocy 1500 mW/m<sup>2</sup> [37] czy nawet 5850 mW/m<sup>2</sup> [62]. Oczywiście należy podkreślić, że te wartości uzyskano w ogniwach zasilanych czystymi jednorodnymi substratami jak glukoza czy octan (mającymi symulować substancje organiczne zawarte w odpadach ciekłych). W przypadku ogniw wykorzystujących jako paliwo mieszaninę związków organicznych, tj. prawdziwe ścieki, gdzie zawartość biomasy organicznej jest z reguły dużo mniejsza, uzyskuje się niestety dużo niższe wartości (od 0,26 do 0,45 W/m<sup>2</sup>) [15, 76]. Sprawność kolumbowska ogniw projektowanych na potrzeby laboratoryjne wykorzystujących czysty substrat wynosi nawet 80–99%, jednak parametr ten dla ogniw przetwarzających np. ścieki browarnicze jest już na czterokrotnie niższym poziomie [76]. Wiadomo, że aby uzyskać maksymalną teoretyczną ilość energii w ogniwie, dostarczany substrat musi ulec całkowitemu utlenieniu do CO<sub>2</sub> przy jednoczesnym efektywnym transporcie elektronów na elektrodę. Zważywszy na ten pierwszy warunek i niejednorodny skład odpadów dostarczanych do MFC, uzyskanie wysokiej sprawności ogniwa wydaje się bardzo trudne. Z kolei typowe wartości COD uzyskiwane w MFC oscylują między 40 a 60% usuniętego COD, przy czym w MFC zasilanych glukozą uzyskano nawet 90% [61, 72]. Pomimo licznych starań w dalszym ciągu nie udało się otrzymać napięcia elektrycznego w wysokości odpowiadającej teoretycznej maksymalnej wydajności pracy pojedynczego ogniwa (tj. 1,14V). Jak dotąd pojedyncze ogniwo jest w stanie generować jedynie od 0,3 do 0,7 V [80, 81]. Dlatego też wciąż toczy się debata nad wydajnością technologii MFC i prowadzi się ciągle próby jej usprawniania. Niewątpliwym celem jest bowiem stworzenie takiego ogniwa, które wytwarza jak najwyższą ilość energii przy jak najniższym wkładzie energetycznym [26].

Istnieje wiele parametrów zarówno biologicznych, fizycznych, jak i chemicznych, które mają wpływ na wydajność pracy MFC. Parametry dotyczą m.in. szybkości transferu masy w obrębie biofilmu, procesu utleniania substratu, który przeprowadzany jest przez mikroorganizmy, transferu elektronów oraz reakcji redukcji zachodzącej na katodzie. Jednakże to zagadnienie transferu elektronów i aktywności biologicznej mikroorganizmów jest najczęściej poruszane spośród wszystkich tych problemów [51].

O ilości generowanej przez ogniwo mocy decyduje przede wszystkim rodzaj i gęstość komórek współtworzących konsorcjum bioanody [75]. Na jego aktywność z kolei, w przypadku elektricigenów, mogą wpływać zmiany ilości związanych z błoną transporterów elektronów w pojedynczych komórkach [18]. Natomiast tempo procesu biokonwersji przeprowadzanego przez mikroorganizmy zależy od temperatury i pH panujących w ogniwie. Wśród zalet MFC upatruje się wprawdzie możliwość funkcjonowania w temperaturach niskich (tj. 20–30°C) w porównaniu z alternatywnymi metodami biokonwersji (np. oddychaniem beztlenowym), jednakże te właśnie niskie temperatury traktowane są niekiedy jako czynnik limitujący [76]. Ważnym parametrem jest również pH roztworu, co ma szczególne znaczenie w przypadku bezpośredniego kontaktu bioanody z dostarczonym substratem. Gdy paliwem są ścieki, bardzo trudno jest zapewnić stałe pH optymalne dla rozwoju mikroorganizmów. Z drugiej strony utlenianie substancji organicznych zawartych w dostarczonym substracie, jak już wspomniano, generuje protony, które teoretycznie są transportowane do przedziału katodowego. Zauważono jednak, że transport ten może być utrudniony, co prowadzi do zakwaszenia roztworu wypełniającego przedział anodowy [51], a to z kolei obniża aktywność biologiczną mikroorganizmów i objawia się zmniejszeniem ilości generowanej w ogniwie energii. Obecność protonów przede wszystkim negatywnie wpływa na proces elektrochemicznego utleniania rozpuszczonego w roztworze mediatora redoks, po wtóre grubość biofilmu tworzonego przez neutrofile pod wpływem szybkiego obniżenia pH może ulec zmniejszeniu [51].

Nie można pominąć także znaczenia jakości substratu na uzyskiwaną wydajność MFC. Teoretycznie im bardziej zredukowany związek jest wykorzystywany tej roli, tym większą moc można uzyskać, wiadomo bowiem, iż dużo mniejszą ilość energii elektrycznej generują ogniwa zasilane odpadami ciekłymi w porównaniu z tymi, do których dostarczane są czyste substraty. Zaobserwowano jednocześnie wzrost wydajności procesu po wzbogaceniu ścieków w octan. Okazuje się bowiem, że ilość generowanej przez MFC mocy rośnie wraz ze wzrostem w ściekach frakcji szybko biodegradowalnej. Na sprawność kolumbowską ma wpływ również obecność chemikaliów jakie znajdują się w odpadach ciekłych

[41], stąd ponownie obserwuje się obniżenie wydajności pracy ogniwa zasilanego przez ścieki przemysłowe zawierające duże ilości tego typu związków w porównaniu z czystym substratem. O efektywności ogniwa decyduje także sposób jego zasilania. Pomijając fakt konieczności przestojów w pracy MFC, w przypadku tych zasilanych przez dozowanie, możliwy jest wzrost organizmów wytwarzających rozpuszczalne mediatory redoks. Z drugiej strony ogniwa pracujące ciągle, stale zasilane substratem, sprzyjają rozwijaniu się gatunków rosnących w postaci biofilmu, które mogą transportować elektrony bezpośrednio na elektrodę [56]. Duże znaczenie dla wysokiej wydajności procesu mają także czynniki związane z budową ogniwa, takie jak stosunek powierzchni obu elektrod i odległość między nimi oraz materiał, z którego je wykonano, czy też wielkość samego reaktora i tryb jego pracy [38, 44, 72]. Membrana jonoselektywna, jako jedna z najważniejszych części składowych ogniwa, decyduje o sprawnym transporcie protonów w kierunku katody, a zbyt mała jej powierzchnia może być czynnikiem ograniczającym szybkość zachodzących w ogniwie reakcji [11, 45]. Wśród naukowców trwa nawet dyskusja dotycząca konieczności jej stosowania, są bowiem zwolennicy konstruowania dużo tańszych ogniw pozbawionych PEM [70, 72].

Ilość generowanej w MFC mocy w dużym stopniu zależy również od stężenia tlenu w przedziale katodowym, a reakcja redukcji zachodząca na katodzie może być czynnikiem limitującym jego działanie. Słaby kontakt między źródłem dostępu tlenu i elektrodą ograniczają tempo procesu [26]. Z drugiej strony, przedostawanie się tlenu do przedziału anodowego, może powodować redukcję ilości generowanej elektryczności z uwagi na beztlenowy metabolizm mikroorganizmów elektrochemicznie aktywnych. Dla zapewnienia stałego wysokiego tempa reakcji na elektrodzie, ewentualny przeciek należy więc ograniczać. Istotnym parametrem jest też kinetyka reakcji redukcji, której przebieg można regulować przez dodatek katalizatorów [76]. W wykorzystywaniu MFC na skalę przemysłową przeszkadza obecny w ogniwie opór wewnętrzny. Konieczne wydają się być modyfikacje ich budowy, które pozwoliłyby na zniwelowanie tego problemu. Zwiększanie rozmiarów ogniwa powoduje, że jego opór wewnętrzny pozostaje co najmniej na takim samym poziomie, przy czym napięcie przepływające przez system zwiększa je i generuje potencjalne straty energii. Ta sytuacja stanowi wciąż znaczące ograniczenie dla zwiększania rozmiarów MFC [41].

## 6. Optymalizacja pracy ogniwa

Próby optymalizacji procesu prowadzi się na różne sposoby, np. poszukuje się lepszych i tańszych materiałów tworzących membrany jonoselektywne, optyma-

lizuje się transfer masy w ogniwie, czy projektuje się nowe katody. Nowe rozwiązania prowadzą nie tylko do zmniejszenia kosztów produkcji MFC ale też uproszczenia konstrukcji i zwiększenia wydajności ich pracy. Problematiczne próby powiększania rozmiarów ogniw, doprowadziły konstruktorów do stworzenia złożonych układów MFC, dających szansę na zastosowanie ogniw mikrobiologicznych na dużą skalę.

Już wielokrotnie próbowano uzyskać większą ilość energii poprzez modyfikacje elektrod. Zmieniało m.in. rozmiary i kształt anody, a najlepsze efekty uzyskiwano stosując tę elektrodę w kształcie szczotki, zapewniającą zwiększenie porowatości i powierzchni dostępnej dla organizmów elektrochemicznie aktywnych [75]. Jak już wspomniano, zwiększanie powierzchni anody umożliwiającej wzrost bakterii w postaci biofilmu prowadzi do wzmożonej produkcji energii przez MFC [82]. Ostatnie badania wskazują, że można w ten sposób uzyskać poprawę wydajności pracy ogniwa nawet o 150% [68]. Prowadzi się także próby zastosowania różnorodnych materiałów do budowy ogniw, nie tylko tańszych, ale również biokompatybilnych i stabilnych chemicznie. Nie wszystkie z nich charakteryzują się tak dobrym przewodnictwem elektrycznym jak metale, jednak wykorzystanie np. grafitu w połączeniu z nanocząstkami złota pozwoliło na uzyskanie nawet 20-krotnego zwiększenia napięcia w ogniwie w porównaniu z elektrodą jednorodną [75]. Oczekiwane efekty przynosi również dodatek mediatorów redoks na elektrodzie lub w pożywce. Ten sposób ma niestety ograniczenia w zastosowaniu, wspomniane substancje muszą być bowiem regularnie dodawane do bioreaktora czy też poddawane recyklingowi. Rozwiązaniem mogłaby być immobilizacja tych przenośników elektronów na powierzchni elektrody, taki sposób powoduje jednak zmniejszenie ilości generowanej w MFC energii. Ponadto mediatory mogłyby ulegać degradacji w przypadku ciągłej długoterminowej pracy ogniwa [75]. Egzogenne mediatory redoks są bardzo kosztowne, dlatego poza badaniami ogniw o małych rozmiarach, w laboratorium, szersze studia w tym kierunku nie wydają się być przyszłościowe.

Zanurzenie katody w wodzie bogatej w rozpuszczony tlen można zastąpić stałym jej wystawieniem na działanie powietrza, czyli pasywnym natlenianiem tej elektrody (*air-cathode*) lub zastosowaniem katody połączonej z membraną półprzepuszczalną. Dodatkowo, aby usprawnić jej funkcjonowanie stosuje się wspomniane już katalizatory reakcji. Przykładem może być platyna, która zwiększa kontakt tlenu z katodą, efektywnie redukuje nadpotencjał pojawiający się na elektrodzie i w efekcie przyczynia się do zwiększenia napięcia generowanego przez MFC [38]. Jednak stosowanie platyny znacznie podwyższa koszty projektu, a ponadto metal ten okazał się być wrażliwy na siarczki dyfundujące z przedziału anodowego przez PEM [72].

Dlatego poszukuje się tańszych katalizatorów, innych niż platyna, takich jak: cyjanek żelaza [44], nadmanganian potasu [84], dichromian potasu czy tlenek manganu [80] celem obniżenia kosztów procesu. Z kolei zastosowanie heksacyjanożelazianu, w roli akceptora elektronów, umożliwiło dodatkowe ulepszenie funkcjonowania MFC, jednak związek ten, ze względu na swą toksyczność, nie jest dobrym pretendencem do zastosowania na dużą skalę. Alternatywą wydaje się być zatem wykorzystanie tlenków metali zintegrowanych z węglem lub specjalnych materiałów, jak fullereny, jako materiał do konstrukcji katody polepszający kontakt elektrody z tlenem [55]. Tsai i wsp. zastosowali z kolei węglowe katody w MFC zasilanych ściekami. W tym przypadku, dodatek nanorurek węglowych przy jednoczesnej rezygnacji z platyny, zwiększył generowane przez ogniwo napięcie i moc oraz jego sprawność kolumbowską, a zrezygnowanie z katalizatora umożliwiło zmniejszenie kosztów projektu [72]. Innym obiecującym rozwiązaniem jest wykorzystanie biokatody, która ma pewną przewagę nad konwencjonalnymi katodami abiotycznymi. Poza niższymi kosztami konstrukcyjnymi i operacyjnymi, osiągnęte są dodatkowe korzyści związane z wytwarzaniem przez rosnące na jej powierzchni mikroorganizmy użytecznych produktów oraz usuwaniem zbędnych związków z przedziału katodowego [80].

W ogniwach jednokomorowych problemem jest dyfuzja tlenu z przedziału katodowego w otoczenie anody, co może zmniejszyć aktywność egzoelktrogenów, a tym samym ilość generowanej energii. W takich przypadkach proponowano napowietrzanie ogniwa azotem, dodanie L-cysteiny lub zawieszonych komórek, które ograniczały efekt dyfuzji przez wyłapywanie cząsteczek tlenu [42].

Wciąż największym problemem związanym z MFC jest przejście z eksperymentów prowadzonych na skalę laboratoryjną do tzw. dużej skali pozwalającej na zastosowanie tych ogniw w przemyśle. Ogniwa o dużych rozmiarach reaktora nie generują bowiem proporcjonalnie większej ilości mocy w stosunku do małych MFC. Zauważono jednak, że rozwiązaniem tego problemu może być zastosowanie większej ilości pojedynczych ogniw połączonych szeregowo czy równoległe zamiast powiększenia rozmiarów jednego bioreaktora, ponieważ takie złożone systemy cechuje większa wydajność w porównaniu z dużymi, pojedynczymi MFC [3, 22, 81]. Niestety jednocześnie zaobserwowano, że połączeniu ogniw towarzyszy zmniejszenie napięcia w obwodzie elektrycznym [46]. Aby zniwelować straty energii, próbuje się zwiększać odległości między elektrodami lub zmniejszać przestrzeń wzajemnego przepływu substratu [81].

Wspomniano już o zwiększeniu skali ogniw mikrobiologicznych, ale nie sposób pominąć badań mających na celu zmniejszenie ich rozmiarów. Próbuje się bowiem

miniaturyzować MFC tworząc bardzo małe ogniwa o pojemności kilku mililitrów czy wręcz kilku mikrolitrów, tzw. mikro-MFC ( $\mu$ MFCs), które mogłyby posłużyć do zasilania elektroniki, miniaturowych urządzeń medycznych lub służyć jako źródło impulsu elektrycznego do elektroporacji komórek ssaczych [74]. Miniaturowe MFC powinny przy tym zminimalizować pobór tlenu i energii potrzebnej do ich obsługi. Jednak w kontekście uzyskiwanej małej ilości energii, zbudowanie przedziałów anodowego i katodowego odpowiednich dla kombinacji mikroorganizmów i mediatorów stosowanych w mikro skali wciąż pozostaje wyzwaniem [14].

## 7. Wykorzystanie ogniów mikrobiologicznych

Już niemal dwadzieścia lat temu Allen i Benetto proponowali zastosowanie ogniów mikrobiologicznych, np. do zasilania małych pojazdów czy łodzi bez konieczności ładowania baterii, jako małych generatorów mocy do wykorzystania w miejscach bez dostępu do elektryczności, czy też jako wyposażenie małych oczyszczalni odpadów w cukrowniach czy mleczarniach pozwalające na jednoczesne generowanie energii elektrycznej [1]. Obecnie proponowane zastosowania mikrobiologicznych ogniów paliwowych są dużo szersze: poza utylizacją ścieków przemysłowych, MFC mogłyby posłużyć do odsalania wody morskiej, produkcji wodoru, bioremediacji gleb, zasilania przenośnych urządzeń elektrycznych i stacji telemetrycznych, czy funkcjonować jako biosensory. Takie zastosowania, jak np. zasilanie bio-robotów, są o wiele bardziej interesujące, niż pierwotnie proponowany cel ogniów mikrobiologicznych. Co więcej, w niektórych przypadkach nie są to już tylko teorie, obecnie prowadzi się bowiem wiele badań pilotażowych w tym zakresie, a niektóre z nich znalazły już swoje zastosowanie w praktyce.

Podstawową aplikacją MFC, zgodnie z ich ideą, powinno być wytwarzanie energii elektrycznej z jednoczesną utylizacją odpadów płynnych. Niestety w związku ze wspomnianymi już problemami technologicznymi ogniwa te nie są obecnie wydajnym źródłem energii. Pomimo, iż ilość wytwarzanej energii nie jest zadowalająca, udało się wykorzystać ogniwa mikrobiologiczne do oczyszczania odpadów przemysłowych, chociaż, jak dotąd, opisano niewiele prób utylizacji ścieków w większej objętości. Na przykład w Australii (Yatala, Queensland) przeprowadzono badania pilotażowe, gdzie z pomocą tubularnego reaktora, składającego się z 12 połączonych ze sobą ogniów (każde o objętości 1 litra), z powodzeniem oczyszczano ścieki z pobliskiego browaru [36]. Niestety ilość generowanej przy tym energii nie była znacząca.

Od 2008 roku wykorzystuje się wspomniane już osadowe ogniwa mikrobiologiczne (określane są jako

BUGs, *Benthic Unattended Generators*). Po raz pierwszy rozwiązanie to, umożliwiające pozyskiwanie energii z materii organicznej zgromadzonej w osadach wodnych, zostało zaproponowane przez Reimera i wsp. w 2001 r. [58]. Obecnie BUGs wykorzystywane są do zasilania zlokalizowanych na dnie zbiorników wodnych stacji telemetrycznych [17]. Urządzenia elektroniczne wchodzące w ich skład, pomimo, iż zlokalizowane są w trudno dostępnych miejscach, dzięki zasilaniu przez ogniwa osadowe, umożliwiają monitorowanie stanu wód lokalnych. Dokonują pomiarów temperatury powietrza lub wody, ciśnienia czy stopnia wilgotności i przekazują te dane w czasie rzeczywistym do odbiorników. W ogniwach typu BUG anoda jest umieszczona w osadzie na dnie zbiornika wodnego, co zapewnia odpowiednią ilość materii organicznej, a brak tlenków pozwala na mikrobiologiczny transfer elektronów na anodę zbudowaną z niekorodującego materiału (np. grafitu czy granulowanego węgla) [5]. Anoda jest połączona przez obieg elektryczny z katodą pływającą na powierzchni wody w środowisku tlenowym. Podłączenie takiego osadowego MFC do urządzenia elektrycznego pozwala na jego zasilanie prądem o mocy ok. 100 mW. Chociaż jest to stosunkowo niska wartość, to MFC zupełnie nie wymaga konserwacji i pozwala na co najmniej 2 lata ciągłej pracy bez wyczerpania źródła zasilania [71], co znacznie ułatwia obsługę techniczną oraz koszty utrzymania tych urządzeń. Osadowe ogniwa mikrobiologiczne mogłyby być wykorzystane również do redukcji ilości metanu znajdującego się w powietrzu. Wiadomo bowiem, że obecność bakterii elektrochemicznie aktywnych w osadach hamuje aktywność metaboliczną obecnych tam metanogenów. To ciekawe spostrzeżenie mogłoby posłużyć do kontroli emisji metanu z mokradł, co ma duże znaczenie, zważywszy na wpływ tego gazu na efekt cieplarniany [25]. Wykorzystanie ogniów na mokradłach mogłoby jednocześnie wspomagać utylizację zgromadzonych tam odpadów [83].

Zasilanie przenośnych urządzeń elektrycznych, szczególnie tych niewymagających dużych ilości energii było już od lat dziewięćdziesiątych potencjalną aplikacją ogniów mikrobiologicznych mającą dużą szansę powodzenia. Zaskakujące natomiast okazało się wykorzystanie MFC do stworzenia Gastrobotów – inteligentnych maszyn pozyskujących energię z rozkładu materii organicznej [77]. Ogniwa mikrobiologiczne zastąpiły w tym przypadku baterie, dając jednocześnie nadzieje na stworzenie wzbudzających kontrowersje samowystarczalnych robotów. Otrzymując lub też same pozyskując biomasę, maszyny te dzięki obecności MFC, są w stanie przetworzyć zawartą w niej materię organiczną na energię umożliwiającą poruszanie lub wykonywanie określonej pracy. Swoistym „pokarmem” mogą być tu niewyrafinowane źródła materii, jak owady (np. muchy), skorupiaki, owoce czy odpady organiczne [23]. Co więcej, roboty



same są w stanie zdobyć pożywienie, np. wabiąc muchy do pułapek feromonowych. Ogniwa mikrobiologiczne zastosowane w maszynach są układami połączonych ze sobą pojedynczych bioreaktorów. Najnowsze projekty („EcoBot III”) dodatkowo mają możliwość usuwania zbędnych nieczystości, dlatego też całe instalacje porównuje się do ludzkiego układu pokarmowego [24]. Bardzo ciekawe są przykłady zastosowania takich robotów w praktyce. Potencjalnie proponuje się wykorzystanie ich w eksplorowaniu podwodnych przestrzeni, gdzie maszyny żywiąc się planktonem dostarczałyby informacji o ekologii oceanów, w niebezpiecznych dla ludzi misjach, czy monitorowaniu miejskich systemów kanalizacyjnych [23].

Niezwykłym zastosowaniem technologii ogniwi biologicznych jest zasilanie implantowanych urządzeń medycznych z wykorzystaniem glukozy i tlenu zawartych we krwi. Wspomniane wcześniej mikro-MFC mogłyby zapewnić moc do zasilania urządzenia na czas nieokreślony bez konieczności chirurgicznych zabiegów wymiany baterii [17]. Jak dotąd zademonstrowano funkcjonowanie abiotycznego ogniwa wykorzystującego jako substrat glukozę z krwi w warunkach *in vitro* oraz *in vivo* [27]. Wiadomo też, że ogniwa biologiczne, wykorzystujące oczyszczone enzymy zamiast mikroorganizmów, są w stanie pracować w warunkach fizjologicznych [30], wciąż jednak projekty te wymagają usprawnień, aby były one opłacalne. Niestety zastosowanie MFC w medycynie jest ograniczone ze względu na infekcyjny i immunogeny charakter mikroorganizmów, dlatego do badań na tym polu wykorzystuje się zwykle ogniwa enzymatyczne [27].

Zdolność mikroorganizmów funkcjonujących w MFC do degradowania szerokiego spektrum zanieczyszczeń środowiskowych może być jeszcze bardziej cenna niż produkcja energii, szczególnie w układach pozwalających na wykorzystanie technologii do oczyszczania środowiska *in situ* [17]. Wiadomo, że gatunki z rodzaju *Geobacter* są zdolne do degradowania składników ropy naftowej i odcieków ze składowisk obecnych w wodach gruntowych. Utlenianie tych zanieczyszczeń jest powiązane z redukcją żelaza (III). Zarówno procesy utleniania jak i redukcji można z kolei usprawnić przez dodanie mediatorów lub chelatorów Fe (III), a więc ich dodatek do środowiska reakcji mógłby umożliwić utylizację wspomnianych nieczystości. Dowiedziono, że czyste kultury *Geobacter metallireducens* utleniają benzoesan i toluen, wykorzystując elektrodę jako końcowy akceptor elektronów [6], zatem umieszczenie elektrody w glebie zawierającej węglowodory umożliwia zwiększenie tempa degradacji toluenu, benzenu i naftalenu obecnych w środowisku.

MFC wykorzystujące z kolei obecność gatunków *Shewanella* sp. w obrębie bioanody mogą stanowić obiecujące zastosowanie w roli sensorów do identyfikacji

biologicznego zapotrzebowania na tlen w ściekach [28]. Zaproponowano także użycie MFC jako urządzenia monitorującego skażenie ścieków. Jego działanie opiera się wówczas na zahamowaniu aktywności biologicznej ogniwa, gdy w dostarczanych odpadach ciekłych znajdują się substancje toksyczne, co skutkuje spadkiem ilości energii generowanej przez MFC. Dzięki zależności między stopniem zahamowania produkcji energii a stopniem skażenia substratu postanowiono nawet zastosować je jako wstępne urządzenie ostrzegające przed toksycznym skażeniem ścieków [65, 67].

Modyfikacje ogniwi mikrobiologicznych pozwoliły na ich zastosowanie do odsalania wody morskiej. Co więcej, ostatnie modyfikacje tych układów umożliwiły jednocześnie pozyskiwanie energii ze słonych wód [15]. Proces odwróconej elektrodializy służy do bezpośredniej produkcji energii z gradientu zasolenia tworzonego przez wody morską i słodką. W ogniwie do elektrodializy wykorzystuje się wiele par membran do wymiany anionów lub kationów usytuowanych pomiędzy dwiema elektrodami, która jest niezbędna dla efektywnego wykorzystania gradientu zasolenia do produkcji energii, co znacząco zwiększa koszty konstrukcyjne takich ogniwi [15].

Innym przykładem zmodyfikowanych MFC są mikrobiologiczne ogniwa elektrolityczne (MEC; *Microbial Electrolysis Cells*), wykorzystywane do produkcji wodoru. Tutaj, podobnie jak w ogniwach paliwowych, wykorzystywana jest obecność egzoelktrogenów, a ich działanie różni się jedynie koniecznością utrzymywania katody w warunkach beztlenowych. W przedziale katodowym zachodzi proces redukcji protonów do wodoru. Donorem elektronów w MEC jest octan, a w wyniku jego beztlenowej degradacji na bioanodzie powstają CO<sub>2</sub>, protony i elektrony [12].

## 8. Podsumowanie

Mikrobiologiczne ogniwa paliwowe (MFC), produkujące energię elektryczną w procesie oczyszczania ścieków stały się jedną z bardziej obiecujących technologii z pogranicza ochrony środowiska, która umożliwia pozyskiwanie prądu elektrycznego. Wykorzystanie biomasy zgromadzonej w odpadach organicznych jest bowiem przyjazne dla natury i zarazem stanowi odnawialne źródło energii. Stosowane dotychczas konwencjonalne metody oczyszczania ścieków wymagają wysokich nakładów finansowych i są związane z koniecznością dostarczania energii elektrycznej do przeprowadzania procesu. W przypadku MFC wprowadzono szereg rozwiązań technologicznych, które znacznie obniżają koszty konstrukcyjne i operacyjne, w tym zastosowanie tańszych materiałów, zaprzestanie dodawania mediatorów redoks czy konstruowanie ogniwi z pasywnie natlenianą

elektrodą. Dlatego MFC, jako technologia niskokosztowa i wymagająca dostarczenia z zewnątrz mniejszej ilości energii, jest ciekawą alternatywą [72]. Możliwość wykorzystania w ogniwach mikrobiologicznych substratów o niskiej zawartości materii organicznej, w niskich temperaturach, wyróżnia je na tle innych aktualnie stosowanych procesów pozyskiwania bioenergii i daje przewagę nad procesem oddychania beztlenowego [4]. W związku z faktem, iż ilość energii uzyskiwanej z pracy MFC jest nadal mała, upatruje się w nich sposób na uzupełnienie nisz związanych z niemożnością zastosowania innych metod biokonwersji. Ogniwa mikrobiologiczne mogłyby być zatem niejako uzupełnieniem stosowanych procesów technologicznych. Kolejną zaletą MFC jest fakt, że w wyniku pracy ogniwa emitowany jest głównie dwutlenek węgla oraz gazy, które nie mają znaczenia w pozyskaniu energii elektrycznej. Dzięki temu nie ma potrzeby przeprowadzania dodatkowych procesów obróbki gazów w celu ich utylizacji lub wykorzystania ich potencjału energetycznego [50].

Pomimo potencjalnych korzyści w utylizacji ścieków, technologia MFC jest jeszcze w powijakach i wymaga wielu usprawnień zanim będzie możliwe szerokie jej wykorzystanie. Jednak tempo i zakres badań oraz ilość obserwowanych prób prawdopodobnie doprowadzi wkrótce do skonstruowania wydajnie pracującego ogniwa co daje nadzieje na przyszłość, a przedstawione w pracy różnorodne alternatywne zastosowania MFC potwierdzają użyteczność tej technologii.

## Piśmiennictwo

- Allen R.M., Bennetto H.: Microbial fuel cells: Electricity production from carbohydrates. *Appl. Biochem. Biotechnol.* **39–40**, 27–40 (1993)
- Aelterman P., Freguia S., Keller J., Verstraete W., Rabaey K.: The anode potential regulates bacterial activity in microbial fuel cells. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **78**, 409–418 (2008)
- Aelterman P., Rabaey K., Pham H.T., Boon N., Verstraete W.: Continuous electricity generation at high voltages and currents using stacked microbial fuel cells. *Environ. Sci. Technol.* **40**, 3388–3394 (2006)
- Ahn Y., Logan B.E.: Effectiveness of domestic wastewater treatment using microbial fuel cells at ambient and mesophilic temperatures. *Bioresour. Technol.* **101**, 469–475 (2010)
- Arends J.B.A., Blondeel E., Tennison S.R., Boon N., Verstraete W.: Suitability of granular carbon as an anode material for sediment microbial fuel cells. *J. Soils. Sediments*, **12**, 1197–1206 (2012)
- Bond D.R., Holmes D.E., Tender L.M., Lovley D.R.: Electrode-reducing microorganisms that harvest energy from marine sediments. *Science*, **295**, 483–485 (2002)
- Bond D.R., Lovley D.R.: Electricity production by *Geobacter sulfurreducens* attached to electrodes. *Appl. Environ. Microbiol.* **69**, 1548–1555 (2003)
- Bond D.R., Lovley D.R.: Evidence for involvement of an electron shuttle in electricity generation by *Geothrix fermentans*. *Appl. Environ. Microbiol.* **71**, 2186–2189 (2005)
- Catal T., Bermek H., Liu H.: Removal of selenite from wastewater using microbial fuel cells. *Biotechnol. Lett.* **31**, 1211–1216 (2009)
- von Canstein H., Ogawa J., Shimuzu S., Lloyd J.R.: Secretion of flavins by *Shewanella* species and their role in extracellular electron transfer. *Appl. Environ. Microbiol.* **74**, 615–623 (2008)
- Chae K.J., Choi M., Ajayi F.F., Park W., Chang I.S., Kim I.S.: Mass transport through a proton exchange membrane (Nafion) in microbial fuel cells. *Energy Fuels*, **22**, 169–176 (2008)
- Cheng S., Logan B.E.: Sustainable and efficient biohydrogen production via electrohydrogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **20**, 18871–18873 (2007)
- Chang I.S., Moon H., Bretschger O., Jang J.K., Park H.I., Nealsen K.H., Kim B.H.: Electrochemically active bacteria (EAB) and mediator-less microbial fuel cells. *J. Microbiol. Biotechnol.* **16**, 163–177 (2007)
- Chiao M., Lam K.B., Lin L.: Micromachined microbial and photosynthetic fuel cells. *J. Micromech. Microeng.* **16**, 2547–2553 (2006)
- Cusick R.D., Kim Y., Logan B.E.: Energy capture from thermolytic solutions in microbial reverse-electrodialysis cells. *Science*, **335**, 1474–1477 (2012)
- Davis J.B., Yarbrough Jr. H.F.: Preliminary experiments on a microbial fuel cell. *Science*, **137**, 615–616 (1962)
- Franks A.E., Nevin K.P.: Microbial fuel cells, a current review. *Energies* **3**, 899–919 (2010)
- Fricke K., Harnish F., Schröder U.: On the use of cyclic voltammetry for the study of anodic electron transfer in microbial fuel cells. *Energy Environ. Sci.* **1**, 144–147 (2008)
- Gorby Y.A., Fredrickson J.K. i wsp.: Electrically conductive bacterial nanowires produced by *Shewanella oneidensis* strain MR-1 and other microorganisms. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103**, 11358–11362 (2006)
- Hernandez M.E., Newman D.K.: Extracellular electron transfer. *Cell. Mol. Life Sci.* **58**, 1562–1571 (2001)
- Holmes D.E., Chaudhuri S.K., Nevin K.P., Mehta T., Methe B.A., Ward J.E., Woodward T.L., Webster J., Lovley D.R.: Microarray and genetic analysis of electron transfer to electrodes in *Geobacter sulfurreducens*. *Environ. Microbiol.* **8**, 1805–1815 (2006)
- Ieropoulos I., Greenman J., Melhuish C.: Microbial fuel cells based on carbon veil electrodes: Stack configuration and scalability. *Int. J. Energy Res.* **32**, 1228–1240 (2008)
- Ieropoulos I., Melhuish C., Greenman J., Horsfield I.: EcoBot-II: an artificial agent with a natural metabolism. *J. Adv. Robot. Syst.* **2**, 295–300 (2005)
- Ieropoulos I., Greenman J., Melhuish C., Horsfield I.: EcoBot-III: a robot with guts. Proc. Alife XII Conf., Odense, Denmark, 733–740 (2010)
- Jeon H.J., Choi Y.K., Kumaran R.S., Kim S., Song K.G., Hong S.W., Kim M., Kim H.J.: Electrochemical control of methane emission from lake sediment using microbial fuel cells. *Bull. Korean Chem. Soc.* **33**, 2401–2404 (2012)
- Juang D.F., Lee C.H., Hsueh S.C., Chou H.Y.: Power generation capabilities of microbial fuel cells with different oxygen supplies in the cathodic chamber. *Appl. Biochem. Biotechnol.* **167**, 714–731 (2012)
- Kerzenmacher S., Ducreé J., Zengerle R., von Stetten F.: Energy harvesting by implantable abiotically catalyzed glucose fuel cells. *J. Power Sources* **182**, 1–17 (2008)
- Kim B.H., Chang I.S., Gil G.C., Park H.S., Kim H.J.: Novel BOD (biological oxygen demand) sensor using mediator-less microbial fuel cell. *Biotechnol. Lett.* **25**, 541–545 (2003)
- Kim H.J., Hyun M.S., Chang I.S., Kim B.H.: A microbial fuel cell type lactate biosensor using a metal-reducing bacterium, *Shewanella putrefaciens*. *J. Microbiol. Biotechnol.* **9**, 365–367 (1999)

30. Kim H.H., Mano N., Zhang Y., Heller A.: A miniature membrane-less biofuel cell operating under physiological conditions at 0,5 V. *J. Electrochem. Soc.* **150**, A209–A213 (2003)
31. Lee J., Phung N.T., Chang I.S., Kim B.H., Sung H.C.: Use of acetate for enrichment of electrochemically active microorganisms and their 16S rDNA analyses. *FEMS Microbiol. Lett.* **223**, 185–191 (2003)
32. Liu H., Logan B.E.: Electricity generation using an air-cathode single chamber microbial fuel cell in the presence and absence of a proton exchange membrane. *Environ. Sci. Technol.* **38**, 4040–4046 (2004)
33. Liu H., Ramnarayanan R., Logan B.E.: Production of electricity during wastewater treatment using a single chamber microbial fuel cell. *Environ. Sci. Technol.* **38**, 2281–2285 (2004)
34. Logan B.E.: Exoelectrogenic bacteria that power microbial fuel cells. *Nat. Rev. Microbiol.* **7**, 375–381 (2009)
35. Logan B.E.: *Microbial Fuel Cells*, Wiley, New York, 2008
36. Logan B.E.: Scaling up microbial fuel cells and other bioelectrochemical systems. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **85**, 1665–1671 (2010)
37. Logan B.E., Regan J.M.: Electricity-producing bacterial communities in microbial fuel cells. *Trends Microbiol.* **14**, 512–518 (2006)
38. Logan B.E., Hamelers B., Rozendal R., Schröder U., Keller J., Freguia S., Aelterman P., Verstraete W., Rabaey K.: Microbial fuel cells: methodology and technology. *Environ. Sci. Technol.* **40**, 5181–5192 (2006)
39. Lovley D.R.: Bug juice: harvesting electricity with microorganisms. *Nat. Rev. Microbiol.* **4**, 497–508 (2006)
40. Lovley D.R.: Microbial fuel cells: novel microbial physiologies and engineering approaches. *Curr. Opin. Biotechnol.* **17**, 327–332 (2006)
41. Min B., Logan B.E.: Continuous electricity generation from domestic wastewater and organic substrates in a flat plate microbial fuel cell. *Environ. Sci. Technol.* **38**, 5809–5814 (2004)
42. Min B., Cheng S., Logan B.E.: Electricity generation using membrane and salt bridge microbial fuel cells. *Water Research*, **39**, 1675–1686 (2005)
43. Mitra P., Hill G.A.: Continuous microbial fuel cell using a photoautotrophic cathode and a fermentative anode. *Can. J. Chem. Eng.* **90**, 1006–1010 (2012)
44. Oh S.E., Min B., Logan B.E.: Cathode performance as a factor in electricity generation in microbial fuel cells. *Environ. Sci. Technol.* **38**, 4900–4904 (2004)
45. Oh S.E., Logan B.E.: Proton exchange membrane and electrode surface areas as factors that affect power generation in microbial fuel cells. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **70**, 162–169 (2006)
46. Oh S.E., Logan B.E.: Voltage reversal during microbial fuel cell stack operation. *J. Power Sources*, **167**, 11–17 (2007)
47. Qu Y., Feng Y., Wng X., Logan B.E.: Use of a coculture to enable current production by *Geobacter sulfurreducens*. *Appl. Environ. Microbiol.* **78**, 3484–3487 (2012)
48. Pant D., Van Bogaert G., Diels L., Vanbroekhoven K.: A review of the substrates used in microbial fuel cells (MFCs) for sustainable energy production. *Bioresour. Technol.* **101**, 1533–1543 (2010)
49. Patil S.A., Surakasi V.P., Koul S., Ijmulwar S., Vivek A., Shouche Y.S., Kapadnis B.P.: Electricity generation using chocolate industry wastewater and its treatment in activated sludge based microbial fuel cell and analysis of developed microbial community in the anode chamber. *Bioresour. Technol.* **100**, 5132–5139 (2009)
50. Pham T.H., Rabaey K., Aelterman P., Clauwaert P., De Schampelaire L., Boon N., Verstraete W.: Microbial fuel cells in relation to conventional anaerobic digestion technology. *Eng. Life Sci.* **6**, 285–292 (2006)
51. Picioreanu C., van Loosdrecht M.C.M., Curtis T.P., Scott K.: Model based evaluation of the effect of pH and electrode geometry on microbial fuel cell performance. *Bioelectrochemistry*, **78**, 8–24 (2010)
52. Prasad D., Arun S., Murugesan M., Padmanaban S., Satyanarayanan R.S., Berchmans S., Yegnaraman V.: Direct electron transfer with yeast cells and construction of a mediatorless microbial fuel cells. *Biosens. Bioelectron.* **22**, 2604–2610 (2007)
53. Rabaey K., Clauwaert P., Aelterman P., Verstraete W.: Tubular microbial fuel cells for efficient electricity generation. *Environ. Sci. Technol.* **39**, 8077–8082 (2005)
54. Rabaey K., Lissens G., Siciliano D.S., Verstraete W.: A microbial fuel cell capable of converting glucose to electricity at high rate and efficiency. *Biotechnol. Lett.* **25**, 1531–1535 (2003)
55. Rabaey K., Ossieur W., Verhaege M., Verstraete W.: Continuous microbial fuel cells convert carbohydrates to electricity. *Water Sci. Technol.* **52**, 515–523 (2005)
56. Rabaey K., Verstraete W.: Microbial fuel cells: novel biotechnology for energy generation. *Trends Biotechnol.* **23**, 291–298 (2005)
57. Reimers C.E., Girguis P., Stecher H.A., Tender L.M., Ryckelynck N., Whaling P.: Microbial fuel cell energy from an ocean cold seep. *Geobiology*, **4**, 123–136 (2006)
58. Reimers C.E., Tender L.M., Fertig S., Wang W.: Harvesting energy from the marine sediment-water interface. *Environ. Sci. Technol.* **35**, 192–195 (2001)
59. Reguera G., McCarthy K.D., Mehta T., Nicoll J.S., Touminen M.T., Lovley D.R.: Extracellular electron transfer via microbial nanowires. *Nature*, **435**, 1098–1101 (2005)
60. Reguera G., Nevin K.P., Nicoll J.S., Covalla S.F., Woodard T.L., Lovley D.R.: Biofilm and nanowire production leads to increased current in *Geobacter sulfurreducens* fuel cells. *Appl. Environ. Microbiol.* **72**, 7345–7348 (2006)
61. Rodrigo M.A., Cañizares P., García H., Linares J.J., Lobato J.: Study of the acclimation stage and of the effect of the biodegradability on the performance of a microbial fuel cell. *Bioresour. Technol.* **100**, 4704–4710 (2009)
62. Rosenbaum M., Zhao F., Schröder U., Scholz F.: Interfacing electrocatalysis and biocatalysis with tungsten carbide: a high-performance, noble-metal-free microbial fuel cell. *Angew. Chem. Int. Ed.* **45**, 6658–6661 (2006)
63. Schaetzle O., Barrière F., Baronian K.: Bacteria and yeasts as catalysts in microbial fuel cells: Electron transfer from microorganisms to electrodes for green electricity. *Energy Environ. Sci.* **1**, 607–620 (2008)
64. Schröder U.: Anodic electron transfer mechanisms in microbial fuel cells and their energy efficiency. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **9**, 2619–2629 (2007)
65. Shen Y.J., Lefebvre O., Tan Zi, Ng H.Y.: Microbial fuel-cell-based toxicity sensor for fast monitoring of acidic toxicity. *Water Sci. Technol.* **65**, 1223–1228 (2012)
66. Sikora A., Sikora R.: Mikrobiologiczne ogniwa paliwowe. *Biotechnologia – Monografie*, **2**, 68–77 (2005)
67. Stein N.E., Hamelers H.M.V., van Straten G., Keesman K.J.: On-line detection of toxic components using a microbial fuel cell-based biosensor. *J. Process Control*, (2012), <http://dx.doi.org/10.1016/j.jprocont.2012.07.009>
68. Sun J., Li Y., Hu Y., Hou B., Xu Q., Zhang Y., Li S.: Enlargement of anode for enhanced simultaneous azo dye decolorization and power output in air-cathode microbial fuel cell. *Biotechnol. Lett.* (2012), DOI 10.1007/s10529-012-1002-8
69. Sun Y., Wei J., Liang P., Huang X.: Electricity generation and microbial community changes in microbial fuel cells packed with different anodic materials. *Bioresour. Technol.* **102**, 10886–10891 (2011)

70. Tardast A., Najafpour G.D., Rahimnejad M., Amiri A.: Bioelectrical power generation in a membrane less microbial fuel cell. *World App. Sci. J.* **16**, 179–182 (2012)
71. Tender L.M., Gray S.A., Groveman E., Lowy D.A., Kauffman P., Melhado J., Tyce R.C., Flynn D., Petrecca R., Dobarro J.: The first demonstration of a microbial fuel cell as a viable power supply: Powering a meteorological buoy. *J. Power Sources*, **179**, 571–575 (2008)
72. Tsai H.Y., Wu C.C., Lee C.Y., Shih E.P.: Microbial fuel cell performance of multiwall carbon nanotubes on carbon cloth as electrodes. *J. Power Sources*, **194**, 199–205 (2009)
73. Wang X., Feng Y.J., Lee H.: Electricity production from beer brewery wastewater using single chamber microbial fuel cell. *Water Sci. Technol.* **57**, 1117–1121 (2008)
74. Wang X., Cheng S., Zhang X., Li X., Logan B.E.: Impact of salinity on cathode catalyst performance in microbial fuel cells (MFCs). *Int. J. Hydrogen Energy*, **36**, 13900–13906 (2011)
75. Wei J., Liang P., Huang X.: Recent progress in electrodes for microbial fuel cells. *Bioresour. Technol.* **102**, 9335–9344 (2011)
76. Wen Q., Wu Y., Cao D., Zhao L., Sun Q.: Electricity generation and modeling of microbial fuel cell from continuous beer brewery wastewater. *Bioresour. Technol.* **100**, 4171–4175 (2009)
77. Wilkinson S.: “Gastrobots” – Benefits and challenges of microbial fuel cells in food powered robot applications. *Autonomous Robots*, **9**, 99–111 (2000)
78. Zhang X., Cheng S., Huang X., Logan B.E.: Improved performance of single-chamber microbial fuel cells through control of membrane deformation. *Biosens. Bioelectron.* **25**, 1825–1828 (2010)
79. Zhang Y., Min B., Huang L., Angelidaki I.: Electricity generation and microbial community response to substrate changes in microbial fuel cell. *Bioresour. Technol.* **102**, 1166–1173 (2011)
80. Zhang G., Wang K., Zhao Q., Jiao Y., Lee D.J.: Effect of cathode types on long-term performance and anode bacterial communities in microbial fuel cells. *Bioresour. Technol.* **118**, 249–256 (2012)
81. Zhuang L., Zhou S.: Substrate cross-conduction effect on the performance of serially connected microbial fuel cell stack. *Guangdong Institute of Eco-environmental and Soil Electrochemistry Comm.* **11**, 937–940 (2009)
82. Yang S., Du F., Liu H.: Characterization of mixed-culture biofilms established in microbial fuel cells. *Biomass Bioenergy*, (2012), <http://dx.doi.org/10.1016/j.biombioe.2012.07.007>
83. Yadav A.K., Dash P., Mohanty A., Abbassi R., Mishra B.K.: Performance assessment of innovative constructed wetland-microbial fuel cell for electricity production and dye removal. *Ecol. Eng.* **47**, 126–131 (2012)
84. You S., Zhao Q., Zhang J., Jiang J., Zhao S.: A microbial fuel cell using permanganate as the cathodic electron acceptor. *J. Power Sources*, **162**, 1409–1415 (2006)