

## БИОТОПЛИВНЫЕ ЭЛЕМЕНТЫ – НОВЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ДЛЯ ЭНЕРГЕТИКИ

© В.В. Федорович, Т.О. Мажитов, С.В. Калюжный

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

Представлены основные принципы работы и особенности ферментных и микробных топливных элементов, осуществляющих в процессе биологических трансформаций превращение химической энергии вещества в электричество, а также приведены электрические характеристики биологических топливных элементов (БТЭ), использующих различные типы микроорганизмов. Показано, что БТЭ имеют ряд дополнительных свойств, являющихся предпочтительными при решении некоторых специальных задач, так как обладают более широкой субстратной специфичностью. Это дает большие преимущества при совместном решении энергетических и экологических проблем. Биологические и химические топливные элементы являются взаимодополняемыми устройствами, поскольку значительное число практически реализованных топливных элементов содержат полуэлементы обоих типов.

The article gives main principles of the work and the features of enzymatic and microbe fuel elements realizing conversion of chemical energy of substance into electricity. The electrical characteristics of biological fuel elements that use different types of microorganisms are shown too. The biological fuel elements are shown to have a number of additional properties being predominant in solving some special tasks, since they possess wider substrate specificity. This gives important advantages in joint solving of the energy and ecological problems. The biological and chemical fuel elements are complementary devices, since a great number of practically realized fuel elements contain half-cells of both types.

### ВВЕДЕНИЕ

Биотопливные элементы (БТЭ) — это устройства, в которых осуществляется превращение химической энергии различных веществ (например, углеводов, спиртов и др.) в электричество в процессе биологических трансформаций. Интерес к разработке альтернативных источников энергии связан с грядущим глобальным истощением на Земле источников полезных ископаемых, используемых для нужд энергетики. Особая привлекательность БТЭ обусловлена возможностью использования в них в качестве топлива веществ, являющихся отходами. Это обстоятельство связано с тем, что микроорганизмы или их ферменты способны к деструкции достаточно широкого класса низко- и высокомолекулярных соединений. Таким образом, помимо энергетической, БТЭ способны решать и экологические проблемы утилизации отходов [1]. Биологические топливные элементы можно условно разделить на два класса: ферментные (ФТЭ) и микробные (МТЭ) [2].

### ОСОБЕННОСТИ РАБОТЫ ФЕРМЕНТНЫХ ТОПЛИВНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ

Движущая сила ФТЭ — это окислительно-восстановительная реакция используемого субстрата (например, углевода или спирта), катали-

зируемая ферментом. Принцип работы достаточно схож с таковым химических топливных элементов (ХТЭ). Помимо различия в природе катализатора следует отметить, что в ФТЭ условия проведения реакции существенно более мягкие (близкие к нейтральным значениям pH растворов, комнатная температура). Количество электричества, вырабатываемое с помощью ФТЭ, как правило, сравнимо с ХТЭ.

Для объяснения принципа действия ФТЭ на рис. 1 приведена анодная часть последнего, которая обычно содержит фермент, медиатор (R) и субстрат. Медиатор (переносчик зарядов) представляет собой природный или искусственный электронный акцептор.

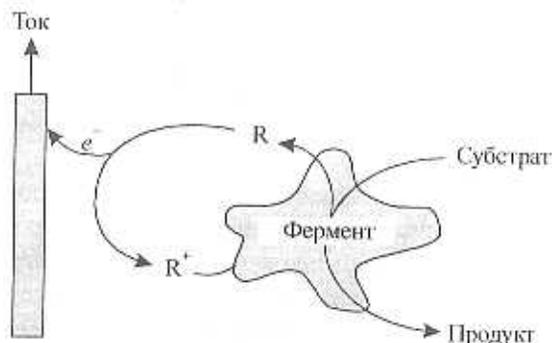
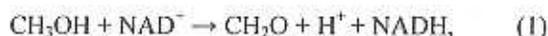


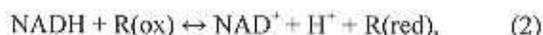
Рис. 1. Принцип действия ферментного топливного элемента

В качестве примера рассмотрим систему реакций окисления метанола до формальдегида с помощью фермента метанолдегидрогеназы в ФТЭ;

ферментная реакция:



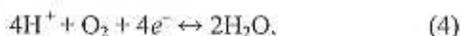
медиаторная:



анодная:



Метанолдегидрогеназа превращает метанол в формальдегид и  $\text{H}^+$  в присутствии кофермента  $\text{NAD}^+$ , который, получая электроны, переходит в восстановленную форму. Последующее окисление  $\text{NADH}$  происходит с помощью медиатора (реакция, похожая на реакцию на клеточном уровне). Окисление медиатора и передача электронов во внешнюю цепь происходят на аноде в соответствии с реакцией (3). При этом  $\text{NAD}^+$  и медиатор в реакциях практически не расходуются. При определенном выборе катодной части элемента,  $\text{H}^+$  может вступить в реакцию с  $\text{O}_2$  на поверхности катода, приводящую к потреблению электронов и образованию воды (катодная реакция):



Некоторые варианты ферментных катодов приведены в работах [3–6]. Развитие анодной и катодной реакций приводит к возникновению тока во внешней цепи.

Следует отметить, что, несмотря на многие положительные качества, ФТЭ обладают также и рядом недостатков:

- относительно дороги, так как получение, выделение и очистка ферментов сопряжены со значительными материальными и временными затратами;

- ограниченное время работы в связи с постепенной инактивацией ферментов (термоинактивация, протеолиз и др.);

- присущие ферментам узкая субстратная специфичность и частая подверженность ингибированию, что ограничивает их применение для мультикомпонентных сред (например, отходов).

Указанные обстоятельства накладывают доста-

точно жесткие требования к аппаратному оформлению ФТЭ и составу используемых субстратов.

## ОСОБЕННОСТИ РАБОТЫ МИКРОБНЫХ ТОПЛИВНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ

Микробный топливный элемент — это устройство, осуществляющее превращение биохимической энергии в электричество посредством ферментов, находящихся в живом микроорганизме [7]. В этом заключается его основное отличие от ФТЭ, где используются выделенные из клеток ферменты. На рис. 2 представлена принципиальная схема работы МТЭ.

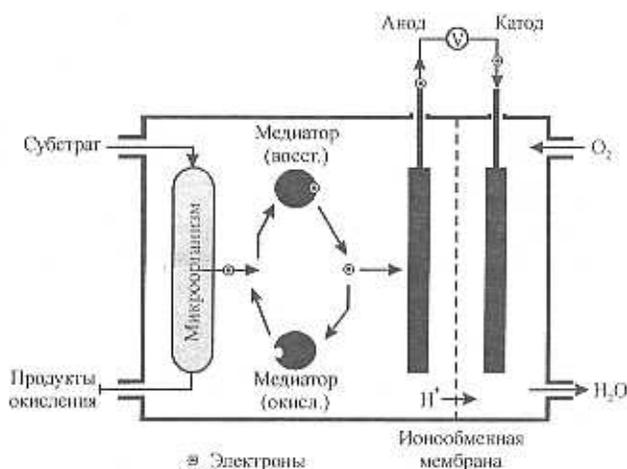


Рис. 2. Схема микробного топливного элемента

Движущая сила МТЭ — система окислительно-восстановительных реакций, происходящих в живых клетках. Ферментные системы в этом случае подвержены внутриклеточной регуляции, в том числе репарации, что положительно сказывается на их стабильности. Однако, в отличие от реакций с изолированным ферментом, в данном случае для получения тока на электродах необходимо вынести заряд из клетки. Эта задача решается с помощью медиаторов, которые, входя в клетку, окисляют клеточные кофакторы, например  $\text{NADH}$ . Выходя из клетки, медиаторы переносят заряд на электрод, при этом  $\text{NAD}^+$  остается внутри клетки. Существуют различные схемы взаимодействия медиатора, микроорганизма и анода (рис. 3):

а) медиатор ковалентно связан с анодной поверхностью, а клетки могут свободно перемещаться вблизи анода;

б) медиатор находится между анодом и ковалентно связанными с поверхностью электрода клетками микроорганизма;

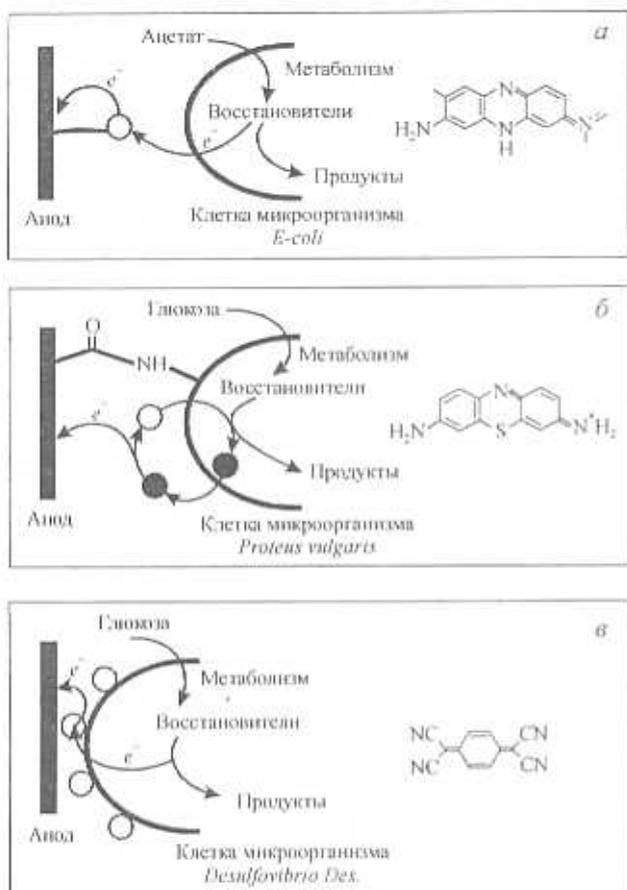


Рис. 3. Различные схемы взаимодействия медиатора, микроорганизма и электрода

○ — медиатор окисленный, ● — восстановленный

в) медиатор адсорбирован на клетках микроорганизма, осуществляя электронный транспорт из клеток к аноду в результате их контакта.

В литературе предложены различные типы медиаторов, наиболее известные из которых приведены в табл. 1 [8]. Следует отметить, что выбор медиатора является достаточно непростой задачей, требующей серьезного научного исследования, что связано со специфичностью взаимодействия медиатора и бактериальной клетки. Некоторые медиаторы, хорошо проявившие себя для одного типа микроорганизмов, могут быть неприемлемыми из-за токсичности для других видов. В случае использования в МТЭ ассоциации микроорганизмов возможно применение целого набора специально подобранных медиаторов. Тем не менее можно выдвинуть ряд общих требований, которым должен соответствовать выбранный для работы медиатор:

— обладать проницаемостью через клеточную

стенку как в окисленном, так и в восстановленном состояниях;

— быть электрохимически активным на анодной поверхности;

— сохранять стабильность в течение длительного времени эксплуатации;

— не подвергаться разрушению ферментными системами микроорганизмов;

— иметь окислительно-восстановительный потенциал, подходящий для осуществления требуемой реакции внутри клетки.

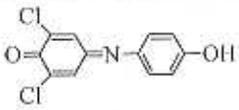
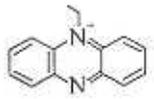
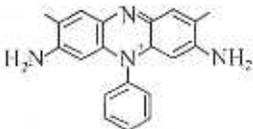
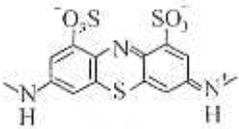
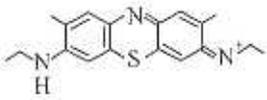
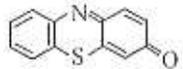
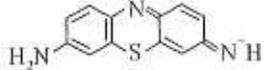
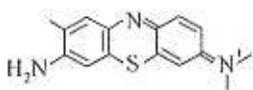
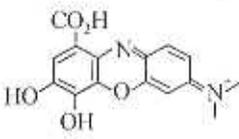
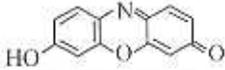
Помимо анодных реакций специального внимания часто требует и адекватная реализация катодных реакций, которые могут быть как химическими, так и биологическими. Например, реакция, основанная на восстановлении ферроцианидов на поверхности катода, обладает хорошим электронным захватом, однако ферроцианиды не реагируют с водородными ионами, что приводит к закислению катодного пространства. Более сложный кислородный катод [9] может быть потенциально использован для восстановления водородных ионов согласно реакции (4) с помощью кислорода воздуха, пропускаемого через катодное пространство. Однако кинетические параметры этой реакции невысоки, и, как следствие, приходится различными способами увеличивать поверхность платинового электрода. Дополнительные трудности представляют собой выбор и срок службы ионообменной мембраны, разделяющей анодное и катодное пространство. Для решения проблемы закисления последнего было предложено использовать алкалофильные галофильные микроорганизмы [10], но этот подход требует дальнейшей оптимизации.

### МИКРООРГАНИЗМЫ ДЛЯ МТЭ

Выбор микроорганизмов для МТЭ определяется рядом факторов, главным из которых является тип субстратов, применяемых в анодной и катодной зонах. Существующие в настоящее время каталоги типа «Bergey's Manual of Systematic Bacteriology» содержат необходимую информацию о тысячах видов различных микроорганизмов, которые могут быть потенциально использованы в этих устройствах. Рассмотрим кратко только ключевые аспекты этой проблемы.

Использование дрожжей, например *Saccharomyces cerevisiae* [11], основано на их доступности и непатогенном характере. Однако применение эукариотических клеток в МТЭ ограничено особен-

Наиболее известные медиаторы, используемые в МТЭ

Медиатор	Структурная формула	Окислительно-восстановительный потенциал, В	Скорость восстановления, мкмоль/(г <sub>сух.</sub> масса·с)
2,6-дихлорфенол-индофенол		+0,217	0,41
Феназин-этносульфат		+0,065	8,57
Сафранин-О		-0,289	0,07
<i>N,N</i> -диметил-дисульфированный тионин		+0,220	0,33
Новый синий метилен		-0,021	0,20
Фенотиазинон		-0,130	1,43
Тионин		+0,064	7,10
Синий толуидин-О		+0,034	1,47
Галлоцианин		+0,021	0,53
Резорфин		-0,051	0,61

ностью внутренней организации последних, так как окислительно-восстановительные процессы, связанные с деградацией субстратов, происходят, в основном, в митохондриях [12], которые в клетке окружены мембраной. Таким образом, для транспорта медиатора к реакционным центрам создается дополнительное сопротивление. По аналогичным причинам дрожжевые МТЭ, не использующие медиаторы, имеют существенные ограничения по развитию мощности элемента [13, 14]. Следует также отме-

тить, что эффективность конверсии энергии в электричество для эукариотических клеток обычно составляет ~40%. Для прокариотов эта величина может достигать 50–65% [15], а для некоторых микроорганизмов — таких, как *Proteus vulgaris* и *Eshcherichia coli*, — вплоть до 70–80% [16]. Однако для последних характерным является высокое отношение продуцируемых кислых продуктов к нейтральным (4 : 1), что создает упоминавшиеся выше проблемы с закислением элемента.

Напротив, для некоторых бактерий рода *Enterobacter* возможно осуществление бутанодиольного типа метаболизма [17], при котором соотношение кислых продуктов и нейтральных составляет 1 : 6. Так как диапазон рабочих значений рН для мезофильных культур этого рода составляет от 4,4 до 9,0, то это позволяет повысить рабочие концентрации исходного субстрата без увеличения буферности рабочей среды в противоположность ситуации с упоминавшимися выше кислотогенными бактериями.

Интерес представляет также использование синтрофных ассоциаций вышеназванных микроорганизмов, например с метаногенами, для удаления продуцируемых кислот. Дело в том, что при простом механическом удалении из зоны реакции продуктов метаболизма существенными могут стать потери как микроорганизмов, так и медиатора. В случае же трансформации образующихся кислот в  $\text{CO}_2$  и  $\text{CH}_4$  с помощью синтрофной метаногенной ассоциации последняя проблема практически полностью решается. Однако практика использования ассоциаций пока невелика [18]. В качестве примеров в табл. 2 приведены некоторые параметры МТЭ, использующих различные микроорганизмы.

#### СРАВНЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ И ХИМИЧЕСКИХ ТОПЛИВНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ

В заключение приведем лишь некоторые важные сходства и различия БТЭ и ХТЭ (детально с

ХТЭ можно ознакомиться по ряду монографий, например [26]).

Как уже отмечалось выше, интерес к БТЭ вызван тем, что ХТЭ, несмотря на их простоту, реализуют небольшое количество реакций, которые могут быть чувствительны к условиям их протекания. Например, такой широко распространенный катализатор, как платина, легко «отравляется»  $\text{H}_2\text{S}$  и другими примесями, а наличие побочных продуктов реакций приводит к снижению эффективности элемента. Отличительной особенностью БТЭ от ХТЭ является протекание огромного количества окислительно-восстановительных реакций, происходящих внутри отдельного микроорганизма. Поэтому теоретически «перехват» и «вынос» заряда из живой клетки можно осуществить на многих стадиях ее катаболизма. Кроме того, микроорганизмы обладают свойством адаптации к внешним условиям, что делает их более привлекательными при использовании в качестве катализаторов в топливных элементах на загрязненных субстратах. Однако эффективный «перехват» энергии с трансформацией ее в электричество в БТЭ может быть достаточно сложной задачей, а простые ХТЭ — оказаться более предпочтительными. В свою очередь, в большинстве БТЭ в катодной зоне используется чисто химическая реакция восстановления кислорода до воды. Таким образом, выбор типа топливного элемента для конкретных

Таблица 2

Параметры некоторых МТЭ

Микроорганизм	Субстрат	Напряжение или ЭДС, В (Метод)	Ток БТЭ	Анод ( $S, \text{cm}^2$ )	Ссылка
<i>Pseudomonas methanica</i>	$\text{CH}_4$	0,6 (РЦ)	2,8 мкА/см <sup>2</sup>	Pt-черная (12,6)	[19]
<i>Proteus vulgaris</i> <i>Bacillus subtilis</i> <i>Escherichia coli</i>	Глюкоза	0,64 (РЦ)	0,8 мА (при 560 Ом)	Стеклоуглеродная сетка (800)	[20]
<i>Proteus vulgaris</i>	Глюкоза	0,35 (ЗО, при 100 Ом)	3,5 мА (100 Ом)	Стеклоуглеродная сетка (800)	[21]
<i>Proteus vulgaris</i>	Сахароза	0,35 (ЗО, при 100 Ом)	3,5 мА (100 Ом)	Углерод	[22]
<i>Proteus vulgaris</i>	Глюкоза	0,75 (РЦ)	0,45 мА (1 кОм)	Графит	[23]
<i>Escherichia coli</i>	Ацетат	0,25 (РЦ)	1,4 мкА/см <sup>2</sup> (КЗЦ)	Графит (100)	[24]
<i>Escherichia coli</i>	Глюкоза	0,53 (ЗО, при 10 кОм)	0,18 мА/см <sup>2</sup> (КЗЦ)	Стеклоуглерод (12,5)	[25]

Примечание. ЗО — расчет с использованием закона Ома; РЦ — измерения при разомкнутой цепи; КЗЦ — измерения при короткозамкнутой цепи.

условий является многокритериальной оптимизационной задачей [27].

## ВЫВОДЫ

1. Несмотря на некоторую сложность в реализации конструкций МТЭ, последние характеризуются рядом дополнительных свойств, являющихся предпочтительными при решении определенного круга специальных задач, так как обладают более широкой субстратной специфичностью. Это дает большие преимущества МТЭ при совместном решении энергетических и экологических проблем.

2. В МТЭ предпочтительнее использовать анаэробные микроорганизмы, поскольку ~ 90 % их биохимических реакций представляют собой катаболические процессы и, как следствие, прирост биомассы (анаболизм) минимален по сравнению с аэробными процессами.

3. МТЭ и ХТЭ часто являются взаимодополняемыми устройствами. Эффективность использования того или иного из них зависит от решения конкретной задачи.

## ЛИТЕРАТУРА

1. *Bullin N.G.* // Biofuel cells: Alternatives to precious metal catalysts: Fuel Cell seminar series (Univ. of California, USA, 23 Nov. 1999). USA: Dep. Chem., 1999.
2. *Benetto H.P.* // *Biotechnol. Educ.* 1990. Vol. 1, № 4. P. 163.
3. *Tsujimura S., Tatsumi H., Ogawa J.* et al. // *J. Electroanal. Chem.* 2001. Vol. 496. P. 69.
4. *Tayhas G., Palmore R., Kim H.* // *Ibid.* 1999. Vol. 464. P. 110.
5. *Katz E., Willner I., Kotlyar A.B.* // *Ibid.* Vol. 479. P. 64.
6. *Pardo-Yissar V., Katz E., Willner I.* et al. // *Faraday Discuss.* 2000. Vol. 116. P. 11.
7. *Roller S.D., Bennetto H.P., Delaney G.M.* et al. // *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 1984. Vol. 34B. P. 3.
8. *Смейннер Р., Ингрем Д.* Мир микробов. М.: Мир, 1979. Т. 1.
9. *Sell D., Kramer P., Kreysa G.* // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 1989. Vol. 34B. P. 3.
10. *Halme A., Zang X., Rintala N.* // Proc. 7-th Intern. Conf. on computer applications on biotechnology (Osaka, Japan, May 1998). P. 457.
11. *Reed G., Nagodawithana T. W.* // *Yeast Technology.* Van Nostrand Reinhold, 1991. P. 89.
12. *Dickenson J.R., Schweiser M.* The metabolism and molecular physiology of *saccharomyces cervisiae*. London: Taylor and Francis, 1999.
13. *Zang X., Halme A.* // Repts. of Automation Technology Laboratory of HUT, 1994. № 21. Jan.
14. *Halme A., Zang X.* // Proc. 6-th IFAC Symp. Series (Garmisch-Partenkirchen, Germany, May 1995). P. 165.
15. *Thurston C.F., Bennetto H.P., Delaney G.M.* et al. // *J. Gen. Appl. Microbiol.* 1985. Vol. 131. P. 1393.
16. *Benetto H.P.* // In *Frontiers of Science. Chem.* Oxford: Blackwell, 1990. Vol. 6. P. 66.
17. *Tanisho S., Kamiya N., Wakao N.* // *Bioelectrochem. Bioenerg.* 1989. Vol. 21. P. 25.
18. *Halme A., Zang X.* // Repts. of Automation Technology Laboratory of HUT, 1995. № 22. Feb.
19. *Bennetto H.P., Delaney G.M., Mason J.R.* et al. // *Biotechnol. Lett.* 1985. Vol. 7. P. 699.
20. *Thurston C.F., Bennetto H.P., Delaney G.M.* et al. // *J. Gen. Appl. Microbiol.* 1985. Vol. 131. P. 1393.
21. *Delaney G.M., Bennetto H.P., Mason J.R.* et al. // *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 1984. Vol. 34B. P. 13.
22. *Park D.H., Zeikus J.G.* // *Appl. Environ. Microbiol.* 2000. Vol. 66. P. 1292.
23. *Park D.H., Kim S. K., Shin I.H.* et al. // *Biotechnol. Lett.* 2000. Vol. 22. P. 1301.
24. *Park D.H., Kim B.H., Moore B.* et al. // *Biotechnol. Techniques.* 1997. Vol. 11. P. 145.
25. *Allen M.J.* // *Electrochim. Acta.* 1966. Vol. 11. P. 1503.
26. *Эрден-Груз Т.* Химические источники энергии. М.: Мир, 1974.
27. *Xue D., Dong Z.* // *J. Power Sources.* 1998. Vol. 76. P. 69.