

HA@Fe₃O₄ 修饰阳极增强微生物燃料电池降解类固醇雌激素

王昌鲁¹, 余厂^{1,2}, 黄斌^{1*}, 来超超¹, 郭子维¹, 潘学军¹

(1. 昆明理工大学 环境科学与工程学院, 云南 昆明 650500; 2. 河口瑶族自治县发展和改革局, 云南红河哈尼族彝族自治州 661000)

摘要: 利用腐植酸 (HA) 与具有较强电容性的纳米 Fe₃O₄ 颗粒形成的金属化合物 (HA@Fe₃O₄) 修饰微生物燃料电池 (MFC) 阳极, 探究含有以 17 α -乙炔基雌二醇 (EE2) 为代表性类固醇雌激素 (SEs) 的模拟废水在 MFC 阳极的降解特性, 并对 EE2 降解过程中 MFC 的产电特性进行了表征。电化学交流阻抗测试结果表明, 与不存在 HA@Fe₃O₄ 的 MFC 相比, 存在 HA@Fe₃O₄ 的 MFC 的欧姆阻抗降低了 79.58%, 电荷转移阻抗降低了 89.60%。循环伏安扫描结果显示, HA@Fe₃O₄ 的存在显著增加了阳极板的电容。HA@Fe₃O₄ 修饰阳极后 MFC 最大功率密度可达 537.37 mW/m²。HA@Fe₃O₄ 修饰的阳极可显著提高 MFC 对 EE2 的去除率, EE2 在低浓度下 ($\leq 5.0 \mu\text{mol/L}$) 可以介导电子转移, 提高 MFC 的产电性能, 进而提高 MFC 去除 EE2 的能力, 但高浓度 (5.0~10.0 $\mu\text{mol/L}$) 时会抑制微生物的活性并降低 MFC 产电效率。

关键词: 腐植酸; 燃料电池; 17 α -乙炔基雌二醇; HA@Fe₃O₄; 生物膜; 厌氧; 水处理技术

中图分类号: X703; TM911.45 **文献标识码:** A **文章编号:** 1003-5214 (2024) 01-0166-08

HA@Fe₃O₄ modified anode to enhance degradation of estrogen in microbial fuel cells

WANG Changlu¹, YU Chang^{1,2}, HUANG Bin^{1*}, LAI Chaochao¹, GUO Ziwei¹, PAN Xuejun¹

(1. Faculty of Environmental Science and Engineering, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500, Yunnan, China; 2. Bureau of Development and Reform of Hekou Yao Autonomous County, Honghe Hani and Yi Autonomous Prefecture 661000, Yunnan, China)

Abstract: Microbial fuel cell (MFC) anode was modified with a metal compound (HA@Fe₃O₄) formed by humic acid (HA) and nano-Fe₃O₄ particles with strong capacitive properties. The degradation characteristics of simulated wastewater containing 17 α -ethynylestradiol (EE2) as representative steroid estrogen (SEs) at the MFC anode were evaluated, while the electrogenic properties of MFC during EE2 degradation were also characterized. Data from electrochemical AC impedance test showed that, the ohmic impedance and charge-transfer impedance of the MFC with HA@Fe₃O₄ were reduced by 79.58% and 89.60%, respectively, compared with those of the MFC without HA@Fe₃O₄. Cyclic voltammetry results indicated that the presence of HA@Fe₃O₄ significantly increased the capacitance of the anode plate. The maximum power density of the MFC after HA@Fe₃O₄ modification reached up to 537.37 mW/m². HA@Fe₃O₄ modified anode significantly improved the removal rate of EE2 by MFC. EE2 could mediate electron transfer at low concentrations ($\leq 5.0 \mu\text{mol/L}$) and improve the electrical performance of MFC, thus promoting the ability of MFC to remove EE2. However, high concentration (5.0~10.0 $\mu\text{mol/L}$) could inhibit microbial activity and reduce the electrical generation efficiency of MFC.

收稿日期: 2023-02-11; 定用日期: 2023-05-08; DOI: 10.13550/j.jxhg.20230084

基金项目: 国家自然科学基金项目 (42067056, 21866017)

作者简介: 王昌鲁 (1999—), 男, 硕士生, E-mail: 952236553@qq.com。联系人: 黄斌 (1982—), 男, 教授, E-mail: huangbin@kust.edu.cn。

Key words: humic acid; fuel cells; 17 α -ethynylestradiol; HA@Fe₃O₄; biofilm; anaerobism; water treatment technology

类固醇雌激素 (SEs) 是一类典型的环境内分泌干扰物, 也是一类广受关注且危害较大的新污染物, 常规的污水处理工艺 (活性污泥法、臭氧氧化法、微滤法等) 难以将其完全去除。SEs 能通过模拟人或动物体的生理、生化作用干扰生物体内荷尔蒙的合成分泌, 进而影响生物体正常的生殖、发育和其他行为^[1-3]。其中, 最具代表性的 SEs 为人造 17 α -乙炔基雌二醇 (EE2)。由于 EE2 结构稳定且水溶性差 (辛醇-水分配系数 $\lg K_{ow}=4.15$), 其在生物体内不能被完全吸收或代谢, 导致大量 EE2 会随生物体排泄进入生活污水^[4]。目前, 常用的 EE2 处理技术包括超声、臭氧氧化、膜生物反应器和反渗透等方法^[5-8], 但这些技术存在能耗高和二次污染等问题。因此, 亟需寻找一种经济有效的处理技术去除废水中的 EE2。

研究表明^[9-11], 利用微生物燃料电池 (MFC) 阳极氧化或阴极还原作用可有效处理偶氮染料、苯酚、硝酸盐、石油污泥等难降解污染物。在当今水污染愈发严重、能源愈发短缺的时代, MFC 被认为是一种符合可持续发展理念的技术^[12]。MFC 阳极板电子传递性能在很大程度上决定了 MFC 的产电性能以及对污染物的降解能力。因此, 阳极板对整个系统起着至关重要的作用, 提高 MFC 阳极板电子转移性能是该技术研究的重点。

有研究表明^[13], 不锈钢箔表面形成纳米 Fe₃O₄ 薄膜后有成为超级电容器的潜力, 纳米铁氧化物可以促进电活性菌与阳极之间的电子传递效率^[14], 且自然环境中的金属还原菌多以 Fe₃O₄ 作为天然电子受体^[15]。腐植酸 (HA) 作为一种天然有机物, 对自然环境中的物质能量转移起到了重要作用^[16]。而且 HA 作为一种电子传递中介体, 可大幅提高微生物代谢过程中胞外呼吸的电子传递效率。鉴于 HA 的这种特殊电化学性质, 将其应用于 MFC 系统, 将有望实现在低能耗的前提下对 SEs 的高效降解。但是, 直接将 HA 修饰在阳极板表面比较困难。本研究设想纳米铁氧化物和 HA 在疏水基团和静电力的作用下可以形成稳定包裹物, 衍生出不同于原始 HA 的物理化学特性, 掩蔽 HA 的疏水基团, 进而将其负载到 MFC 阳极板上^[17]。

阳极板的廉价易得与稳定性是 MFC 实际应用必须考虑的因素, 玻璃碳 (GC) 极板是一种具有优异性能的电极材料, 具有低电阻、高稳定性、高机械强度、良好的耐腐蚀性和高温稳定性等特点, 适合用于制作 MFC 的阳极板。本研究采用 HA 与纳米

Fe₃O₄ 作用形成金属化合物 (HA@Fe₃O₄) 来修饰 MFC 阳极^[17]。旨在探究 HA@Fe₃O₄ 修饰阳极的 MFC 对 EE2 的去除效果。利用电化学交流阻抗 (EIS) 测试了电极性能并研究了 HA@Fe₃O₄ 修饰阳极对 MFC 产电性能的影响。通过高效液相色谱仪检测 EE2 浓度, 分析了不同 EE2 浓度下 MFC 对 EE2 的去除效果。本研究对于推动利用 MFC 技术降解新污染物具有重要的理论价值和实践意义。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

EE2、腐植酸钠、铁氰化钾、亚硝酸钠、乙腈, 分析纯, 美国 Sigma-Aldrich 公司; 乙酸钠、对苯二胺、1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳酰二亚胺 (EDC)、*N*-羟基丁二酰亚胺 (NHS)、磷酸氢二钠、磷酸二氢钠、乙酸钠、氯化钠、氯化铵、酵母粉, 分析纯, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司; GC 阴极 (纯度 99.99%), 北京晶龙特碳石墨厂; 六水合氯化铁、四水合氯化亚铁、六水合氯化镁、二水合氯化钙, 分析纯, 国药集团化学试剂有限公司; 盐酸、氨水, 分析纯, 四川西陇科学有限公司; 氮气 (纯度 99.9%), 昆明仑辉经贸有限公司。

1260 型高效液相色谱仪, 美国 Agilent 公司; CHI660E 型电化学工作站, 上海辰华仪器有限公司; Beckman 64R 型高速冷冻离心机, 美国贝克曼公司; IPAM-6505 数据采集模块, 中国杭冠达电子科技有限公司; DRB200 型消解仪, 美国哈希公司; Elementar vario TOC cube 总有机碳分析仪, 德国 Elementar 公司; Shimadzu 2600 型紫外-可见分光光度计, 日本岛津公司; Scientific K-Alpha Nexsa 型 X 射线光电子能谱仪 (XPS), 美国 Thermo 公司; UPH-I-60L 超纯水器, 四川优普超纯科技; VC890F 数字万用表, 中国驿生胜利科技有限公司。

1.2 HA@Fe₃O₄ 的合成与电极的制备

在圆底烧瓶内加入 6.10 g (0.0225 mol) 六水合氯化铁和 3.00 g (0.0151 mol) 四水合氯化亚铁, 溶解于 100 mL 水中。圆底烧瓶上方加装回流冷凝装置, 整个合成过程持续通入氮气保证厌氧环境, 并通过磁力搅拌确保反应充分。将圆底烧瓶加热至 90 °C 后, 迅速将 10 mL (质量分数 25%) 氨水溶液和 50 mL (质量分数 1%) 腐植酸钠水溶液依次加入到圆底烧瓶中, 在 90 °C 恒温条件下搅拌 30 min 使其充分反应, 自然冷却至室温后将反应产生的固体用

超纯水 (18.25 M Ω ·cm, 25 °C) 洗至中性, 并在 40 °C 下真空干燥至恒重制得 HA@Fe₃O₄, 常温常压下干燥储存备用。

使用厚度为 0.2 mm 的 GC 极板作为载体, 负载之前先在抛光垫上依次用 20 mL 的 1.00、0.30 和 0.05 μ m 的氧化铝抛光液 (氧化铝抛粉和水以 1:9 的体积比混合) 进行抛光。抛光后用去离子水将电极彻底冲洗干净, 并在去离子水中超声处理 2 min 以去除表面脱落的石墨颗粒。将 0.54 g (0.005 mol) 对苯二胺溶解在 0.5 mol/L 盐酸 (500 mL) 中, 然后向其中加入 0.35 g (0.005 mol) 亚硝酸钠。将处理后的 GC 极板置于上述混合溶液中, 使用锡箔纸包裹住整个反应容器确保黑暗环境, 同时向混合溶液持续通入氮气, 将反应容器放置在冰水混合液中, 并使用温度计实时检测冰水混合液的温度, 使反应容器里的温度控制在 0~5 °C, 反应约 10 min^[18], 原位生成了芳基重氮盐 (GC-Ph-N₂⁺Cl⁻)。为了将 HA@Fe₃O₄ 负载到 GC 极板表面, 使用循环伏安法 (CV) 对 GC 极板表面进行电化学还原改性, 使 GC 极板表面衍生 4-氨基苯基。CV 以 100 mV/s 的扫描速率在 0.6~1.0 V 的电势范围持续扫描两个周期。GC 极板通过上述改性后依次在去离子水、乙腈、去离子水中超声冲洗, 最后在真空干燥箱内 90 °C 下干燥 24 h, 最终得到的极板命名为 GC-Ph-NH₂^[19]。将干燥后的 GC-Ph-NH₂ 极板浸入质量浓度 1.0 g/L EDC 和质量浓度 2.0 g/L NHS 的混合溶液 (500 mL) 中。并将 HA@Fe₃O₄ (50 mg) 加入到上述 EDC/NHS 溶液中, 在 4 °C 下反应 24 h。在 EDC/NHS 存在下, 通过 HA 的羧基与 GC-Ph-NH₂ 的伯胺基的结合, 在极板表面形成了稳定的 HA@Fe₃O₄ 层, 修饰后的极板命名为 GC-Ph-HA@Fe₃O₄^[18]。

1.3 MFC 的组装和启动

MFC 组装过程示意图见图 1。

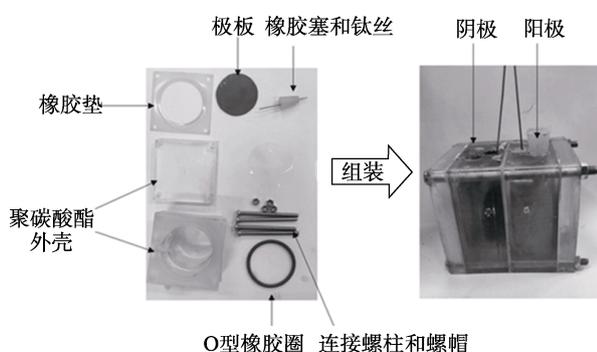


图 1 MFC 组装过程示意图

Fig. 1 Schematic diagram of MFC assembly process

MFC 采用聚碳酸酯外壳, 阳极室和阴极室之间使用质子交换膜 (NafionN-117PFSA Membrane, 美

国杜邦公司) 进行间隔, 两个反应室的容积均为 56 mL。使用 GC-Ph-HA@Fe₃O₄ 和未修饰 GC 极板分别作为双室 MFC 的阳极和阴极, 两极极板均为半径 2.4 cm、面积 18.1 cm² 的圆形。阳极室接种的菌种取自昆明市第七、八水质净化厂 A²/O 工艺中厌氧段的厌氧活性污泥 [溶解性固体 (19970±230) mg/L, 总化学需氧量 (13450±125) mg/L, pH 7.3±0.1]。提取 250 mL 厌氧活性污泥于 500 mL 锥形瓶中, 污泥曝氮气 15 min 排尽锥形瓶中的氧气后, 使用封口膜和瓶塞进行密封处理, 在厌氧条件下培养 7 d, 然后取 10 mL 上清液接种到阳极室。阳极液是含 EE2 (EE2 根据实验所需浓度调整添加量) 的模拟废水 (56 mL), 相比于厌氧活性污泥更适合微生物生长, 其组成如下: 磷酸氢二钠 (4.3298 g/L)、磷酸二氢钠 (2.3396 g/L)、乙酸钠 (1.0000 g/L)、氯化钠 (2.9220 g/L)、氯化铵 (0.8000 g/L)、六水合氯化镁 (0.2000 g/L)、二水合氯化钙 (0.0500 g/L)、少量酵母粉 [其中, 磷酸二氢钠、磷酸氢二钠可使用 PBS 缓冲液 (pH=7) 作为基础液代替]。阳极液需要连续曝氮气 15 min, 使其呈完全厌氧状态后方可加入阳极使用。阴极液为质量浓度 16.4625 g/L (56 mL) 的铁氰化钾溶液^[20]。将驯化后的厌氧活性污泥上清液接种至阳极室中后即可启动 MFC。MFC 外电路连接 1000 Ω 的电阻, 通过数据采集模块采集双室 MFC 从启动期到稳定阶段的输出电压。每当电压值跌破 30 mV 时, 更换阳极及阴极溶液, 在 10 d 后电压升高至 600 mV 左右, 表明阳极表面已形成稳定的生物膜。再次更换两次阳极溶液后, 记录的电压呈周期性变化, 标志着 MFC 成功启动。

1.4 MFC 电化学性能分析

使用 SEM 分别对 GC 极板、GC-Ph-NH₂ 以及 GC-Ph-HA@Fe₃O₄ 的表面形貌进行表征。使用 X 射线光电子能谱 (XPS) 对 GC-Ph-N₂⁺Cl⁻ 和 GC-Ph-HA@Fe₃O₄ 表层元素化合态进行分析, 将极板剪成 5 mm×5 mm 大小的块状, 以 Al K α 射线 (0.6 eV) 为激发源, 通过能量为 100 eV, 增量能量为 1 eV^[21], 使用数据分析软件 Avantage 对 XPS 结果进行分析, 以 C 1s=284.80 eV 能量参比进行结合能校正, 元素定量以及分峰拟合使用 Smart 模式进行。在 MFC 稳定运行后, 采用 CV 法测试微生物与电极之间的电子转移特性。该测试使用电化学工作站进行, 测试的扫描速率和区间是根据具体的研究对象来确定的。在进行 CV 测试中, 阳极作为工作电极, 阴极作为对电极, Ag/AgCl (0.199 V vs. SHE) 作为参比电极放置在阳极室中。扫描速率设置为 0.1 mV/s, 扫描区间为 -1~1 V。利用变电阻法^[17]测量 MFC 的电流密度和最大功率密度, 外接电阻箱电阻值在

10.00~0.01 kΩ 范围内梯度降低, 电压稳定后记录电阻对应电压值。使用公式 $P=1000 \times U^2 / (RA)$ 计算功率密度 (P , mW/m²), 使用公式 $I_a=U / (RA)$ 计算电流密度 (I_a , A/m²)。其中, 输出电压 (U , V) 通过数据采集模块每 2 min 采集一次; R (Ω) 为对应电阻; A (m²) 为极板的面积。从而绘制出功率密度曲线和极化曲线, 极化曲线的斜率可以很好地反映 MFC 的内阻信息。EIS 法用于测试阳极与微生物之间的电子传递阻抗^[22]。当 MFC 运行稳定后, 转化成开路状态, 稳定一段时间可测得开路电压, 然后以阳极为工作电极, 阴极为辅助电极, Ag/AgCl 为参比电极进行 EIS 测试, 扫描频率范围为 100000~0.01 Hz, 振幅为 5 mV, 偏置电压为开路电压。根据 REDDY 等^[23]的方法得到电极电势与电流密度曲线, 在外电路电阻恒定为 1000 Ω 的条件下, 为了消除测量过程中可能存在的误差因素, 将各组 MFC 阳极液碳源更换为同一质量浓度的乙酸钠 (1 g/L), 放电过程中不添加任何其他碳源, Ag/AgCl 为参比电极, 用数字万用表测量电压。

1.5 EE2 降解和微生物活性分析

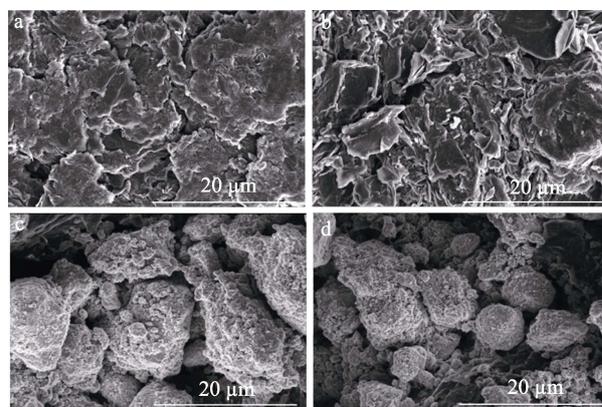
在其他条件 (阳极液等) 保持不变的情况下, 设置 4 个不同浓度的 EE2 溶液, 分别是 2.5、5.0、7.5、10.0 μmol/L, 以测试不同浓度 EE2 对 MFC 性能的影响以及 MFC 对不同浓度 EE2 的处理效果。EE2 浓度变化可通过高效液相色谱仪检测, 根据 EE2 的去除浓度与 EE2 初始浓度的比值计算 EE2 的去除率^[24]。每 8 h 进行一次取样, 每次取样后阳极室均需曝氮气 2 min 以维持阳极室厌氧环境。MFC 在 (29±2) °C 恒温培养箱中以补料分批模式运行。阳极液在每次更换之前亦需曝氮气 15 min。将 MFC 两极断路, 观察在没有电流产生的情况下 MFC 阳极微生物对 EE2 的去除率。溶液通过消解仪在 150 °C 条件下消解 120 min 后, 于 620 nm 波长下使用分光光度法测定化学需氧量 (COD)^[17]。使用紫外-可见分光光度计测试溶液在 600 nm 波长处的吸光度 (OD₆₀₀), 利用提前配好梯度浓度的细菌溶液 (脱氮杆菌、梭菌等) 对应的吸光度绘制标准曲线, 根据吸光度的不同评估溶液中的微生物量。不同 EE2 浓度下阳极液中的磷酸酶浓度通过对硝基苯磷酸盐法、脱氢酶浓度通过氯化三苯基四氮唑 (TTC) 还原法进行测定^[25]。

2 结果与讨论

2.1 GC 电极表面的改性与表征

为了使阳极表面形成稳定 HA@Fe₃O₄ 层, 采用

共价结合的方法将 HA@Fe₃O₄ 固定在电极表面。图 2 为修饰前后的 GC 极板表面的 SEM 图。未修饰的电极表面光滑且均匀 (图 2a), 通过重氮酸盐还原作用形成的 GC-Ph-NH₂ 表面出现了少量球形颗粒 (图 2b)。HA@Fe₃O₄ 成功覆盖在 GC 极板表面后, GC 极板表面出现了明显的颗粒结构 (图 2c)。在完成 MFC 降解 EE2 的实验后, 将阳极板从 MFC 阳极中取出按照上文所述方法, 将极板剪成小块进行 SEM 表征, 如图 2d 所示。可以看出, GC 极板表面的 HA@Fe₃O₄ 减少, 但大部分仍然负载在 GC 极板表面, 表明 HA@Fe₃O₄ 在 GC 极板表面具有稳定性, 不易脱落。



a—GC; b—GC-Ph-NH₂; c—GC-Ph-HA@Fe₃O₄; d—反应后电极

图 2 电极的 SEM 图

Fig. 2 SEM images of electrodes

分别对 GC-Ph-N₂⁺Cl⁻和 GC-Ph-HA@Fe₃O₄ 进行 XPS 表征, 结果见图 3。由全谱图 (图 3a) 可见元素含量的变化。GC-Ph-HA@Fe₃O₄ 相比未修饰的阳极板表面含有更多的 Fe、O 元素, 而 Cl 元素含量减少则是因为 HA@Fe₃O₄ 取代了 N₂⁺Cl⁻。通过对 GC-Ph-N₂⁺Cl⁻表面的 N 1s 精细扫描观察到 5 个峰 (399.6、400.4、401.0、402.0 和 403.0 eV), 从这些峰的存在可以推断 GC 极板表面形成了重氮基团^[19]。由图 3b、c 可以看出, GC-Ph-N₂⁺Cl⁻与 GC-Ph-HA@Fe₃O₄ 极板均含有位于 399.6 eV 处的峰, 表明两个极板表面均存在氨基, 这可能是因为游离氨基基团仍然存在于极板表面。400.4 eV 处的峰代表 GC-Ph-N₂⁺Cl⁻极板表面形成了偶氮桥, 401.0 eV 处的峰是因为铵的存在, 而在 402.0 和 403.0 eV 处的峰证明了重氮基团的存在^[19]。这表明对苯二胺在 NaNO₂ 和 HCl 溶液中反应一段时间后, 部分氨基已转化为重氮基团。图 3c 中 400.8 eV 处的峰属于碳氮键, 表明 HA@Fe₃O₄ 中的羧基与极板表面的伯氨基结合, HA@Fe₃O₄ 成功负载到 GC 极板表面^[26]。

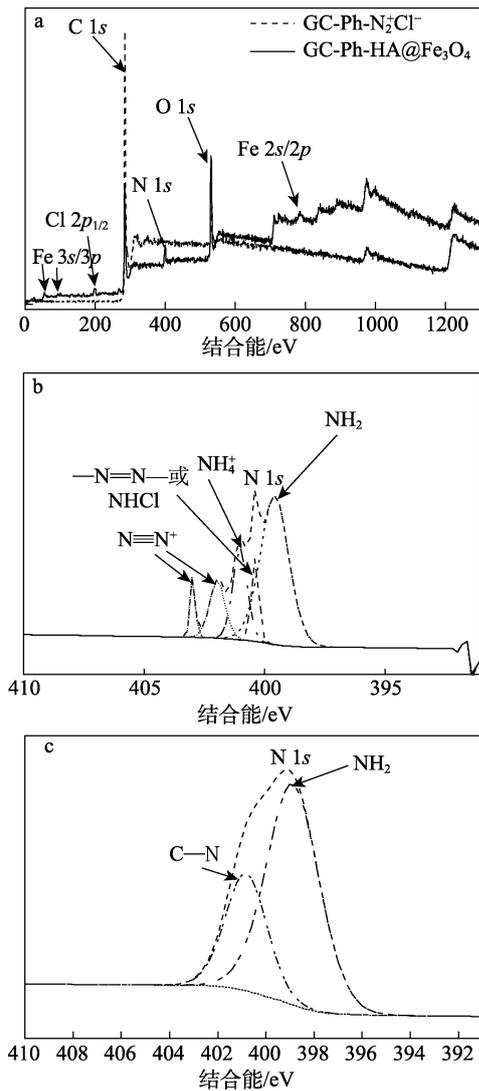


图 3 GC-Ph-N₂⁺Cl⁻和 GC-Ph-HA@Fe₃O₄的 XPS 全谱 (a) ; GC-Ph-N₂⁺Cl⁻ (b) 和 GC-Ph-HA@Fe₃O₄ (c) 的 N 1s 精细 XPS 谱
Fig. 3 XPS full spectra of GC-Ph-N₂⁺Cl⁻ and GC-Ph-HA@Fe₃O₄ (a); N 1s fine XPS spectra of GC-Ph-N₂⁺Cl⁻ (b) and GC-Ph-HA@Fe₃O₄ (c)

2.2 MFC 和极板的电化学性能测试

HA@Fe₃O₄ 修饰阳极板前后 MFC 的开路电压和产电电压见图 4。由图 4a 可知, 在稳定期内以 GC-Ph-HA@Fe₃O₄ 为阳极板的 MFC 开路电压更高, 波动更小。原因可能是附着在 GC-Ph-HA@Fe₃O₄ 阳极上的微生物更加稳定。因此, 以 GC-Ph-HA@Fe₃O₄ 为阳极板的 MFC 电压更高^[26]。如图 4b 所示, 在 MFC 成功启动后, 以 GC-Ph-HA@Fe₃O₄ 为阳极的 MFC 最大产电电压为 700.9 mV [比空白对照组 (无修饰 GC 极板为阳极的 MFC) 高出 21.39%]。且经过修饰后的 MFC 启动更快 (50 h 左右电压明显开始上升)。这可能是因为 GC-Ph-HA@Fe₃O₄ 阳极板更有利于微生物附着, 可以更快地在阳极板表面形成稳定的生物膜^[27]。

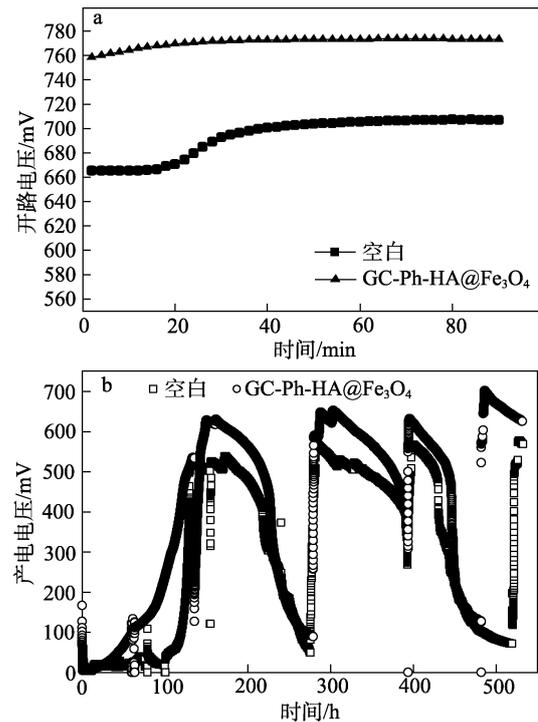


图 4 HA@Fe₃O₄ 修饰前后 MFC 开路电压 (a) 和产电电压 (b)
Fig. 4 Open circuit voltage (a) and electricity generation voltage (b) of MFC before and after modification of HA@Fe₃O₄

由于 HA@Fe₃O₄ 修饰阳极板后 MFC 产电电压升高, 以 GC-Ph-HA@Fe₃O₄ 为阳极板的 MFC 的产电性能也会有所变化。通过改变外电路电阻得到功率密度-电流密度曲线 (图 5a) 以及极化曲线 (图 5b)。同时在外电阻恒定的条件下得到电极电势与电流密度关系曲线 (图 5c)。由图 5a 可知, 空白 MFC 的最大功率密度为 378.13 mW/m², 对应电流密度为 1375.00 mA/m², 而以 GC-Ph-HA@Fe₃O₄ 为阳极的 MFC 的最大功率密度为 537.37 mW/m² (提高了 42.11%), 对应电流密度为 2318.13 mA/m² (提高了 68.59%)。以 GC-Ph-HA@Fe₃O₄ 为阳极的 MFC 的电流密度和功率密度均显著升高。如图 5b 所示, 通过对空白 MFC 和以 GC-Ph-HA@Fe₃O₄ 为阳极的 MFC 的极化曲线进行线性拟合, 得到空白 MFC 的内阻和以 GC-Ph-HA@Fe₃O₄ 为阳极的 MFC 的内阻, 分别为 228 和 168 Ω, HA@Fe₃O₄ 修饰阳极后 MFC 的内阻降低了 26.32%。而 MFC 最大功率密度受内阻影响较大, MFC 内阻的减小提高了 MFC 内部电子传递效率, 因此, HA@Fe₃O₄ 修饰阳极后, MFC 的最大功率密度和电流密度均升高, MFC 的输出性能增强。通过观察不同阳极氧化电势 (图 5c) 发现, 随着电流密度的增大, 不同阳极电势变化较大, 而阴极电势变化较小, 这表明 MFC 性能主要受到阳极性能的影响。GC-Ph-HA@Fe₃O₄ 电极负电位值变化

较空白阳极的电极负电位值变化更大, 而且随着电流密度增大这种差距越来越明显。这可能是因为 HA 的氧化还原电位更低, 其负载到电极表面后加快了电子传递至阳极板的速度^[19]。

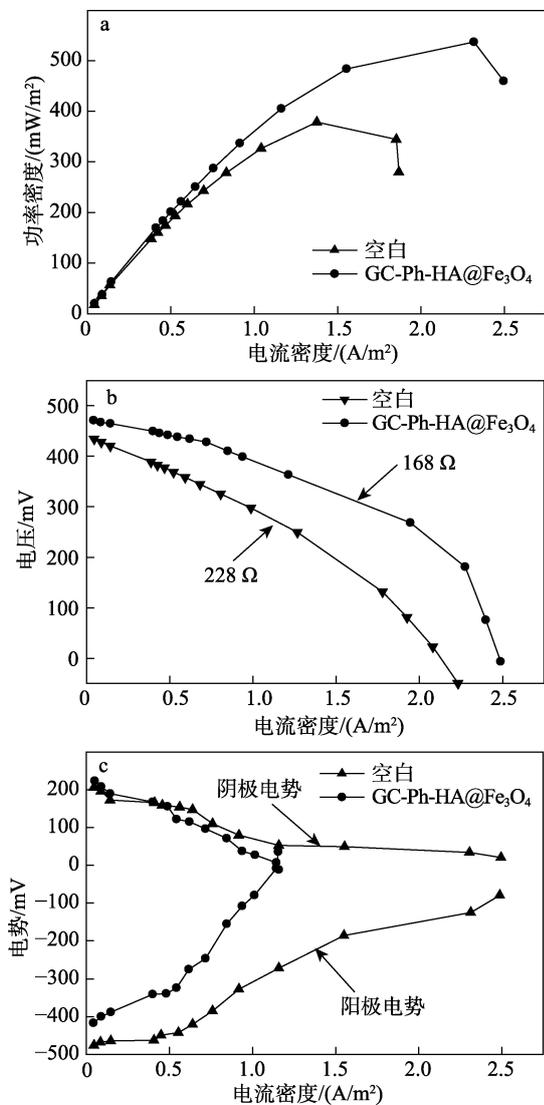


图 5 不同阳极 MFC 功率密度与电流密度的曲线 (a)、极化曲线 (b) 以及电极电势与电流密度关系曲线 (c)
 Fig. 5 Power density and current density curves of MFC with different anodes (a), polarization curves (b), and relation curves between electrode potential and current density (c)

CV 法是一种用来研究阳极电化学特性及其与微生物之间相互作用关系的技术。为了研究 HA@Fe₃O₄ 的修饰以及生物膜的形成对 MFC 阳极板电化学性能产生的影响, 对 MFC 阳极板进行 CV 测试, 结果见图 6a。在 GC-Ph-HA@Fe₃O₄ 的 CV 曲线上观察到明显的氧化还原峰, 是因为 HA 中存在氧化还原官能团 (醛基、酮基等), 表明 HA@Fe₃O₄ 成功附着在阳极板表面。GC-Ph-HA@Fe₃O₄ 和形成生物膜后的阳极板比无 HA@Fe₃O₄ 和未形成生物膜

的极板表现出更强的峰电流, 前者是因为 HA@Fe₃O₄ 具有较好的氧化还原活性, HA@Fe₃O₄ 负载到阳极板表面后使阳极板获得更大的电容特征; 后者是因为大量的电活性微生物附着在电极表面起到了类似电容的作用。

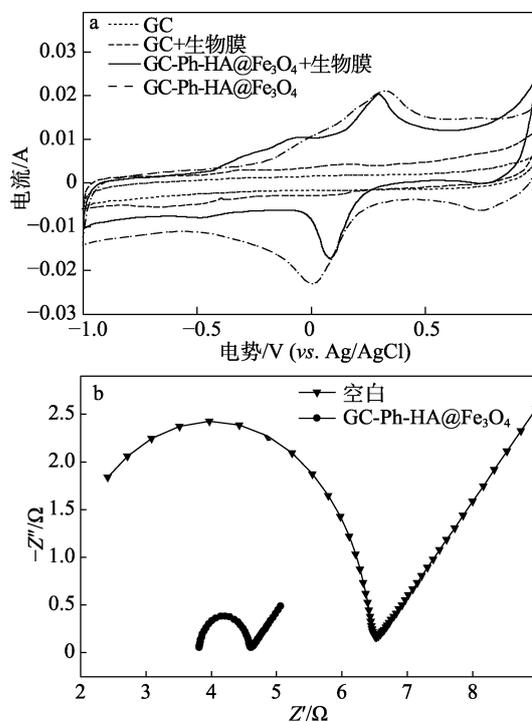


图 6 GC、GC-Ph-HA@Fe₃O₄ 以及形成生物膜前后 CV 测试曲线 (a); 阳极被 HA@Fe₃O₄ 修饰前后的 Nyquist 图 (b)
 Fig. 6 CV test curves (a) before and after biofilm formation and Nyquist diagrams (b) before and after anode modified with HA@Fe₃O₄

通过 EIS 测试得出 HA@Fe₃O₄ 修饰前后 MFC 阳极性能参数。在 MFC 运行稳定后进行 EIS 测试, 并通过等效电路图拟合得到了奈奎斯特图 (图 6b)。欧姆阻抗 (R_o) 代表电子在 MFC 阳极内部的电阻, 电荷转移阻抗 (R_{ct}) 表示电子从阳极液转移到阳极板时遇到的阻力。 R_o 与 R_{ct} 的值越小, 代表电子转移效率越高^[28]。通过观察图 6b 发现, 以 GC-Ph-HA@Fe₃O₄ 为阳极的 MFC 的 R_o 与 R_{ct} 都显著降低。通过图 6b 拟合后得到的表 1 数据显示, 以 GC-Ph-HA@Fe₃O₄ 为阳极的 MFC 的 R_o 为 0.78 Ω/cm^2 , 较未修饰阳极 MFC 的 R_o (3.82 Ω/cm^2) 降低了 79.58%。HA@Fe₃O₄ 修饰阳极的 R_{ct} 仅为 1.55 Ω/cm^2 , 较空白阳极 (14.90 Ω/cm^2) 降低了 89.60%。出现这一现象的原因是, 一方面, GC-Ph-HA@Fe₃O₄ 通过提高 GC 极板的氧化还原活性, 从而提高了 GC 极板的导电率; 另一方面, GC-Ph-HA@Fe₃O₄ 在阳极板表面起到介导电子转移的作用, 从而提高了微生物产生的电子传递到阳极板的效率, 进而增强了 MFC 阳极的电化学性能。

表 1 运行后阳极材料的 EIS 拟合值
Table 1 EIS fitting values of anode material after operation

参数	空白	HA@Fe ₃ O ₄ 修饰阳极
R _o /(Ω/cm ²)	3.82	0.78
R _c /(Ω/cm ²)	14.90	1.55

2.3 MFC 降解 EE2 及 COD 的能力评估

为了研究 HA@Fe₃O₄ 在 MFC 降解 EE2 过程中的作用, 在未修饰阳极 MFC 开路 (OC)、以 GC-Ph-HA@Fe₃O₄ 为阳极的 MFC 开路 (OC+GC-Ph-HA@Fe₃O₄)、闭路 MFC (空白)、以 GC-Ph-HA@Fe₃O₄ 为阳极的闭路 MFC (GC-Ph-HA@Fe₃O₄) 4 种不同状态下, 观察 EE2 以及 COD 和总有机碳 (TOC) 的去除率, 结果见图 7。

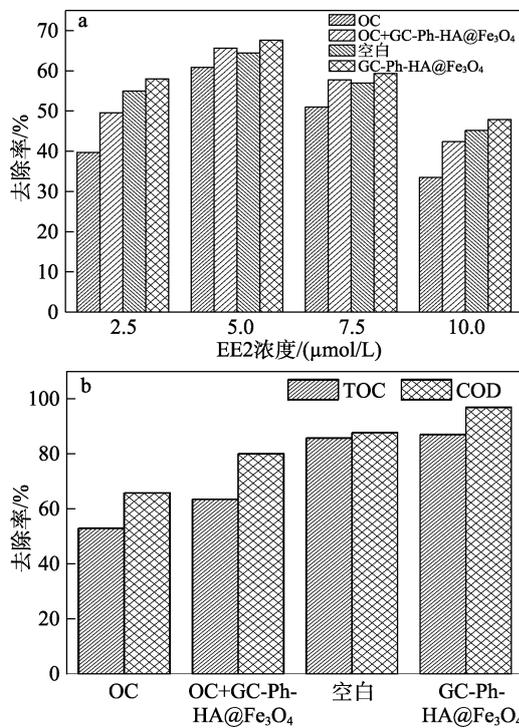
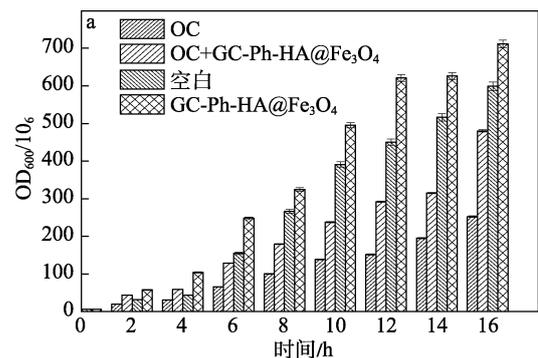


图 7 不同条件下的 EE2 (a) 及 TOC 和 COD (b) 的去除率
Fig. 7 Removal rates of EE2 (a) as well as TOC and COD (b) under different conditions

如图 7a 所示, 开路状态下, 在 MFC 阳极室内只发生了微生物降解作用, 此时电活性微生物产生的电子无法传递至阴极, 这种状态下 HA@Fe₃O₄ 的存在亦提高了 EE2 的去除率(EE2 浓度为 5.0 μmol/L 时, 有 HA@Fe₃O₄ 存在下, EE2 的去除率比没有 HA@Fe₃O₄ 存在时提高了约 7.89%)。这可能是因为 HA@Fe₃O₄ 修饰后的阳极更加有利于微生物的附着。闭路时, 有 HA@Fe₃O₄ 存在时 MFC 对 EE2 的去除率为 67.63%, 比没有 HA@Fe₃O₄ 存在的 MFC

更高, 这是因为 MFC 产生了电子转移, HA@Fe₃O₄ 可以加速电子转移效率, 电活性微生物的活性增强, 因此, EE2 的去除率比闭路没有 HA@Fe₃O₄ 存在时更高。开路和闭路的 MFC 对 EE2 的去除率均随着 EE2 浓度的升高先升高后降低。这可能是因为 EE2 在低浓度 (≤5.0 μmol/L) 下能够介导电子的转移^[28], 从而促进电活性微生物的生长; 另外, EE2 作为溶液中的一种底物, 其浓度在一定范围内的增加也可以促进微生物数量的增加。而随着 EE2 浓度的继续升高, MFC 对 EE2 的去除率下降, 是因为高浓度 (5.0~10.0 μmol/L) 的 EE2 会抑制微生物生长^[29]。由图 7b 观察到, 在 MFC 开路或者闭路状态下 HA@Fe₃O₄ 的存在均可提升 MFC 对 TOC 以及 COD 的去除率, 这和 MFC 对 EE2 的去除效果一致。这可能是因为, 一方面 HA@Fe₃O₄ 修饰 MFC 阳极板后, 阳极板更加有利于微生物附着; 另一方面, HA@Fe₃O₄ 作为电子传递中介体, 提高了阳极液和阳极板之间的电子传递效率, 同时降低了阳极板电阻, MFC 内阻减小, 输出效率提高。同时由于电子转移效率提高, 电活性微生物活性的增加, 降解底物的能力也得到提升。

MFC 电活性微生物活性的增加可能表现在微生物数量的增加, 同时为了验证 HA@Fe₃O₄ 的存在有利于微生物在阳极板的附着 (阳极板附着的微生物数量增加后, 阳极液中的微生物数量也会增加), 探究了 MFC 阳极液微生物数量随时间的变化, 结果见图 8。从图 8a 可以观察到, 以 GC-Ph-HA@Fe₃O₄ 为阳极的 MFC 微生物数量在开路或闭路状态下均大于空白 MFC。一方面是因为 HA@Fe₃O₄ 修饰后的阳极板表面更加粗糙, 从图 2c 中可以观察到 GC-Ph-HA@Fe₃O₄ 具有更多的孔隙, 这为微生物的大量附着提供了有利条件; 另一方面是因为 HA@Fe₃O₄ 具有介导电子转移的能力, 通过加速电子的传递, 从而促进微生物生长代谢, 进而促进微生物数量增加^[30]。闭路 MFC 微生物数量大于开路 MFC 是因为, 在连通电路后, 阴极与阳极之间发生电子转移产生了电流, 阳极的氧化还原电位提高, 提高了微生物活性, 促进了微生物生长。



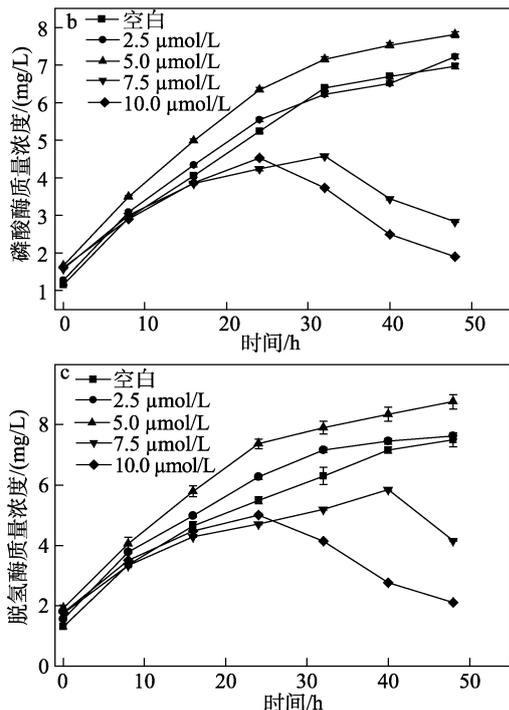


图 8 不同条件下阳极液微生物浓度变化 (a); 不同 EE2 浓度下磷酸酶质量浓度 (b) 和脱氢酶质量浓度 (c) 随时间的变化

Fig. 8 Changes of microbial concentration in anode solution under different conditions (a), phosphatase mass concentration (b) and dehydrogenase mass concentration (c) under different EE2 concentrations with time

EE2 在高浓度下抑制微生物生长可能是因为高浓度 EE2 对微生物酶的活性产生影响, 本实验探究了微生物磷酸酶和脱氢酶活性的变化。磷酸酶在微生物生长过程中起到催化磷酸化合物的作用, 当微生物生长环境中磷元素含量不足时, 微生物可以通过合成磷酸酶来提高对环境中的磷元素的利用率^[23]。如图 8b 所示, 磷酸酶质量浓度在 EE2 浓度为 2.5~5.0 μmol/L 大部分时间都表现出比空白组更高, 且具有相似的趋势, 即磷酸酶质量浓度随着时间增加而增加, 最后逐渐趋于稳定。这是因为随着时间增加, 阳极底物中的磷元素不断降低, 微生物通过合成磷酸酶维持自身生长代谢。EE2 浓度升高后, 即在 7.5~10.0 μmol/L 下磷酸酶质量浓度随着时间增加先升高后降低, 且 10.0 μmol/L 下磷酸酶的质量浓度降低得更早, 最终的质量浓度也更低。说明高浓度 EE2 会抑制磷酸酶的产生, 导致微生物对底物中磷的利用率变低, 进而导致微生物活性变低。脱氢酶参与微生物代谢底物过程中发生的氧化还原反应, 可以增强 H⁺ 以及 e⁻ 的释放。脱氢酶活性越高说明微生物产生电流的能力越强, 进一步可以说明微生物去除污染物的能力越强^[31]。从图 8c 可以看出, EE2 浓度为 5.0 μmol/L 时脱氢酶的活性最高, 这也是在此浓度下的 EE2 去除效率最高的原因之一。

3 结论

HA@Fe₃O₄ 修饰阳极可以提升 MFC 的产电性能。以 GC-Ph-HA@Fe₃O₄ 为阳极的 MFC 具有更高的产电电压, 为 700.9 mV, 启动更快。与空白 MFC (阳极板无 HA@Fe₃O₄ 修饰) 相比, 以 GC-Ph-HA@Fe₃O₄ 为阳极的 MFC 内阻降低了 26.32%, 输出效率增大, 产生的最大功率密度提高了 42.11%, 电流密度提高了 68.59%。粗糙多孔的 GC-Ph-HA@Fe₃O₄ 阳极增强了微生物的附着, 亦提高了 MFC 的产电能力。

低浓度 EE2 可以介导电子转移, 提升 MFC 产电性能, 而高浓度 EE2 抑制了磷酸酶和脱氢酶的活性, 进而降低了 MFC 的产电能力。在 MFC 阳极室内 HA@Fe₃O₄ 可以作为电子转移中介体, 在开路或是闭路状态下, 均可以提高 EE2 的微生物去除率。在 EE2 浓度为 5.0 μmol/L 时, MFC 对 EE2 的去除率达 67.63%。强化 MFC 对 EE2 的去除效果是需要进一步研究的方向, 本研究的开展将为探索生物电化学系统去除含有 EE2 废水的实际应用提供新的思路。

参考文献:

- [1] JASON M V. Tunnel vision: The regulation of endocrine disruptors [J]. Policy Sciences, 2005, 37(3/4): 277-303.
- [2] LI J R (李金荣), GUO R X (郭瑞昕), LIU Y H (刘艳华), et al. Occurrence and risk assessment of five typical environmental endocrine disruptors [J]. Environmental Chemistry (环境化学), 2020, 39(10): 2637-2653.
- [3] NOTCH E G, MINIUTTI D M, MAYER G D. 17 Alpha-ethinylestradiol decreases expression of multiple hepatic nucleotide excision repair genes in zebrafish (*Danio rerio*) [J]. Aquatic Toxicology, 2007, 84(3): 301-309.
- [4] HUANG Q G, WEBER W J. Transformation and removal of bisphenol A from aqueous phase via peroxidase-mediated oxidative coupling reactions: Efficacy, products, and pathways [J]. Environmental Science & Technology, 2005, 39(16): 6029-6036.
- [5] AURIOL M, FILALI-MEKNASSI Y, ADAMS C D, et al. Removal of estrogenic activity of natural and synthetic hormones from a municipal wastewater: Efficiency of horseradish peroxidase and laccase from *Trametes versicolor* [J]. Chemosphere, 2008, 70(3): 445-452.
- [6] KIM Y, YEO S, KIM M K, et al. Removal of estrogenic activity from endocrine-disrupting chemicals by purified laccase of *Phlebia tremellosa* [J]. Fems Microbiology Letters, 2008, 284(2): 172-175.
- [7] MU Y, ROZENDAL R A, RABAEY K, et al. Nitrobenzene removal in bioelectrochemical systems [J]. Environmental Science & Technology, 2009, 43(22): 8690-8695.
- [8] SHEN J Y, ZHANG Y Y, XU X P, et al. Role of molecular structure on bioelectrochemical reduction of mononitrophenols from wastewater [J]. Water Research, 2013, 47(15): 5511-5519.
- [9] OON Y, ONG S, HO L, et al. Microbial fuel cell operation using monoazo and diazo dyes as terminal electron acceptor for simultaneous decolourisation and bioelectricity generation [J]. Journal of Hazardous Materials, 2017, 325: 170-177.
- [10] WU C, LAI C, LIN C, et al. Generation of power by microbial fuel cell with ferricyanide in biodegradation of benzene [J]. Clean-Soil Air Water, 2013, 41(4): 390-395.
- [11] SCOTT K, MURANO C. A study of a microbial fuel cell battery using manure sludge waste [J]. Journal of Chemical Technology and Biotechnology, 2007, 82(9): 809-817.
- [12] LIU H, CHENG S A, LOGAN B E. Power generation in fed-batch microbial fuel cells as a function of ionic strength, temperature, and reactor configuration [J]. Environmental Science & Technology, 2005, 39(14): 5488-5493.