Биотопливные элементы

Р.Г.Василов, А.Н.Решетилов, А.И.Шестаков

Биоэнергетика — новое научное и прикладное направление в сфере альтернативной энергетики, занимающееся получением энергии на основе принципов живой природы. В современной биоэнергетике идея получения электричества с использованием механизмов живой природы весьма популярна и реализуется, в частности, путем разработки экологически безопасных, неиссякаемых и недорогих биологических топливных элементов. В таких электрохимических устройствах химическая энергия превращается в электрическую с помощью биокатализаторов [1]. Ими могут быть ферменты (ферментные топливные элементы) или органеллы и целые клетки (микробные топливные элементы), в которых энергия трансформируется за счет метаболической активности микроорганизмов. Широкое внедрение таких элементов позволит значительно снизить потребление органического топлива, не уменьшая при этом уровень энергопотребления. Именно этому направлению исследований в области биоэнергетики посвящена наша статья.

***Раиф Гаянович Василов**, доктор биологических наук, профессор, начальник Научно-технического комплекса биоэнергетики НБИКС-Центра. Президент Общества биотехнологов России им.Ю.А.Овчинникова. Занимается вопросами биотехнологии, биоэнергетики и биоэкономики: разработкой и созданием биотехнологических производств, а также нанобиоэнергетическими устройствами, интегрированными региональными биоэкономическими кластерами.*

***Анатолий Николаевич Решетилов**, доктор химических наук, профессор, заведующий лабораторией бионаноэнергетических устройств того же центра и лабораторией биосенсоров Института биохимии и физиологии микроорганизмов им.Г.К.Скрябина РАН. Основные научные интересы — разработка и применение электрохимических биосенсоров, а также импедансной спектроскопии к изучению параметров биотопливных элементов.*

***Андрей Иннокентьевич Шестаков**, научный сотрудник кафедры микробиологии биологического факультета Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова. Руководитель группы микробной биотехнологии и автор патента в этой области. Занимается микробиологической конверсией органических отходов различного типа в электрическую энергию.*

Микробные биотопливные элементы

Первые публикации о возможном использовании микроорганизмов для генерирования электричества появились еще в начале XX в. [1, 2]. Однако 90% работ в этой области относится к последним 10—15 годам, когда стали очевидными уникальные перспективы таких биотопливных элементов [3—6]. Но для их практического применения надо решить ряд взаимосвязанных технологических задач, требующих специфического подхода (микробиологического, электрохимического, молекулярно-биологического, экологического, геологического и др.).

© Василов Р.Г., Решетилов А.Н., Шестаков А.И., 2013

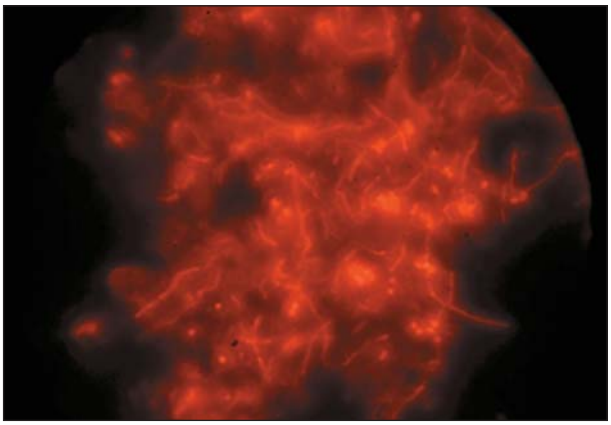


Рис.1. Микрофотография фиксированного препарата микробного электрохимически активного сообщества микроорганизмов. Клетки на поверхности железа (люминесцентная микроскопия, краситель — акридиновый оранжевый, увел.40).

Перспективная сфера приложения микробных биотопливных элементов — утилизация органических отходов с выработкой электричества. Интенсивный рост численности населения и увеличение производственных мощностей в течение XX в. привели к значительному накоплению локальных антропогенных отходов, в том числе и органических, большую часть которых можно использовать как источник энергии. Так, отходы сельского хозяйства и деревоперерабатывающей промышленности, пищевые и др. могут обеспечивать энергией потребителей в населённых пунктах, сельскохозяйственных и промышленных зонах за счет небольших установок по переработке. Это позволит решить проблему избыточного накопления органических отходов и снизить зависимость потребителей от традиционных источников энергии.

Работа по созданию систем микробной переработки отходов была направлена на разработку топливного элемента, который позволяет получать электроэнергию из послеспиртовой барды. Этот отход часто сливают на поля фильтрации (в среднем на 1 л произведенного спирта приходится до 10 л барды), что негативным образом сказывается на состоянии окружающей среды. Нами было выделено сообщество микроорганизмов (бактерии *Eubacterium aggregans, Enterococcus gilvus, Advenella faeciporci, Oscillibacter sp., Lactococcus lactis* и др.), которое при переработке сточных вод от предприятий, производящих спирт, восстанавливало нерастворимые акцепторы электронов — Fe_2O_3 (рис.1,2). В разработанном нами лабораторном

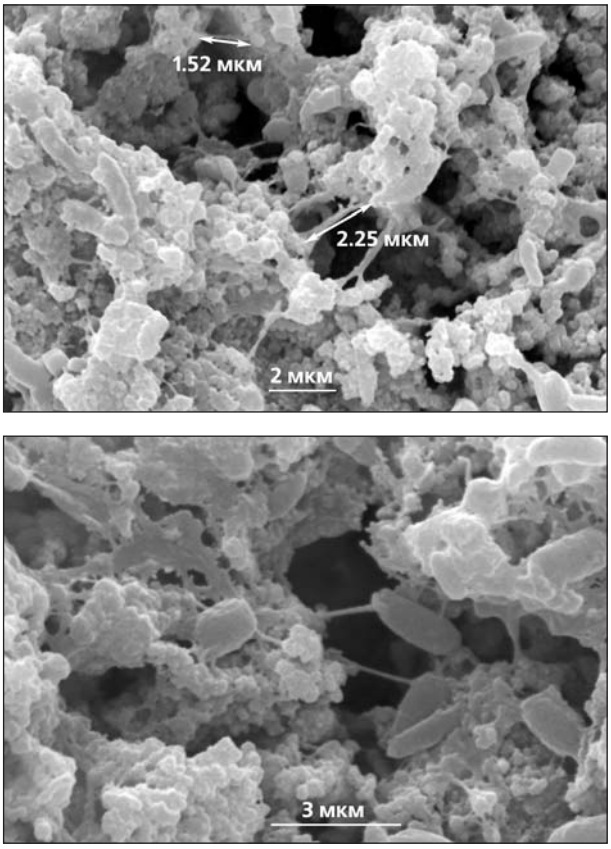


Рис.2. Электронные микрофотографии поверхности частицы Fe_2O_3, покрытой биопленкой микробного сообщества.

Рис.3. Лабораторный прототип микробного топливного элемента для скрининга и культивирования сообществ и чистых культур электрогенных микроорганизмов: 1 — анод, 2 — катодная камера, 3 — pH-электрод, 4 — электрод сравнения.

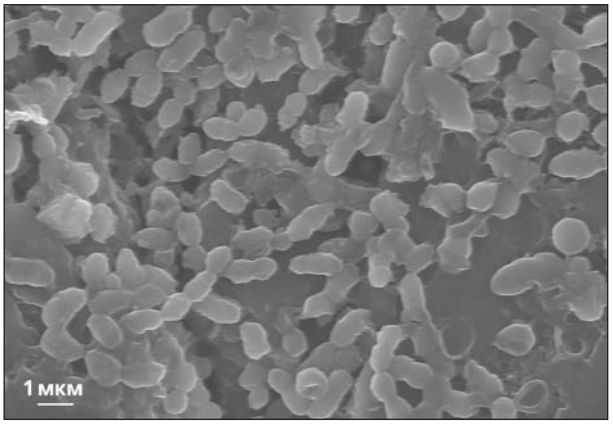


Рис.4. Электронная микрофотография поверхности рабочего электрода, покрытого клетками микроорганизмов (12 дней культивирования).

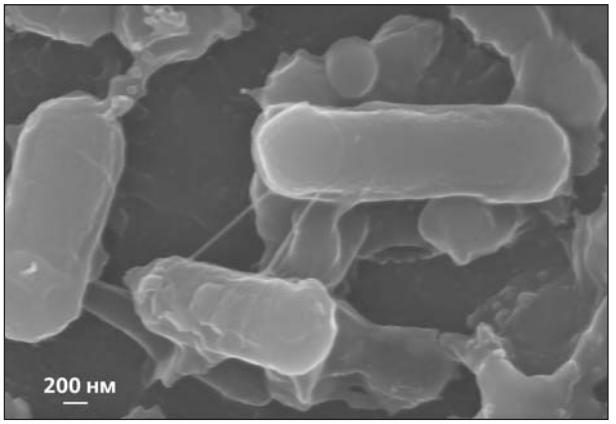


Рис.5. Электронная микрофотография клеток формирующих филаментоподобные структуры на поверхности рабочего электрода (12 дней культивирования).

прототипе микробного элемента использовались микроорганизмы, наиболее эффективно перерабатывающие барду и генерирующие электроэнергию (рис.3). В процессе роста они избирательно покрывали поверхность анодного электрода (рис.4,5). Для культивирования отобранного микробного сообщества была создана уникальная конструкция (рис.6). Максимальная мощность этого микробного элемента, стабильно работающего более 50 дней, составила более 0.5 мВт/300 мл среды культивирования (рис.7).

Такая технология в будущем может иметь значительные перспективы. В июне 2012 г. международный научный химический журнал посвятил специальный выпуск технологии биологических топливных элементов [7]. Главным образом, это вызвано перспективами использования микробных биотопливных элементов в очистке сточных вод от сравнительно безопасных пищевых до токсичных и даже радионуклидов и в переработке различных типов отходов с получением возобновляемой энергии.

Микробные электролизные элементы, схожие с топливными, используются для получения важных химических веществ (например, водорода) [8]. В них на аноде микроорганизмы (*Geobacter, Shewanella* и др.) окисляют органические вещества, что уменьшает мощность, необходимую для получения на катоде водорода. Такая система годится и для переработки сточных вод в анодной камере. Катодный процесс может быть химическим или катализироваться микроорганизмами.

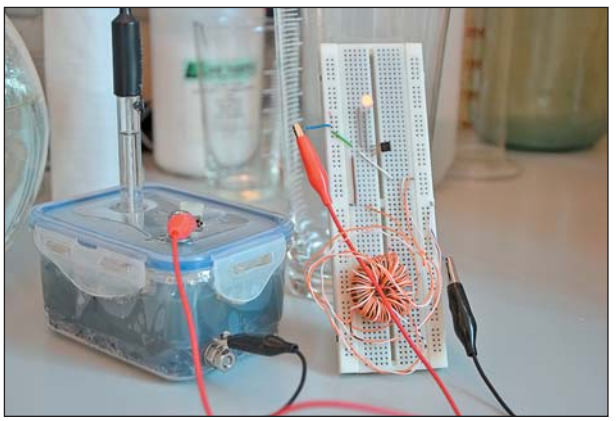


Рис.6. Микробный топливный элемент, разработанный нами для культивирования отобранного сообщества электрохимически активных микроорганизмов.

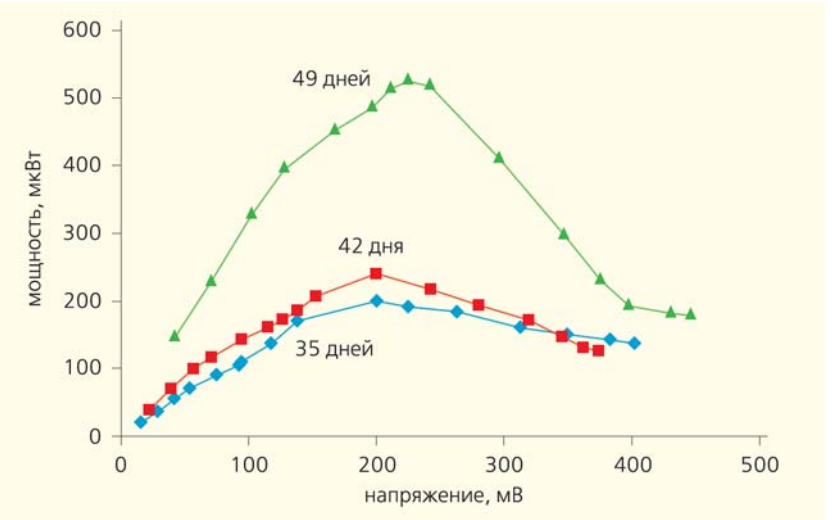


Рис.7. Динамика зависимости мощности от напряжения на протяжении 49 дней непрерывной работы микробного элемента.

Ферментные элементы

Конструкция ферментных биотопливных элементов проще, чем микробных. Чаще всего в качестве анода используют иммобилизованную глюкозооксидазу в смеси с различными медиаторами, затем другие ферменты: алкогольдегидрогеназы (часто в паре с формиатдегидрогеназой), глюкозодегидрогеназы и гидрогеназы. Катодом служит главным образом лакказа и билирубиноксидаза [9].

Как показывают исследования, мощность этих систем все еще довольно низка, примерно 50 мВт/см^2. В 1998 г. был разработан ферментный элемент, в анод которого помимо алкогольдегидрогеназы входили диафораза и бензилвиологен, ускоряющие окисление естественного медиатора (никотинамидадениндинуклеотида). Максимальная мощность описанного метанол/кислородного элемента (катодом была платина) составила 670 мкВт/см^2, а мощность ферментного элемента на основе глюкозооксидазы (анод) и цитохромоксидазы (катод) — 550 мкВт/см^2 [10]. Пока такие элементы стабильно работают часами, днями, реже — десятками дней [11]. Полному окислению субстратов могут способствовать мультиферментные системы, имитирующие метаболизм бактерий. Хрупкость ферментов, казалось бы, исключает долгосрочное применение таких элементов. Однако современные достижения в области генетической инженерии позволили разработать простую систему экспрессии ферментов на поверхности клеток, делая их тем самым воспроизводимыми и более устойчивыми к внешним условиям. Будущие системы, несомненно, должны быть лишены искусственных медиаторов из-за их высокой стоимости. Перспективные разработки необходимо сосредоточить на прямом транспорте электронов.

Устройства, имеющие большую мощность, могут заменять обычные батареи, обеспечивая работу имплантированных медицинских и портативных конструкций, а также объектов, находящихся в труднодоступных местах, биороботов и др. Так, в компании Sony создали глюкозный элемент (он генерировал ток в результате ферментативного расщепления молекул залитого в батарею раствора глюкозы) с максимальной мощностью 1.45 ± 0.24 Вт/см^2 при перенапряжении 0.3 В, который может обеспечить энергией небольшой радиоуправляемый автомобиль и музыкальный плеер.

Одно из самых разработанных направлений — применение ферментных элементов в медицине. Многие научные коллективы сосредоточены сегодня на создании совместимых имплантируемых медицинских устройств, работающих за счет энергии от переработки органических веществ, поступающих с пищей. Это, безусловно, сложная задача, но, судя по всему, вполне решаемая. Опубликованы данные об успешных работах по вживлению подобных устройств в организм животных (кроликов, крыс, насекомых, моллюсков). Так, глюкозный биотопливный элемент (мощностью 7.5 мкВт/мл), помещенный в брюшную полость живой крысы, работал в течение нескольких часов [12].

Американские исследователи из Университета Кларксон в свое время создали гибридное устройство, помещенное в тело улитки, в котором для генерирования электричества использовали глюкозу из крови моллюска. В настоящее время ученые работают с ферментными элементами, вживленными одновременно двум омарам. В результате удалось получить более эффективную систему, генерирующую мощность, работающую в течение нескольких часов, а батарея из пяти таких топливных элементов могла поддерживать функционирование стимулятора сердца [13]. Значит, уже в обозримом будущем можно рассчитывать на разработку и практическое применение стимуляторов, не требующих операций для замены источников питания.

Использование имплантируемых устройств, работающих на биотопливных элементах, выглядит весьма многообещающим и в области бионики. Один из примеров такой успешной разработки — так называемое «бионическое ухо», сложное электронное устройство, вживляемое во внутреннее ухо для стимуляции слуховых нервов. Широкое применение эти элементы находят и при создании оригинальных технических систем и технологических процессов на основе механизмов, заимствованных у природы, в том числе при конструировании биороботов.

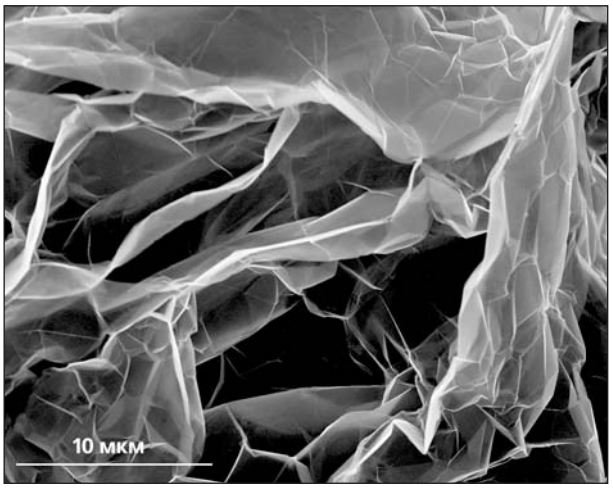
Микробные топливные элементы для исследовательских целей

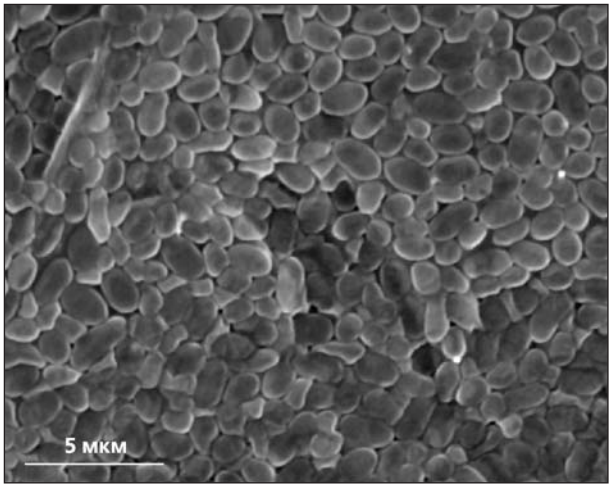
Сегодня моделей и реальных лабораторных установок биотопливных элементов, которые генерируют электрическую энергию длительное время и имеют параметры, удовлетворяющие техническим требованиям практического использования, пока еще сравнительно немного. Для успешного применения таких устройств прежде всего необходимы относительно высокое напряжение (порядка 1.5—2.0 В) и значительный запас энергии. При современном уровне развития электронных и биоинженерных технологий такие параметры можно получить, используя различные варианты. Так, повысить напряжение помогает последовательное включение топливных элементов. Этот комбинированный подход предложили в 1999 г. С.Сасаки и И.Кариби. Изготовленная ими ячейка включала интегрированную ферментную микробатарею, содержащую иммобилизованую глюкозооксидазу, ионообменную мембрану и платиновые электроды [14]. Для эффективного накопления электроэнергии можно воспользоваться сбором энергии на суперконденсаторах (ионисторах) [15]. Интересный способ накопления энер-

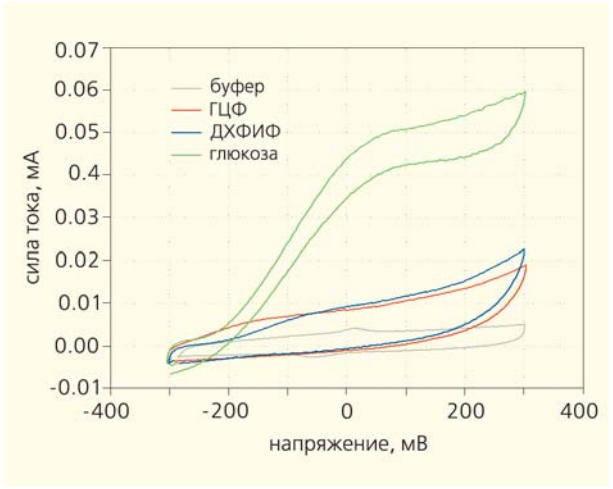
гии разработан фирмой Texas Instruments, которая представила новое поколение микросхем для сбора энергии. В частности, они предложили исключительно эффективный повышающий конвертор напряжения для работы с микро- и милливаттными источниками энергии, генерируемой фотогальваническими, термоэлектрическими, электромагнитными и вибрационными преобразователями. Он может накапливать извлеченную энергию в элементах различных типов, включая аккумуляторы и ионисторы.

Мы считаем, что для отработки любого пути, в том числе связи «топливный элемент — блок управления питанием для сбора энергии» можно использовать так называемые микробные топливные элементы для исследовательских целей. Они должны быть легко изменяемы (для получения зависимости их работы от того или иного параметра) и относительно стабильны какое-то время (скажем, 24—48 часов), например, по напряжению. За это время можно выполнить несколько проб по отработке связи «топливный элемент — блок управления питанием для сбора энергии».

Мы попытались создать такую стабильную модель на основе бактериальных клеток. По имеющейся в литературе информации, в первую очередь следует обращать внимание на качество иммобилизации биоматериала [16]. Мы провели серию пробных экспериментов при иммобилизации на электроды, модифицированные новыми проводящими компонентами, а именно, наноматериалами (рис.8). Мы выбрали терморасширенный графит (получен из Института радиотехники и электроники им. В.А.Котельникова РАН), из которого под вы-







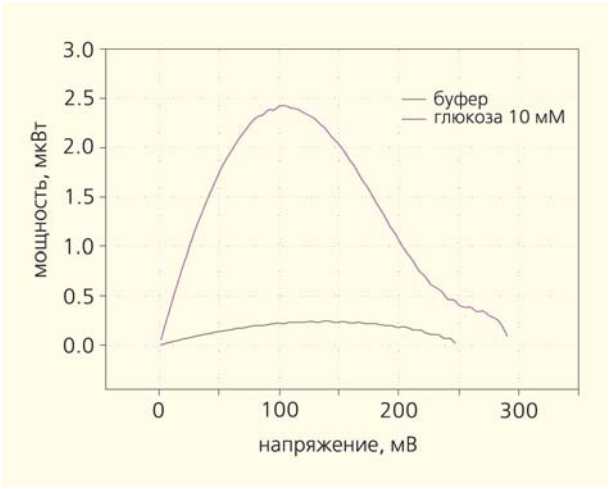


Рис.8. Микрофотографии иммобилизованных клеток *Gluconobacter oxydans* на анод из терморасширенного графита (атомно-силовой микроскоп). На левом фото видны значительные ветвления, которые могут представлять ловушки для микробных клеток; на правом — плотная упаковка микробных клеток, иммобилизованных методом физической адсорбции на анод из терморасширенного графита. На графике (слева) показаны вольт-амперные характеристики анода; виден значительный рост тока при подаче в ячейку глюкозы (зеленая кривая, глюкоза в концентрации 10 мМ). ГЦФ — гексацианоферрат(III) калия, ДХФИФ — 2,6-дихлорфенолиндофенол. Справа — зависимость мощности электрода от напряжения анода. Максимальная удельная мощность электрода — 4.8 мкВт/см^2.

соким давлением можно формировать электроды для микробного элемента. Эксперименты показали, что клетки *Gluconobacter oxydans*, иммобилизованные на геле из хитозана, оседают на поверхности такого электрода. Использование терморасширенного графита в сочетании с иммобилизацией в поливиниловый спирт и хитозан практически не меняло мощность элемента по сравнению с контролем, что объясняется собственной высокой сорбирующей способностью материала. Проверка операционной стабильности показала, что анод микробного элемента на основе графита в течение 10 суток сохраняет до 35% начальной активности.

* * *

Широкие потенциальные возможности биотопливных элементов повышает актуальность работ по их созданию. Очевидно, что приоритетными станут разработки элементов, сопряженных с экономичными электронными устройствами. Важнейшее направление в этой области — поиск наиболее эффективных микроорганизмов, а также использование методов генетической инженерии для целенаправленного конструирования электрогенных штаммов. Несомненно, будут интенсивно развиваться и смежные технологии, в том числе, например, биоэлектролизные системы для производства химических соединений, стоимость которых превышает затрачиваемое на этот процесс электричество. Уже в ближайшем будущем станет возможным создание и многообразное применение надежных альтернативных источников энергии на принципах живой природы.■

Литература

1. *Potter M.* On the difference of potential due to the vital activity of microorganisms // Proc. Univ. Durham Phil. 1910. V.3. P.245—249.
2. *Potter M.* Electrical effects accompanying the decomposition of organic compounds // Proc. R. Soc. Lond. 1911. V.84. P.260—276.
3. *Logan B.E.* Microbial fuel cells: methodology and technology // Environ. Sci & Technol. 2006. V.40. P.5181—5192.
4. *Logan B.E., Hamelers B., et al.* Microbial fuel cells. New Jersey, 2008. P.200.
5. *Kim H., Park H., Hyun M., et al.* A mediator-less microbial fuel cells using a metal reducing bacterium *Schewanella putrefaciens* // Enzym. Microb. Technol. 2002. V.30. P.145—152.
6. *Дебабов В.Г.* Производство электричества микроорганизмами // Микробиология. 2008. Т.77. №2. С.149—157.
7. *Deng H., Chen Z., Zhao F.* Energy from plants and microorganisms: progress in plant-microbial fuel cells // ChemSusChem. 2012. V.5(6). P.1006—1011.
8. *Min Sun, Guo-Ping Sheng, Lei Zhang, et al.* An MEC-MFC-coupled system for biohydrogen production from acetate // Environ. Sci & Technol. 2008. V.42(21). P.8095—8100.
9. *Barriere F., Kavanagh P., Leech D.* A laccase-glucose oxidase biofuel cell prototype operating in a physiological buffer // Electrochim. Acta. 2006. V.51. P.5187—5192.
10. *Katz E., Shipway A.N., Willner I.* Handbook of fuel cells fundamentals // Technology and Applications. 2003. V.1. P.355.
11. *Yuhashi N., Tomiyama M., Okuda J., et al.* Development of a novel glucose enzyme fuel cell system employing protein engineered PQQ glucose dehydrogenase // Biosens. Bioelectron. 2005. V.20. №10. P.2145—2150.
12. *Cinquin P., Gondran C., Giroud F., et al.* A glucose biofuel cell implanted in rats // J. PLoS ONE. 2010. V.5. №5. doi:10.1371/journal.pone.0010476.
13. *Halámková L., Halámek J., Bocharova V., et al.* Implanted biofuel cell operating in a living sail // J. Am. Chem. Soc. 2012. V.134. №11. P.5040—5043.
14. *Sasaki S., Karube I.* The development of microfabricated biocatalytic fuel cells // Trends Biotechnol. 1999. V.17. №2. P.50—52.
15. *Barsukov V., Johnson C., Doninger E.* New carbon based materials for electrochemical Energy Storage Systems: Batteries, Supercapacitors and Fuel Cells (NATO Science Series II: Mathematics, Physics and Chemistry). NY., 2006. P.297.
16. *Решетилов А.Н., Васильев Р.Г., Решетилова Т.А.* Биотопливные системы. Возможность реализации новых подходов при объединении биотехнологических и микроэлектронных исследований // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им.Ю.А.Овчинникова. 2013. Т.8. № 4. С.33—41.