

УДК 66.098:546.11

К.О.Щурська, Є.В.Кузьмінський, докт.хім.наук (Національний технічний ун-т України "КПІ", Київ)

Біоелектрохімічне генерування водню в мікробному паливному елементі. 3. Експериментальна частина¹

Відновлювана енергетика дозволяє ефективно вирішувати основні проблеми, що мають місце при використанні традиційного палива – обмеженість енергоресурсів, залежність країн від їх постачальників, навантаження на довкілля. Ресурсна база для одержання водню невичерпна, адже його можна отримувати з води, біомаси та відходів. Існуючі на сьогодні технології одержання водню є енергоємними і, окрім електролізу води, потребують копалин у якості джерела водню. Тому найбільш перспективним напрямком одержання водню є розробка біотехнологій за використання біооб'єктів, а особливо в мікробних паливних елементах (МПЕ). Метою даної роботи було експериментальне визначення оптимальних параметрів продукування водню в МПЕ з використанням мікробіологічної асоціації, селекціонованої з активного мулу Бортницької станції аерації.

Возобновляемая энергетика позволяет эффективно решать основные проблемы, имеющие место при использовании традиционного топлива – ограниченность энергоресурсов, зависимость стран от их поставщиков, нагрузка на окружающую среду. Ресурсная база для получения водорода неисчерпаема, ведь его можно получать из воды, биомассы и отходов. Существующие на сегодня технологии получения водорода являются энергоемными и, кроме электролиза воды, требуют ископаемых в качестве источника водорода. Поэтому наиболее перспективным направлением получения водорода является разработка биотехнологий с использованием биообъектов, и прежде всего в микробных топливных элементах (МТЭ). Целью данной работы было экспериментальное определение оптимальных параметров продуцирования водорода в МТЭ с использованием микробиологической ассоциации, селекционированной из активного ила Бортнической станции аэрации.

Отримання водню в МПЕ – новий і малодосліджений процес, тому різні дослідники дають йому свої специфічні назви. Так, Брюс Логан та його команда називають такий процес отримання водню bioelectrochemically assisted microbial reactor process або BEAMR-процесом [1], а також отриманням водню в мікробних електролізних елементах [2]. Рене Розендаль у своїх роботах називає його біокаталітичним електролізом [3]. У даній роботі для визначення процесу утворення водню в МПЕ ми пропонуємо такий термін як *біоелектрохімічне отримання водню в МПЕ*.

Конструювання лабораторного зразка МПЕ. З урахуванням усіх факторів, що впливають на ефективність продукування водню в МПЕ, в даній роботі для конструювання було обрано двокамерний МПЕ, в якому в якості мембрани застосовано агаризований сольовий місток, який виступав у ролі катіонообмінної мембрани. Враховуючи всі переваги та недоліки розглянутих типів біоплівки, було обрано змішане угруповання мікроорганізмів. Для дослідження впливу складу субстрату було обрано глюкозу, ацетат і лимонну кислоту.

Об'єм як анодної, так і катодної камери складав 820 см³. Геометричні розміри – 100×80×120 мм. Відстань між центральними осями електродів – 110 мм. Відстань між найближчими крайніми точками електродів – 70 мм. На рис. 1 зображено лабораторний зразок МПЕ із газозбірною камерою для водню.

Введення субстрату та інертного газу (аргону) та виведення газів з анодної комірки здійснювалося через шланги з полівінілхлориду, які виготовлені з харчового пластикату марки Ш-62-О із внутрішнім діаметром 6 мм. Герметичність конструкції забезпечувалася кабельними вводами РГ-9, які призначені для введення проводів і кабелів у розподільні шафи та електровироби з метою захисту провідників від механічних пошкоджень та захисту виробу від потрапляння пилу і вологи в місці введення.

Анодом слугував відріз тканини вуглецевої типу АУВМ "Днепр" ТУ У 88.023.026-96 масою 25,6 г з геометричними розмірами 225×295 мм. Кріплення вуглецевої тканини до кришки анодної камери здійснювалось за допомогою дроту для електричних установок з полівінілхлоридною ізо-

¹ Продовження. Частина 1 в №4/2010, частина 2 в №3/2011.

© К.О.Щурська, Є.В.Кузьмінський, 2012

ляцією. Дріт, розміщений спірально, був основою для кріплення вуглецевої тканини і досягнення рівномірного доступу субстрату та збереження максимальної площі поверхні, доступної для мікроорганізмів. Вуглецеву тканину фіксували до дроту за допомогою синтетичної нитки, а в місцях дотику тканини та провідника 1-го роду ізоляція дроту була знята для забезпечення передачі електронів. У якості катода використано стандартний платиновий електрод ЕПЛ – малогабаритний лабораторний.

Сольовий місток готувався з водного розчину електроліту з додаванням бактеріального агару та розігрітим (60-70°C) заливався у шланг із полівінілхлориду. Рецепт: 30 мл дистильованої води; 2,236 г калій хлориду (ч.д.а); 0,6 г бактоагару "Тур USA" (FERAK BERLIN, Берлін, Німеччина, СС). Сольовий місток вводився через отвір у боківій частині ємностей (анодної та катодної камер) і містився у шлангу з полівінілхлориду, який виготовлено з харчового пластикату марки Ш-62-О із внутрішнім діаметром $8 \pm 0,25$ мм (товщина стінки $2 \pm 0,2$ мм) та довжиною 60 мм. Герметичність з'єднання забезпечувалася завдяки кабельному вводу PG-11 (рис. 1).



Рис. 1. Лабораторний зразок МПЕ: 1 – анодна камера; 2 – сольовий агаризований місток; 3 – катодна камера; 4 – газозбірна камера.

Таблиця 1. Склад фосфатного буферу, рН буферу 6,1

Інгредієнт	Концентрація, г/л
NH_4Cl	0,31
$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	2,452
Na_2HPO_4	4,576
KCl	0,13

Для зміни значення напруги постійного струму, що подається на електроди, було використано спеціально сконструйоване джерело живлення, яке дозволяло змінювати різницю потенціалів між анодом та катодом від 200 мВ до 1 В.

До складу поживного середовища для культивування мікроорганізмів в анодній камері входило (на 1000 мл поживного середовища): 982,5 мл фосфатного буферу (в поєднанні з NH_4Cl та KCl) (табл. 1); 12,5 мл розчину мінералів та 5 мл розчину вітамінів (табл. 2). У буферному розчині також допустимий у слідових концентраціях вміст наступних допоміжних речовин: лактози моногідрату, полісорбату 80, гліцерину, олії рицинової очищеної, сорбіту, глюкози рідкої, магнію стеарату, сахарози. В катодну камеру поміщали 450 мл фосфатного буферного розчину.

Для дослідження характеристик лабораторного зразка МПЕ було застосовано фізичні (електричні виміри, мікроскопія, волюмометрія), фізико-хімічні (рН-метрія), хімічні (ХСК), біологічні (приріст біомаси) методи та їх поєднання з метою отримання базових біотехнологічних та біоелектрохімічних характеристик процесу отримання водню в мікробних паливних елементах.

Для дослідження характеристик лабораторного зразка МПЕ було застосовано фізичні (електричні виміри, мікроскопія, волюмометрія), фізико-хімічні (рН-метрія), хімічні (ХСК), біологічні (приріст біомаси) методи та їх поєднання з метою отримання базових біотехнологічних та біоелектрохімічних характеристик процесу отримання водню в мікробних паливних елементах.

Дослідження процесу селекції електроактивних бактерій на аноді МПЕ. Існує цілий ряд проблем, які мають бути розв'язані для забезпечення практичного застосування МПЕ. Одна з них – низька біоелектрокаталітична активність. Більшість сучасних мікробних паливних елементів базується на змішаних бактеріальних культурах, як правило, відібраних у природному середовищі. Процедура утворення біоплівки проста: електрод в анаеробних умовах занурюють у розчин субстрату із суспендованою біомасою, наприклад, активного мулу. При цьому на електроді накладається незначна різниця потенціалів [4]. У результаті формується електроактивна біоплівка, яка складається з мікробного консорціуму, що використовує електроди як акцептори електронів. Але така біоплівка демонструє незначну біоелектрокаталітичну активність. Причиною є низька концентрація електроактивних бактерій у первинному інокуляті. Для вирішення цієї проблеми застосовують довготривалу процедуру збагачення біоплівки, яка складається з повторюваного механічного видалення біоплівки з електрода [5, 6].

Таблиця 2. Склад розчину вітамінів та мінералів

Інгредієнт	Концентрація, г/л	Інгредієнт	Концентрація, г/л
MgSO ₄	3	Вітамін А	0,0015
MnCl ₂	0,5	Вітамін D ₃	0,000005
NaCl	0,373	Вітамін С	0,06
FeSO ₄ ·7H ₂ O	0,1	Вітамін РР	0,013
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0,1	Вітамін Е	0,01
Co(NO ₃) ₂	0,077	Кальцію пантотенат	0,005
ZnSO ₄	0,154	Вітамін В ₆	0,002
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0,01	Вітамін В ₂	0,0012
AlK(SO ₄) ₂ ·12H ₂ O	0,01	Вітамін В ₁	0,001
H ₃ BO ₃	0,01	Фолієва кислота	0,0004
Na ₂ MoO ₄	0,025	Вітамін В ₁₂	0,000003
NiCoNO ₂	0,017		
NaWO ₄ ·2H ₂ O	0,025		

У даній роботі ми застосували двоступеневу селекцію анодної біоплівки, що дозволило суттєво скоротити час її формування. Першою стадією є засів біомаси активного мулу (здійснюється триразове внесення біологічного матеріалу), другою – збагачення утвореної біоплівки. Для селекції електроактивних мікроорганізмів вносили відстояний активний мул з Бортницької станції аерації (ВАТ "АК "Київводоканал") – тричі по 350 мл з інтервалом 7-14 діб.

Середовище для росту бактерій містило наступні компоненти: NH₄Cl (0,31 г/л), KCl (0,13 г/л), NaH₂PO₄·H₂O (2,69 г/л), Na₂HPO₄ (4,33 г/л), а також розчин вітамінів та мінералів (див. табл. 1 і табл. 2). В якості субстрату було використано ацетат натрію (10 мМ). рН доводилось до 6,8 додаванням 1N розчину NaOH. Перед інокуляцією розчин субстрату продувався аргоном для видалення кисню. Культивування проводилось при температурі 30°C.

Для первинного формування біоплівки 350 мл суспензії активного мулу вносили у герметичну камеру, в якій містилося 400 мл розчину субстрату та буферу. Для забезпечення ефективного формування біоплівки до електродів було прикладено постійний потенціал у 0,22 В. Ріст біоплівки контролювався шляхом вимірювання сили струму, що виникає в результаті біоелектрокаталітичного окиснення субстрату. Протягом перших 3 діб помітних змін сили струму не спостерігалось (0-2 мкА в межах похибки приладу), і лише після внесення додаткової кількості субстрату

(концентрація в перерахунку на ацетат складала 1 г/л) струм почав зростати – 5 мкА (4 день), 7 мкА (5 день), 10 мкА (7 день) і т.д.

Для формування вторинної біоплівки утворену первинну біоплівку культивували за тих же умов, але без додавання нових порцій активного мулу, тобто лише з регулярним поповненням розчином субстрату.

Дослідження анодної поверхні проводилось за допомогою мікроскопії. Мікроскопіювалися зразки електрохімічно активних мікроорганізмів, вилучених із поверхні анода (вуглецевої тканини) разом із волокнами самої вуглецевої тканини. Мікроскопіювання зразків проводилось при збільшенні в 200 та 400 разів (без забарвлення) та при збільшенні в 1000 разів із забарвленням зразків по Граму. На початку досліджень було мікроскопійовано зразок чистої вуглецевої тканини без електрогенів. Як видно з рис. 2, волокна вуглецевої тканини не містять жодних організмів і є незаповненими. Після двотижневої процедури іммобілізації електрохімічно активних мікроорганізмів та формування анодної біоплівки за результатами мікроскопіювання можна зробити висновок про її успішне заселення мікроорганізмами-електрогенами. При збільшенні 400x вдалося зафіксувати іммобілізовану біомасу електрохімічно активних мікроорганізмів (рис. 3). На рис. 3 видно, що окремі волокна повністю покриті мікроорганізмами, а деякі частково або незаповнені взагалі. Таке розсіяне заселення можна пояснити тим, що процес іммобілізації проводився здебі-

льшого на поверхні тканини, уникаючи заселення вглиб самої тканини. Для дослідження складу біоплівки було використано мікроскопіювання мікроорганізмів анодної біоплівки, пофарбованої за Грамом. Для цього було знято верхній шар анодної біоплівки без волокон, а також виділено декілька волокон вуглецевої тканини з біоплівкою. Зразки було зафіксовано та пофарбовано за Грамом [7]. Мікроскопічне дослідження проводилося за допомогою мікроскопа XSP-139TP під імерсією при збільшенні 1000х. Результати мік-

роскопіювання представлено на рис. 4. Як і очікувалося, більшість мікроорганізмів анодної біоплівки виявилися грам-негативними (забарвлені в червоний) і лише деякі ланцюжки паличок грам-позитивні (забарвлені в синій – виділені колом). Якщо порівнювати отримані результати з літературними даними щодо електрохімічно активних мікроорганізмів, то найімовірніше, що грам-позитивними паличками є саме *Clostridium butyricum*, які були описані як найпоширеніші грам-позитивні електрогени [8].

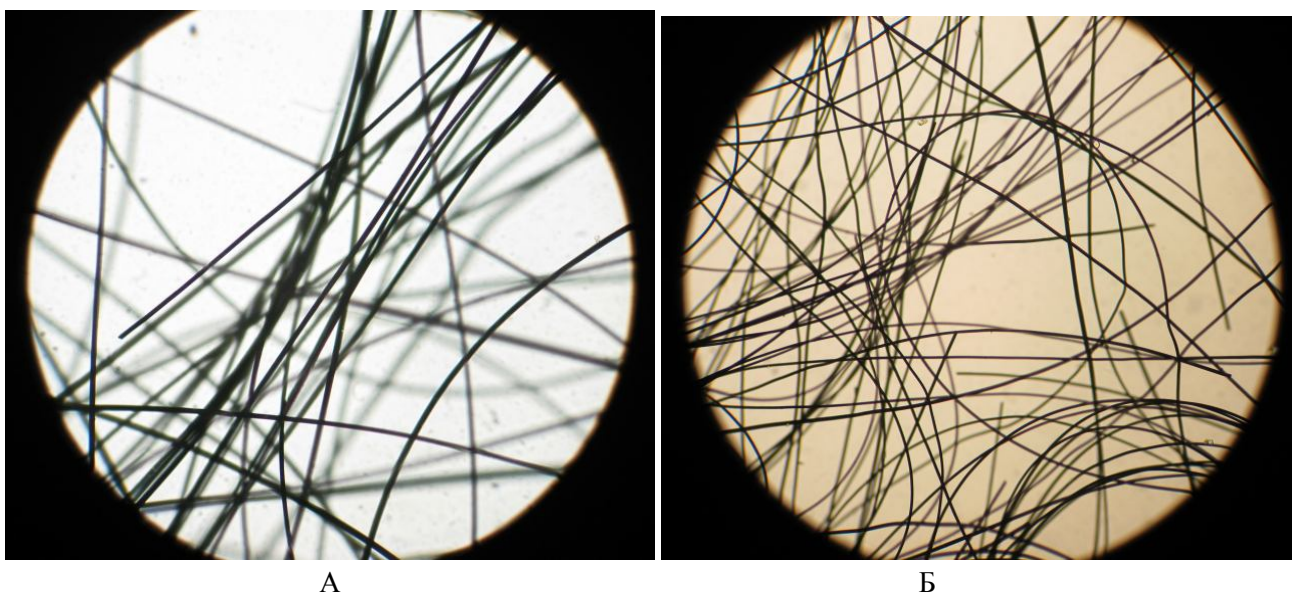


Рис. 2. Мікроскопічне дослідження вуглецевої тканини до іммобілізації електрохімічно активних мікроорганізмів (збільшення 200х (А), 400х (Б)).

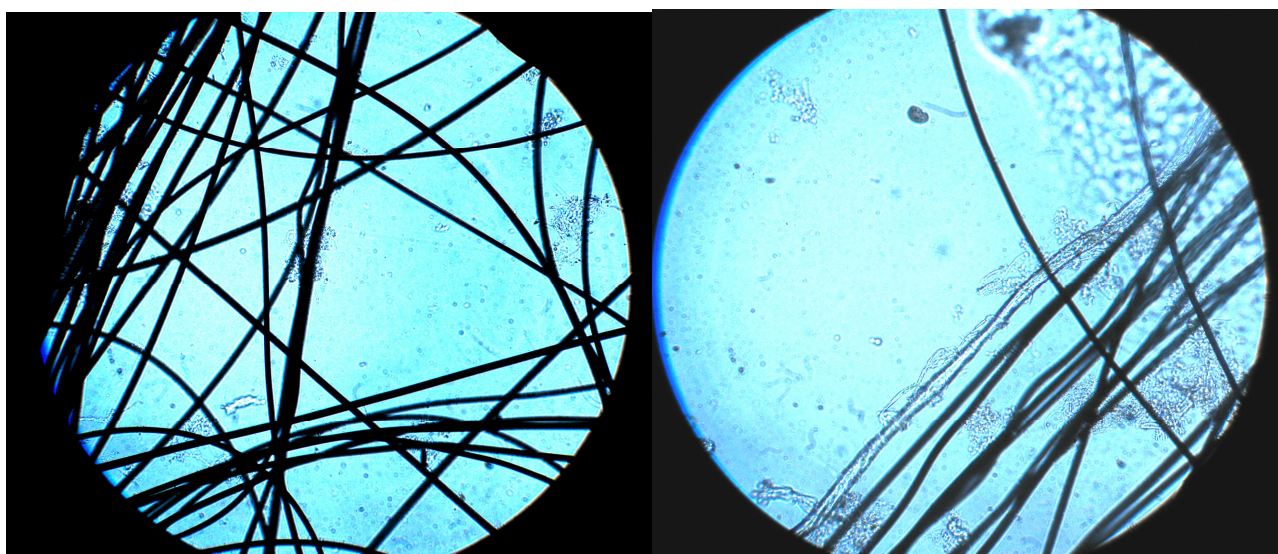


Рис. 3. Мікроскопічне дослідження вуглецевої тканини після іммобілізації електрохімічно активних мікроорганізмів (збільшення 400х).

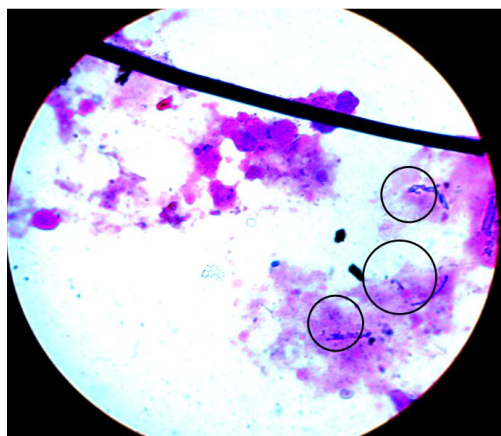


Рис. 4. Мікроскопічне дослідження анодної біоплівки, що пофарбована за Грамом.

Дана методика по визначенню груп мікроорганізмів анодної біоплівки є простою і наглядною, але недостатньою для глибокого аналізу представників біоплівки. Більш детальний аналіз потребує досліджень ДНК-послідовностей мікроорганізмів для встановлення, до яких саме родів належать організми. Але в даній роботі таке завдання не було поставлене.

Дослідження впливу прикладеної напруги на продукування водню. Для визначення впливу прикладеної напруги на процес виділення водню в МПЕ в якості субстрату було обрано ацетат натрію. Такий вибір обумовлений тим фактом, що ацетат є кінцевим продуктом бродіння водень-продукуючих бактерій, і тому отриманий водень можна впевнено вважати виділеним у процесі електрогенезу, а не бродіння. З іншого боку, після отримання водню звичайним бродінням із глюкози чи целюлози середовище містить велику кількість ацетату, тому МПЕ, що працюють на ацетаті, можна використовувати для доочищення стоків після бродіння.

Дослідження проводилися у двокамерному МПЕ, напівелементи якого розділені агаризованим сольовим містком. У катодну камеру було додано буферний розчин, а в анодну – розчинений у буфері ацетат натрію в концентрації 1 г/л; також було додано розчин мінералів та вітамінів (див. табл. 2). Для експерименту було обрано діапазон напруги від 0,2 В до 0,8 В. При цьому позитивний полюс джерела струму було прикладено до анода, а негативний – до катода.

Об'єм виділеного в катодному напівелементі водню вимірювався волюмометрично. Експеримент

проводився у періодичному режимі культивування; після додавання свіжого поживного середовища камера продувалася інертним газом (аргоном). Визначення хімічного споживання кисню проводилось за стандартною методикою ХСК [9].

Розрахунок виходу водню та показників ефективності виділення водню було проведено на основі значень видалення ХСК із розчину в процесі культивування за відповідними формулами [10].

Залежність таких показників, як об'єм виділеного водню та час, за який відбувається інтенсивне виділення газу, від значення прикладеної напруги зображено на рис. 5. З наведеного графіка видно, що об'єм виділеного водню зростає зі збільшенням прикладеної напруги – при підвищенні напруги від 0,2 В до 0,8 В об'єм виділеного водню збільшується в 20 разів. При цьому час культивування зменшується від 84 до 57 год. Для встановлення оптимального значення прикладеної напруги, при якому відбуватиметься максимальне виділення водню, доцільно побудувати графіки залежності таких показників ефективності, як кулонівська ефективність (КЕ), катодна рекомбінація водню (КРВ) та загальна рекомбінація водню (ЗРВ). На рис. 6 представлено залежності показників ефективності від прикладеної напруги. З наведених графіків чітко видно, що зі збільшенням прикладеної напруги всі показники ефективності зростають лише до значення 0,6 В, після чого відбувається спад усіх трьох показників. З цього можна зробити висновок, що найбільш ефективним є використання значення напруги 0,6 В, адже при цьому зберігаються всі максимальні показники ефективності процесу продукування водню.

У зв'язку з тим, що МПЕ може забезпечувати подвійну функцію (не лише продукувати водень, а й використовуватися для очищення стічних вод), варто дослідити залежність інтенсивності видалення ХСК із розчину залежно від значення прикладеної напруги. Цю залежність зображено на рис. 7, з якої слідує, що у зазначеному діапазоні напруг відбувається ефективне видалення ХСК, а саме – значення ХСК зменшується майже вдвічі. Це дозволяє нам зробити висновок, що при наявності дешевої відновлюваної енергії і після відповідного технологічного доопрацювання МПЕ може бути використаний для очищення стічних вод.

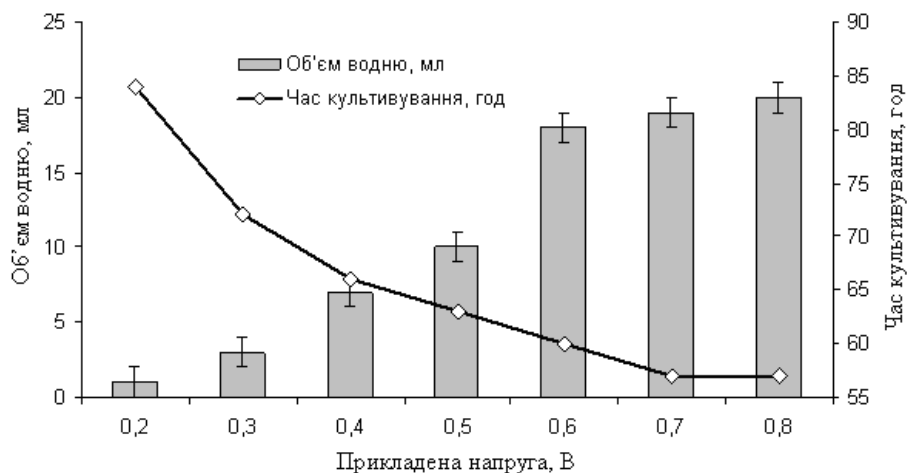


Рис. 5. Залежність об'єму водню та часу культивування, за який відбувається інтенсивне виділення газу, від прикладеної напруги.

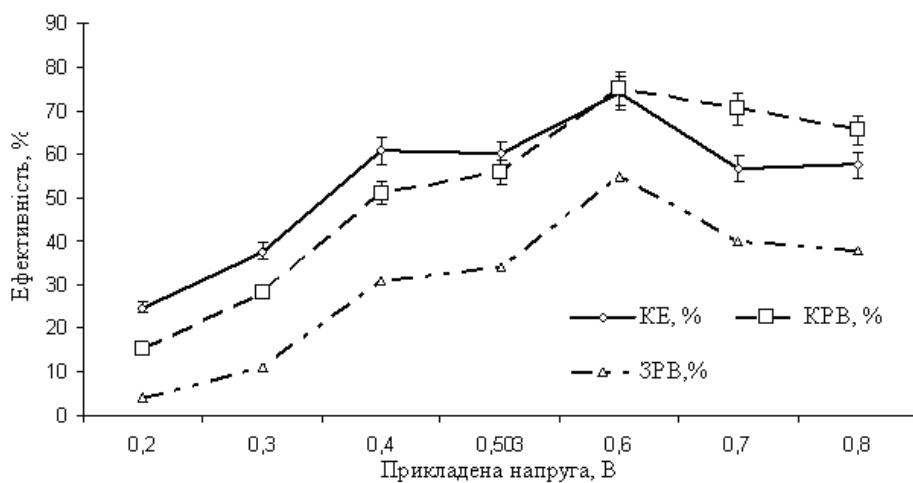


Рис. 6. Залежність показників кулонівської ефективності (КЕ), катодної рекомбінації водню (КРВ) та загальної рекомбінації водню (ЗРВ) від значень прикладеної напруги.

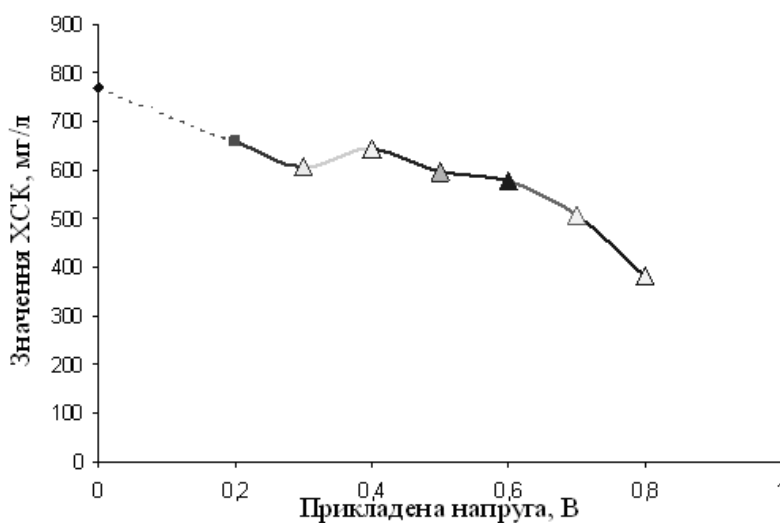


Рис. 7. Залежність значень ХСК поживного середовища від прикладеної напруги.

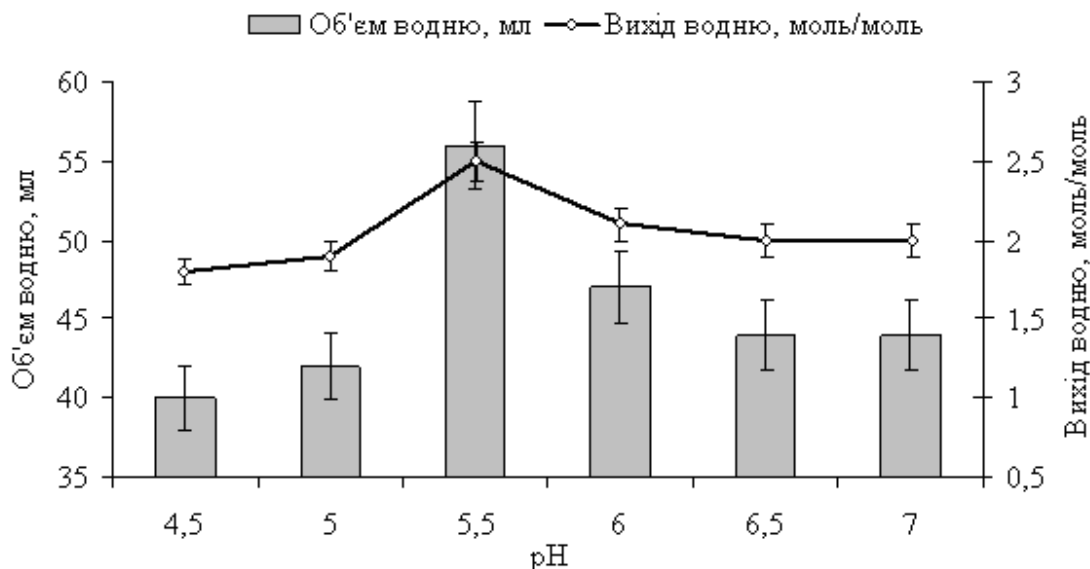


Рис. 8. Залежність об'єму та виходу водню від рН.

Дослідження впливу рН на генерування водню в МПЕ. Водневий показник, або рН розчину, є надзвичайно важливим параметром для всіх біотехнологічних процесів. Це пов'язано, в першу чергу, з метаболізмом біологічних об'єктів, оскільки для кожного з організмів існує власний оптимальний діапазон рН. Також рН впливає на конфігурацію більшості біополімерів, що теж багато в чому визначає перебіг процесу.

Для визначення оптимального значення рН для процесу продукування водню було обрано діапазон рН від 4,5 до 7,0 зі зміною рН кроком в 0,5. Експеримент із кожним значенням рН було проведено двічі. В якості субстрату було обрано 1 мМ розчину ацетату натрію. Значення рН буферу, що використовувався у дослідженнях, становило 6,1, тому для зміни рН використовували додавання до буферу 1Н розчину хлоридної кислоти (для зниження рН буферу) або 1Н розчину гідроксиду натрію (для підвищення рН буферу). Дослідження проводилися при постійній температурі $30 \pm 2^\circ\text{C}$ та визначеній експериментально оптимальній доданій напрузі 0,6 В. Значення виходу водню за об'ємом приведено до нормальних умов. Отримані та розраховані значення у вигляді залежності об'єму виділеного водню та виходу водню від рН наведено на рис. 8. З графіка слідує, що найбільший об'єм водню можна отримати при рН 5,5. Це можна пояснити тим, що при цьому значенні рН концентрація протонів водню є ви-

щою, ніж при наступних, але не такою неприйнятною для організмів біоплівки, як попередні. При дослідженні впливу рН на процеси продукування водню слід розрізняти такі поняття, як оптимальне значення рН для продукування водню та оптимальне значення рН для довготривалого ефективного функціонування біоплівки за даних рН. Тому встановлення точно визначеного оптимального значення рН, при якому відбуватиметься ефективно продукування водню з найменшою шкодою для мікроорганізмів біоплівки, є достатньо складним завданням і самоціллю даної роботи не було.

Дослідження впливу складу субстрату на процес біоелектрохімічного виділення водню в МПЕ. Склад поживного середовища для електрохімічно активних мікроорганізмів анодної біоплівки є одним із найбільш важливих параметрів МПЕ, що впливає на вихід водню в такій системі. Для дослідження впливу цього фактора на процес біоелектрохімічного продукування водню в якості поживного середовища було використано глюкозу, лимонну кислоту та ацетат натрію. Вибір саме цих сполук пояснюється наступним чином. Глюкоза є базовим субстратом для дослідження продукування водню не лише в процесі електрогенезу в МПЕ, а й при бродінні. Також для порівняння виходу водню з різних субстратів даний показник перераховують на глюкозу, тому в якості одного із субстратів у даному дослідженні бу-

ло обрано глюкозу. Щодо ацетату натрію, то ця сполука є побічним продуктом процесів продукування водню бродінням, тому також є сировиною для утилізації. Лимонна кислота – поширена і доступна органічна кислота, тому на її прикладі можна довести можливість продукування водню з органічних кислот.

У даному експерименті анодну камеру було заповнено розчином фосфатного буферу (див. табл. 1) з додаванням субстратів у концентрації 1 мМ, розчинів мінералів та вітамінів (див. табл. 2). Катодну камеру було заповнено лише фосфатним буфером. Культивування продовжувалося протягом 2 діб. Експеримент проводився двічі для кожного виду субстрату. Найбільшу кількість водню було отримано при культивуванні МПЕ з глюкозою – 90 мл водню. Такий високий вихід можна пояснити найбільшим вмістом атомів водню у складі молекули глюкози. Глюкоза також є більш енергоємним субстратом, ніж інші. Менші об'єми водню отримано при використанні лимонної кислоти (28 мл) та ацетату (18 мл). Для порівняння ефективності того чи іншого субстрату необхідно порівняти теоретично можливий вихід для даного

виду субстрату з експериментально отриманим. Для цього на рис. 9 білим кольором зображено теоретично можливий вихід водню, а сірим – рівень, якого було досягнуто в експерименті. Для кількісної оцінки застосовують такий показник, як загальне відновлення водню у відсотках (його зображено чорними квадратами). З графіка слідує, що за використання жодного із розглянутих у роботі субстратів не було досягнуто максимально можливих (теоретичних) показників, а серед представлених субстратів максимального відновлення водню досягнуто у випадку використання ацетату натрію (55%). Високий показник загального відновлення водню для ацетату натрію можна пояснити тим, що він є простішим за своїм складом та більш специфічним саме для електрохімічно активних мікроорганізмів, на відміну від глюкози і лимонної кислоти, які за рахунок власної універсальності можуть використовуватися не тільки електрогенами, а й іншими представниками анодного консорціуму, метаболізм яких не направлений на продукування протонів водню та електронів. Наведене свідчить про те, що водень в МПЕ може вироблятися з різноманітних органічних сполук.

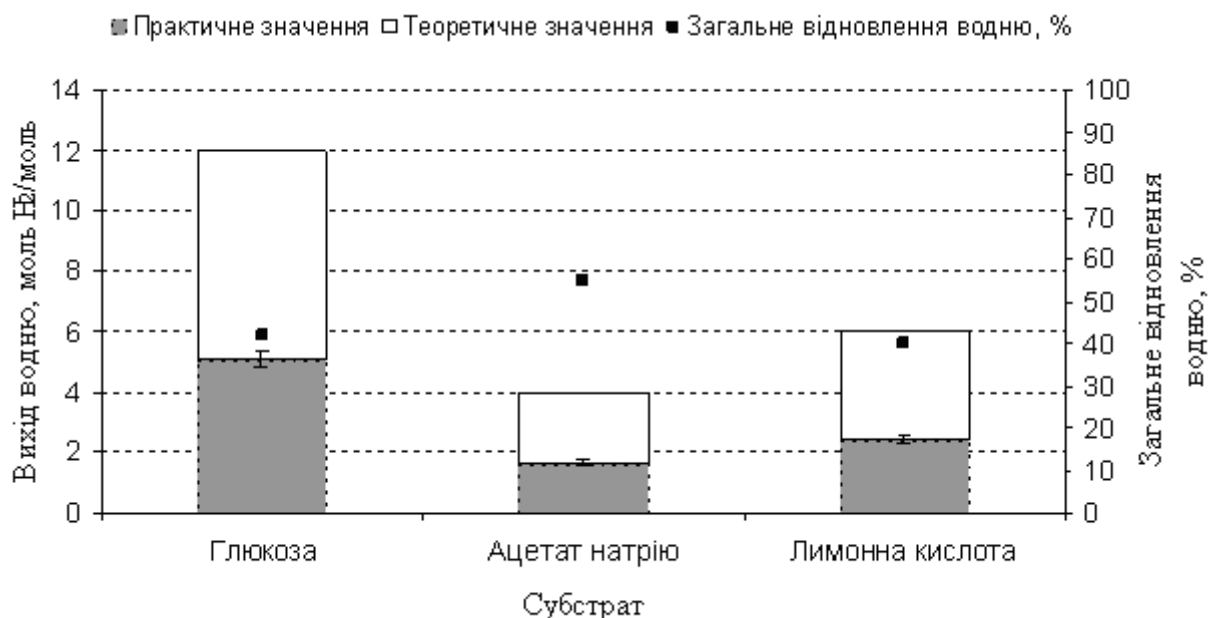


Рис. 9. Залежність теоретичного (білий колір) та практичного (сірий колір) виходу водню (моль H₂/моль) і загального відновлення водню (%) від субстрату.

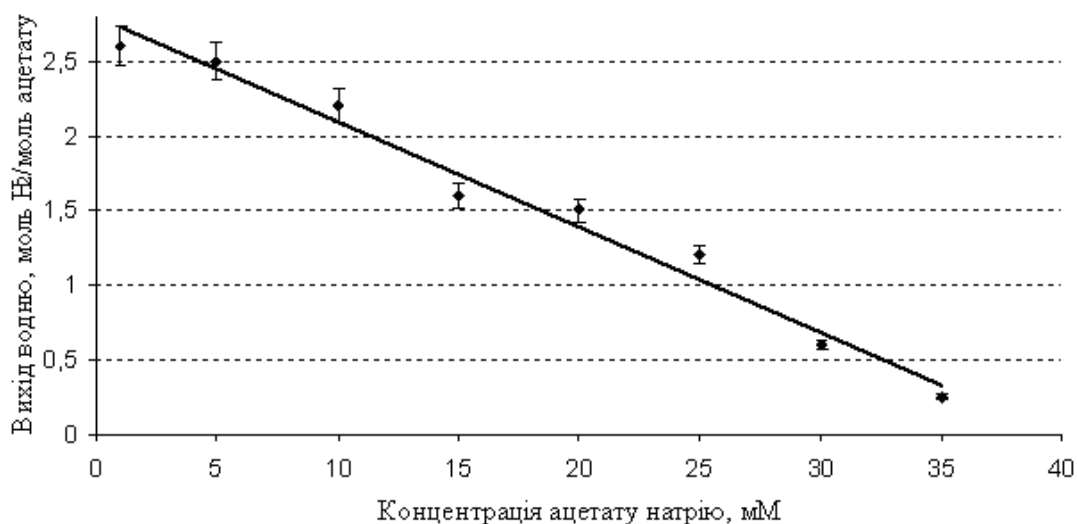


Рис. 10. Залежність виходу водню від концентрації ацетату натрію.

Дослідження впливу концентрації субстрату на біоелектрохімічне продукування водню в МПЕ. Окрім досліджених вище умов, що впливають на процес біоелектрохімічного отримання водню в МПЕ, важливе значення також має оптимальна концентрація органічних речовин, що виступають у ролі субстрату для електрохімічно активних мікроорганізмів анодної біоплівки. Для дослідження цього параметра проводилося культивування електрогенів МПЕ з розчинами ацетату натрію в наступних концентраціях: 1 мМ, 5 мМ, 10 мМ, 15 мМ, 20 мМ, 25 мМ, 30 мМ, 35 мМ. При цьому додана до МПЕ напруга становила 0,6 В, а рН середовища – 7,0. Культивування електрогенів МПЕ проводилося при постійній температурі $30 \pm 2^\circ\text{C}$. Для кожної концентрації експеримент проводився двічі. Отримані результати представлено на рис. 10. З графіка слідує, що з ростом концентрації зменшується значення виходу водню з однієї молекули ацетату. Таку залежність можна пояснити наступним чином. У водних розчинах сильні електроліти (ацетат натрію є саме таким електролітом) практично повністю дисоційовані і, на відміну від розчинів слабких електролітів, їх розчини містять значно більше число іонів. У концентрованих розчинах відстань між іонами дуже мала. Це призводить до сильної міжіонної взаємодії. В результаті біля кожного іона знаходяться переважно іони протилежного знаку: утворюються іонні пари Kt^+An^- , триплети $\text{Kt}^+\text{An}^-\text{Kt}^+$ та $\text{An}^-\text{Kt}^+\text{An}^-$ або

іонні атмосфери і, як наслідок, виникає ефект зменшення числа іонів, що беруть участь у хімічних або біохімічних процесах. При русі іонів під дією електричного поля іон даного знаку рухається до протилежно зарядженого електрода, а оточуюча його "іонна атмосфера" гальмує рух і зменшує рухливість іона. Чим більша концентрація розчину, тим сильніше проявляється гальмівна дія "іонної атмосфери". При розведенні розчину вплив "іонної атмосфери" зменшується, а при безкінечному розведенні зникає, оскільки іони практично не взаємодіють між собою. В результаті гальмівної дії "іонних атмосфер" (міжіонної взаємодії) знижується ефективність іонів у таких явищах, як перенесення заряду (електричного струму) в розчинах тощо. З іншого боку, високі концентрації іонів збільшують іонну силу розчинів, що може призвести до лізису і загибелі клітин [11]. Тому, з огляду на отримані експериментальні дані та теоретичне обґрунтування, вважаємо концентрацію ацетату натрію у діапазоні від 1 мМ до 5 мМ найбільш оптимальною для продукування водню в МПЕ.

Висновки. Для забезпечення ефективної роботи системи біоелектрохімічного отримання водню в МПЕ визначальне значення має можливість застосування змішаного консорціуму електрохімічно активних мікроорганізмів. Електрохімічно активні мікроорганізми здатні до позаклітинного перенесення електронів і в такий спосіб електрони транспортуються із середини клітини

назовні, при цьому використовуючи електрод у якості акцептора електронів для окиснення розчинених органічних сполук. Такі мікроорганізми є каталізаторами електрохімічної реакції і забезпечують можливість її ефективного перебігу. Електрохімічно активні організми є природними заміниками каталізаторів із дорогоцінних металів, які використовуються в технічних паливних елементах. Окрім того, на відміну від каталізаторів із дорогоцінних металів, електрохімічно активні мікроорганізми здатні до самовідтворення. Хоча вивчення процесів на міжфазній межі мікроорганізм-електрод є вельми важливим для фундаментальної науки, більшість досліджень у цій галузі направлені на вирішення технологічних проблем і, в першу чергу, на збільшення вихідної потужності мікробних паливних елементів.

На ефективність процесів продукування водню в МПЕ впливає ряд як біотичних, так і абіотичних факторів. Тип конструкції біоелектрохімічного пристрою, тип іонообмінної мембрани, склад анодної біоплівки, вид субстрату та його концентрація – все це визначає, наскільки швидко і ефективно відбуватиметься виділення водню в МПЕ. З урахуванням усіх розглянутих факторів, що впливають на ефективність продукування водню в МПЕ, в даній роботі для конструювання було обрано двокамерний МПЕ, у якому в якості мембрани застосовано агаризований сольовий місток, який є аналогом катіонообмінної мембрани.

Враховуючи всі переваги та недоліки розглянутих типів біоплівки, було обрано змішане угруповання мікроорганізмів. Для дослідження впливу складу субстрату було обрано глюкозу, ацетат і лимонну кислоту.

Об'єкт дослідження потребував інтегральних підходів, тому для дослідження характеристик об'єкту було застосовано як фізичні (електричні виміри, мікроскопія, волюмометрія), фізико-хімічні (рН-метрія), хімічні (ХСК) та біологічні (приріст біомаси) методи, так і їх поєднання з метою отримання базових біотехнологічних та біоелектрохімічних характеристик процесу отримання водню в мікробних паливних елементах. Особлива увага була приділена методам оцінки достовірності та статистичної обробки результатів, інтерполяції і апроксимації.

У роботі застосовано двоступеневу селекцію анодної біоплівки, що дозволило значно скоротити час її формування. Процес селекції складався з таких стадій, як засів біомаси активного мулу та збагачення утвореної біоплівки. Більшість селекціонованих електрогенів виявилось грам-негативними. Порівняння отриманих результатів із літературними даними щодо електрохімічно активних мікроорганізмів дозволило зробити висновок, що грам-позитивними паличками є саме *Clostridium butyricum*, які були описані як найпоширеніші грам-позитивні електрогени.

Було встановлено, що зі збільшенням прикладеної напруги всі показники ефективності зростають лише до значення 0,6 В, після чого спостерігається суттєвий спад показників. Тому можна стверджувати, що найбільш ефективним є використання значення напруги у 0,6 В.

Експериментально встановлено, що найбільший об'єм водню можна отримати при рН 5,5; при цьому значенні рН концентрація протонів водню є вищою, ніж при наступних, але не такою неприйнятною для організмів біоплівки, як попередні. При дослідженні впливу рН на процеси продукування водню слід розрізняти такі поняття, як оптимальне значення рН для продукування водню та оптимальне значення рН для довготривалого ефективного функціонування біоплівки за даних рН.

Для дослідження впливу складу субстрату на процес біоелектрохімічного виділення водню в якості поживного середовища було використано глюкозу, лимонну кислоту та ацетат натрію. Найбільша кількість водню отримана при культивуванні МПЕ з глюкозою і суттєво менша – при використанні лимонної кислоти та ацетату. При порівнянні ефективності кожного із субстратів було встановлено, що за використання жодного з них не було досягнуто максимально можливих (теоретичних) показників, а серед представлених субстратів максимального відновлення досягнуто у випадку використання ацетату натрію. Високий показник загального відновлення водню для ацетату натрію можна пояснити тим, що він є простішим за своїм складом та більш специфічним саме для електрохімічно активних мікроорганізмів, на відміну від глюкози та лимонної кислоти,

які за рахунок власної універсальності використовуються не тільки електрогенами, а й іншими представниками біоелектрохімічного консорціуму, метаболізм яких не направлений на продукування протонів водню та електронів. При дослідженні впливу концентрації субстрату (ацетату натрію) на продукування водню встановлено, що з ростом концентрації зменшується значення виходу водню з однієї молекули ацетату. Це пояснюється значною міжмолекулярною взаємодією в концентрованих розчинах, що зменшує рухомість протонів, а також негативно впливає на живі організми анодної біоплівки.

При дослідженні ефективності видалення ХСК від значень прикладеної напруги встановлено, що саме у зазначеному діапазоні напруг відбувається ефективно видалення ХСК. Це дозволило зробити висновок, що за наявності дешевої відновлюваної енергії та за відповідного доопрацювання біотехнології, МПЕ може використовуватися для очищення стічних вод.

1. Liu H., Grot S., Logan B.E. Electrochemically assisted microbial production of hydrogen from acetate // *Environmental Science & Technology*. – 2005. – No.39. – P. 4317–4320.

2. Call D., Merrill M., Logan B.E. High Surface Area Stainless Steel Brushes as Cathodes in Microbial Electrolysis Cells (MECs) // *Environmental Science & Technology*. – 2009. – No. 43(6). – P. 2179–2183.

3. Rozendal R.A., Hamelers H.V.M., Euverink G.J.W., Metz S.J., Buisman C.J.N. Principle and perspectives of hydrogen

production through biocatalyzed electrolysis // *International Journal of Hydrogen Energy*. – 2006. – No. 31. – P. 1632–1640.

4. Kim B.H., Park H.S., Kim H.J., Kim G.T., Chang I.S., Lee J., Phung N.T. Enrichment of microbial community generating electricity using a fuel cell-type electrochemical cell // *Applied Microbiology and Biotechnology*. – 2004. – No.63. – P. 672–681.

5. Rabaey K., Clauwaert P., Aelterman P., Verstraete W. Tubular microbial fuel cells for efficient electricity generation // *Environmental Science and Technology*. – 2005. – No.39. – P. 8077–8082.

6. Щурська К.О., Самаруха І.А. Двоступенева селекція анодної біоплівки в мікробному паливному елементі // XII Міжнародна науково-практична конференція студентів, аспірантів та молодих вчених "Екологія. Людина. Суспільство": Тези доп. учасників наук.-практ. конф., 19-23 травня 2010, Київ. – С. 343–344.

7. Bergey D.H. Holt J.G., Krieg N.R., Sneath P.H.A. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (9th ed.) – Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins, 1994. – 788 с. – ISBN 0-683-00603-7.

8. Kim B.H., Kim H.J., Hyun M.S., Park D.H. Direct electrode reaction of Fe(III)-reducing bacterium, *Shewanella putrefaciens* // *Journal of Microbiology and Biotechnology*. – 1999. – No.9. – P. 127–131.

9. *Издания. Методика визначення хімічного споживання кисню (ХСК) в природних і стічних водах.* – КНД 211.1.4.020-95. – К., 1995. – 16 с.

10. Logan B.E., Call D., Cheng S., Hamelers H.V.M., Sleutels H.J.A., Jeremiasse A.W., Rozendal R.A. Microbial Electrolysis Cells for High Yield Hydrogen Gas Production from Organic Matter // *Environmental Science and Technology*. – 2008. – No.42 (23). – P. 8630–8640.

11. Кузьмінський Є.В. Біофізика / Є.В. Кузьмінський, Н.Б. Голуб. – К.: Видавничий дім "Комп'ютерпрес", 2007. – 424 с. – ISBN 978-966-8846-14-4.