

**Zbigniew Garncarek*, Barbara Garncarek,
Krzysztof Tomaszewski**

Katedra Inżynierii Bioprocessowej, Uniwersytet Ekonomiczny we Wrocławiu

PRODUKCJA ENERGII ELEKTRYCZNEJ Z WYWARU ZBOŻOWEGO PRZY UŻYCIU BIOOGNIWA MIKROBIOLOGICZNEGO

Streszczenie: Do generowania prądu elektrycznego zastosowano mikrobiologiczne bioogniwo z komórkami *Bacillus megaterium*, znajdującymi się w przestrzeni anodowej oddzielonej od komory katodowej membraną Nafion 117. Jako substratów używano buforowanych roztworów glukozy i wywar zbożowy. Błękit metylenowy, stosowany w charakterze przenośnika elektronów, pozwalał na generowanie większej mocy w porównaniu z czerwienią obojętną. Wyniki eksperymentów pokazują, że możliwe jest jednoczesne generowanie elektryczności i oczyszczanie ścieków. Generowana moc zależała od wielkości ładunku zanieczyszczeń, wyrażanego wartością ChZT. Maksymalną gęstość mocy 18,7 mW/m² (4,95 kΩ rezystor) uzyskano, stosując jako substrat dwukrotnie rozcieńczoną cieklą frakcję wywaru, bez dodatku sztucznych przenośników elektronów. W tym przypadku redukcja ChZT wywaru wyniosła 92,3%.

Słowa kluczowe: bioogniwo, wywar zbożowy, *Bacillus megaterium*, błękit metylenowy, czerwień obojętna.

1. Wstęp

Systematycznie rosnące zapotrzebowanie na energię elektryczną i kurczące się zasoby tradycyjnych paliw kopalnych oraz wzrost emisji CO₂ do atmosfery powodują, że coraz większą uwagę zwraca się na alternatywne źródła energii [1, 2]. Oprócz energii pozyskiwanej z wiatru czy cieków wodnych, także ścieki i odpady mogą być jej cennym źródłem. Zawierają one znaczne ilości związków organicznych i są idealne do produkcji bioelektryczności, a także otrzymywania nośników energii, takich jak metan czy wodór [3]. W procesie metabolicznym mikroorganizmy utleniają związki organiczne zawarte w ściekach, uwalniając elektrony. W ten sposób mogą być one wykorzystywane do otrzymywania bioogniwa mikrobiologicznego (MFC – microbial fuel cell), w którym stanowią zasadniczy element przedziału anodowego. MFCs jako alternatywne źródło energii są w ostatnim czasie przedmiotem intensywnych badań. Do tej pory w konstruowanych bioogniwach stosowano różne

* Adres do korespondencji: zbigniew.garncarek@ue.wroc.pl.

bakterie, np.: *Actinobacillus succinogenes*, *Escherichia coli* [4], *Clostridium beijerinckii*, *Clostridium butyricum* [5], *Pseudomonas sp.* [6], *Geobacter sulfurreducens*, *Shewanella oneidensis i putrefaciens* [7], mieszane kultury bakterii naturalnie obecnych w ściekach [8], osad z oczyszczalni beztlenowych [9], a także mikroorganizmy osadu czynnego [10, 11].

Do otrzymywania prądu elektrycznego z użyciem MFC stosowano także różne ścieki, m.in. z hodowli trzody chlewnej [12], z przemysłu spożywczego [13], komunalne [8,14], ścieki galwaniczne zawierające Cr^{6+} [15], a także odpowiednio przygotowane odpady, jak np. hydrolizaty słomy kukurydzianej [16].

Wywar zbożowy, produkt odpadowy powstający w produkcji spirytusu, jest wykorzystywany jako składnik pasz. Gdy jednak występuje w nadmiarze, stanowi silnie obciążony ściek. Badania nad biodegradacją tego wywaru, przy użyciu mieszanej populacji bakterii z rodzaju *Bacillus*, trwają w Instytucie Chemii i Technologii Żywności UE od wielu lat. W literaturze nie znaleziono informacji na temat produkcji elektryczności z wywaru zbożowego otrzymanego w procesie destylacji zacieru. Nie ma też informacji o stosowaniu bakterii z gatunku *Bacillus megaterium* do konstrukcji bioogniwa mikrobiologicznego. Większość bakterii z rodzaju *Bacillus* należy do ścisłych tlenowców, jednak niektóre szczepy *B. megaterium* wykazują właściwości względnych (fakultatywnych) beztlenowców [17-19]. Dlatego też w niniejszej pracy podjęto próbę połączenia produkcji prądu elektrycznego z użyciem bakterii *Bacillus megaterium* i jednocześnie oczyszczania z zanieczyszczeń ciekłej frakcji wywaru zbożowego.

2. Materiały i metody badań

W badaniach stosowano szczep bakterii *Bacillus megaterium* pozyskany z kolekcji Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej. Bakterie przechowywano w temperaturze 4°C na skosach agarowych o składzie [g/dm³]: ekstrakt mięsny 2, ekstrakt drożdżowy 2, aminobak 5, chlorek sodu 4, agar 15, glukoza 2. Do namnażania bakterii stosowano podłoże z bulionem i glukozą, pozbawione agaru, o takim samym składzie.

Bakterie hodowano w kolbach stożkowych płaskodennych o poj. 1000 cm³, zawierających 250 cm³ podłoża. Inkubację prowadzono przez 48 godzin, w temp. 30°C na wstrząsarce GFL 3031. Namnożone bakterie odwirowywano przez 30 min, przy 5000 obr./min w temperaturze 20°C. Otrzymaną gęstwę bakterii zawieszono w 50 cm³ roztworu substratu. Taką zawiesiną zasilano bioogniwo.

W pracy stosowano dwukomorowe bioogniwo o kształcie prostopadłościanu. Wykonano je z pleksiglasu, skręcono metalowymi śrubami i uszczelniono silikonem. Elektrody (anoda i katoda) miały powierzchnię 34,4 cm² każda i wykonane były z włókna węglowego TORAY T300 200 g/m² o splocie płótna. Przedziały anodowy i katodowy, każdy o objętości 65,5 cm³, oddzielone były membraną Nafion® 117 (Sigma Aldrich).

Przestrzeń katodową bioogniwa zasilano 0,1 M, wodnym roztworem żelazicyjanku potasu. Substraty, buforowane roztwory glukozy lub wywar zbożowy, były uprzednio sterylizowane w temp. 121°C, a następnie każdy z nich osobno podawano do przestrzeni anodowej bioogniwa za pomocą pompy perystaltycznej.

Elektrody z włókna węglowego połączono w obwód z opornikiem o rezystancji 5kΩ. Spadek napięcia na oporniku monitorowano przy użyciu systemu do akwizycji danych, składającego się z karty analogowo-cyfrowej Advantech PCL811L, modułu optoizolacyjnego ADAM-3012 oraz programu do akwizycji i sterowania GENI v. 2.12.

Biomasę bakterii oznaczano, mierząc gęstość optyczną zawiesiny, spektrofotometrem METERTECH model SP-830 PLUS, przy długości fali $\lambda = 600$ nm. Suchą masę bakterii oznaczono metodą suszarkową w sześciu powtórzeniach.

Chemiczne zapotrzebowanie na tlen (ChZT) wywaru, stosowanego jako paliwo zasilające bioogniwa, oznaczano metodą chromianową z zastosowaniem testów kuwetowych LCK 014 firmy Dr. LANGE.

3. Wyniki i ich omówienie

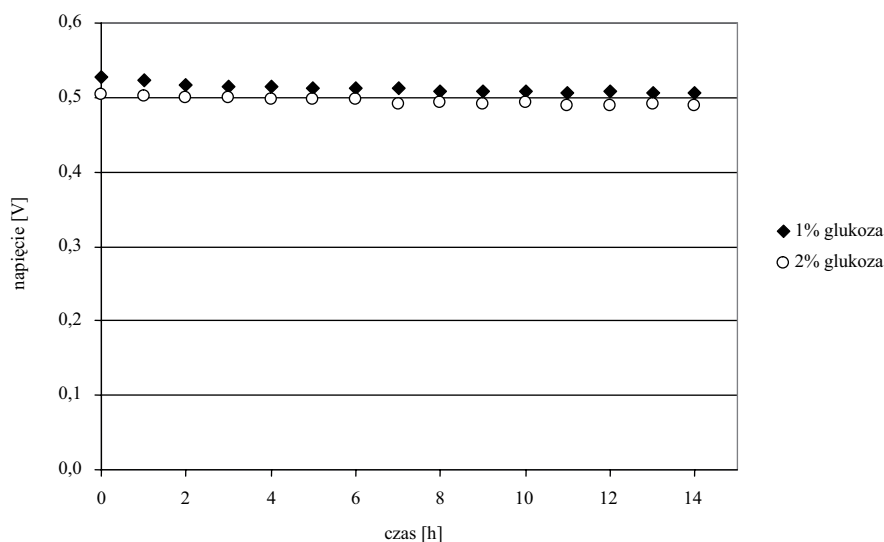
3.1. Przygotowanie bioogniwa do pracy

Bioogniwo napełniano zawiesiną bakterii *Bacillus megaterium* o gęstości optycznej 0,563 w bulionie z 2% glukozą i błękitem metylenowym przy pomocy pompy perystaltycznej, z szybkością przepływu wynoszącą 60 ml/godz. Jednocześnie do komory katodowej wprowadzano, stosując także pompę perystaltyczną, wodny roztwór żelazicyjanku potasu.

Stosowanie w początkowym okresie pracy bioogniwa, kompleksowego podłoża hodowlanego (bulionu z glukozą) jako roztworu substratu zasilającego, miało na celu jego uformowanie, związane przede wszystkim z osadzeniem się bakterii między włóknami węglowymi anody. W dalszych badaniach używano innego roztworu substratu z buforem fosforanowym i glukozą oraz przENOŚNIKÓW elektronów (błękitu metylenowego lub czerwieni obojętnej).

Po usunięciu z przestrzeni anodowej kompleksowego substratu bulionowego, bioogniwo zasilano buforem fosforanowym o pH 7, zawierającym glukozę (1g na 100 cm³) oraz roztwór błękitu metylenowego (0,1 mmol/dm³). W tych warunkach napięcie na zaciskach bioogniwa osiągnęło wartość około 520 mV (średnie w ostatnich 10 godzinach pracy bioogniwa – 516 mV). Zwiększając stężenie glukozy w roztworze substratu zasilającego bioogniwo, uzyskano w tym samym czasie napięcie wynoszące około 470 mV (średnie w ostatnich 10 godz. – 466 mV) (rys.1).

Parametry charakteryzujące pracę bioogniwa zasilanego buforowym roztworem glukozy z błękitem metylenowym przedstawiono w tabeli 1. Z zamieszczonych w niej danych wynika, że dwukrotnie większe stężenie glukozy nie powodowało zwiększenia generowanej mocy. Wręcz przeciwnie – gęstość mocy i natężenia generowanego prądu były odpowiednio o 18 i 10% mniejsze.



Rys. 1. Napięcie na zaciskach bioogniwa zasilanego buforowanym roztworem glukozy z błękitem metylenowym. Rezystancja opornika 4,95 k Ω , szybkość przepływu substratu 6,5 cm³/godz.

Źródło: opracowanie własne.

Tabela 1. Średnie wartości parametrów charakteryzujących bioogniwo zasilane buforowanym roztworem glukozy z błękitem metylenowym

Parametr	Stężenie roztworu glukozy	
	1% [w/v]	2% [w/v]
Generowana moc [μ W]	53,9	43,9
Gęstość mocy [mW/m ²]	15,7	12,8
Nateżenie prądu [mA]	0,104	0,094
Gęstość prądu [mA/m ²]	30,3	27,4
Opór wewnętrzny [k Ω]	4,95	4,95
Moc generowana z objętości przestrzeni anodowej [mW/dm ³]	0,823	0,670

Rezystancja opornika 4,95 k Ω

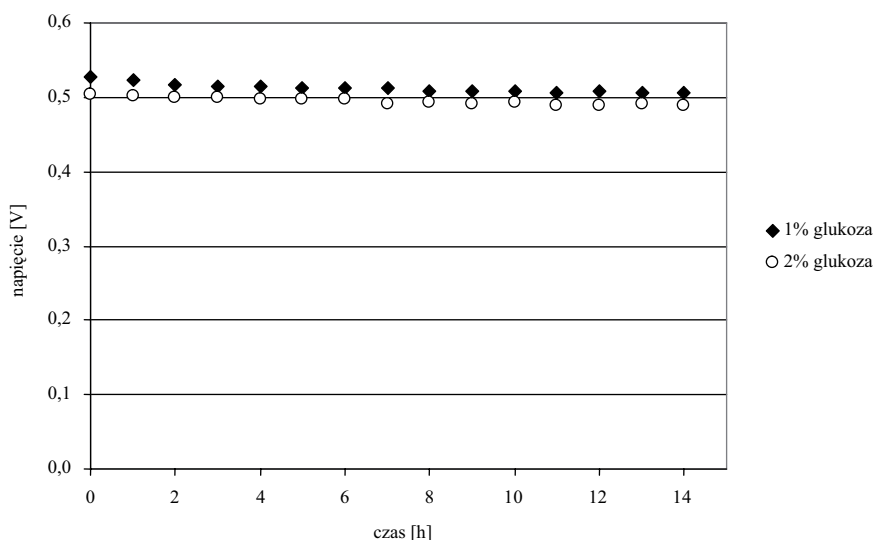
Źródło: opracowanie własne.

W literaturze można znaleźć informacje o stosowaniu w charakterze przenośników elektronów także innych związków, głównie barwników oksydacyjno-redukcyjnych, np. czerwieni obojętnej, tioniny, 2-hydrokso-1,4-naftochinonu w połączeniu z różnymi bakteriami, np. *Desulfovibrio desulfuricans*, *Proteus vulgaris*, *Shewanella putrefaciens*, *Pseudomonas fluorescens* czy *Escherichia coli* [20-22].

W dalszych badaniach użyto czerwieni neutralnej zamiast błękitu metylenowego, ponieważ ujemny potencjał redoks czerwieni obojętnej ($E'_0 = -10 \text{ mV}$) jest wyższy niż błękitu metylenowego ($E'_0 = -0,325 \text{ mV}$) [6; 20]. Oczekiwano, że bioogniwo z tym przenośnikiem będzie generować większą moc.

Po usunięciu z przestrzeni anodowej 2% roztworu glukozy z błękitem metylenowym bioogniwo zasilano buforem fosforanowym o pH 7, zawierającym glukozę (1 g na 100 cm^3) oraz roztwór czerwieni obojętnej ($0,1 \text{ mmol/dm}^3$).

Wyniki pomiarów napięcia bioogniwa z czerwiecią obojętną w roli przenośnika elektronów przedstawiono na rysunku 2. W tych warunkach napięcie na zaciskach bioogniwa osiągnęło wartość około 510 mV (średnie w ostatnich 7 godz. – 507,1 mV). Zwiększając stężenie glukozy w roztworze substratu zasilającego bioogniwo, uzyskano w tym samym czasie napięcie wynoszące około 490 mV (średnie w ostatnich 7 godz. wynosiło 490,8 mV). Zwiększenie stężenia glukozy powodowało zmniejszenie mocy generowanej przez bioogniwo, podobnie jak w przypadku użycia błękitu metylenowego, chociaż zaobserwowane zmiany były tu znacznie mniejsze (tab. 2).



Rys. 2. Napięcie na zaciskach bioogniwa zasilanego buforowanym roztworem glukozy z czerwiecią obojętną. Rezystancja opornika $4,95 \text{ k}\Omega$, szybkość przepływu substratu $6,5 \text{ cm}^3/\text{godz}$.

Źródło: opracowanie własne.

Użycie czerwieni obojętnej w charakterze przenośnika elektronów nie przyczyniło się, jak oczekiwano, do wzrostu mocy generowanej przez bioogniwo. Zbliżone rezultaty dla bioogniwa podobnego typu z bakteriami *Escherichia coli* otrzymali Ieropoulos i wsp. [20]. Sugerowali oni, że czerwień obojętna nie jest najefektywniej-

Tabela 2. Średnie wartości parametrów charakteryzujących bioogniwo zasilane buforowanym roztworem glukozy z czerwienią obojętną

Parametr	Stężenie roztworu glukozy	
	1% [w/v]	2% [w/v]
Generowana moc [μ W]	51,9	48,7
Gęstość mocy [mW/m ²]	15,1	14,1
Natężenie prądu [mA]	0,102	0,099
Gęstość prądu [mA/m ²]	29,8	28,8
Opór wewnętrzny [k Ω]	4,94	4,94
Moc generowana z objętości przestrzeni anodowej [mW/dm ³]	0,793	0,743

Rezystancja opornika 4,95 k Ω .

Źródło: opracowanie własne.

szym przenośnikiem elektronów z powodu gorszego, w porównaniu z błękitem metylenowym, współzawodnictwa o elektrony z wewnątrzkomórkowymi akceptorami (cytochromy, NADH, NADPH czy glutation).

Otrzymane w pracy bioogniwo pozwoliło na wygenerowanie o ponad 15% więcej mocy niż najlepsze z bioogniw o podobnej konstrukcji i zbliżonych rozmiarach, przedstawione w pracy Ieropoulos i wsp. [20]. W tym bioogniwie stosowana była mieszana populacja bakterii, składająca się z *Desulfovibrio desulfuricans*, *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* oraz *Pseudomonas fluorescens*.

Otrzymane wyniki wskazują, że bakterie *Bacillus megaterium* mogą być z powodzeniem zastosowane w bioogniwach mikrobiologicznych.

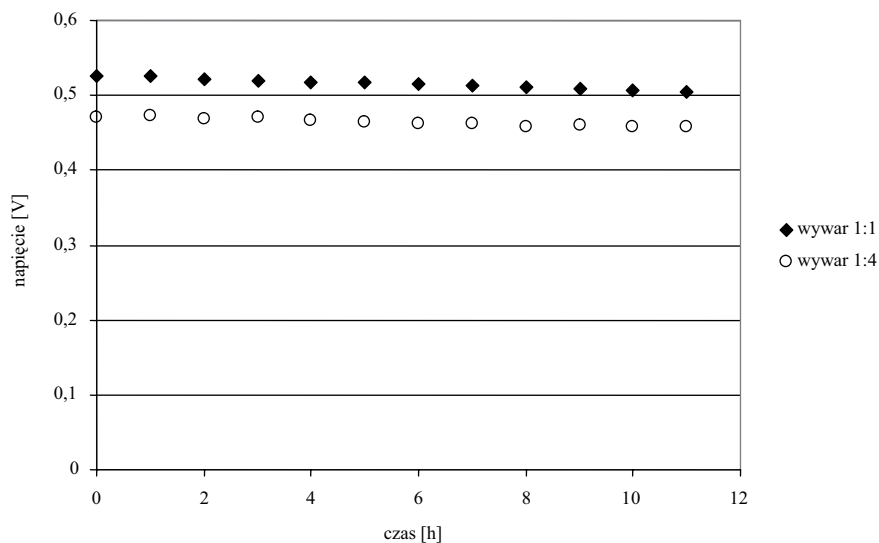
3.2. Produkcja prądu przez bioogniwo z wywaru gorzelniczego

W dalszych badaniach w charakterze surowca zasilającego otrzymane bioogniwo stosowano wywar gorzelniczy, będący produktem odpadowym w procesie produkcji etanolu, obciążony wysokim ładunkiem zanieczyszczeń (często powyżej 100 tys. ChZT [mg/dm³]).

Przed napełnieniem bioogniwa zawiesiną bakterii w wywarze cały układ przedmuchano azotem. Reaktor napełniono zawiesiną bakterii *Bacillus megaterium* w sterylnej, ciekłej frakcji wywaru zbożowego. Odpowiednie pH (7,0) wywaru uzyskiwano za pomocą 1M roztworu NaOH.

W czasie 11 godzin pracy bioogniwa z roztworem zasilającym, składającym się z ciekłej frakcji wywaru zbożowego rozcieńczonego dwukrotnie wodą, z dodatkiem błękitu metylenowego, zanotowano niewielki spadek, o około 4%, generowanego napięcia (rys. 3). Podobne zjawisko zaobserwowano w przypadku stosowania bar-

dziej rozcieńczonego wywaru (rozcieńczenie 1:4). Napięcie obniżyło się wówczas o około 2,6% (rys. 3), jednak średnie napięcie mierzone na zaciskach bioogniwa było w tym przypadku o prawie 10% niższe.



Rys. 3. Napięcie na zaciskach bioogniwa zasilanego wywarem zbożowym z błękitem metylenowym. Rezystancja opornika 4,95 k Ω , szybkość przepływu substratu 6,5 cm³/godz.

Źródło: opracowanie własne.

Tabela 3. Średnie wartości parametrów charakteryzujących bioogniwo zasilane wywarem zbożowym z błękitem metylenowym

Parametr	Rozcieńczenie wywaru	
	1:1	1:4
Generowana moc [μ W]	53,7	43,5
Gęstość mocy [mW/m ²]	15,6	12,7
Natężenie prądu [mA]	0,104	0,094
Gęstość prądu [mA/m ²]	30,3	27,3
Opór wewnętrzny [k Ω]	4,95	4,95
Moc generowana z objętości przestrzeni anodowej [mW/dm ³]	0,819	0,665

Rezystancja opornika 4,95 k Ω .

Źródło: opracowanie własne.

Wyższe stężenie wywaru, przeciwnie niż w przypadku stosowania roztworów glukozy jako substratu, pozwalało na generowanie większej o prawie 10% mocy (tab. 3).

Sprawdzono także, jak funkcjonuje bioogniwo z bakteriami *Bacillus megaterium* zasilane wywarem zbożowym, bez dodatkowych przenośników elektronów. W tym celu komorę anodową przepłukiwano rozcieńczoną, sterylną frakcją wywaru. Bioogniwo zasilano 100 cm³ sterylnego wywaru zbożowego, rozcieńczonego dwukrotnie wodą. Nadmiar wywaru znajdował się w kolbie stożkowej, do której cały czas doprowadzano azot celem uzyskania warunków anoksydacyjnych w komorze anodowej bioogniwa. Wywar krążył w obiegu zamkniętym z szybkością 4,5 cm³/godz. za pomocą pompy perystaltycznej.

Tabela 4. Średnie wartości parametrów charakteryzujących bioogniwo zasilane wywarem zbożowym obliczone z pierwszych 11 dni jego pracy

Parametr	Wartości dla wywaru rozcieńczonego wodą 1:1
Generowana moc [μ W]	64,2
Gęstość mocy [mW/m ²]	18,7
Natężenie prądu [mA]	0,114
Gęstość prądu [mA/m ²]	33,1
Opór wewnętrzny [k Ω]	4,94
Moc generowana z objętości przestrzeni anodowej [mW/dm ³]	0,980

Rezystancja opornika 4,95 k Ω .

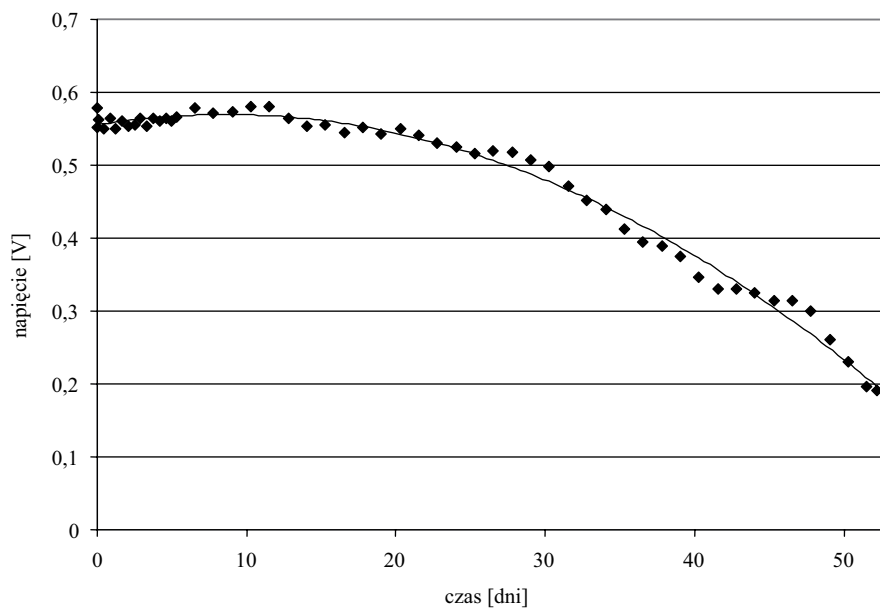
Źródło: opracowanie własne.

Średnie wartości (z pierwszych 11 dni pracy) generowanej mocy, natężenia oraz napięcia na zaciskach bioogniwa przedstawiono w tabeli 4. Ogniwo zasilane wywarem, bez dodatku sztucznych przenośników elektronów, generowało o 16% więcej mocy niż w przypadku użycia błękitu metylenowego. Bioogniwo mogło więc działać sprawnie, wykorzystując jedynie bakterie i wywar.

Interesujący był także fakt, że we wszystkich przypadkach stosowania bioogniwa wartość jego wewnętrznego oporu była bardzo zbliżona i wynosiła około 4,95 k Ω . Tak duża wartość wewnętrznego oporu wskazuje na istnienie jeszcze dużych możliwości poprawy efektywności pracy stosowanego bioogniwa, chociażby poprzez eliminację membrany oddzielającej przestrzeń anodową i katodową ogniwa.

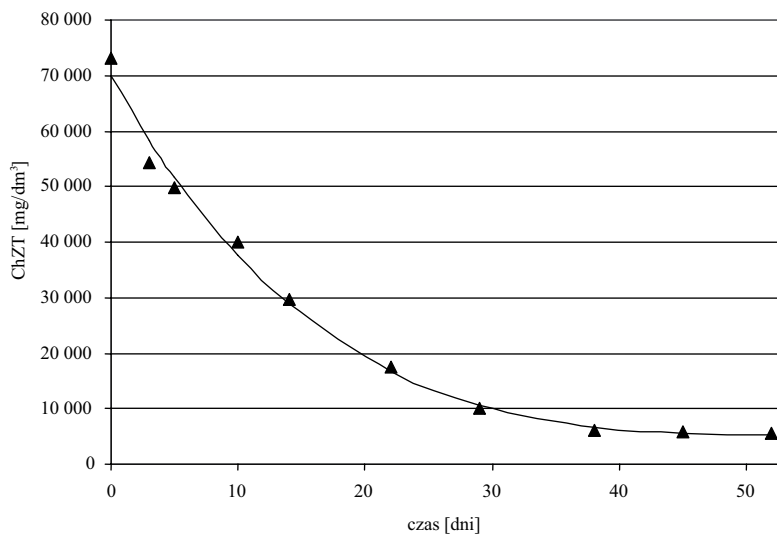
W czasie 52 dni pracy bioogniwa rejestrowano napięcie na jego zaciskach (przy oporze zewnętrznym 4,95 k Ω) oraz oznaczano ChZT wywaru. Wyniki przedstawiono na rysunkach 4 i 5.

Badane bioogniwo w czasie pierwszych 11 dni pracy generowało prawie stałą moc. W tym czasie ChZT (oznaczane metodą dwuchromianową) wywaru zostało zredukowane o 50%. W dalszej pracy bioogniwa następował stopniowy spadek generowanej mocy, a jednocześnie systematycznemu zmniejszaniu ulegało tempo



Rys. 4. Napięcie na zaciskach bioogniwa zasilanego wywarem zbożowym. Rezystancja opornika 4,95 k Ω , szybkość przepływu substratu w obiegu zamkniętym 4,5 cm³/godz.

Źródło: opracowanie własne.



Rys. 5. Redukcja ChZT wywaru zbożowego w czasie pracy bioogniwa

Źródło: opracowanie własne.

redukcji ładunku zanieczyszczeń wywaru mierzone spadkiem wartości ChZT. Całkowita redukcja ładunku ChZT w czasie 52 dni pracy bioogniwa wynosiła ponad 90%. W ostatnich siedmiu dniach nie obserwowano już widocznego spadku wartości ChZT i był to moment, w którym przerwano pracę bioogniwa.

Porównanie efektów pracy bioogniwa badanego w pracy z danymi zamieszczonymi w literaturze jest stosunkowo trudne. Podawane wartości generowanej mocy wahają się w szerokich granicach, od kilku do tysięcy mW/m^2 [23; 24]. Większość badaczy, w przypadku użycia ścieków jako substratu, stosowała bioogniwa o innej (odmiennej) konstrukcji. Biorąc pod uwagę podobieństwo konstrukcji użytego w badaniach bioogniwa, możliwe jest porównanie wyników uzyskanych przez Daniela i wsp. [6]. Konstrukcję oparli oni na prostym bioogniwie dwukomorowym, łącząc w szereg pięć takich układów, które zasilano w sposób ciągły lub okresowy. Z takiego układu pięciu bioogniw uzyskali napięcie 2,2 V przy otwartym obwodzie oraz gęstość mocy wynoszącą $979 \mu\text{W/m}^2$ i prądu $1,15 \text{ mA/m}^2$. Redukcja ChZT, którą uzyskali, wynosiła 10%.

Stosując dwukomorowe bioogniwo z membraną Nafion 117 oraz osad beztlenowy do generowania prądu ze wzbogaconych, filtrowanych ścieków komunalnych, Kim i wsp. [9] uzyskali gęstość mocy wynoszącą 40 mW/m^2 . Z kolei Liu i wsp. [8], stosując jednokomorowe bioogniwo z ośmioma grafitowymi anodami, uzyskali maksymalną gęstości mocy wynoszącą 26 mW/m^2 oraz 80% redukcję ChZT klarowanych ścieków gospodarczych. W tym przypadku bioogniwo było jednak zasilane ściekami o stosunkowo niewielkim obciążeniu (ChZT $220 [\text{mg/dm}^3]$).

Znaczenie lepsze rezultaty uzyskali Oh i wsp. [13] z rozcieńczonych ścieków (ChZT $595 [\text{mg/dm}^3]$) z przemysłu zbożowego. Stosowali oni dwukomorowe bioogniwo, otrzymując gęstość mocy wynoszącą $81 \pm 7 \text{ mW/m}^2$, a w przypadku użycia bioogniwa jednokomorowego gęstość mocy wynosiła $371 \pm 10 \text{ mW/m}^2$.

Bardziej stężone ścieki pochodzące z przemysłu farmaceutycznego i chemicznego, których ChZT wynosiło $8,1 \text{ g/dm}^3$, stosowali w swoim bioogniwie Mohan i wsp. [25]. Uzyskali oni z bioogniwa z kulturą wzbogaconą w mikroflorę produkującą H_2 większe napięcie (716 mV) i natężenie (2,84 mA) generowanego prądu. Również maksymalna gęstość mocy generowanego prądu ($67,48 \text{ mW/m}^2$) była większa od tej, którą otrzymano z bioogniwa z bakteriami *B. megaterium*. Jednak bioogniwo stosowane w niniejszej pracy było bardziej skuteczne w usuwaniu zanieczyszczeń. W czasie pracy bioogniwa usunięto ponad 92% ładunku zanieczyszczeń. Najwyższa efektywność, którą uzyskali Mohan i wsp. w swoim bioogniwie wynosiła 61,11%. Również szybkość redukcji ChZT była o ponad 60% większa w ogniwie z *B. megaterium* (w przeliczeniu $1,399 \text{ kg ChZT m}^{-3} \cdot \text{dzień}^{-1}$) w porównaniu z bioogniwem Mohana i wsp. ($0,858 \text{ kg ChZT m}^{-3} \cdot \text{dzień}^{-1}$).

Uzyskane w niniejszej pracy wyniki wskazują, że możliwe jest wykorzystanie, jako substratu, wywaru zbożowego o dużym obciążeniu ładunkiem zanieczyszczeń (ChZT ponad 70 tys. mg/dm^3) do generowania prądu elektrycznego z użyciem bakterii *B. megaterium*. Takie rozwiązanie pozwala jednocześnie na znaczną (ponad

90%) redukcję ładunku zanieczyszczeń wywaru. Prototyp bioogniwa wymaga oczywiście dalszych badań, mających na celu zwiększenie jego efektywności, szczególnie generowanej mocy. Jednym z istotnych elementów będzie opracowanie ogniwa jednokomorowego i wyeliminowanie membrany rozdzielającej przedział anodowy i katodowy bioogniwa.

Wyjaśnienia wymagać będzie także to, czy bakterie *Bacillus megaterium* wykorzystują do transportu elektronów naturalne mediatory obecne w wywarze czy też same są zdolne do oddawania elektronów bezpośrednio do anody. Do tego celu mogą wykorzystywać np. mechanizm pobierania i transportu żelaza za pomocą schizokinenu, formy sideroforu, uczestniczącego w transporcie żelaza do komórek *B. megaterium*. Aktywność reduktazy ferrosideroforowej *B. megaterium*, enzymu uczestniczącego w transporcie i asymilacji żelaza, jest bowiem najwyższa w warunkach beztlenowych [26].

4. Wnioski

1. Z badań przeprowadzonych w pracy wynika, że bakterie *Bacillus megaterium* mogą być z powodzeniem stosowane do generowania prądu w bioogniwie, zarówno z buforowanego roztworu glukozy, jak i z wywaru zbożowego.

2. Błękit metylenowy okazał się efektywniejszym niż czerwień neutralna przenośnikiem elektronów w bioogniwie z bakteriami *Bacillus megaterium*, zasilanym buforowanym roztworem glukozy.

3. Bioogniwo zasilane wywarem gorzelniczym z dodatkiem błękitu metylenowego pozwoliło na generowanie mocy rzędu $15,6 \text{ mW/m}^2$. Charakterystyczną cechą tego bioogniwa było to, że pozwalało ono wykorzystać wywar o dużym stężeniu zanieczyszczeń (ChZT ponad 70 tys. mg/dm^3).

4. Bioogniwo z bakteriami *Bacillus megaterium* zasilane wywarem zbożowym funkcjonowało bez wprowadzania dodatkowych przenośników elektronów. W tych też warunkach pozwalało na generowanie prądu (gęstość mocy wynosiła w pierwszych 11 dniach pracy $18,7 \text{ mW/m}^2$) oraz efektywną redukcję zanieczyszczeń. W ciągu 52 dni pracy bioogniwa redukcja zanieczyszczeń stosowanego wywaru wyniosła 92,3%.

Literatura

- [1] Rittmann B.E., *Opportunities for renewable bioenergy using microorganisms*, Biotechnol. Bioeng. 2008, **100**, 203-212.
- [2] Davis F., Higson S.P.J., *Biofuel cells – Recent advances and applications*, Biosens. Bioelectron. 2007, **22**, 1224-1235.

- [3] Angenent L.T, Karim K., Al.-Dahhan M.H., Wrenn B.A., Domiguez-Espinosa R., *Production of bioenergy and biochemicals from industrial and agricultural wastewater*, Trends Biotechnol. 2004, **22**, 477-485
- [4] Park D.H., Zeikus J.G., *Electricity generation in microbial fuel cells using neutral red as an electronophore*, App. Environ. Microbiol. 2000, **66**, 1292-1297.
- [5] Niessen J., Schröder U., Scholz F., *Exploiting complex carbohydrates for microbial electricity generation – a bacterial fuel cell operating on starch*, Electrochem. Commun. 2004, **6**, 955-958.
- [6] Daniel D.K., Mankidy B.D., Ambarish K., Manogari R., *Construction and operation of a microbial fuel cell for electricity generation from wastewater*, I. J. Hydrogen Energy 2009, **34**, 7555-7560.
- [7] Du Z., Li H., Gu T., *A state of the art review on microbial fuel cells: A promising technology for wastewater treatment and bioenergy*, Biotechnol. Advanc. 2007, **25**, 464-482.
- [8] Liu H., Ramnarayanan R., Logan B.E., *Production of electricity during wastewater treatment using a single chamber microbial fuel cell*, Environ. Sci. Technol. 2004, **38**, 2281-2285.
- [9] Kim J.R., Min B., Logan B.E., *Evaluation of procedures to acclimate a microbial fuel cell for electricity production*, Appl. Microbiol. Biotechnol. 2005, **68**, 23-30.
- [10] Jang J.K., Pham T.H., Chang I.S., Kang K.H., Moon H., Cho K.S., Kim B.H., *Construction and operation of a novel mediator- and membrane-less microbial fuel cell*, Process Biochem. 2004, **39**, 1007-1012.
- [11] Moon H., Chang I.S., Jang J.K., Kim B.H., *Residence time distribution in microbial fuel cell and its influence on COD removal with electricity generation*, Biochem. Eng. J. 2005, **27**, 59-65.
- [12] Min B., Kim J., Oh S., Regan J.M., Logan B.E., *Electricity generation from swine wastewater using microbial fuel cells*, Water Res. 2005, **39**, 4961-4968.
- [13] Oh S.E., Logan B.E., *Hydrogen and electricity production from a food processing wastewater using fermentation and microbial fuel cell technologies*, Water Research 2005, **39**, 4673-4682.
- [14] Liu H., Ramnarayanan R., Logan B.E., *Production of electricity during wastewater treatment using a single chamber microbial fuel cell*, Environ. Sci. Technol. 2004, **38**, 2281-2285.
- [15] Li Z., Zhang X., Lei L., *Electricity production during the treatment of real electroplating wastewater containing Cr⁶⁺ using microbial fuel cell*, Process Biochem. 2008, **43**, 1352-1358.
- [16] Zuo Y., Maness P.C., Logan B.E., *Electricity production from steam-exploded corn stover biomass*, Energy Fuel. 2006, **20**, 1716-1721.
- [17] Lian B., Hu Q., Chen J., Ji J., Teng H.H., *Carbonate biomineralization induced by soil bacterium Bacillus megaterium*, Geochim., Cosmochim. Acta 2006, **70**, 5522-5535.
- [18] Aksoy H.M., Ozman-Sullivan S.K., *Isolation of Bacillus megaterium from Aphis pomi (Homoptera: Aphididae) and assessment of its pathogenicity*, J Plant Pathology 2008, **90**, 449-452.
- [19] Raux E., Lanois A., Warren M.J., Rambach A., Thermes C., *Cobalamin (vitamin B₁₂) biosynthesis: identification and characterization of a Bacillus megaterium cobl operon*, Biochem. J. 1998, **335**, 159-166.
- [20] Ieropoulos I.A., Greenman J., Melhuish C., Hart J., *Comparative study of three types of microbial fuel cell*, Enzym Microbiol. Technol. 2005, **37**, 238-245.
- [21] Park D.H., Zeikus J.G., *Electricity generation in microbial fuel cells using neutral red as electronophore*, App. Environ. Microbiol. 2000, **66**, 1292-1297.
- [22] Kim N., Choi Y., Jung S., Kim S., *Effect of initial carbon sources on the performance of microbial fuel cells containing Proteus vulgaris*, Biotechnol. Bioeng. 2000, **70**, 109-114.
- [23] Scott K., Murano C., *A study of microbial fuel cell using manure sludge waste*, J. Chem. Technol. Biotechnol. 2007, **82**, 809-817.
- [24] Ciechanowicz W., *Mikrobiologiczne ogniwa paliwowe przetwarzające ścieki organiczne bezpośrednio w elektryczność*, Energetyka i ekologia, 2008, marzec, 220-224, www.energetyka.eu.

- [25] Mohan S.V., Mohanakrishna G., Srikanth S., Sarma P.N., *Harnessing of bioelectricity in microbial fuel cell (MFC) employing aerated cathode through anaerobic treatment of chemical wastewater using selectively enriched hydrogen producing mixed consortia*, Fuel 2008, **87**, 2667-2676.
- [26] Arceneaux J.E.L., Byers B.R., *Ferrisiderophore reductase activity in Bacillus megaterium*, J. Bacteriol. 1980, **141**, 715-721.

ELECTRICITY PRODUCTION FROM WHEAT STILLAGE (DISTILLERY WASTEWATER) IN MICROBIAL FUEL CELL

Summary: A microbial fuel cell with *Bacillus megaterium* in the anode chamber separated from the cathode chamber by Nafion membrane was employed to generate electricity. Glucose and wastewater (wheat stillage) were tested as substrates. Methylene blue, when used as the mediator was found to produce a higher output from the cell when compared to neutral red. Experimental data demonstrated the feasibility of *in situ* bioelectricity generation along with wastewater treatment. The performance of MFC with respect to power generation was found to depend on the applied COD of the wastewater. The maximum power output obtained was 18,7 mW/m² (4,95 kΩ resistor) using mediatorless MFC. A 92,3% reduction of COD was observed when the microbial fuel cell was operated using diluted (1:1) wheat stillage as a substrate.

Keywords: microbial fuel cell, stillage, *Bacillus megaterium*, methylene blue, neutral red.