

第十三章 CO₂ 甲烷化过程中碳和电子流的微生物电化学进展

Aijie Wang^{1*}, Bo Wang², Zechong Guo³, Weiwei Cai⁴ and Wenzong Liu¹

¹State Key Lab of Urban Water Resource and Environment, School of Civil and Environmental Engineering, Harbin Institute of Technology Shenzhen, Shenzhen 518055, China

²Center for Electromicrobiology, Section of Microbiology, Department of Biology, Aarhus University, Aarhus C 8000, Denmark

³School of Environmental and Chemical Engineering, Jiangsu University of Science and Technology, Zhenjiang 212100, China

⁴School of Civil Engineering, Beijing Jiaotong University, Beijing 100044, China

*Correspondence: waj0578@hit.edu.cn

13.1 引言

目前, 可持续技术已被广泛探索和开发, 以通过化学、电化学、光化学和生物技术方法捕获/固定和利用 CO₂, 同时降低能耗或使用绿色能源(Centi & Perathoner, 2009; Kondratenko et al., 2013)。厌氧消化(AD)是在没有游离氧的情况下有机废物的细菌发酵过程, 支持产甲烷菌生产 CH₄ 并用作燃料(Yu et al., 2021)。由于复杂底物生物降解过程中涉及各种生物联合体和不同的副产物, CH₄ 的生产由乙酸营养产甲烷和氢营养产甲烷两种主要途径决定。重要的是, 氢营养产甲烷菌可以利用乙酸化产生的 H₂ 将 CO₂ 转化为 CH₄。然而, 由于 H₂ 对产乙酸菌的敏感反馈, H₂ 通常不会在系统中积累太多。

最近, 电化学 CO₂ 还原已发展成为一种用来活化和转化稳定的 CO₂ 分子的有效方法, 该方法由从阳极到阴极的电子流驱动(Jhong et al., 2013)。值得注意的是, 阴极表面的 CO₂ 还原反应始终需要特殊高效的催化剂。目前微生物电催化 CO₂ 还原作为一种可持续的降碳技术, 具有广阔的前景, 该技术充分利用了 CO₂ 衍生的化学商品(Bajracharya et al., 2017)。CO₂ 的生物催化还原使用多种功能的微生物来实现碳减排。在阳极侧, 生物电子可以被产电菌从污水中的废弃有机物、废弃生物质中收集; 阴极可以为微生物群落提供 H₂ 和电子, 微生物群落可以直接利用 CO₂ 作为最终的电子受体进行代谢, 生产高附加值的含有一个或多个 C

的化学物质，如 CH_4 、乙酸等。鉴于此，学者已经研究了由各种功能细菌通过电子转移来加速和调节碳循环的过程。

碳循环作为地球上重要的自然过程之一，由大量的生物体参与，其中不同类型的微生物在有机物降解、能量利用和生物合成等方面共同发挥作用。不同类型的物种相互作用，互惠共生，表现为两个或多个生活在附近位置的不同物种相互依赖以获得营养、保护和其他生命功能(Kouzuma et al., 2015)。电催化产甲烷(EM)的高效种间通讯过程，已被证实是通过在合成菌群中以电流形式的直接种间电子转移(DIET)来完成的(Kouzuma et al., 2015; Lovley, 2017b)。通常，该过程的一个典型例子是在电化学增强厌氧消化加速 CH_4 生产的集成系统中发现的，其中通过减少当量的 H_2 或电子来还原 CO_2 是产电菌和氢营养产甲烷菌共生体系中的主要减碳路径(Rotaru et al., 2014b)。研究者开发了不同类型的外部施加电压的电化学增强型厌氧消化系统(Huang et al., 2022)，提升了微生物系统的稳定性(Liu et al., 2016c; Cai et al., 2019)、产气量(Cai et al., 2016b; Liu et al., 2016b)和对低温的适应(Liu et al., 2016a)。已有研究观察到电流和 CO_2 通过电催化产甲烷过程直接生物转化为 CH_4 (Cheng et al., 2009)。

研究表明外部能量可以为微生物生产提供动力(Lovley, 2011; Lovley & Nevin, 2013)。EM 只需相对较低的能量输入(0.2-0.8V)即可实现污水或废物中的 CO_2 减少和 CH_4 回收，同时在耦合厌氧消化系统时增强对有机物的降解(Cai et al., 2016b)。但是，能源消耗始终是靠电力输入，而在农村或偏远地区的长期系统运行中，电力输送受到限制(Wang et al., 2020c)。因此，可再生能源为电催化产甲烷过程提供动力，这对于其广泛应用至关重要。太阳能被认为是满足全球能源需求的最可行的选择之一，因为它具有可用性，并且每天照射地球的太阳能巨大(120000 TW)(Kamat, 2007)。然而，天然太阳能是一种昼夜间歇性电力，这是一个需要克服的问题。利用可再生能源发电可以减少 CO_2 排放，还可以通过化学形式储存电力来缓解太阳能只能间歇性发电的现有挑战。

13.2 电催化产甲烷过程中的碳转化和电子流

CH_4 形式的能量回收被认为是通过厌氧消化实现污水处理厂(WWTP)中能源及碳中和的有前景的方法(Silvestre et al., 2015)。在污水处理厂中，污水中的

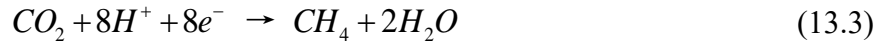
大部分有机物将转化为沉积在污泥相中的生物质。污泥消化将成为污水处理厂生产 CH_4 的主要的甚至唯一的途径。生物源 CH_4 通常由厌氧生物反应器中的产甲烷菌对有机底物进行厌氧消化产生。

通常，厌氧消化系统中产生 CH_4 的两条途径分为氢营养型和甲基营养型，这取决于使用 CO_2 还是甲基化合物作为主要碳源(Thauer et al., 2008)。复杂有机物经水解发酵变成小分子物质，如长链脂肪酸、单糖、氨基酸等，再转化为短链脂肪酸，以便乙酸营养型产甲烷菌利用。同时，在产酸发酵和产乙酸过程中会产生 H_2 。为了防止对产乙酸菌的抑制，厌氧消化系统中通常只需要非常低的 H_2 压力。去除 H_2 的细菌，包括氢营养型产甲烷菌、同型乙酸菌等，必须快速消耗 H_2 以保证消化过程持续进行(Appels et al., 2008)，这是生产甲烷高效生产的关键限速步骤之一。EM 为从有机废物流中提高 CH_4 产量提供了新的选择。除了厌氧消化过程生产甲烷，EM (CO_2 到 CH_4 的生物电化学还原) 也被认为是一种新的 CH_4 生产的生物途径(Cai et al., 2021)。

EM 过程发生在具有大量 H_2 或电子的环境中，例如产氢发酵罐、阴极表面或导电载体，产甲烷菌可以通过各种途径将 CO_2 直接或间接还原为 CH_4 。首先，氢营养型产甲烷菌的生物电化学过程可以通过以 H_2 为电子载体的介导电子转移来增强。在厌氧消化系统中，发酵过程产生的 H_2 较少，压力较低；而更多的 H_2 可以通过电化学反应（在阴极催化剂下析出 H_2 ）或生物电化学过程（由能够接受固体阴极电子的产电菌产生）进一步供应到阴极上（式(13.1)），并被氢营养产甲烷菌消耗以产生 CH_4 （式(13.2)）(Villano et al., 2010)。理论上，氢气的产生需要阴极电位达到 -0.41 V vs. SHE ，但由于各种电化学损失，实际需要更低的负电位(Wang et al., 2020b):



其次，EM 也可以在没有电子载体的情况下直接进行。一些氢营养产甲烷菌（例如甲烷杆菌属）可以直接从阴极接受电子，并在阳极产生的质子参与下将 CO_2 还原为 CH_4 （方程式 (13.3)）(Lohner et al., 2014)。此过程需要 -0.24 V vs. SHE 的阴极电位：



第三, 除 H_2 外, 电流和 CO_2 通过阴极电合成衍生的一些其他有机化合物(如乙酸盐、乙醇、丁酸盐、琥珀酸盐等) 也为产甲烷菌提供了更多可用的底物 (Steinbusch et al., 2010)。在阴极, 产乙酸微生物(例如, *Sporomusa ovata*) 合成的乙酸盐(方程式(13.4)) (Nevin et al., 2011) 随后可以被乙酸营养型产甲烷菌转化为 CH_4 (方程式(13.5)) (Jiang et al., 2013), 而其他化合物需要通过种间电子转移进行共代谢:



与厌氧消化产甲烷相比, EM 有着独特的碳转化和电子流动路线。由于涉及电化学过程, 电催化产甲烷中的碳转化路线更加多样化, 这通常有利于系统的稳定。此外, 有机底物降解和 CH_4 生产在不同区域分开, 更容易为敏感的产甲烷菌创造有利的微环境。

在厌氧消化中, 不同微生物种群之间的电子传递通常是通过中间产物(电子载体)进行的, 这种传递是隐性的和自发的。在 EM 中, 外部电压就像一个泵, 从源(有机底物)中提取电子, 并将它们输送到产品(CH_4)中。由于外部电压和电路的存在, 部分电子流被强制发生, 过程更清晰, 这大大提高了系统的可监测性和可控性。鉴于上述原因, EM 在克服厌氧生物反应器中常规产甲烷途径的不利因素和提高 CH_4 生产效率方面具有巨大潜力。

13.2.1 参与碳转化的功能群落和基因

电化学增强的厌氧消化反应效率主要取决于某些微生物细胞外电子传输的能力(Yu et al., 2021)。首先, 阳极上成熟的生物膜在有机物生物降解中能够高效地进行电子收集(Wang et al., 2020a)。这些系统中常见的产电细菌的功能(例如, *Geobacter*、*Shewanella* 和 *Desulfovibrio*) 与 c 型细胞色素基因有关; 此外, 尽管只有单一底物(如醋酸酯)的培养, 微生物仍然可以发育出相对较高的功能和系统多样性。例如, 在所有基因类别中, 与底物降解相关(碳降解和碳固定)的功能基因占比为 15-25%, 而与复杂碳利用相关的功能基因占有所有检测基因的 10%

左右(Liu et al., 2010)。各种碳降解基因,包括淀粉酶、木聚糖酶和内切几丁质酶,在反应器中存在很大差异。相应地,具有高库仑效率和能量收集(H_2 产率)的生物反应器利用多种复杂碳源的能力也是最大的。据报道,库仑效率与群落组成($r=0.84, P=0.025$)以及 COD 去除、碳降解($r=0.84, P=0.035$)与群落结构之间存在显著相关性(Liu et al., 2010);而阳极上的碳降解群落与阴极端产物的相关性不显著。

当反应器中进行底物(葡萄糖)发酵时,具有高度多样性的功能基因参与复杂的碳降解过程,包括纤维素、半纤维素、木质素、淀粉、果胶和几丁质碳降解基因(Varrone et al., 2014)。通过细胞色素基因检测发现阳极生物膜中存在更多的微生物,例如来自 *Geobacter metallireducens* 的用于金属还原的细胞色素,参与有机污染物氧化的 *Bradyrhizobium sp.*、来自 *Geobacter sulfurreducens* 的 *OmcA/MtrC*、*Shewanellasediminsis*、*S. oneidensis*、*S. amazonensis*、*S. loihica* 和 *S. pealeana*。这表明能量回收率最高的反应器需具有更多的(总量)细胞色素基因。同时,还检测到了含二磷酸核酮糖羧化酶、一氧化碳脱氢酶和丙酰辅酶 A 羧化酶固碳基因相关的微生物。例如,来自 *Roseiflexus sp.*、*Nitrobacter hamburgensis*、*Chloroflexus aggregans* 的丙酰辅酶 A 羧化酶基因。此外,部分检测到的细菌是未经培养的,例如检测到来自未经培养的细菌(实验室克隆)产生的一氧化碳脱氢酶(CODH),以及二磷酸核酮糖羧化酶。

对比乙酸和葡萄糖,尽管使用复合碳比使用单一碳源可以检测到更高的功能多样性,但一个综合的群落结构应该能基于各种底物都得到很好的发展。所有主要功能类别的基因表明,微生物群落能够执行各种各样的功能。值得注意的是,群落功能的可变性不光与产电菌的存在有关,因为一小部分碳降解功能可以通过发酵的非产电菌以及与其他细菌的共生关系实现。因此,细胞外电子传递途径对反应器中的产甲烷群落结构具有重要影响。施加电压增加了氢营养型产甲烷菌的相对丰度,而不是乙酸营养型产甲烷菌。在开放式的反应器中,乙酸营养型产甲烷菌存在相对较高的丰度;而在封闭式反应器中检测到能够利用 H_2 产生 CH_4 的 6 个菌属,包括 *Methanobacterium*、*Methanococcus*、*Methanoculleus*、*Methanocorpusculum*、*Methanospirillum* 和 *Candidatus Methanoregula*, 但只有一个属的 *Methanosarcina* 被定义为乙酸营养型产甲烷菌。

13.2.2 电化学调控下甲烷生产过程的有机转化

由于 EM 极具前景,一些研究人员最近开始关注以电化学干预作为辅助强化手段来提高厌氧生物反应器的 CH_4 生产能力。厌氧消化工艺无论是在技术方面还是理论方面都非常成熟,在 CO_2 固定的技术市场中占据主导地位。然而,厌氧消化很容易受到不利因素的影响,例如不适宜的温度、非中性 pH 或有毒抑制剂。当遇到环境变化时, CH_4 的生产效率可能会发生剧烈波动。在厌氧消化生物反应器中,能量流动和碳转化是在封闭系统中自发进行的,缺乏直接的外部干预。这导致难以快速构建系统中的正常秩序(例如系统启动或从崩溃中恢复)或在 CH_4 生产系统不稳定时对其进行有效调整。相比之下,微生物电催化过程能够通过外部电能输入对有机物降解途径进行定向干预,这可以成为厌氧消化的有效补充。因此,研究者提出了一种电化学增强的厌氧消化工艺,以期综合这两种技术的优点,为碳固定提供更理想的工艺选择。

自 2006 年 Willy Verstraete (Pham et al., 2006)提出电化学增强厌氧消化的概念以来,已经有许多研究工作验证耦合技术的可行性。据报道,通过引入微生物电催化过程可以提高 CH_4 的生产性能和厌氧消化系统的稳定性(Malaeb et al., 2013; Wang et al., 2022b)。最近的研究分析了这些潜在促进作用的机制,研究者认为厌氧生物反应器中的微生物群落分布和碳转化途径受到生物电化学过程的正向调节(Guo et al., 2017a)。在复杂的厌氧环境中施加电压有利于降低电极电位,通过提供额外的 H_2 可以促进氢营养产甲烷菌的生长,从而为厌氧和兼性种群创造合适的栖息地(Wang et al., 2009)。电化学的影响包括即时的直接贡献和长期的间接影响(如影响启动阶段厌氧群落的分布)(Liu et al., 2016c; Zhao et al., 2015)。一些研究通过测序技术揭示,外部电压作为一种积极的生长条件或选择性压力,对微生物群落结构具有显著的调节作用。特别是,外部电压会导致产电微生物和氢营养型产甲烷菌的增加(Liu et al., 2016b)。

除了影响微生物群落分布外,外部电压还可以对厌氧系统中的有机物降解途径产生积极影响。根据我们案例中对葡萄糖消化过程的电子平衡分析(图 13.1)(Guo et al., 2017a),在没有电化学调节的厌氧消化系统中,葡萄糖氧化得到的更多电子被转移并最终被存储在丙酸盐和丁酸盐(34.9%)中。其中,氢营养型产甲烷菌不受限制,但由于乙酸营养型产甲烷菌的数量相对较少,因此很少进行乙

酸化产甲烷过程，只有少量乙酸被转化为 CH_4 (3.6%)。发酵产物（丙酸、丁酸、甚至醋酸）中电子流的浪费导致产 CH_4 性能不理想。然而，在生物电化学的调节作用下，更多的电子从葡萄糖转移到 H_2 (23.4%) 和乙酸盐 (48.6%)，而不是丙酸盐和丁酸盐，并且生物电解反应在乙酸盐和 H_2 之间创造了额外的途径，大约 10.6% 总电子通过电路电流从乙酸转移到 H_2 中，这缓解了乙酸营养型产甲烷菌数量不足的限制，从而使得 CH_4 产量显著增加。

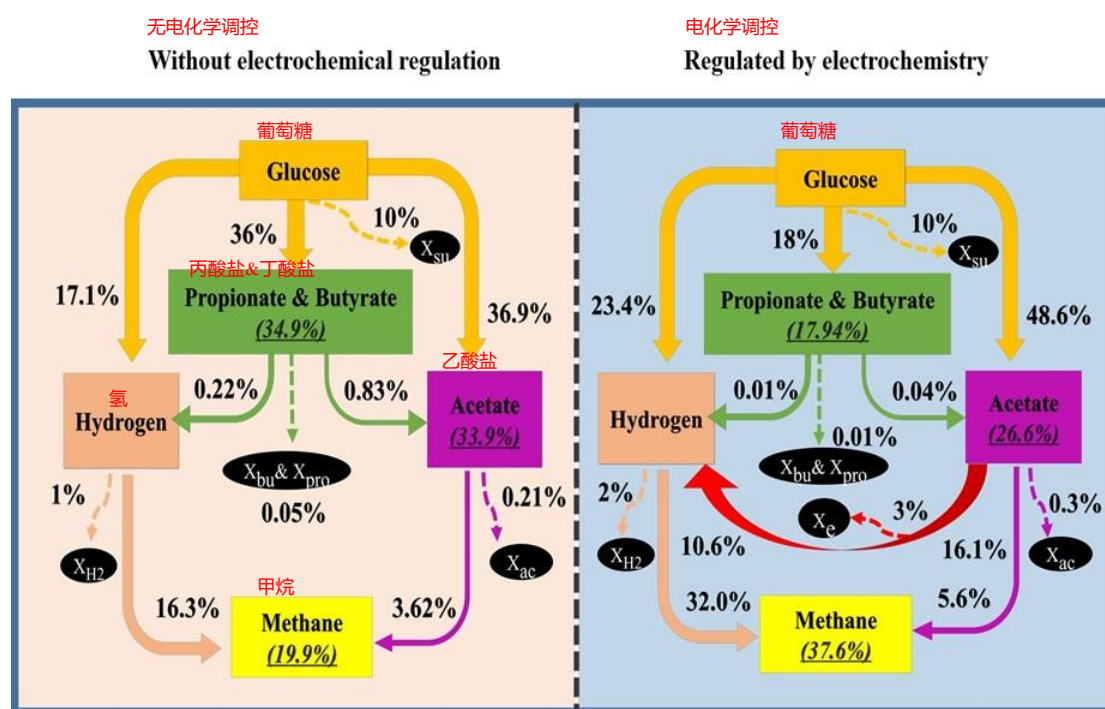


图 13.1 有/无电化学调控下葡萄糖消化的电子平衡分析(Guo et al., 2017a)

电化学对厌氧降解过程的影响很大程度上取决于电极的电化学效率（如电流密度、阴极催化效率等）和系统的复杂性。一般来说，通过各种方法（如增加电极面积、使用高效电极材料、优化反应器配置等）提高电极的电化学效率（电流密度），会促进生物电化学反应的电子流在总电子流中的比例以及电化学对沼气生产的直接贡献(Wang et al., 2017)。提供简单的底物（如醋酸盐和乙醇）有利于建立高效的阳极生物膜，从而获得良好的电化学处理性能。然而，以复杂的化合物（如污水或污泥）作为底物，生物膜群落和厌氧消化过程变得更加复杂(Zhang et al., 2011)。电极呼吸细菌的相对丰度和电子转移效率普遍低于使用醋酸盐的体系，这可能削弱了电化学对厌氧消化过程的影响(Zhang et al., 2011)。

甲烷生产通常是可溶性底物厌氧消化的限速步骤，产甲烷菌是产生 CH_4 的功能性微生物群落中最重要但也是最脆弱的成员。事实上，厌氧消化技术的许多瓶颈（如滞后时间长、稳定性差）最终都可以归结为产甲烷菌的高灵敏度和缓慢生长。考虑到电化学对产甲烷菌生长和代谢的积极作用，引入电化学元件可能是解决厌氧消化系统存在问题的可行方案，可能在开发有机废物流处理的碳中和工艺中发挥更大的作用。

13.3 基于电化学增强的厌氧消化系统促进 CH_4 生产

13.3.1 厌氧消化系统中的氢源产甲烷途径

厌氧消化的典型途径包括以下步骤：水解、发酵、产乙酸和产甲烷(McCarty & Smith, 1986)。污水处理厂中的废弃活性污泥(WAS)被视为微生物的聚集地。细胞裂解将是进行深度厌氧消化的第一步，即需要对微生物释放的有机物进行适当的预处理。化学、物理和生物预处理方法都可以进行细分。超声波技术通常用于机械地破坏细胞壁。采用双频超声波对活性污泥进行预处理，在发酵阶段可以产生更多的挥发性脂肪酸(VFA)(Wang et al., 2018)。

VFA 的积累将抑制发酵微生物的活性，而发酵微生物和产甲烷菌之间的共生(或共养)将 VFA 转化为 CH_4 ，从厌氧消化过程中逸出(Lopez-Garcia & Moreira, 2020)。发酵过程将产生 VFA 作为最终产品，供产乙酸菌和产甲烷菌使用(Ziels et al., 2019)。目前，产甲烷菌有八目，分属于三个门(Lyu et al., 2018)。新的产甲烷菌不断被发现，显示出产甲烷菌的多样性。然而，由于底物对产甲烷菌的限制，厌氧消化中产甲烷菌的代谢类型很少是单一的。通常， H_2/CO_2 和乙酸盐被用作生产 CH_4 的底物，产甲烷途径分为氢营养型和乙酸营养型。尽管自然生态系统中存在甲基营养型产甲烷菌，但其丰度较低，导致在厌氧消化反应器中受到的关注较少。

用于活性污泥厌氧消化的不同类型产甲烷菌中，氢营养型产甲烷菌以 H_2 作为电子供体， CO_2 作为电子受体，能够调节系统中的 H_2 含量。发酵微生物需要将 NADH 氧化为 NAD^+ ， NAD^+ 的再生确保了糖酵解的完成；而 H_2 的积累会在热力学上影响 NAD^+ 的再生，因此 H_2 是敏感因子(Stams & Plugge, 2009)。发酵阶

段 H_2 的生成机制也为暗发酵 H_2 的生物制备研究提供了新见解。然而，在最近的生物电化学研究进展中，结合暗发酵和微生物电解实现了从葡萄糖生产 H_2 的突破(Varanasi et al., 2019; Wang et al., 2020b)。事实上，氢营养型产甲烷菌捕获 H_2 作为 CH_4 生产的前体，因此， CH_4 被认为是混合系统中的固有产物(Wang et al., 2009)。

最近，研究者提出了一种电化学增强厌氧消化的混合模型，以加快处理活性污泥 (WAS)，提高 CH_4 的生产速率(Liu et al., 2016b)。析氢电极为氢营养型产甲烷菌提供了一个独特的生态位，能够持续地供应 H_2 。研究者开发了一种电化学增强的新型厌氧消化反应器，并测试其用于处理活性污泥来生产 CH_4 的性能。通过引入电极提高了 CH_4 的生产率，厌氧消化性能接近对照组的 3.2 倍。基于电子平衡分析，对照组 CH_4 产量和引入电流贡献之和与增强型系统的 CH_4 产量高度一致。电流值最高可达 12 mA，高于实验室规模的生物电化学反应器。进一步建立了电化学增强厌氧消化系统的产甲烷动力学模型，结果表明，添加 1.4 倍葡萄糖培养液可提高 CH_4 的产率(Guo et al., 2017a)。厌氧消化系统的电化学增强型配置会影响 CH_4 生产性能。在我们之前的研究中，较高的阴极/阳极比率也提高了 CH_4 的产率（提高了 56-180%）(Guo et al., 2017b)。此外，在以葡萄糖作为阴极底物、以醋酸盐作为阳极底物的连续模型中，独立阴极也提高了 CH_4 的产量(Cai et al., 2016a)。电化学增强的厌氧消化系统为加速活性污泥处理以生产 CH_4 提供了一种有前途的方法。这对厌氧消化系统很有价值，因为较长的污泥停留时间是其实施的瓶颈，而提高 CH_4 产率使得生产等量的 CH_4 时污泥停留时间缩短。

13.3.2 产甲烷过程中阴极生物膜中微生物群落演化

在电化学增强的厌氧消化模型中，氢营养产甲烷菌将在阴极生物膜中占主导地位，这一点已通过我们的研究得到证实(Gao et al., 2021; Perona-Vico et al., 2019; Siegert et al., 2015)。这一发现与我们最初的假设及以往研究一致，氢营养型产甲烷菌的生长将在 H_2 的存在下受到激发。甲烷杆菌属是丰富的属，其中氢营养型产甲烷菌在阴极工作。此外，在阴极生物膜中还发现了兼性乙酸营养型产甲烷菌以及产乙酸菌。因此，研究者提出了在阴极产 CH_4 的假设，一方面，氢营养型产甲烷菌会接受来自阴极的 H_2 /电子来产生 CH_4 ；另一方面，产乙酸菌会消耗阴极

中的 H₂ 以产生乙酸，供给乙酸营养型产甲烷菌（图 13.2）。

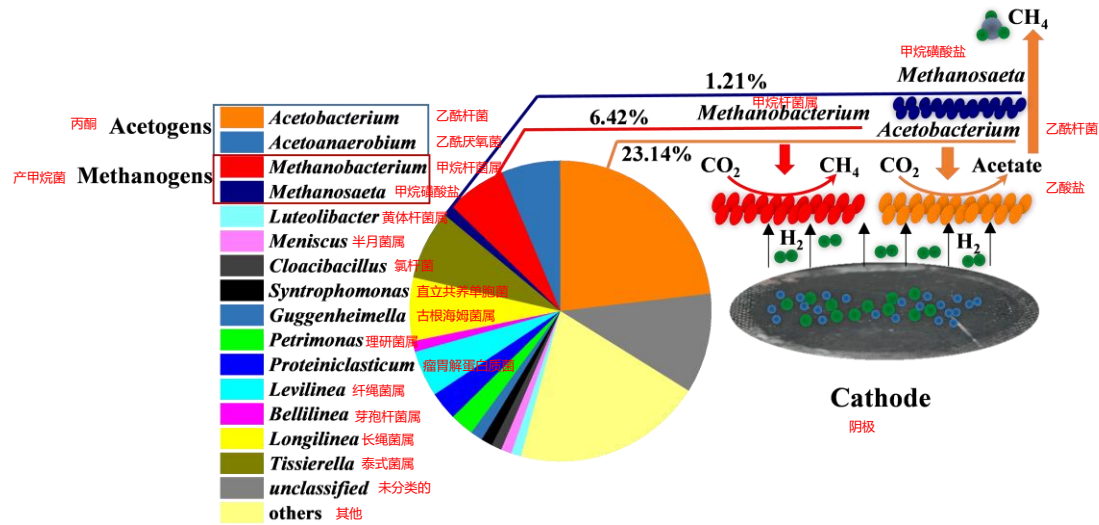


图 13.2 阴极甲烷生成途径的假设(Cai et al., 2016b)

事实上，根据先前在电极上纯培养产甲烷菌的研究结果，阴极上生成 CH₄ 的理论可以修改为从电子流到产甲烷菌产生 CH₄ 的直接途径。最初，第一份报告由 Derek R. Lovley 等人 (Rotaru et al., 2014a) 提供，C¹⁴ 标记的 CH₄ 可以由 *Methanosaeta* 和 *Geobacter* 共培养产生，并证明 *Methanosaeta* 能够直接从 *Geobacter* 接受电子。这一发现引起了人们对 DIET 的极大关注 (Rotaru et al., 2014a)。研究者随后培养了一种不含氢化酶的甲烷球菌突变体作为工作种，证实了不依赖 H₂ 的直接电子转移 (Lohner et al., 2014)。此外，研究证实 *Methanosarcinales* 可以在阴极上执行多种模式的电极相互作用（氢化酶介导和游离胞外酶非依赖性模式）(Rowe et al., 2019)，这拓展了阴极上潜在的电子转移机制。最近，研究发现一种明确的 *Methanobacterium YSL* 和 *Geobacter metallireducens* 的共培养基可以通过 DIET 机制进行生长 (Zheng et al., 2020)。产甲烷菌的主要类型被认为有能力获得细胞外电子来产生 CH₄ (Gao & Lu, 2021)。因此，产甲烷菌中 DIET 的存在比我们预期的更广泛。

尽管研究发现纯培养能够直接从阴极获取电子，但微生物电解辅助厌氧消化的电子转移通常发生在由不同物种组成的生物膜内。有两个问题需要注意：第一，为什么在生物膜中总是以 *Methanobacterium* 或 *Methanobrevibacter* 为主，而不是 *Methanosaeta* 或 *Methanosarcina*，尽管它们都可以利用来自阴极的 H₂/电子；其次，DIET 是否会支持生物膜的整体性能。进一步的研究表明，由于质子的快速

消耗，阴极的微环境不同于本体溶液(Cai et al., 2020)。mcrA 测序技术为产甲烷菌的物种分类提供了更高的分辨率，在极碱性微环境（微米级）下，嗜碱性产甲烷菌是在阴极富集的甲烷杆菌属(Cai et al., 2018a)。因此，极端条件可能会导致特殊产甲烷菌的富集，例如甲烷杆菌属。在混合培养基中，H₂ 首次被证实是发酵微生物与产甲烷菌共生体系中的电子载体，甲酸盐被发现可作为 H₂ 的替代品，且具有极高的效率(Stams & Plugge, 2009)。新型 DIET 被证实是一种电子载体，最近的一项研究表明，在互养菌属的 e-pili 和地杆菌的 IV pili 共同存在时，DIET 可以作为多样化共生培养的一种机制选择(Walker et al., 2020)。一项模型研究表明甲酸盐在互养过程中的电子转移可达 $317 \times 10^3 \text{ e}^- \text{ cp}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ，其 DIET 能力为 $44.9 \times 10^3 \text{ e}^- \text{ cp}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ，高于 H₂ 调节过程 ($5.24 \times 10^3 \text{ e}^- \text{ cp}^{-1} \text{ s}^{-1}$) (Storck et al., 2016)。显然，甲酸盐将是电子转移的理想介质，但这通常不是合成的主要途径，因为甲酸盐在热力学上可逆地生成 H₂ (Cai et al., 2020)。而且，没有细胞色素的产甲烷菌的生长受到甲酸盐的限制，由于 H₂ 仍然是产甲烷菌利用辅酶 F-420 依赖的甲酸脱氢酶的中间产物，甲酸盐依赖的产甲烷菌将失去在自然环境中与其他对 H₂ 需求较低的产甲烷菌竞争的优势(Thauer et al., 2008)。在典型的厌氧消化反应器中，H₂ 仍然是互养细菌和产甲烷菌中电子转移的主要载体。

在我们随后的阴极生物膜测试中检测了 H₂ (Cai et al., 2020)。明显的 H₂ 浓度梯度表明它是甲烷生产过程中的阴极电子载体。同时，使用循环伏安法 (CV) 测试与微传感器耦合，测定了 H₂ 对总电子转移的贡献的半定量结果。令人惊讶的是，只有不到 50% 的电子会通过 H₂ 传输，因此，DIET 可能对阴极甲烷生成有显著贡献。根据最新的研究进展，细胞外电子传递途径广泛存在，不仅涉及菌毛、黄素、细胞色素，还涉及 exDNA、囊泡、细胞外聚合物 (EPS) (Liu et al., 2020; Lovley, 2017a; Saunders et al., 2020; Xiao et al., 2017)。氢-自由电子途径也可能包含多种载体，而不仅仅是直接电子转移，这仍需要进一步研究。

13.3.3 电化学增强厌氧消化系统中的微生物网络

在电化学增强的厌氧消化反应器中，具有细胞外电子转移能力的微生物群落成为发酵细菌 (FB) 和产甲烷菌之间的连接桥梁(Liu et al., 2016b)，即通过电子转移开发出多种途径从碳降解生成 CH₄ (图 13.3)。当施加高电压 (例如，>0.5V)

(Liu et al., 2010)和在阴极上使用高效金属催化剂(Liu et al., 2019), 例如 Pt/C、改性 Ni 时(Cai et al., 2018b; Wang et al., 2019), H_2 作为重要的阴极产物之一被明显检测到。可以通过施加电压确定 H_2 的产生速率(Wang et al., 2009), 并对产甲烷菌产生很大的间接影响。此外, 随着运行时间的延续 CH_4 产量逐渐增加, 这说明了系统中产甲烷群落的实质性发展。利用 H_2 的群落可以在阴极生物膜中充分发展, 产生乙酸和 CH_4 , 然后通过扩散的 H_2 作为电子载体改变悬浮溶液和阳极群落(Cai et al., 2016b)。

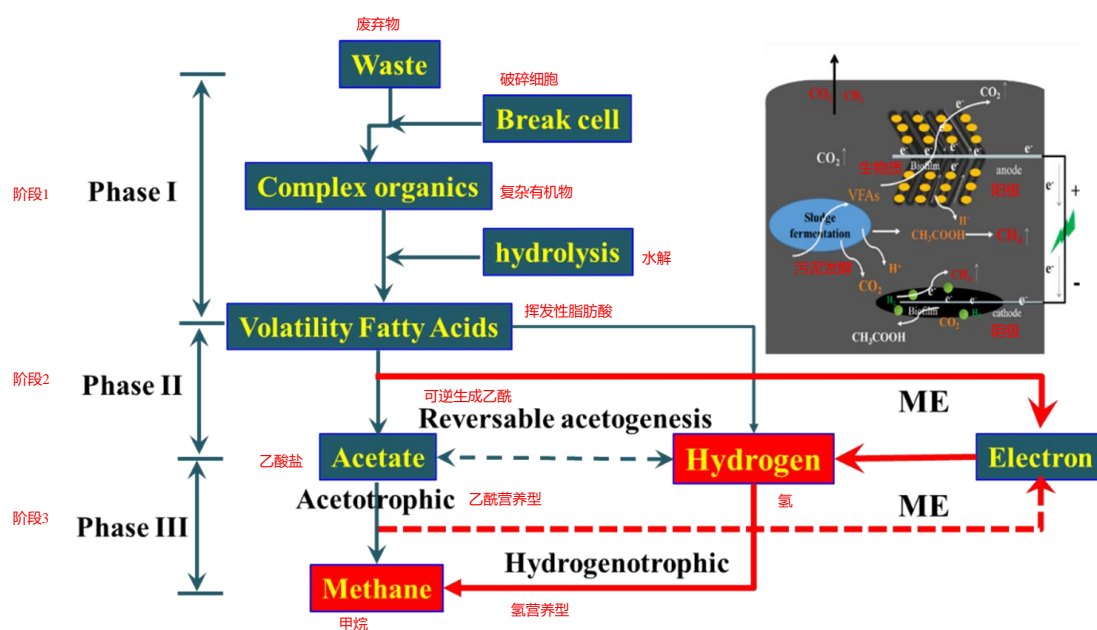


图 13.3 通过细胞外电子传递途径加强氢营养源甲烷生成

原来的电极生物膜与发酵群落相互作用, 建立了一个新的电活性群落系统, 很快就加入了产甲烷菌, 从而形成一个复杂的群体网络(图 13.4) (Liu et al., 2016c)。据报道, 生物电化学群落高度富集与 *Proteobacteria* (~60%) 和 *Firmicutes* (20-30%) 相关的功能微生物, 它们进行底物降解和电子转移, 在复杂的碳利用方面具有巨大潜力, 是进行胞外电子转移的核心群落。它们应该在碳循环中发挥了非常重要的作用, 因为据报道 *Firmicutes* 可能与阳极呼吸细菌存在共生关系(Zhang et al., 2011)。代表性厌氧发酵细菌占整个群落的 1-10%, 由 *Citrobacter* (*Gammaproteobacteria* 类)、*Macellibacteroides* (*Bacteroidia* 类) 组成, *Clostridia* 的两个属 (*Proteiniclasticum* 和 *Sedimentibacter*) 经过发酵后富集并成为优势菌种。*Proteiniclasticum* 负责降解蛋白质以产生乙酸(HAc)、丙酸(HPr) 和异丁酸(iso-HBu) (Zhou et al., 2018), 其丰度为 6%。丰度为 5-7%的

Macellibacteroides 可以代谢各种碳水化合物以产生 HAc、HBu 和 iso-HBu (Jabari et al., 2012)。 *Citrobacter* 和 *Sedimentibacter* 属可以在产酸和产乙酰过程中降解有机物以产生 VFA 和 H₂。与原始的阳极生物膜群落相比，一些与污泥发酵过程连接的细菌会发生改变。在以污泥发酵液作为进料的所有一体化反应器中， *Clostridia* 类的四个属（即厌氧菌、乙酸杆菌、厌氧菌和梭菌）均减少。

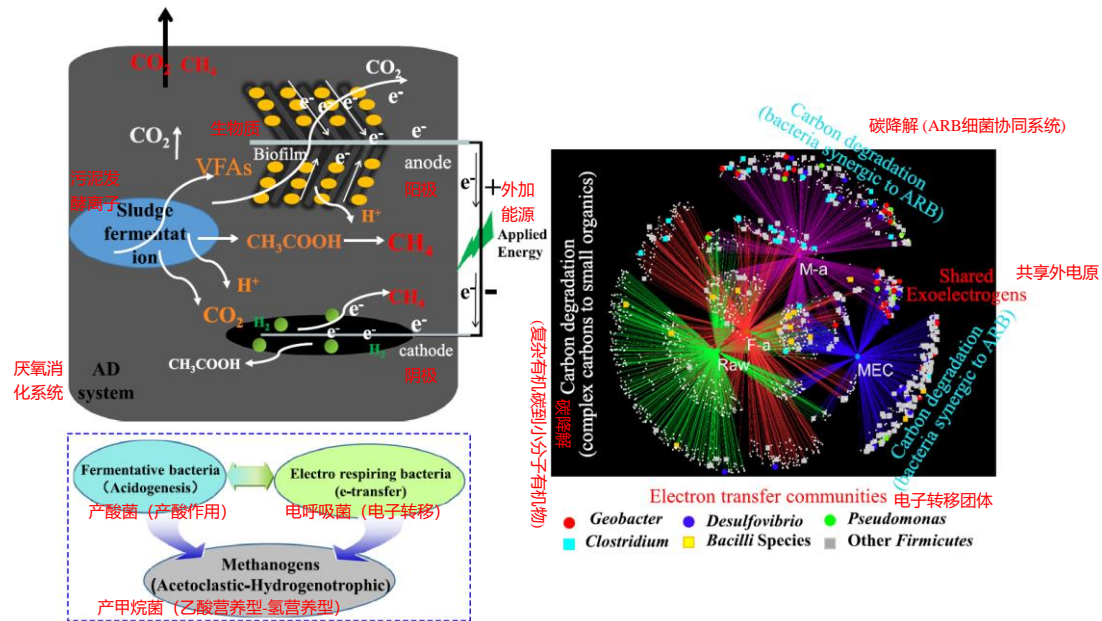


图 13.4 产酸菌、电呼吸菌和产甲烷菌构成的微生物网络

产甲烷菌在所有综合系统的生物膜中得到发展。同时，污泥中发酵细菌的丰度可以显著提高，但乙酸营养型产甲烷菌数量却有所下降(Wang et al., 2019)。尽管阳极微生物和产甲烷菌在乙酸利用方面存在底物竞争，但在具有足够碳源底物的各种条件下，阳极生物膜中都可以富集产甲烷菌；而在连续施加电压的情况下，阴极生物膜中的氢营养型产甲烷菌将进一步富集，丰度增加(Cai et al., 2019)。包括 *Methanocorpusculum*, *Methanosphaerula*, *Methanoregula*, *Methanospirillum*, *Methanobacterium* 和 *Methanobrevibacter* 在内的微生物与阴极的 H₂ 生成有关，H₂ 为厌氧条件下的氢营养型产甲烷菌提供有利的底物。具有高析氢反应 (HER) 活性的生物阴极材料将影响生物群落结构和产甲烷途径。高 HER 倾向于选择 H₂ 而不是电子进行甲烷生产。因此，同样可以选择具有 HER 能力的阴极优势微生物，通常包括氢营养型甲烷杆菌和甲烷螺旋菌(Ferry et al., 1974; Rotaru et al., 2014a)，甲烷杆菌不仅能将 H₂ 直接转化为 CH₄，还能利用电子生产 CH₄ (Cheng

et al., 2009)。

13.4 太阳能生物电化学系统驱动 CO₂ 甲烷化

13.4.1 太阳能间歇供电提升生物电化学性能

有一系列研究报告称,连续直流电驱动会影响微生物的细胞生长和代谢行为。因此,大多数研究关注于施加电压的调节作用(Ding et al., 2016)。例如,在双室电化学增强型厌氧消化反应器中采用 0.8 V 外加电压时,CH₄ 的产率最高,为 0.052 m³ CH₄·m⁻³ reactor·d⁻¹ (Ding et al., 2016)。在另一项研究中,观察到电极生物膜的微生物群落在有无电极电位存在的条件下发生变化,在开路的情况下,功能基因的比例较高(Liu et al., 2010)。总之,这些结果提供了一个线索,即通过持续的电力给微生物代谢提供过量能量,会危及生物电化学系统的整体性能。

最近,另一种用于促进生物能源回收或污水转化的间歇性电力驱动模型表现出令人意想不到的性能。在单室微生物电解槽中,工作一天休息一天的间歇电源供应模式实现了更高、更稳定的苯酚去除效率(Ailijiang et al., 2016)。周期性断开电源的长期运行可以显著降低 BES 的内阻,提高 COD 去除效率和 H₂ 回收效率(Cho et al., 2019; Hussain et al., 2018)。当进一步考虑太阳能的固有性质时,即它存在昼夜间歇性,同时也存在潜在的限制,间歇太阳能驱动发电也可以有效地促进生物能源回收,同时进行污水处理。Wang 等人 (2020c, 2020d)证明了自然太阳光作为一种昼夜间歇性电源,可以有效提高污水中 CH₄ 的产生,并调节细胞色素 c 的电子转移蛋白,该研究揭示了太阳能对电化学增强厌氧消化的潜在影响。Wang 等人(2022a)进一步开发了天然太阳能供养的微生物,将 CO₂ 还原为 CH₄,从而实现有效的碳捕获。综合比较了其他报道中 EM 通过生物阴极将 CO₂ 还原为 CH₄ 的结果(表 13.1),可以很容易地得出结论,在这样的系统中膜普遍存在,更高的外加电压促进了阳极的水裂解,而不是有机物的氧化。此外,含碳产物(即 CH₄)的电流(即库仑)效率与还原产物的生产速率之间存在不协调,这意味着能源投资没有完全用于 CH₄ 生产,从而造成另一种名义上的资源浪费。进一步考虑其他外部操作参数控制,例如电极修饰、温度和 pH 控制等对系统性能的影响,但不可否认的是,天然太阳能供电的 EM 在利用绿色间歇式驱动力回收生物能源

方面仍表现出相当大的竞争力。

表 13.1 微生物电催化产甲烷的碳捕获甲烷生产速率比较

接种株/培养液 ^a	反应配置和运行模式	温度 (°C)	阴极材料	外加电压 (V)	无机碳源 /conc.(mol·L ⁻¹)	电流密度 (A·m ⁻²)	CH ₄ 生产速率 (mol CH ₄ ·m ⁻³ reactor·d ⁻¹)	电流到 CH ₄ 效率	参考文献
填充床生物膜反应器产生的厌氧污泥，以脂肪酸和醇的合成混合物为养料	直流批式	35	碳纸	阴极电位 -0.75 V vs. SHE	CO ₂ /足量	阴极电流密度 -0.69	0.173±0.026	76±7	Villano et al. (2010)
活性污泥	直流连续	30	石墨毡	阴极电位 -0.55 V vs. NHE ^b	HCO ₃ ⁻ /0.06	3.8	0.268	51.3	Van Eerten-Jansen et al. (2012)
富含活性污泥	直流批式	30±1	碳毡	阴极电位 -0.95 V vs. SHE ^b	CO ₂ /足量	3.37	0.024	89.2	Jiang et al. (2013)
富含破碎厌氧颗粒污泥	直流连续	37±2	石墨毡	阴极电位 -0.70 V vs. SHE	HCO ₃ ⁻ /0.024	3.0	0.35	84.3 (库伦效率)	Xu et al. (2014)
由地层水和醋酸钠供给的嗜热微生物燃料电池阳极室的流出物	直流批式	55	碳布	阴极电位 -0.5 V vs. SHE	HCO ₃ ⁻ /0.03	0.175	0.233	93	Fu et al. (2015)

接种株/培养液 ^a	反应配置和运行模式	温度 (°C)	阴极材料	外加电压 (V)	无机碳源 /conc.(mol·L ⁻¹)	电流密度 (A·m ⁻²)	CH ₄ 生产速率 (mol CH ₄ ·m ⁻³ reactor·d ⁻¹)	电流到CH ₄ 效率	参考文献
厌氧污泥	直流连续	31±1	石墨毡	阴极电位 -0.7 V vs. SHE	HCO ₃ ⁻ /0.06	2.9	0.464	73	(Van Eerten-Jansen et al. 2015)
海洋岩自养甲烷杆菌类太古菌菌株 IM1	直流批式	21	石墨棒	阴极电位 -0.6 V vs. SHE	CO ₂ /足量	阴极电流密度 -0.5	0.0134	80 (库伦效率)	(Patil et al. 2015)
富氢营养型产甲烷菌培养物	直流批式	22±2	多孔碳毡	阴极电位 -0.8 V vs. SHE	CO ₂ (1.65 atm)	Ca.15	0.03± 0.015	39 (库伦效率)	Dykstra and Pavlostathis (2017)
厌氧污泥	TC ^c 批式	30	热处理不锈钢毡 (HSSF)、不锈钢毡 (SSF)、石墨毡 (GF)	3.5±0.3	HCO ₃ ⁻ /0.06	7.1	HSSF: 12.86 SSF: 9.19 GF: 15.72	HSSF: 60.8 SSF: 56.9 GF: 69.4	Sangeetha et al. (2017)

接种株/培养液 ^a	反应配置和运行模式	温度 (°C)	阴极材料	外加电压 (V)	无机碳源 /conc.(mol·L ⁻¹)	电流密度 (A·m ⁻²)	CH ₄ 生产速率 (mol CH ₄ ·m ⁻³ reactor·d ⁻¹)	电流到 CH ₄ 效率	参考文献
厌氧混合污泥, 包括来自造纸工业废水处理厂的颗粒污泥和来自市政污水处理厂的污泥 ^b	直流批式	30	颗粒活性炭	阴极电位 -0.58 V	CO ₂ /足量	35	4.3	66	Liu et al. (2018)
厌氧污泥	直流连续	30	石墨颗粒	2.8±0.1		35	4.1	67	
一个全尺寸、扩大颗粒污泥床反应器处理淀粉污水后的活性污泥	直流连续	30±1	碳毡	阴极电位 -1.0 V vs. Ag/AgCl	HCO ₃ ⁻ /0.06	2.442 ±0.484	0.24±0.05	44.27±4.01	Yang et al. (2020)
			中性红色改性碳毡 ^c			7.622 ±1.436	1.39±0.17	58.90±11.47	
			蒽醌-2,6-二磺酸盐改性碳毡 ^c			4.377 ±1.230	0.84±0.24	60.88±4.01	

接种株/培养液 ^a	反应配置和运行模式	温度 (°C)	阴极材料	外加电压 (V)	无机碳源 /conc.(mol·L ⁻¹)	电流密度 (A·m ⁻²)	CH ₄ 生产速率 (mol CH ₄ ·m ⁻³ reactor·d ⁻¹)	电流到 CH ₄ 效率	参考文献
产生 CH ₄ 的单室微生物电解池的流出物	直流批式	30	泡沫镍	恒电势: 阴极电位 -0.9 V vs. Ag/AgCl	HCO ₃ ⁻ /0.048 CO ₂ /足量	1.47	2.68	25	Mao et al. (2021)
				恒电流: 电流密度 2.14 A·m ⁻²		2.14	4.91	36	
				恒压: 1.98 V		3.23	12.05	90	
产生 CH ₄ 的单室微生物电解池的流出物	SC批式 无 pH 控制	25±2	Pt 涂层碳布	1V (太阳能供电)	HCO ₃ ⁻ /0.164	17.3	5.47±0.29	211.13±3.8 9	Wang et al. (2022a)

^a 对于双室系统，接种体具体指的是阴极。

^b 阴极电位 vs. SHE(标准氢电极)或 vs. NHE(正常氢电极)。

^cTC 指由中间的一个阳极室和面对两个阴极室组成的三个室。

13.4.2 间歇电场介导互惠种间电子转移

生物电化学系统中涉及电子传递机制已被广泛地解析，主要发生在生物电极上；然而，浮游微生物群与 CO_2 还原生成 CH_4 过程的相关性及其对该还原反应的贡献通常被忽视，而且机制尚未得到很好的揭示。本体溶液中 EM 的主要电子转移途径可分为两类：(i) 间接种间电子转移 (IIET)，其进一步细分为载体介导的 IIET (i-IIET)，例如 H_2 和甲酸盐作为电子载体 (Cai et al., 2020)；电子穿梭介导的 IIET (e-IIET)，例如通过可溶性电子穿梭 (如 H_2) 在物种之间进行电子扩散交换 (Lovley, 2017b)；(ii) DIET。

Wang 等人 (2020c) 开发了天然太阳能 EM 用以从污水中回收 CH_4 ，并证明太阳能间歇驱动模式显示出明显更高的 CH_4 产量、电子转移和能量回收效率 (图 13.5a)。此外，分子生态网络 (MEN) 分析结果表明，电活性微生物 (EAMs) 在三个位置 (生物阳极、生物阴极和悬浮液) 上发挥着举足轻重的作用，并且与产甲烷菌有很强的电化学交流 (图 13.5b) (Wang et al., 2020d)。此外，氢营养型产甲烷菌，主要是 *Methanobacterium* 和 *Methanobrevibacter* 属，在生物电极中表现出更多的正向联系。相反，以 *Methanosarcina* 为主的乙酸营养型产甲烷菌在生物电极上表现出更多的负向联系。对于产乙酸菌，本体溶液中的正连接较低，生物电极中的正连接较高。发酵菌 (FB) 具有降解有机物的能力，与附着在生物阴极上的产甲烷菌和产乙酸菌关系密切。本体溶液中 EAMs、产甲烷菌、产乙酸菌和 FB 之间的连通性更加复杂多样，呈现出明显的共生、合作或竞争关系。总的来说，电极生物膜中微生物具有更积极的联系，而浮游微生物群落则表现出相反的联系。因此，无论是阳极中的微生物群落还是本体溶液中的微生物群落，都与碳源转化密切相关，而生物合成 CH_4 的阴极相对独立，基本依靠电子传递与阳极和悬浮液建立连接。

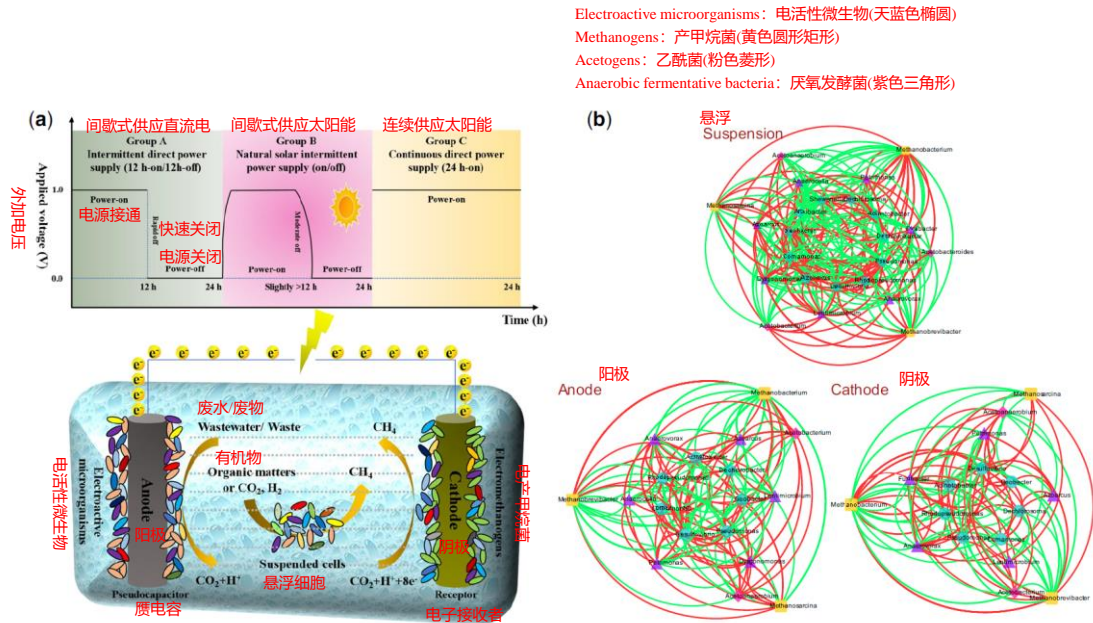


图 13.5 (a)由手动开关(A组)或自然太阳能(B组)和连续电场(C组)施加的间歇电场驱动的单腔无膜生物电化学系统示意图。(b)分别在阳极生物膜、阴极生物膜和本体溶液中来自功能微生物菌群的 OTUs 的分子生态网络(MEN)可视化。每个节点代表一个 OTU(种), 不同颜色和形状的节点表示特定功能属的类别: 电活性微生物(天蓝色椭圆)、产甲烷菌(黄色圆形矩形)、产乙酸菌(粉色菱形)和厌氧发酵菌(紫色三角形)。红色边表示两个独立节点之间的积极相互作用, 而绿色边表示消极相互作用(修改自 Wang et al., 2020d)

13.5 挑战与展望

捕获和利用 CO₂ 生产气体/液体能量是获得增值商品和减缓大气中 CO₂ 上升的一种有前景的方法。生物电化学 CO₂ 还原是通过细胞外电子转移还原稳定 CO₂ 分子的有效途径, 可通过外部能量输入加速这一过程。种间电子转移提供了多种方法来加强氢营养型产甲烷菌活性以减少 CO₂。此外, 互惠关系通常是在特定的微生物伙伴之间建立的, 这些伙伴能够通过使他们的互动更有效和更健壮的机制来相互感知。

在特定生态位上促进微生物生长和微生物生化反应仍有广阔的潜力。氢营养型产甲烷菌的生长速度 (倍增时间 4-8 小时) 比乙酸营养型产甲烷菌 (*Methanosaeta*, 倍增时间 5-7 天) 更快(Wu et al., 1992)。在 DIET 的帮助下, 使用不同底物 (乙酸盐、丙酸盐、丁酸盐、长链脂肪酸、甘油、蛋白质、葡萄糖和淀粉) 可以支持氢营养型产甲烷菌以较高速率生长(Tang et al., 2015)。一些物种,

例如 *Methanothrix*, 只能通过 DIET 过程将 CO₂ 还原为 CH₄。来自 DIET 的低电势电子可能会改善 *Methanothrix* 物种的生长, 打破只能以醋酸盐作为唯一底物的限制(Wang et al., 2016), 这进一步增强了土壤和沉积物中 *Methanothrix* 的活性(Lovley, 2017b)。

随着高效(生物)材料的发展, CO₂ 还可以用于化学、生物或物理用途(基于碳捕获和利用的生物能源, BECCU)。一种新型的混合微生物光电化学系统可以提高微生物在阳极氧化污水中有机物的能力(Lu et al., 2020)。一种集成了选择性单原子镍催化剂的纳米线硅光电阴极上(Si NW/Ni SA), 实现了将 CO₂ 还原为 CO。与 H₂ 类似, CO 也是用于微生物产品生产(CH₄、乙酸盐等)的合适底物之一。在未来, 由 DIET 衍生的具有导电性能的高效生物膜(生物)材料可能被开发出来, 用于高效的 CO₂ 生物捕获和利用技术。此外, 这类技术可以减少污水处理厂的碳排放, 为限制碳排放做出贡献(Mallapaty, 2020)。

致谢

作者要感谢深圳哈尔滨工业大学深圳海外高层次人才研究启动计划的支持。本研究得到广东省杰出青年科学基金(No. 2021B1515020084)、国家自然科学基金(No. 51778607)、国家自然科学基金(NSFC-ISF)联合项目(No. 41961144024)和深圳市科技创新计划(No. KQTD20190929172630447)的支持。

参考文献

- Ailijiang N., Chang J., Liang P., Li P., Wu Q., Zhang X. and Huang X. (2016). Electrical stimulation on biodegradation of phenol and responses of microbial communities in conductive carriers supported biofilms of the bioelectrochemical reactor. *Bioresource Technology*, 201, 1–7, <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.11.026>
- Appels L., Baeyens J., Degrève J. and Dewil R. (2008). Principles and potential of the anaerobic digestion of wasteactivated sludge. *Progress in Energy and Combustion Science*, 34(6), 755–781, <https://doi.org/10.1016/j.peccs.2008.06.002>
- Bajracharya S., Srikanth S., Mohanakrishna G., Zacharia R., Strik D. P. B. T. B. and Pant D. (2017). Biotransformation of carbon dioxide in bioelectrochemical systems: state of the art and future prospects. *Journal of Power Sources*, 356, 256–273, <https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2017.04.024>
- Cai W., Han T., Guo Z., Varrone C., Wang A. and Liu W. (2016a). Methane production enhancement

by an independent cathode in integrated anaerobic reactor with microbial electrolysis. *Bioresource Technology*, 208, 13–18, <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.02.028>

- Cai W. W., Liu W. Z., Yang C. X., Wang L., Liang B., Thangavel S., Guo Z. C. and Wang A. J. (2016b). Biocathodic methanogenic community in an integrated anaerobic digestion and microbial electrolysis system for enhancement of methane production from waste sludge. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*, 4(9), 4913–4921, <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.6b01221>
- Cai W., Liu W., Zhang Z., Feng K., Ren G., Pu C., Sun H., Li J., Deng Y. and Wang A. (2018a). *mcrA* sequencing reveals the role of basophilic methanogens in a cathodic methanogenic community. *Water Research*, 136, 192–199, <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.02.062>
- Cai W. W., Liu W. Z., Sun H. S., Li J. Q., Yang L. M., Liu M. J., Zhao S. L. and Wang A. J. (2018b). Ni₅P₄-NiP₂ nanosheet matrix enhances electron-transfer kinetics for hydrogen recovery in microbial electrolysis cells. *Applied Energy*, 209, 56–64, <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2017.10.082>
- Cai W. W., Liu W. Z., Zhang Z. J., Feng K., Ren G., Pu C. L., Li J. Q., Deng Y. and Wang A. J. (2019). Electro-driven methanogenic microbial community diversity and variability in the electron abundant niche. *Science of the Total Environment*, 661, 178–186, <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.01.131>
- Cai W., Liu W., Wang B., Yao H., Guadie A. and Wang A. (2020). Semiquantitative detection of hydrogen-associated or hydrogen-free electron transfer within methanogenic biofilm of microbial electrosynthesis. *Applied and Environmental Microbiology*, 86(17), e01056-20.
- Cai W., Wang B., Liu W., Yao H., Deng Y. and Wang A. (2021). Sessile methanogens dominated cathodic biofilm: distribution and network in physiological transitions. *Science of the Total Environment*, 795, 148724, <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.148724>
- Centi G. and Perathoner S. (2009). Opportunities and prospects in the chemical recycling of carbon dioxide to fuels. *Catalysis Today*, 148(3–4), 191–205, <https://doi.org/10.1016/j.cattod.2009.07.075>
- Cheng S., Xing D., Call D. F. and Logan B. E. (2009). Direct biological conversion of electrical current into methane by electromethanogenesis. *Environmental Science and Technology*, 43(10), 3953–3958, <https://doi.org/10.1021/es803531g>
- Cho S. K., Lee M. E., Lee W. and Ahn Y. (2019). Improved hydrogen recovery in microbial electrolysis cells using intermittent energy input. *International Journal of Hydrogen Energy*, 44(4), 2253–2257, <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2018.07.025>
- Ding A., Yang Y., Sun G. and Wu D. (2016). Impact of applied voltage on methane generation and microbial activities in an anaerobic microbial electrolysis cell (MEC). *Chemical Engineering Journal*, 283, 260–265, <https://doi.org/10.1016/j.cej.2015.07.054>
- Dykstra C. M. and Pavlostathis S. G. (2017). Methanogenic biocathode microbial community development and the role of bacteria. *Environmental Science and Technology*, 51(9), 5306–5316, <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b04112>
- Ferry J. G., Smith P. H. and Wolfe R. (1974). *Methanospirillum*, a new genus of methanogenic

- bacteria, and characterization of *Methanospirillum hungatii* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 24(4), 465–469.
- Fu Q., Kuramochi Y., Fukushima N., Maeda H., Sato K. and Kobayashi H. (2015). Bioelectrochemical analyses of the development of a thermophilic biocathode catalyzing electromethanogenesis. *Environmental Science and Technology*, 49(2), 1225–1232, <https://doi.org/10.1021/es5052233>
- Gao K. and Lu Y. (2021). Putative extracellular electron transfer in methanogenic Archaea. *Frontiers in Microbiology*, 12, 611739, <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.611739>
- Gao T., Zhang H., Xu X. and Teng J. (2021). Integrating microbial electrolysis cell based on electrochemical carbon dioxide reduction into anaerobic osmosis membrane reactor for biogas upgrading. *Water Research*, 190, 116679, <https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.116679>
- Guo Z., Liu W., Yang C., Gao L., Thangavel S., Wang L., He Z., Cai W. and Wang A. (2017a). Computational and experimental analysis of organic degradation positively regulated by bioelectrochemistry in an anaerobic bioreactor system. *Water Research*, 125, 170–179, <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.08.039>
- Guo Z., Thangavel S., Wang L., He Z., Cai W., Wang A. and Liu W. (2017b). Efficient methane production from beer wastewater in a membraneless microbial electrolysis cell with a stacked cathode: the effect of the cathode/anode ratio on bioenergy recovery. *Energy and Fuels*, 31(1), 615–620, <https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.6b02375>
- Huang Q., Liu Y. and Dhar B. R. (2022). A critical review of microbial electrolysis cells coupled with anaerobic digester for enhanced biomethane recovery from high-strength feedstocks. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 52(1), 50–89, <https://doi.org/10.1080/10643389.2020.1813065>
- Hussain S. A., Perrier M. and Tartakovsky B. (2018). Long-term performance of a microbial electrolysis cell operated with periodic disconnection of power supply. *RSC Advances*, 8(30), 16842–16849, <https://doi.org/10.1039/C8RA01863D>
- Jabari L., Gannoun H., Cayol J. L., Hedi A., Sakamoto M., Falsen E., Ohkuma M., Hamdi M., Fauque G., Ollivier B. and Fardeau M. L. (2012). *Macellibacteroides fermentans* gen. nov., sp. nov., a member of the family Porphyromonadaceae isolated from an upflow anaerobic filter treating abattoir wastewaters. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 62(Pt 10), 2522–2527, <https://doi.org/10.1099/ijs.0.032508-0>
- Jhong H. R., Ma S. C. and Kenis P. J. A. (2013). Electrochemical conversion of CO₂ to useful chemicals: current status, remaining challenges, and future opportunities. *Current Opinion in Chemical Engineering*, 2(2), 191–199, <https://doi.org/10.1016/j.coche.2013.03.005>
- Jiang Y., Su M., Zhang Y., Zhan G., Tao Y. and Li D. (2013). Bioelectrochemical systems for simultaneously production of methane and acetate from carbon dioxide at relatively high rate. *International Journal of Hydrogen Energy*, 38(8), 3497–3502, <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2012.12.107>
- Kamat P. V. (2007). Meeting the clean energy demand: nanostructure architectures for solar energy conversion. *Journal of Physical Chemistry C*, 111(7), 2834–2860,

<https://doi.org/10.1021/jp066952u>

- Kondratenko E. V., Mul G., Baltrusaitis J., Larrazabal G. O. and Perez-Ramirez J. (2013). Status and perspectives of CO₂ conversion into fuels and chemicals by catalytic, photocatalytic and electrocatalytic processes. *Energy and Environmental Science*, 6(11), 3112–3135, <https://doi.org/10.1039/c3ee41272e>
- Kouzuma A., Kato S. and Watanabe K. (2015). Microbial interspecies interactions: recent findings in syntrophic consortia. *Frontiers in Microbiology*, 6, 477.
- Liu W., Wang A., Cheng S., Logan B. E., Yu H., Deng Y., Nostrand J. D., Wu L., He Z. and Zhou J. (2010). Geochipbased functional gene analysis of anodophilic communities in microbial electrolysis cells under different operational modes. *Environmental Science and Technology*, 44(19), 7729–7735, <https://doi.org/10.1021/es100608a>
- Liu D. D., Zhang L., Chen S., Buisman C. and ter Heijne A. (2016a). Bioelectrochemical enhancement of methane production in low temperature anaerobic digestion at 10 degrees C. *Water Research*, 99, 281–287, <https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.04.020>
- Liu W., Cai W., Guo Z., Wang L., Yang C., Varrone C. and Wang A. (2016b). Microbial electrolysis contribution to anaerobic digestion of waste activated sludge, leading to accelerated methane production. *Renewable Energy*, 91, 334–339, <https://doi.org/10.1016/j.renene.2016.01.082>
- Liu W., He Z., Yang C., Zhou A., Guo Z., Liang B., Varrone C. and Wang A.-J. (2016c). Microbial network for waste activated sludge cascade utilization in an integrated system of microbial electrolysis and anaerobic fermentation. *Biotechnology for Biofuels*, 9(1), 1–15, <https://doi.org/10.1186/s13068-015-0423-8>
- Liu D., Roca-Puigros M., Geppert F., Caizán-Juanarena L., Na Ayudthaya S. P., Buisman C. and Ter Heijne A. (2018). Granular carbon-based electrodes as cathodes in methane-producing bioelectrochemical systems. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 6, 78, <https://doi.org/10.3389/fbioe.2018.00078>
- Liu W., Wang L., Gao L. and Wang A.-J. (2019). Hydrogen and methane production in bioelectrochemical system: biocathode structure and material upgrading, Chapter 5.10. In: *Microbial Electrochemical Technology*, S. V. Mohan, S. Varjani and A. Pandey (eds), Elsevier, The Netherlands, pp. 921–953.
- Liu X., Jing X., Ye Y., Zhan J., Ye J. and Zhou S. (2020). Bacterial vesicles mediate extracellular electron transfer. *Environmental Science and Technology Letters*, 7(1), 27–34, <https://doi.org/10.1021/acs.estlett.9b00707>
- Lohner S. T., Deutzmann J. S., Logan B. E., Leigh J. and Spormann A. M. (2014). Hydrogenase-independent uptake and metabolism of electrons by the archaeon *Methanococcus Maripaludis*. *ISME Journal*, 8(8), 1673–1681, <https://doi.org/10.1038/ismej.2014.82>
- Lopez-Garcia P. and Moreira D. (2020). The syntrophy hypothesis for the origin of eukaryotes revisited. *Nature Microbiology*, 5(5), 655–667, <https://doi.org/10.1038/s41564-020-0710-4>
- Lovley D. R. (2011). Powering microbes with electricity: direct electron transfer from electrodes to microbes. *Environmental Microbiology Reports*, 3(1), 27–35, <https://doi.org/10.1111/j.1758-2229.2010.00211.x>

- Lovley D. R. (2017a). Happy together: microbial communities that hook up to swap electrons. *ISME Journal*, 11(2), 327–336, <https://doi.org/10.1038/ismej.2016.136>
- Lovley D. R. (2017b). Syntrophy goes electric: direct interspecies electron transfer. *Annual Review of Microbiology*, 71, 643–664, <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-030117-020420>
- Lovley D. R. and Nevin K. P. (2013). Electrobiocommodities: powering microbial production of fuels and commodity chemicals from carbon dioxide with electricity. *Current Opinion in Biotechnology*, 24(3), 385–390, <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2013.02.012>
- Lu L., Li Z. D., Chen X., Wang H., Dai S., Pan X. Q., Ren Z. Y. J. and Gu J. (2020). Spontaneous solar syngas production from CO₂ driven by energetically favorable wastewater microbial anodes. *Joule*, 4(10), 2149–2161, <https://doi.org/10.1016/j.joule.2020.08.014>
- Lyu Z., Shao N., Akinyemi T. and Whitman W. B. (2018). Methanogenesis. *Current Biology*, 28(13), R727–R732, <https://doi.org/10.1016/j.cub.2018.05.021>
- Malaeb L., Katuri K. P., Logan B. E., Maab H., Nunes S. P. and Saikaly P. E. (2013). A hybrid microbial fuel cell membrane bioreactor with a conductive ultrafiltration membrane biocathode for wastewater treatment. *Environmental Science and Technology*, 47(20), 11821–11828, <https://doi.org/10.1021/es4030113>
- Mallapaty S. (2020). How China could be carbon neutral by mid-century. *Nature*, 586(7830), 482–483, <https://doi.org/10.1038/d41586-020-02927-9>
- Mao Z., Sun Y., Zhang Y., Ren X., Lin Z. and Cheng S. (2021). Effect of start-up process using different electrochemical methods on the performance of CO₂-reducing methanogenic biocathodes. *International Journal of Hydrogen Energy*, 46(4), 3045–3055, <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2020.02.002>
- McCarty P. L. and Smith D. P. (1986). Anaerobic wastewater treatment. *Environmental Science & Technology*, 20(12), 1200–1206, <https://doi.org/10.1021/es00154a002>
- Nevin K. P., Hensley S. A., Franks A. E., Summers Z. M., Ou J. H., Woodard T. L., Snoeyenbos-West O. L. and Lovley D. R. (2011). Electrosynthesis of organic compounds from carbon dioxide is catalyzed by a diversity of acetogenic microorganisms. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(9), 2882–2886, <https://doi.org/10.1128/AEM.02642-10>
- Patil S. A., Arends J. B. A., Vanwonterghem I., van Meerbergen J., Guo K., Tyson G. W. and Rabaey K. (2015). Selective enrichment establishes a stable performing community for microbial electrosynthesis of acetate from CO₂. *Environmental Science and Technology*, 49(14), 8833–8843, <https://doi.org/10.1021/es506149d>
- Perona-Vico E., Blasco-Gomez R., Colprim J., Puig S. and Baneras L. (2019). NiFe -hydrogenases are constitutively expressed in an enriched *Methanobacterium* sp. population during electromethanogenesis. *Plos One*, 14(4), e0215029, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0215029>
- Pham T. H., Rabaey K., Aelterman P., Clauwaert P., De Schampelaire L., Boon N. and Verstraete W. (2006). Microbial fuel cells in relation to conventional anaerobic digestion technology. *Engineering in Life Sciences*, 6(3), 285–292, <https://doi.org/10.1002/elsc.200620121>

- Rotaru A.-E., Shrestha P. M., Liu F., Shrestha M., Shrestha D., Embree M., Zengler K., Wardman C., Nevin K. P. and Lovley D. R. (2014a). A new model for electron flow during anaerobic digestion: direct interspecies electron transfer to *Methanosaeta* for the reduction of carbon dioxide to methane. *Energy and Environmental Science*, 7(1), 408–415, <https://doi.org/10.1039/C3EE42189A>
- Rotaru A. E., Shrestha P. M., Liu F., Markovaite B., Chen S., Nevin K. and Lovley D. (2014b). Direct interspecies electron transfer between *Geobacter metallireducens* and *Methanosarcina barkeri*. *Applied and Environmental Microbiology*, 80(15), 4599–4605, <https://doi.org/10.1128/AEM.00895-14>
- Rowe A. R., Xu S., Gardel E., Bose A., Girguis P., Amend J. P. and El-Naggar M. Y. (2019). Methane-linked mechanisms of electron uptake from cathodes by *Methanosarcina barkeri*. *Mbio*, 10(2), e02448-18.
- Sangeetha T., Guo Z. C., Liu W. Z., Gao L., Wang L., Cui M. H., Chen C. and Wang A. J. (2017). Energy recovery evaluation in an up flow microbial electrolysis coupled anaerobic digestion (ME-AD) reactor: role of electrode positions and hydraulic retention times. *Applied Energy*, 206, 1214–1224, <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2017.10.026>
- Saunders S. H., Tse E. C. M., Yates M. D., Otero F. J., Trammell S. A., Stemp E. D. A., Barton J. K., Tender L. M. and Newman D. K. (2020). Extracellular DNA promotes efficient extracellular electron transfer by pyocyanin in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Cell*, 182(4), 919–932, <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.07.006>
- Siegert M., Yates M. D., Spormann A. M. and Logan B. E. (2015). *Methanobacterium* dominates biocathodic archaeal communities in methanogenic microbial electrolysis cells. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*, 3(7), 1668–1676, <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.5b00367>
- Silvestre G., Fernandez B. and Bonmati A. (2015). Significance of anaerobic digestion as a source of clean energy in wastewater treatment plants. *Energy Conversion and Management*, 101, 255–262, <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2015.05.033>
- Stams A. J. M. and Plugge C. M. (2009). Electron transfer in syntrophic communities of anaerobic bacteria and archaea. *Nature Reviews Microbiology*, 7(8), 568–577, <https://doi.org/10.1038/nrmicro2166>
- Steinbusch K. J. J., Hamelers H. V. M., Schaap J. D., Kampman C. and Buisman C. J. N. (2010). Bioelectrochemical ethanol production through mediated acetate reduction by mixed cultures. *Environmental Science and Technology*, 44(1), 513–517, <https://doi.org/10.1021/es902371e>
- Storck T., Viridis B. and Batstone D. J. (2016). Modelling extracellular limitations for mediated versus direct interspecies electron transfer. *ISME Journal*, 10(3), 621–631, <https://doi.org/10.1038/ismej.2015.139>
- Tang Y.-Q., Shigematsu T., Morimura S. and Kida K. (2015). Dynamics of the microbial community during continuous methane fermentation in continuously stirred tank reactors. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 119(4), 375–383, <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2014.09.014>
- Thauer R. K., Kaster A.-K., Seedorf H., Buckel W. and Hedderich R. (2008). Methanogenic archaea:

- ecologically relevant differences in energy conservation. *Nature Reviews Microbiology*, 6(8), 579–591, <https://doi.org/10.1038/nrmicro1931>
- Van Eerten-Jansen M. C. A. A., Heijne A. T., Buisman C. J. N. and Hamelers H. V. M. (2012). Microbial electrolysis cells for production of methane from CO₂: long-term performance and perspectives. *International Journal of Energy Research*, 36(6), 809–819, <https://doi.org/10.1002/er.1954>
- Van Eerten-Jansen M. C. A. A., Jansen N. C., Plugge C. M., de Wilde V., Buisman C. J. N. and ter Heijne A. (2015). Analysis of the mechanisms of bioelectrochemical methane production by mixed cultures. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 90(5), 963–970, <https://doi.org/10.1002/jctb.4413>
- Varanasi J. L., Veerubhotla R., Pandit S. and Das D. (2019). Biohydrogen production using microbial electrolysis cell: recent advances and future prospects, chapter 5.7. In: *Microbial Electrochemical Technology*, S. V. Mohan, S. Varjani and A. Pandey (eds), Elsevier, The Netherlands, pp. 843–869.
- Varrone C., Van Nostrand J. D., Liu W., Zhou B., Wang Z., Liu F., He Z., Wu L., Zhou J. and Wang A. (2014). Metagenomic-based analysis of biofilm communities for electrohydrogenesis: from wastewater to hydrogen. *International Journal of Hydrogen Energy*, 39(9), 4222–4233, <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2014.01.001>
- Villano M., Aulenta F., Ciucci C., Ferri T., Giuliano A. and Majone M. (2010). Bioelectrochemical reduction of CO₂ to CH₄ via direct and indirect extracellular electron transfer by a hydrogenophilic methanogenic culture. *Bioresource Technology*, 101(9), 3085–3090, <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.12.077>
- Walker D. J. F., Nevin K. P., Holmes D. E., Rotaru A.-E., Ward J. E., Woodard T. L., Zhu J., Ueki T., Nonnenmann S. S., McInerney M. J. and Lovley D. R. (2020). Syntrophus conductive pili demonstrate that common hydrogen donating syntrophs can have a direct electron transfer option. *ISME Journal*, 14(3), 837–846, <https://doi.org/10.1038/s41396-019-0575-9>
- Wang A., Liu W., Cheng S., Xing D., Zhou J. and Logan B. E. (2009). Source of methane and methods to control its formation in single chamber microbial electrolysis cells. *International Journal of Hydrogen Energy*, 34(9), 3653–3658, <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2009.03.005>
- Wang L. Y., Nevin K. P., Woodard T. L., Mu B. Z. and Lovley D. R. (2016). Expanding the eiet for DIET: electron donors supporting direct interspecies electron transfer (DIET) in defined co-cultures. *Frontiers in Microbiology*, 7, 236.
- Wang L., Liu W., He Z., Guo Z., Zhou A. and Wang A. (2017). Cathodic hydrogen recovery and methane conversion using Pt coating 3D nickel foam instead of Pt-carbon cloth in microbial electrolysis cells. *International Journal of Hydrogen Energy*, 42(31), 19604–19610, <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2017.06.019>
- Wang H., Cai W.-W., Liu W.-Z., Li J.-Q., Wang B., Yang S.-C. and Wang A.-J. (2018). Application of sulfate radicals from ultrasonic activation: disintegration of extracellular polymeric substances for enhanced anaerobic fermentation of sulfate-containing waste-activated sludge.

Chemical Engineering Journal, 352, 380–388, <https://doi.org/10.1016/j.cej.2018.07.029>

- Wang L., He Z. W., Guo Z. C., Sangeetha T., Yang C. X., Gao L., Wang A. J. and Liu W. Z. (2019). Microbial community development on different cathode metals in a bioelectrolysis enhanced methane production system. *Journal of Power Sources*, 444, 227306, <https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2019.227306>
- Wang B., Liu W., Cai W., Li J., Yang L., Li X., Wang H., Zhu T. and Wang A. (2020a). Reinjection oilfield wastewater treatment using bioelectrochemical system and consequent corrosive community evolution on pipe material. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 129(2), 199–205, <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2019.09.001>
- Wang B., Liu W., Varrone C., Yu Z. and Wang A. (2020b). Hydrogen and methane generation from biowaste: enhancement and upgrading via bioelectrochemical systems. In: *Bioelectrochemical Systems: Vol. 2 Current and Emerging Applications*, P. Kumar and C. Kuppam (eds), Springer Singapore, Singapore, pp. 83–130. https://doi.org/10.1007/978-981-15-6868-8_5
- Wang B., Liu W., Zhang Y. and Wang A. (2020c). Bioenergy recovery from wastewater accelerated by solar power: intermittent electro-driving regulation and capacitive storage in biomass. *Water Research*, 175, 115696, <https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.115696>
- Wang B., Liu W., Zhang Y. and Wang A. (2020d). Intermittent electro field regulated mutualistic interspecies electron transfer away from the electrodes for bioenergy recovery from wastewater. *Water Research*, 185, 116238, <https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.116238>
- Wang B., Liu W., Zhang Y. and Wang A. (2022a). Natural solar intermittent-powered electromethanogenesis towards green carbon reduction. *Chemical Engineering Journal*, 432, 134369, <https://doi.org/10.1016/j.cej.2021.134369>
- Wang X. T., Zhang Y. F., Wang B., Wang S., Xing X., Xu X. J., Liu W. Z., Ren N. Q., Lee D. J. and Chen C. (2022b). Enhancement of methane production from waste activated sludge using hybrid microbial electrolysis cells-anaerobic digestion (MEC-AD) process-a review. *Bioresource Technology*, 346, 126641, <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.126641>
- Wu W.-M., Jain M. K., De Macario E. C., Thiele J. H. and Zeikus J. G. (1992). Microbial composition and characterization of prevalent methanogens and acetogens isolated from syntrophic methanogenic granules. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 38(2), 282–290, <https://doi.org/10.1007/BF00174484>
- Xiao Y., Zhang E., Zhang J., Dai Y., Yang Z., Christensen H. E. M., Ulstrup J. and Zhao F. (2017). Extracellular polymeric substances are transient media for microbial extracellular electron transfer. *Science Advances*, 3(7), e1700623, <https://doi.org/10.1126/sciadv.1700623>
- Xu H., Wang K. and Holmes D. E. (2014). Bioelectrochemical removal of carbon dioxide (CO₂): an innovative method for biogas upgrading. *Bioresource Technology*, 173, 392–398, <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.09.127>
- Yang H.-Y., Wang Y.-X., He C.-S., Qin Y., Li W.-Q., Li W.-H. and Mu Y. (2020). Redox mediator-modified biocathode enables highly efficient microbial electro-synthesis of methane from carbon dioxide. *Applied Energy*, 274, 115292, <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2020.115292>
- Yu Z., Liu W., Shi Y., Wang B., Huang C., Liu C. and Wang A. (2021). Microbial electrolysis

enhanced bioconversion of waste sludge lysate for hydrogen production compared with anaerobic digestion. *Science of the Total Environment*, 767, 144344, <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.144344>

Zhang Y. F., Min B., Huang L. P. and Angelidaki I. (2011). Electricity generation and microbial community response to substrate changes in microbial fuel cell. *Bioresource Technology*, 102(2), 1166–1173, <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.09.044>

Zhao Z., Zhang Y., Quan X. and Zhao H. J. B. T. (2015). Evaluation on direct interspecies electron transfer in anaerobic sludge digestion of microbial electrolysis cell. *Bioresource Technology*, 200, 235–244, <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.10.021>

Zheng S., Liu F., Wang B., Zhang Y. and Lovley D. R. (2020). Methanobacterium capable of direct interspecies electron transfer. *Environmental Science and Technology*, 54(23), 15347–15354, <https://doi.org/10.1021/acs.est.0c05525>

Zhou A., Liu Z., Varrone C., Luan Y., Liu W., Wang A. and Yue X. (2018). Efficient biorefinery of waste activated sludge and vinegar residue into volatile fatty acids: effect of feedstock conditioning on performance and microbiology. *Environmental Science Water Research and Technology*, 4, 1819, <https://doi.org/10.1039/C8EW00266E>

Ziels R. M., Nobu M. K. and Sousa D. Z. (2019). Elucidating syntrophic butyrate-degrading populations in anaerobic digesters using stable-isotope-informed genome-resolved metagenomics. *Msystems*, 4(4), e00159-19, <https://doi.org/10.1128/mSystems.00159-19>