# 生物电对小球藻-土壤菌群共生体系 CO<sub>2</sub> 捕获的影响

## 黄 东,张烨迪,山世玉

(长安大学能源与电气工程学院,西安,710064)

**摘 要:**农业 CO<sub>2</sub> 排放源具有分散性、移动性和低浓度等特点。为考察农业生产场景中广泛存在的微藻和细菌等对 CO<sub>2</sub> 的捕获效果,并据此发展就地取材的分布式原位生物固碳方法,该研究利用小球藻和土壤菌群构建了藻菌共生体系,分析了其对 1%体积浓度 CO<sub>2</sub> 的捕获和转化能力。通过布置电极和外电路实现菌群生物电输出,对比了生物电刺激下,藻菌共生体系固碳能力和菌群结构差异。结果表明,藻菌共生体系在生物电作用下,CO<sub>2</sub> 去除率由 52% 提升至 81%。菌群消耗可溶性有机碳使小球藻将 CO<sub>2</sub> 更多转化为可溶性无机碳和生物质。生物电则通过加速菌群可溶性有机碳消耗,调节溶液 pH 值和溶解氧含量优化藻菌生长环境,进一步促进 CO<sub>2</sub>转化。光照时,藻菌共生体系可在 1000 Ω 外电阻两端产生 200 mV 稳态电压,并可实现仅依靠光能驱动。16s rRNA 结果显示相比于纯土壤菌群,藻菌共生体系以固氮弧菌属 *Azoarcus* 取代明串珠菌属 *Leuconostoc* 为主要特征。生物电刺激会重塑该共生体系,拉乌尔菌属 *Raoultella* 将重现并取代理研菌属 *Rikenella* 和 *Tyzzerella*。该研究表明,通过电化学构建的藻菌共生体系既可以捕获低浓度 CO<sub>2</sub>,也可以通过调节 pH 值改良土壤结构、重塑土壤菌群组成。

关键词:农业;碳排放;藻菌共生体系;生物电;可溶性有机碳;低浓度 CO2

doi: 10.11975/j.issn.1002-6819.202501112

中图分类号: X505 文献标志码: A

示志码: A 文章编号: 1002-6819(2025)-08-0242-08

黄东,张烨迪,山世玉.生物电对小球藻-土壤菌群共生体系 CO<sub>2</sub> 捕获的影响[J].农业工程学报,2025,41(8):242-249. doi:10.11975/j.issn.1002-6819.202501112 http://www.tcsae.org

HUANG Dong, ZHANG Yedi, SHAN Shiyu. Effects of bioelectricity on CO<sub>2</sub> capture by the symbiosis between microalgae and soil bacteria[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2025, 41(8): 242-249. (in Chinese with English abstract) doi: 10.11975/j.issn.1002-6819.202501112 http://www.tcsae.org

### 0 引 言

农业作为人类赖以生存的基础产业,其 CO<sub>2</sub> 排放问题备受关注。在中国,农业 CO<sub>2</sub> 排放量占总排放量的 17%~20%<sup>[1]</sup>。据估算,中国农业 CO<sub>2</sub> 排放量将在 2050 年达到 239.99Mt<sup>[2]</sup>。发展适用于农业领域的固碳技术, 不仅有助于缓解气候变暖、推动农业生产过程参与全球 碳交易市场<sup>[3]</sup>,还能够通过改善土壤结构<sup>[4]</sup>、减少化肥使 用<sup>[5]</sup>等方式促进农业可持续发展。农业碳排放来源广泛, 包括秸秆焚烧、化肥施用、农业机械尾气等。这些排放 源 CO<sub>2</sub> 浓度范围多处于 1% 体积浓度以内<sup>[6]</sup>。由于排放 源具有分散性、移动性和低浓度等特点,因此,发展分 布式 CO<sub>2</sub> 捕获方法对于农业碳减排具有重要意义。

从原理上分类,CO<sub>2</sub>可通过物理、化学和生物方法 捕获<sup>[7-8]</sup>。其中,以光合作用为基础的生物方法最适合农 业领域。与绿色植物相比,微藻生长速率更快,光合效 率更高,占地面积更小,已成为生物固碳的主要媒介之 一<sup>[9]</sup>。除微藻外,土壤、河流、湖泊等生态系统中富含 的细菌菌群也具有固碳能力<sup>[10-11]</sup>。农业领域中微藻和菌 群共存场景丰富,如养殖场、沼气池、堆肥化、灌溉系 统等。若能够就地取材,合理构筑藻菌共生体系,使二 者协同作用,则其在农业领域 CO<sub>2</sub> 原位捕获方面将颇具 潜力。

目前,关于藻菌共生体系在农业领域的研究以养殖 业废水处理为主[12-16]。废水处理过程中的藻菌协同机制、 菌群分布组成、关键基因表达是研究重点。然而,关于 藻菌共生体系固碳则鲜有报道,此外,低浓度碳源供给 条件下需要格外关注可溶性有机碳(dissolved organic carbon, DOC) 对于藻菌共生体系的影响。微藻除将 CO,转化为生物质外,还存在3种转化路径:可溶性无 机碳(dissolved inorganic carbon, DIC)(碳酸盐和碳酸 氢盐)、DOC(多糖等)以及挥发性有机物<sup>[17]</sup>。以小球 藻为例,进气 CO,浓度越低,DOC 在捕获的总碳中占比 越高<sup>[18]</sup>。HULATT等<sup>[19]</sup>研究表明,若以空气(CO,体积 浓度约 0.04%)为唯一无机碳源, 12h 后小球藻能产生 约 12 mg/L 的 DOC。其在光合作用固定的总碳中占比可 达80%。CHIU等<sup>[20]</sup>则发现2%CO,进气浓度下仅有 3.9%的 CO2 被转化为小球藻生物质。DOC 累积会抑制 微藻生长。菌群则可以代谢有机物并产生 CO,, 若其能 够分解微藻在低浓度 CO2条件下产生的过剩 DOC,并再 次产生 CO,供给微藻光合作用,则可将 CO,更多转化为 微藻生物质,提升固碳率。

菌群中部分菌种具有产电能力。已有研究证实细菌

收稿日期: 2025-01-17 修订日期: 2025-03-12

基金项目:国家自然科学基金项目(52306222);中国博士后科学基金资助项目(2023M740356)

作者简介:黄东,博士,硕士生导师,研究方向为 $CO_2$ 捕获利用及生物电化学系统。Email: hd445019007@chd.edu.cn

产生并输出生物电的过程能够促进其固碳,固碳率可由 开路状态的 2.0% 提升至闭路时的 10.7%,并从产电菌基 因和代谢路径层面解释了固碳效果提升原因<sup>[21]</sup>。如果能 在藻菌共生环境中借助天然氧化还原梯度构建并形成闭 路生物电化学系统,例如微生物燃料电池<sup>[22-23]</sup>,则一方 面可通过生物电产生和传输过程调节 pH 值、溶解氧等 藻菌生长环境因素;另一方面,可借助生物电的持续刺 激筛选并改善菌群组成。然而,生物电对于藻菌共生体 系的重塑及其固碳能力的影响尚不明晰。

本文利用小球藻和土壤菌群构建藻菌共生体系,考 察其对于 1% 低体积浓度 CO<sub>2</sub> 的捕获和转化能力,对比 有无生物电输出和刺激下的固碳能力差异,并分析了低 浓度 CO<sub>2</sub> 供给和生物电作用下藻菌共生体系中的菌群组成。

#### 1 试验方法

#### 1.1 生物培养

微藻藻种选择蛋白核小球藻(盐城百诺生物科技有限公司)。将小球藻培养在10组含有150mLBG11培养液的锥形瓶中。锥形瓶置于28℃的光照培养箱中。 LED灯带波长400~700nm,光照强度6000lx,光暗周期为12h:12h。从长安大学人工湖周边土壤中获得并培育细菌菌群。将5g土壤投入500mLLB培养基(10g/LNaCl,5g/L酵母提取物和10g/L胰蛋白胨)中。在28℃的恒温箱中驯化。小球藻和菌群均需培养14d以供后续试验使用。小球藻接种时,将离心藻液获得的小球藻细胞直接加入试验装置溶液基质中。菌群接种时,选择直径40mm的碳布(HCP330N,上海河森电气)为载体,将其浸没于10mL土培上清液中培养3d,使菌群充分附着于碳布表面。

#### 1.2 试验装置与组别

装置采用有机玻璃材质保证透光性,如图1所示。



1. 螺母 2. 端板 3. 端板橡胶垫片 4. 腔体 5. 橡胶塞 6. 螺丝 7. 腔体橡胶垫片 1. Nut 2. End plate 3. End plate rubber gasket 4. Cavity 5. Rubber plug 6. Screws 7. Cavity rubber gasket

#### 图 1 试验装置简图 Fig.1 Sketch of experimental device

装置长 100 mm,宽 80 mm,高 80 mm。内部为底 面直径 40 mm、高 80 mm的圆柱形中空腔室,可形成 100 mL 的工作容积。圆柱腔室一端放置一片直径 40 mm的碳布,并根据试验组别设置,可分为接种菌群 碳布和未接种菌群的空白碳布两类。另一端放置一片直 径 40 mm、孔径为 0.15 mm 的 304 不锈钢网。碳布和不 锈钢网均通过直径 0.2 mm 不锈钢丝引出。使用螺丝将两 侧端板、腔室组件和橡胶垫片等进行固定以保证密封性。 腔室上方开有 4 个直径为 10 mm 的圆孔,用于进气、出 气和采样,工作时圆孔通过橡胶塞和热熔胶密封。

设置开路 AO、BO、ABO 和闭路 A、B、AB 组 6 个组别。溶液基质均为 50 mmol/L KNO<sub>3</sub>。"A"表示仅 接种小球藻,"B"表示仅接种土壤菌群,"AB"表示 同时接种小球藻和土壤菌群,"O"表示开路状态。对 于 A、B 和 AB 组,通过 1 000 Ω 外电阻连接碳布和不锈 钢网形成闭路。各组别均设置 3 组重复试验,数据取平 均值。

#### 1.3 CO<sub>2</sub> 捕获和转化测试

CO<sub>2</sub> 捕获测试时,对于涉及小球藻的组别,以 3 500 r/min 离心冲洗藻液得到 100 mg 小球藻,加入装置 中与 100 mL KNO<sub>3</sub> 溶液基质形成初始生物质浓度为 1 g/L 的微藻悬浮液。进气为 CO<sub>2</sub> 和 N<sub>2</sub> 混合气,CO<sub>2</sub> 体 积浓度为 1%,进气速率 10 mL/min。温度设置为 28 ℃。 光源为 LED 白光,光照强度 6 000 lx,光暗比 12 h:12 h。 每 24 h 记录试验装置出口 CO<sub>2</sub> 浓度,共采集 7 d。据此 计算 CO<sub>2</sub> 去除率以表示 CO<sub>2</sub> 捕获能力<sup>[9]</sup>。

CO<sub>2</sub>转化测试温度、进气、光照等条件保持不变, 将微藻悬浮液初始浓度降为 0.1 g/L。每 12 h 光暗周期交 替时刻记录数据,共采集 7 d。溶液 pH 值通过 pH 计测 得(PHSF-4F, REX),溶解氧(dissolved oxygen, DO)通 过溶解氧测试仪(OXI 3 310, WTW)测得。初始时刻, 利用 0.1 mol/L HCl 和 0.1 mol/L KOH 调节 pH 值 为 8。 利用 N<sub>2</sub>曝气调节 DO 低于 0.3 mg/L。溶液可溶性无机碳 (DIC)含量通过 pH 值计算得到<sup>[24]</sup>。小球藻生物质含量 根据光密度计算得到。光密度由紫外分光光度计(UV-1 800, SHIMADZU)在 681 nm 波长下测得<sup>[9]</sup>。

#### 1.4 产电测试和菌群分析

CO<sub>2</sub>转化测试后进行产电测试。产电测试仅选择闭路A、B和AB组。测试时,保持进气、温度、光照条件不变。每0.5h记录外电阻两端电压,连续记录5d。分别在光照和黑暗条件下测试并获得极化曲线和功率密度曲线。采用线性扫描伏安法(linear sweep voltammetry,LSV),起始电压为开路电压,终止电压为0,扫描速率为0.2 mV/s<sup>[25]</sup>。

通过 16s rRNA 全长扩增子测序分析菌群组成<sup>[26, 27]</sup>。 样本取自运行 30 d 后的装置内溶液,每组采样 3 次。在 DNA 提取和 PCR 扩增后制备 SMRTbell 文库。操作分类 单元(operational taxonomic units, OTU)按照 98.65% 的相似性阈值聚类。分析内容包括菌群多样性、物种组 成和基因功能预测等。

#### 2 结果与分析

#### 2.1 CO<sub>2</sub>捕获

图 2 所示为在 10 mL/min 进气速率和 1% 进气体积 浓度条件下, 6 组生物体系出口 CO<sub>2</sub> 浓度随时间变化趋势。由于小球藻浓度处于 1 g/L 的稳定期, 6 组出口 CO<sub>2</sub>

在7d内虽有波动,但整体保持平稳,这与文献一致<sup>[9,25]</sup>。 出口 CO,浓度越低,说明更多的 CO,被捕获,系统固碳 率越高。由图2出口CO2浓度计算可得,AO、A、BO、 B、ABO、AB 组固碳率分别为 52%、53%、10%、19%、 69%和 81%。总体上,土壤菌群固碳率(BO、B组) < 小球藻固碳率(AO、A组)<藻菌共生体系固碳率 (ABO、AB组)。对于仅接种土壤菌群的 BO 组和 B组,当系统由开路切换至闭路时,固碳率可由10%提 升至19%,说明若对土壤菌群进行电化学构建,其内部 产电菌的胞外电子传递过程有助于提升固碳率[28]。纯小 球藻 AO 组固碳率仅为 52%, 且不受是否闭路影响。这 是由于在连续气流供给下, CO, 溶解受试验装置结构和 气流流速等因素影响显著,例如在入口处会出现局部 CO<sub>2</sub>饱和现象,导致部分CO<sub>2</sub>在溶液中水力停留时间不 足,难以被捕获并随出口气流流出。对于小球藻和土壤 菌群共存的 ABO 组,系统固碳率可提升至 69%。说明 土壤菌群和小球藻形成的共生体系有助于提升固碳率。 由于土壤菌群富含产电菌,若通过布置碳布阳极、不锈 钢网阴极和外电路等结构收集并传输胞外电子,并利用 生物电刺激重塑藻菌共生体系,则系统固碳率可进一步 提升至 AB 组的 81%。



注: AO、A 分别为仅接种小球藻的开路组和闭路组; BO、B 分别为仅接 种土壤菌群的开路组和闭路组; ABO、AB 分别为同时接种小球藻和土壤 菌群的开路组和闭路组,下同。

Note: AO, A are the open-circuit and closed-circuit groups inoculated with chlorella only; BO, B are the open-circuit and closed-circui groups inoculated with soil flora only; ABO, AB are the open-circuit and closed-circui groups inoculated with both chlorella and soil flora, same below.

图 2 6 组生物体系出口 CO2 浓度

Fig.2 Outlet CO<sub>2</sub> concentration of six biological systems

#### 2.2 CO<sub>2</sub>转化

图 3a 所示为7d内AO、ABO和AB组溶液 DIC随时间变化。在本研究 pH值条件下(7.0±0.5),溶液中DIC 主要由通入CO<sub>2</sub>后形成的H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>和HCO-3组成<sup>[24, 29-30]</sup>。 由图 3a可知,随着CO<sub>2</sub>通入,0.5d内3组DIC均迅速 增加至峰值。小球藻光合作用对于DIC的消耗使得其含 量在0.5d后开始下降。2.5d后,当通入CO<sub>2</sub>产生DIC速 率和小球藻DIC消耗速率接近时,3组DIC逐渐进入稳 态。稳态时DIC含量对于微藻生长至关重要。DIC含量 过低不利于小球藻烟酰胺腺嘌呤二核苷磷酸(NADP+) 合成。藻细胞中NADP+数量下降会形成活性氧自由基。 这些活性氧自由基能够通过激活细胞信号级联反应破坏 藻细胞大分子(如 DNA 和 RNA 等),进而破坏光系统 II,最终导致藻细胞凋亡<sup>[31]</sup>。相比于 AO 组,ABO 组具 有更高的稳态 DIC 含量。说明菌群新陈代谢能够产生额 外 CO<sub>2</sub>。这些 CO<sub>2</sub> 可以再次溶解生成 DIC。在生物电作 用下,菌群代谢速率加快<sup>[21]</sup>,因此 AB 组 DIC 含量最高。



图 3 AO、ABO 和 AB 组 CO<sub>2</sub> 转化能力 Fig.3 CO<sub>2</sub> conversation ability of group AO, ABO, and AB

图 3b 所示为小球藻生物质含量随时间变化关系。3 组小球藻由初始浓度 0.10 g/L 开始迅速生长。3.5 d 后, 增长速率逐渐降低。7 d 后, AO 组、ABO 组和 AB 组生 物质含量分别为 1.71、2.17 和 2.65 g/L。其中, AB 组效 果最佳,相比于 AO 和 ABO 组,分别提升了 1.55 和 1.22 倍。

 $CO_2$  进入装置后,  $CO_2$  气体分子和溶解产生的 HCO<sub>3</sub>-是小球藻生长的碳源。小球藻可将其转化为生物质和 DOC。AB 组的 DIC 和生物质含量均最高,说明在藻菌 体系和生物电作用下, CO2 被更多的转化成为了 DIC 和 生物质,而这主要通过消耗 DOC 实现。藻菌共生体系通 过菌群对小球藻光合作用产生的 DOC 再分解,在原有 的 CO<sub>2</sub>-DIC-生物质碳转化路径基础上,额外构筑了 DOC-CO<sub>2</sub>-DIC 转化路径。而生物电可以进一步加速该转 化。CO, 通过菌群的新陈代谢原位产生, 一方面有效缩 短了 CO2 到小球藻细胞的传质距离,微藻和细菌的随机 碰撞提升了 CO<sub>2</sub> 传质效率;另一方面,增加了溶液中 CO<sub>2</sub>的局部浓度。在低浓度进气条件下,由于碳源以  $HCO_3$ 为主, 微藻将会触发  $CO_2$ 浓缩机制 ( $CO_2$  concentrating mechanism, CCM)。即先通过碳酸酐酶 (carbonic anhydrase, CA) 将 HCO,转化为 CO, 后再供 叶绿体使用,该过程会消耗大量 ATP。具体的说,当  $CO_2$ 浓度小于  $K_m(CO_2)$  时 ( $K_m(CO_2)$ 表示达到最大光合 作用速率 50% 所需的 CO2 浓度), CCM 触发。例如, 对于蛋白核小球藻, CO<sub>2</sub>的 K<sub>m</sub>(CO<sub>2</sub>) 为 80~192 μmol/L, 对应供气体积浓度在 0.5%~1%, 此时小球藻通过 CCM 固碳,其利用碳源主要为HCO<sub>3</sub>。而适合小球藻生长的 CO, 进气浓度应在 1%~30%<sup>[24]</sup>。菌群代谢 DOC 过程对 于溶液中局部 CO<sub>2</sub> 浓度的提升,将使得部分小球藻细胞 能够有机会避免 CCM,并将更多能量用于其他酶促反应, 促进自身生长。藻菌共生体系通过上述方式促使 CO,更 多转化为 DIC 和生物质,从而也提升了固碳率。综上,

土壤菌群扮演了在溶液基质中富集 CO<sub>2</sub> 的角色,能够将 DOC 分解成为 CO<sub>2</sub> 供小球藻再次使用。这同样是应对低 浓度 CO<sub>2</sub> 进气条件碳源不足的有效手段。

#### 2.3 溶液环境变化

图 4a 所示为 AO、ABO 和 AB 组 pH 值随时间变化 趋势。空白对照组表示未接种小球藻和土壤菌群,仅对 50 mmol/L KNO3 溶液基质通入 CO2。初始时刻溶液 pH 值均为 8.00。随着 CO, 的持续通入, 3 组生物体系溶液 pH值均呈现下降趋势。这是由于 CO2 在溶解过程中持 续形成碳酸所致。1.5 d内, AB组 pH 值下降最快,说明 该组具有最快的  $CO_2$  传质速率。2 d 后, AB 组 pH 值由 最小值开始回升,并最终趋于稳定。ABO 组 pH 值则在 3d 后逐渐平稳,并略低于 AB 组。而仅依靠小球藻的 AO组 pH 值则在 2d 后持续下降,但下降速率减缓。通 过对 7 d 后 4 组 pH 值 (AO: 6.57, ABO: 6.85, AB: 7.16, 空白: 5.97) 进行统计分析可知, 3 组生物体系在 7d后 pH 值均显著高于空白组(P=0.021)。这是由于 随着时间推移小球藻生长,浓度提升,更多小球藻参与 光合作用使得  $CO_2$  和 HCO<sub>3</sub> 消耗加快,能够缓解 pH 值 进一步下降。而 AB 组中, 菌群产生的电子会通过外电 路在阴极参与氧还原反应持续消耗 H<sup>+</sup>,这使得 AB 组 pH 值可以稳定在更高水平。3 组 pH 稳定值均在微藻生 长的理想范围(7.0±0.5)内。在该范围内, pH 值越高, 微藻对 CO。的吸收率越高,光合效率也越高,越有利于 其生长[29]。这也说明构筑藻菌共生体系在酸性土壤改良 方面具有应用前景。

图 4b 所示为 3 组生物体系 DO 随时间变化趋势。经 过 N<sub>2</sub> 曝气,初始时刻 3 组 DO 均低于 0.3 mg/L。试验开 始后,在第 1 天的前 12 h,3 组系统处于光周期,藻类 光合作用释放 O<sub>2</sub>, DO 均逐渐上升,并在光周期结束后 达到第一个峰值。随后进入暗周期,由于小球藻呼吸作 用消耗 O<sub>2</sub>,溶液 DO 下降。此后,由于小球藻生长繁殖, 其生物质含量由初始值 0.1 g/L 逐渐上升(图 3b)。溶 液中小球藻浓度增加导致 DO 随天数呈现上升趋势,但 在 1 d 内依然存在和试验条件光暗周期(12 h:12 h)一致 的波动。第 4 天后,藻类生长进入平稳期,DO 上升变 缓。然而,无论是 DO 本身还是其随光暗周期波动幅度, AB 组均明显更小。这是因为生物电产生过程会在阴极 持续消耗 O<sub>2</sub> 进行氧还原反应,导致溶液 DO 下降,波动 幅度减小。低 DO 溶液环境更有助于产电菌群<sup>[32]</sup> 和藻类<sup>[33]</sup> 生长。







#### 2.4 生物电输出

对闭路 A、B 和 AB 组进行产电分析。3 组生物体系 碳源仅来自体积浓度为1%的CO2进气。图 5a 所示为3 组生物体系平稳运行时的电压输出。其中,A组和B组 电压分别维持在 8 和 26 mV 左右, 且二者均不随光暗周 期变化。说明小球藻几乎没有产电能力,而B组也由于 土壤菌群缺乏有机碳源未能高效产电。对于 AB 组, 电 压输出则与试验条件光暗周期(12h:12h)存在显著依 存关系。在光照条件下,电压输出约为200mV;而黑暗 条件下则逐渐降至 120 mV 左右,并在下一个光照周期 开始后迅速回升,且均显著高于B组。说明藻菌共生体 系在光照时更为高效。这也使得 AB 组能够在碳源完全 来自体积浓度1%的CO2进气情况下,依靠光能驱动并 产生周期性电压<sup>[28]</sup>。图 5b 所示为 3 组生物体系的极化曲 线和功率密度曲线。对于 AB 组,开路电压、短路电流 和最大功率密度等参数均在光照条件下更高。例如,光 照时最大功率密度为1342.45 mW/m<sup>2</sup>,较黑暗时提升了 46%。光照时,小球藻通过光合作用将光能转化为有机 物中化学能供给菌群生长。菌群分解有机物产生胞外电 子并通过外电路输出电能。光合作用产生的 O, 也会参与 阴极氧还原反应, 增强产电效果。黑暗时, 小球藻以呼 吸作用为主,将消耗有机物并与菌群竞争碳源。环境中 有机物含量降低是导致产电性能下降的主要原因。



图 5 A、B 和 AB 组生物电输出

#### Fig.5 Bioelectricity output of group A, B, and AB

#### 2.5 菌群组成分析

经过 30 d 平稳运行后,对 BO、ABO 和 AB 3 组菌 群组成进行分析。表 1 所示为种水平 α 多样性。由表 1 可知,BO 组各项 α 多样性指数均最小,说明纯土壤菌 群经过 30 d 的 1% 体积浓度 CO<sub>2</sub>进气和 30 d 内每天 12 h:12 h 光暗周期驯化后,丰富度和多样性最低。当小 球藻介入后,系统中菌群 α 多样性显著提升<sup>[28]</sup>。因为小 球藻光合作用改变了溶液基质理化条件,特别是 O<sub>2</sub> 含量。 若接通阴阳极,在生物电刺激下,菌群会被重塑,α 多 样性水平下降。这也说明藻菌共生体系中菌群多样性并 非影响 CO<sub>2</sub> 捕获和转化性能的决定因素,生物电刺激的 定向筛选也很重要。

表 1 BO、ABO 和 AB 组菌群 α 多样性

12	able 1 $\alpha$ -diver	sity of I	lora iro	m group	) BU, АІ	BO, and	AB
组别	观测到菌种数		多样	É性指数 I	Diversity	index	
Group	Observed species	Chao1	ACE	Shannon	Simpson	Pielou_J	Pd_faith
BO	2418	3026.36	3550.15	4.53	0.93	0.58	75.65
ABO	4140	7077.13	7870.49	5.92	0.97	0.71	114.28
AB	3564	5084.57	6183.08	5.43	0.95	0.66	101.44
>> n'	1. I 北海上 D'1	あたす	<b>エポンポー T</b>	1 0 11 #	いおとしたが	口々投始十	1.44

注: Pielou\_J 指数为 Pielou 均匀度指数, Pd\_faith 指数为信仰多样性指数。 Note: Pielou\_J index is Pielou evenness index, Pd\_faith index is the faith diversity index.

图 6 所示为 3 组生物体系的主坐标分析(principal coordinates analysis, PCoA)。PCoA 结果表明每组中的 3 个样本均具有良好的重复性,说明采样合理可信。3 组间距较大,说明组间差异较大,小球藻引入和生物电输 出对菌群组成影响显著。



图 6 BO、ABO 和 AB 组 β 多样性 Fig.6 β-diversity of flora from Group BO, ABO, and AB

图 7a 所示为门水平菌群组成。图 7a 表明,3 组生物体系均以变形菌门 Proteobacteria,厚壁菌门 Firmicutes 和拟杆菌门 Bacteroidetes为主,三者占比之和在3 组均超过 99%。这3 种细菌门在厌氧发酵过程中占主要地位<sup>[34]</sup>。对于纯菌 BO 组,变形菌门 Proteobacteria,厚壁菌门 Firmicutes 和拟杆菌门 Bacteroidetes 占比分别为 63%,24%,12%。当引入小球藻后,ABO 组厚壁菌门 Firmicutes 占比 24% 几乎不变,拟杆菌门 Bacteroidetes 占比提升至 26%,变形菌门 Proteobacteria 占比下降至49%。由表1可知,引入小球藻后,观察到的菌种数量由 2418 提升至4140。这使得尽管变形菌门 Proteobacteria 占比由 63% 下降至 49%,但其菌种总量提升,拟杆菌门 Bacteroidetes 总量更是大幅提升。这是由于小球藻光 合作用和呼吸作用交替进行,菌群中兼性厌氧菌种类别和数量增加所致。接通外电路后,厚壁菌门 Firmicutes 占比迅速下降至 8%,变形菌门 Proteobacteria 则升至 75%。 这是由于厚壁菌门 Firmicutes 普遍不具备产电能力。相 反,目前已知的产电菌以变形菌门 Proteobacteria 为主。 这也体现了生物电刺激对于藻菌共生体系中菌群的二次 筛选作用。



由图 7b 属水平物种组成可知, BO 组中明串珠菌属 Leuconostoc 占比 15%, 而引入小球藻后, ABO 和 AB 组中明串珠菌属 Leuconostoc 占比均小于 0.2%, 几乎消 失。说明小球藻光合作用产氧抑制了明串珠菌属 Leuconostoc 生长<sup>[35]</sup>。另一方面, ABO 和 AB 中固氮弧 菌属 Azoarcus 占比提升,分别达到 18% 和 5%。固氮弧 菌属可以将进气中的 N,转化为氮源供给小球藻生长,进 而促进了这两组 CO2 捕获和转化能力提升。BO 组中几 乎未见束毛球菌属 Trichococcus,小球藻的引入使其占 比提升。总体上,相比于纯土壤菌群,小球藻引入后形 成的藻菌共生体系以固氮弧菌属 Azoarcus 取代明串珠菌 属 Leuconostoc 为主要特征,同时柠檬酸杆菌属 Citrobacter、拉乌尔菌属 Raoultella 占比骤降, 理研菌属 Rikenella、Tyzzerella 和束毛球菌属 Trichococcus 占比提 升,整体多样性提升。在生物电刺激下,藻菌共生体系 中优势菌种组成几乎不变,但 Raoultella 会重现并取代 Rikenella 和 Tyzzerella。其中, Citrobacter, Alcaligenes,

和 Bacteroides 成为 AB 组的主要组分,这3种均为产电 菌且具有良好的胞外电子传输能力,藻菌共生体系中菌 群组成被重塑。

通过对 BO、ABO 和 AB 组菌群 KEGG 代谢途径分 析可知,3组生物体系中相对丰度最高的代谢途径均为 碳水化合物代谢(Carbohydrate metabolism)和氨基酸代 谢(Amino acid metabolism),如表2所示。KEGG 以 上述两种途径为主,说明菌群积极利用碳水化合物作为 能量来源,细胞代谢较为活跃。引入小球藻和构建电化 学体系后,二者丰度进一步提升,说明菌群主要通过分 解小球藻光合作用产生的可溶性有机物和小球藻细胞残 骸中的蛋白质等形成藻菌协同作用。具体来说,菌群对 碳水化合物和氨基酸的代谢为藻类补充了额外碳源和氮 源,促进了藻类生长。藻类反过来产生更多有机物供给 菌群。菌群代谢并产生胞外电子,在生物电刺激下,菌 群组成被重塑,使之更适合低浓度 CO<sub>2</sub>碳源条件,系统 固碳率和碳转化能力提升。

表 2 KEGG 关键代谢途径

Table 2	KEGG key	metabolic	pathway	statistics
---------	----------	-----------	---------	------------

代谢途径	相对丰度 Relative abundance/ %			
Metabolic pathway	BO	ABO	AB	
碳水化合物代谢 Carbohydrate metabolism	15.32	16.52	17.97	
氨基酸代谢 Amino acid metabolism	12.31	12.75	13.77	

#### 3 结 论

本文利用小球藻和土壤菌群构建了藻菌共生体系, 分析了其对 1% 的低体积浓度 CO<sub>2</sub> 的捕获和转化能力, 对比了生物电刺激前后,藻菌共生体系固碳能力和菌群 组成差异。主要结论如下:

1)相比于纯小球藻,藻菌共生体系对于1%低体积浓度CO<sub>2</sub> 去除率由52%提升至69%。菌群通过代谢低浓度进气条 件下溶液中过剩的可溶性有机碳,为小球藻补充了额外 CO<sub>2</sub>,缓解了部分小球藻的局部碳匮乏,从而将有限的 碳源更多转化为可溶性无机碳和小球藻生物质。此外, 菌群分解氨基酸产生额外氮源供藻生长。

2)在生物电输出刺激下,藻菌共生体系固碳能力进一步提升至 81%。光照时,共生体系可在 1000 Ω 外电阻两端产生 200 mV 电压输出,并可实现自驱动。生物电输出既能加速菌群代谢,又能消耗溶液中 H<sup>+</sup>和溶解氧,优化藻菌生长环境。

3)相比于纯土壤菌群,藻菌共生体系以固氮弧菌属 Azoarcus 取代明串珠菌属 Leuconostoc 为主要特征,菌群 多样性提升。在生物电输出刺激下,藻菌共生体系被重 塑。菌群主要通过分解小球藻光合作用产生的可溶性有 机物和小球藻细胞残骸中的蛋白质等与微藻协同作用。

在本文基础上,后续研究可通过扩展试验时长分析 小球藻-土壤菌群共生体系的长期运行稳定性和可靠性; 也可从湖泊、水库等水体中采集混合藻种作为藻类来源, 分析其与土壤菌群的协同固碳效果,推动该研究在改良 土壤结构、提升土壤养分含量和菌群活性、促进植物光 合作用等农业生产场景中的实用化。

#### [参考文献]

- JIANG J, ZHAO T, WANG J. Decoupling analysis and scenario prediction of agricultural CO<sub>2</sub> emissions: An empirical analysis of 30 provinces in China[J]. Journal of Cleaner Production, 2021, 320: 128798.
- [2] ZHANG X, WU L, MA X, et al. Dynamic computable general equilibrium simulation of agricultural greenhouse gas emissions in China[J]. Journal of Cleaner Production, 2022, 345: 131122.
- [3] PRADHAN G, MEENA R S. Utilizing waste compost to improve the atmospheric CO<sub>2</sub> capturing in the rice-wheat cropping system and energy-cum-carbon credit auditing for a circular economy[J]. Science of the Total Environment, 2023, 892: 164572.
- [4] KAUR R, KAUR N, KUMAR S, et al. Carbon capture and sequestration for sustainable land use: A review[J]. The Indian Journal of Agricultural Sciences, 2023, 93(1): 11-18.
- [5] MAO C, BYUN J, MACLEOD H W, et al. Green urea production for sustainable agriculture[J]. Joule, 2024, 8(5): 1224-1238.
- [6] KIM N E, KIM D H, KIM Y J, et al. Comparison of carbon dioxide emission concentration according to the age of agricultural heating machine[J]. Journal of Bio-Environment Control, 2023, 32(3): 190-196.
- [7] SOO X Y D, LEE J J C, WU W Y, et al. Advancements in CO<sub>2</sub> capture by absorption and adsorption: A comprehensive review[J]. Journal of CO<sub>2</sub> Utilization, 2024, 81: 102727.
- [8] MASHHADIMOSLEM H, ABDOL M A, KARIMI P, et al. computational and machine learning methods for CO<sub>2</sub> capture using metal-organic frameworks[J]. ACS Nano, 2024, 18(35): 23842-23875.
- [9] HUANG D, LI M J, WANG R L, et al. Advanced carbon sequestration by the hybrid system of photobioreactor and microbial fuel cell with novel photocatalytic porous framework[J]. Bioresource Technology, 2021, 333: 125182.
- [10] KUMAR M, SUNDARAM S, GNANSOUNOU E, et al. Carbon dioxide capture, storage and production of biofuel and biomaterials by bacteria: A review[J]. Bioresource Technology, 2018, 247: 1059-1068.
- [11] ONYEAKA H, EKWEBELEM O. A review of recent advances in engineering bacteria for enhanced CO2 capture and utilization[J]. International Journal of Environmental Science and Technology, 2023, 20(4): 4635-4648.
- [12] 匡彬,周丽琳,蔡传林,等.电活性菌藻膜耦合虹吸曝气 技术处理海水养殖废水[J].农业工程学报,2023,39(21): 205-212.

KUANG Bin, ZHOU Lilin, CAI Chuanlin, et al. Mariculture wastewater treatment using electroactive bacteria-algae biofilm coupled with siphon aeration[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2023, 39(21): 205-212. (in Chinese with English abstract)

- [13] 朱林,车轩,刘兴国,等.光照强度对菌藻共生生物膜细菌 群落结构的影响[J]. 农业工程学报,2020,36(11):241-247. ZHU Lin, CHE Xuan, LIU Xingguo, et al. Effects of different light intensities on the community structure of symbiotic biofilm of bacterial-algae[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2020, 36(11): 241-247. (in Chinese with English abstract)
- [14] 倪智力, 匡彬, 林梓杨, 等. 人工湿地-电活性菌藻膜技术 处理养猪废水中试试验[J]. 农业工程学报, 2023, 39(4): 180-187.

NI Zhili, KUANG Bin, LIN Ziyang, et al. Pilot-scale study on the treatment of swine wastewater by constructed wetland consisted with exoelectrogens-microalgae biofilm[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2023, 39(4): 180-187. (in Chinese with English abstract)

[15] 陈彪,朱勇,王锴瑜,等.藻菌共生系统处理畜禽沼液的 机制及影响因素研究进展[J].农业工程学报,2023,39(13): 14-24.

CHEN Biao, ZHU Yong, WANG Kaiyu, et al. Research progress on the mechanisms and influencing factors for the microalgae-bacteria symbiosis system for treating biogas slurry from livestock and poultry industry[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2023, 39(13): 14-24. (in Chinese with English abstract)

- [16] SUN X, LI X, TANG S, et al. A review on algal-bacterial symbiosis system for aquaculture tail water treatment[J]. Science of the Total Environment, 2022, 847: 157620.
- [17] JACOB-LOPES E, SCOPARO C H G, QUEIROZ M I, et al. Biotransformations of carbon dioxide in photobioreactors[J]. Energy Conversion and Management, 2010, 51(5): 894-900.
- [18] HULATT C J, THOMAS D N. Productivity, carbon dioxide uptake and net energy return of microalgal bubble column photobioreactors[J]. Bioresource Technology, 2011, 102(10): 5775-5787.
- [19] HULATT C J, THOMAS D N. Dissolved organic matter (DOM) in microalgal photobioreactors: a potential loss in solar energy conversion?[J]. Bioresource Technology, 2010, 101(22): 8690-8697.
- [20] CHIU S Y, KAO C Y, CHEN C H, et al. Reduction of CO<sub>2</sub> by a high-density culture of *Chlorella* sp. in a semicontinuous photobioreactor[J]. Bioresource Technology, 2008, 99(9): 3389-3396.
- [21] LI X, JIA T, ZHU H, et al. Bioelectricity facilitates carbon dioxide fixation by *Alcaligenes faecalis* ZS-1 in a biocathodic microbial fuel cell (MFC)[J]. Bioresource Technology, 2024, 399: 130555.
- [22] SHARMA M, SALAMA E-S, ZHANG P, et al. Microalgaeassisted microbial fuel cells for electricity generation coupled

with wastewater treatment: Biotechnological perspective[J]. Journal of Water Process Engineering, 2022, 49: 102966.

- [23] TANG C C, HU Y R, HE Z W, et al. Promoting symbiotic relationship between microalgae and bacteria in wastewater treatment processes: Technic comparison, microbial analysis, and future perspectives [J]. Chemical Engineering Journal, 2024, 498: 155703
- [24] HUANG Y, CHENG J, LU H, et al. Transcriptome and key genes expression related to carbon fixation pathways in *Chlorella* PY-ZU1 cells and their growth under high concentrations of CO<sub>2</sub>[J]. Biotechnology for biofuels, 2017, 10: 1-10.
- [25] HUANG D, YANG Y W. Potassium alleviating power overshoot and promoting carbon capture of bufferless algae microbial fuel cells[J]. Fuel, 2023, 346: 128427.
- [26] RUMORA A, HOPKINS L, YIM K, et al. 16S rRNA analysis of electrogenic bacterial communities from soil microbial fuel cells[J]. Applied Microbiology, 2024, 4(2): 918-933.
- [27] ZHOU Z, WU Y, XU Y, et al. Carbamazepine degradation and genome sequencing of a novel exoelectrogen isolated from microbial fuel cells[J]. Science of the Total Environment, 2022, 838: 156161.
- [28] WANG Q, ZHANG C, ZHAO X, et al. Algae-Bacteria cooperated microbial ecosystem: A self-circulating semiartificial photosynthetic purifying strategy[J]. Science of the Total Environment, 2023, 905: 167187.
- [29] YANG Y W, LI M J, HUNG T C. Enhancing CO<sub>2</sub> dissolution and inorganic carbon conversion by metal–organic frameworks improves microalgal growth and carbon fixation efficiency[J]. Bioresource Technology, 2024, 407: 131113.
- [30] HAJINAJAF N, FALLAHI A, EUSTANCE E, et al. Managing carbon dioxide mass transfer in photobioreactors for enhancing microalgal biomass productivity [J]. Algal Research, 2024, 80: 103506.
- [31] CHENG J, ZHU Y, XU X, et al. Enhanced biomass productivity of Arthrospira platensis using zeolitic imidazolate framework-8 as carbon dioxide adsorbents[J]. Bioresource Technology, 2019, 294: 122118.
- [32] YANG Y W, LI M J, HUNG T C. The study on coupled CO<sub>2</sub> fixation and power generation in microalgae-microbial fuel cells embedded with oxygen-consuming biofilms[J]. Fuel, 2024, 367: 131410.
- [33] SONG B Y, LI M J, HE Y, et al. Electrochemical method for dissolved oxygen consumption on-line in tubular photobioreactor[J]. Energy, 2019, 177: 158-166.
- [34] DUAN X, CHEN Y, FENG L, et al. Metagenomic analysis reveals nonylphenol-shaped acidification and methanogenesis during sludge anaerobic digestion[J]. Water Research, 2021, 196: 117004.
- [35] CANDELIERE F, SOLA L, BUSI E, et al. The metabolism of Leuconostoc genus decoded by comparative genomics[J]. Microorganisms, 2024, 12(7): 1487.

# Effects of bioelectricity on CO<sub>2</sub> capture by the symbiosis between microalgae and soil bacteria

HUANG Dong, ZHANG Yedi, SHAN Shiyu

(School of Energy and Electrical Engineering, Chang'an University, Xi'an 710064, China)

Abstract: Carbon sequestration can be expected to mitigate climate warming in sustainable agriculture. The soil structure can also be improved to reduce the application of fertilizers in the global carbon trading market. Agricultural CO<sub>2</sub> emissions sources are characterized by high dispersion and mobility with low concentration. It is highly required to develop a series of suitable  $CO_2$  capture approaches in modern agriculture. Correspondingly, the coexistence of microalgae and flora has been commonly used in agricultural scenes, such as aquaculture farms, biogas digesters, composting, and irrigation systems. If this symbiotic system can be developed to consume  $CO_2$  emissions, great potential can be gained in agricultural carbon sequestration. This study aims to explore the effects of bioelectricity on CO<sub>2</sub> capture by the symbiotic system between the chlorella and soil bacteria. A series of tests were then constructed to analyze the CO<sub>2</sub> capture and conversion of the symbiotic system under 1% v/v CO<sub>2</sub> emission. Furthermore, the bioelectricity generated by the bacteria was then collected by electrodes and external circuits. A comparison was finally made on the variations of CO<sub>2</sub> sequestration and bacterial distributions after the stimulation of bioelectricity. The results indicate that the symbiotic system shared the highest efficiencies of CO<sub>2</sub> removal, whether the external circuit was closed or not. By contrast, the CO<sub>2</sub> removal efficiencies of the pure soil bacteria were the lowest, compared with the chlorella and symbiotic systems. The  $CO_2$  removal efficiency increased from 52% by chlorella to 81% by the symbiotic system with the bioelectricity. Dissolved organic carbon (DOC) that was consumed by the bacteria also enabled the chlorella to convert more CO<sub>2</sub> into dissolved inorganic carbon (DIC) and biomass. Among them, the concentrations of DIC and the biomass of the bioelectric-treated symbiotic system reached 1.4 mmol/L and 2.7 g/L, respectively, after seven days. The  $CO_2$  was in situ reproduced in the symbiotic system via the metabolism of bacteria. The random collision between the microalgae and the bacteria cells effectively shortened the mass transfer distance from the  $CO_2$  molecules to the chlorella cells, thus improving the mass transfer efficiency of  $CO_2$ . There was a great increase in the local  $CO_2$  concentration of the medium. Some chlorella cells were then avoided to suffer the CO<sub>2</sub> concentrating mechanism (CCM). More energy was also saved for the rest enzymatic reactions to promote their growth. The bioelectric generation and transmission were accelerated to adjust the pH and dissolved oxygen content of the medium after the consumption of DOC. Therefore, the growth environment of the microbes was optimized to further promote the  $CO_2$  conversion. The output voltage of the symbiotic system fluctuated with the light-dark period. A 200mV output voltage was achieved over a 1000  $\Omega$  external resistance in the illumination period. The maximum power density also increased by 46% from the dark to the light. Moreover, the symbiotic system was powered only by light energy with a limited carbon source supply entirely from 1% v/v CO<sub>2</sub> inlet. Compared with the pure soil microbial community, the chlorella was invaded to form a symbiotic system and then replaced the *Leuconostoc* with the Azoarcus. Simultaneously, the proportion of *Citrobacter* and *Raoultella* plummeted, whereas, the *Rikenella*, *Tyzzerella*, and *Trichococcus* increased significantly, leading to an overall enhanced diversity. The dominant bacterial composition remained almost unchanged in the microalgae-bacteria symbiotic system under the bioelectric stimulation. However, the Raoultella also reemerged and then replaced Rikenella and Tyzzerella. In addition, the main components of Citrobacter, Alcaligenes, and Bacteroides reshaped the microbial community in the symbiotic system. KEGG metabolic pathway indicated that the microbial community was primarily formed the synergistic interactions with the microalgae. The soluble organic substances were also decomposed during microalgae photosynthesis and proteins in algae cell debris. This finding can provide a strong reference for in-situ CO<sub>2</sub> capture in agriculture.

**Keywords:** agriculture; carbon emissions; microalgae-bacteria symbiosis; bioelectricity; dissolved organic carbon; low concentration  $CO_2$