

فعالية جراثيم *Escherichia coli* البحرية في إنتاج الكهرباء باستخدام خلية الوقود الميكروبية

د. بدر العلي*

د. هاجر ناصر**

أحمد صالح***

(تاريخ الإيداع 8 / 6 / 2021. قبل للنشر في 6 / 9 / 2021)

□ ملخص □

تحول خلايا الوقود الميكروبية الطاقة الكيميائية الناتجة عن تفاعلات الأكسدة والإرجاع التي تقوم بها جراثيم *E. coli* إلى طاقة كهربائية. تم في هذا البحث دراسة إنتاج الكهرباء من قبل جراثيم الايشريشيا القولونية *E. coli* المعزولة من المياه البحرية الشاطئية لمحافظة اللاذقية ودراسة بعض العوامل المؤثرة عليها. حيث تمت دراسة تأثير اختلاف تراكيز الجلوكوز g/l (1-4) وطول الجسر الملحي cm (4, 8, 12) بين الحجرتين في قيمة الجهد الكهربائي الناتج في الخلية الميكروبية خلال فترة الحضان. بينت النتائج أن أعلى قيمة للجهد الكهربائي كانت mV 791 عند إضافة الجلوكوز بتركيز g/l 3. في حين سجلت أدنى قيمة للجهد الكهربائي الناتج mV 250 عند تركيز جلوكوز g/l 4. أما بالنسبة لتأثير طول الجسر المحلي cm (4, 8, 12) ف لوحظ أن أعلى قيمة للجهد الكهربائي كانت mV 624 عند استخدام جسر ملحي بطول cm 4. في حين سجلت أدنى قيمة للجهد الكهربائي الناتج mV 155 عند استخدام جسر ملحي بطول cm 12. بينت نتائج هذه الدراسة أنه يمكن استخدام خلايا الوقود الميكروبية في إنتاج الكهرباء بواسطة جراثيم *E. coli* البحرية التي تقوم بأكسدة المادة العضوية وتحويلها الى طاقة كهربائية إضافة الى إمكانية استخدامها في معالجة مياه الصرف الصحي.

الكلمات المفتاحية: خلية وقود ميكروبية- إنتاج الكهرباء - *Echerchia coli*

*أستاذ مساعد، قسم البيولوجيا البحرية، المعهد العالي للبحوث البحرية، جامعة تشرين، سورية. badralali2011@gmail.com

** أستاذ، قسم الكيمياء، كلية العلوم، جامعة تشرين، سورية. hajar.n.nasser@gmail.com

***طالب ماجستير، قسم البيولوجيا البحرية، المعهد العالي للبحوث البحرية، جامعة تشرين، سورية. ahmad2015love@gmail.com

Activity of *Escherichia coli* in producing electricity using a microbial fuel cell

Dr. Badr Al Ali*
Dr. Hajar Nasser**
Ahmad Saleh***

(Received 8 / 6 / 2021. Accepted 6 / 9 / 2021)

□ ABSTRACT □

Microbial fuel cells convert chemical energy produced by oxidation and reduction reactions carried out by microorganisms into electrical energy. In this research, electricity production by the isolated *E.coli* bacteria in the coastal marine waters of Lattakia city was studied and some factors that affect it were studied. The results of studying the effect of different concentrations of glucose (1-4) g/l in the value of the voltage produced in the microbial fuel cell during the incubation period, observed that the highest value of the electrical voltage was 791 mV when adding glucose at a concentration of 3 g/l. While the lowest value of voltage was recorded 250 mV at a 4 g/l glucose concentration. The results of the effect of the length of the salt bridge (4,8 and 12) cm in produced voltage value, observed that the highest voltage value was 624 mV by using a salt bridge of length 4 cm. Whereas, the lowest value of the produced voltage was recorded at 155 mV when the length of salt bridge was 12 cm.

The results of this study showed that microbial fuel cells may be used to produce electricity by marine bacteria that oxidize organic matter and convert it into electrical energy, in addition to the possibility of using it in the treatment of sewage.

Key words: microbial fuel cell - electricity production - *Escherichia coli*

* Associate professor, Department of Marine Biology, High Institute of Marine Researches, Tishreen University, Lattakia, Syria. badralali2011@gmail.com

**Professor, Department of Chemistry, Faculty of Sciences, Tishreen University, Lattakia, Syria. hajar.n.nasser@gmail.com

*** Master Student, Department of Marine biology at HIMR, Tishreen University, Lattakia, Syria. ahmad2015love@gmail.com

مقدمة

يتوقع أن يصبح عدد سكان العالم 9.4 مليار في عام 2050 (Lewis and Noceru, 2006)، وبالتالي زيادة في استهلاك مصادر الطاقة التقليدية واستمرار نفاذ الوقود الاحفوري والزيادة في تكاليفه، إضافة إلى تزايد مستوى التلوث الناتج عن استهلاكه والذي يعد السبب الرئيس في ظاهرة الاحتباس الحراري وذلك يؤدي إلى كارثة حقيقية Logan, (2008). لذا كان لا بد من الحاجة والبحث عن مصادر الطاقة البديلة المتجددة والتي يجب أن تكون اقتصادية ونظيفة وقابلة لإعادة الاستخدام (Reddy *et al.*, 2009). إحدى الاكتشافات الحديثة التي تم التوصل إليها هي توليد الطاقة بواسطة الجراثيم. تعد هذه الطريقة من التقنيات التي تعرف بخلايا الوقود الميكروبية، وهي من أحدث التقنيات الواعدة من خلال توليد الكهرباء باستخدام الجراثيم المؤكسدة للمواد العضوية وبالتالي خفض استخدام الطاقة الأحفورية من جهة، وخفض التلوث من خلال معالجة مياه الصرف الصحي أو النفايات الحيوية من جهة أخرى (Gupta, (2014). تعد خلية الوقود الميكروبية طريقة بديلة فعالة لأنها لا تصدر أي غازات ملوثة للبيئة. إذ تستخدم فيها الكائنات الحية الدقيقة لاستقلاب المادة العضوية كمحفز حيوي لتوليد الكهرباء (Rusli *et al.*, 2019). يعتمد توليد الكهرباء في خلايا الوقود الميكروبية بشكل أساسي على تراكم الكتلة الحيوية الجرثومية على المصعد (EIMekawy *et al.*, 2013). تنتج هذه الجراثيم المتركمة الكترولونات وبيروتونات كنتاج لاستقلاب المواد العضوية. تنتقل الإلكترونات عبر دارة خارجية باتجاه القطب السالب، فينتج عن ذلك فرق بالجهد بالتالي توليد تيار كهربائي، بينما تنتقل البروتونات عبر غشاء يفصل بين القطبين (Srivastava *et al.*, 2019). تتحد الإلكترونات والأوكسجين والبروتونات لإنتاج الماء (Li *et al.*, 2009). تعد خلية الوقود الميكروبية عبارة عن نظام واعد يتم فيه تحويل الطاقة التحفيزية الإنزيمية إلى طاقة كهربائية عن طريق عملية كهروكيميائية (Allen and Benetto, 1993). لذا هدف هذا البحث إلى العمل على تجهيز خلية وقود ميكروبية ودراسة فعالية جراثيم *E.coli* المعزولة من المياه البحرية في إنتاج الكهرباء.

أهمية البحث وأهدافه

تأتي أهمية هذا البحث من خلال الحصول على مصدر طاقة بديلة نظيفة واقتصادية بالتزامن مع ازدياد عدد سكان الأرض وزيادة استهلاك الوقود الاحفوري وتكاليفه وبالتالي ازدياد التلوث وتأثيره على الانسان من جهة وانخفاض مستوى التلوث الناجم عن استخدامه من جهة أخرى.

هدف البحث إلى:

- ❖ بناء منظومة خلية وقود ميكروبية لتوليد الكهرباء.
- ❖ قدرة جراثيم *E.coli* البحرية على إنتاج الكهرباء باستخدام خلية الوقود الميكروبية.
- ❖ تأثير تركيز المادة العضوية (الغلوكوز) وطول الجسر الملحي بين الحجرتين في إنتاج الكهرباء.

طرائق البحث ومواده

1. موقع الدراسة وجمع العينات:

تم اختيار موقع الكورنيش الجنوبي في محافظة اللاذقية ذو الإحداثيات الجغرافية (35°30'03.4"N 35°46'25.2"E) وذلك لأن هذا الموقع يتعرض للتلوث بمياه الصرف الصحي إضافة لارتفاعه من قبل المصطافين. جمعت ثلاث عينات من المياه البحرية الشاطئية من الموقع السابق على بعد 10 m من الشاطئ من عمق 15-30 cm تحت سطح الماء خلال شهر أيلول عام 2020م. جمعت عينات المياه بوساطة عبوات زجاجية معقمة سعة 500 ml، ونقلت العينات مباشرة إلى مخابر المعهد العالي للبحوث البحرية جامعة تشرين لإجراء الدراسة المخبرية.

2. الأجهزة والأدوات المستخدمة:

استخدم خلال هذه الدراسة عدد من الأجهزة والمواد لإجراء العمل الحقل والمخبري وهي: عبوات معقمة، حاضنة، خلية الوقود الميكروبية، غرفة زرع، محم مائي، براد (ثلاجة)، وجهاز تعقيم (أوتوكلاف) لتعقيم الأوساط الزرعية وإبادة البكتريا والكائنات الحية الدقيقة. كما استخدم القطن، الشاش، أطباق بتري معقمة، ابر زرع، مصباح كحول، ميزان حساس، أنابيب اختبار زجاجية معقمة وأوساط زرع مختلفة. كما استخدمت عدد من الأوساط الزرعية كوسط الأغار المغذي (India, Titan Biotech LTD) ووسط أيوزين أزرق الميتيلين (EMB) (Spain, Scharlau) وماء البيبتون لتشغيل خلية الوقود الميكروبية. كل هذه الأوساط السابقة حضرت وعقمت حسب تعليمات الشركة المصنعة.

3. العمل المخبري:

3-1. تحضير الأوساط الزراعية:

حضرت الأوساط المستخدمة في هذه الدراسة (الأغار المغذي، وسط الأيوزين أزرق الميتيلين (EMB)، ماء البيبتون، والوسط داخل خلية الوقود الميكروبية) ثم تم ضبط قيمة pH الوسط عند القيمة 7 وعقمت بالأوتوكلاف بدرجة حرارة 121 م لمدة 15 دقيقة ثم وزعت الأوساط التي تحتوي على الأغار في أطباق بتري وتركت حتى تتصلب وذلك في شروط معقمة لحين استخدامها.

3-2. عزل جراثيم *E. coli* البحرية:

أخذ 10 ml من عينات المياه البحرية المنقولة إلى مخبر المعهد العالي لبحوث البحرية ورشحت من خلال فلتر ننترو سيللوزي ذو مسامية $0.45 \mu m$. وضع الفلتر على وسط EMB التفرقي للحصول على عزلات جراثيم الايشريشيا القولونية (*E. coli*)، حضن بدرجة حرارة 44 م لمدة 48 ساعة، وفي نهاية الحضانة ظهرت مستعمرات ذات لمعة معدنية خضراء مميزة وتم تنقيتها على وسط EMB بطريقة التخطيط (الشكل 1) (Hammod et al., 2021). ثم أجريت عليها عدد من الاختبارات الكيمياءحيوية باستخدام جملة التتميط (API) والتي تعتمد على التفاعلات اللونية للتأكد من هويتها، بينت أن هذه السلالة الجرثومية تعود إلى *E. coli*. بعد ذلك حفظت خلايا تلك السلالة الجرثومية بالجليسرول بتركيز نهائي (25%) بدرجة حرارة -20 م لحين استخدامها.



الشكل 1: مستعمرات *E. coli* نامية على وسط أيوزين أزرق الميتلين (EMB).

3-3. تصميم خلية الوقود الميكروبية:

صممت خلية الوقود الميكروبية وفقاً للخلية المصممة من قبل الباحث (Ogugbue *et al.*, 2015) مع بعض التعديلات والتي تتكون من حجرة القطب الموجب (الأنود) وحجرة القطب السالب (الكاثود) والالكترودات والجسر الملحي. جهزت الخلية كما يأتي:

حجرة القطب الموجب (الأنود):

جهزت حجرة القطب الموجب باستخدام وعاء زجاجي بسعة 250 ml ذات غطاء خشبي قابل للتعقيم. ثقب الغطاء الخشبي من منتصفه للحصول على ثقب بقطر 1 mm يسمح بمرور سلك نحاسي من خلاله. كما ثقب الوعاء الزجاجي من جانبه بقطر 3 cm لتمرير أنبوب بلاستيكي مرن (جسر ملحي) بشكل محكم لمنع تسرب محتوى الحجرة (الشكل 2).

حجرة القطب السالب (الكاثود):

جهزت حجرة القطب السالب باستخدام وعاء من الزجاج بسعة 250 ml ذات غطاء خشبي قابل للتعقيم. ثقب الغطاء الخشبي من منتصفه للحصول على ثقب بقطر 1 mm يسمح بمرور سلك نحاسي من خلاله. كما ثقب الوعاء الزجاجي من جانبه بقطر 3 cm لتمرير أنبوب بلاستيكي مرن (جسر ملحي) يتصل مع حجرة القطب الموجب بشكل محكم لمنع تسرب محتوى الحجرة (الشكل 2). تملأ هذه الحجرة بالماء المقطر أثناء التجربة. الالكترودات:

تم تجهيز الكترودين من الستانلس ستيل بأبعاد 4 cm x 4 cm كقطب كهربائي موجب وقطب كهربائي سالب قابلان للتعقيم.

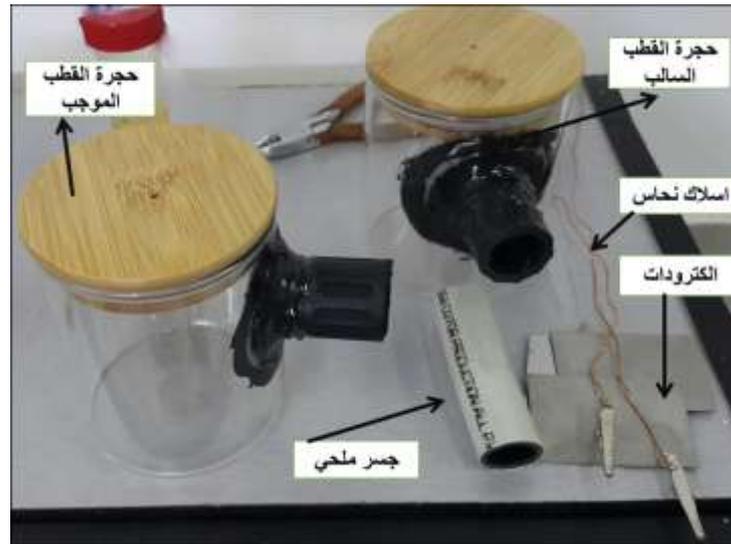
المادة العضوية:

استخدمت تراكيز مختلفة من الغلوكوز g/l (1,2,3,4) لدراسة تأثيرها على قيمة الجهد الكهربائي الناتج.

الجسر الملحي:

استخدم أنبوب بلاستيكي شفاف بطول 12 cm وقطر 3 cm، ثم ملئ بأغاروز 3 % مذاب في محلول كلوريد الصوديوم 1 M المعقم بالأتوكلاف بدرجة حرارة 121 م لمدة 15 دقيقة وتبريده إلى درجة حرارة 40 م⁰. بعد ذلك تم إدخاله من الثقب الجانبي في كل من الحجرتين بشكل محكم.

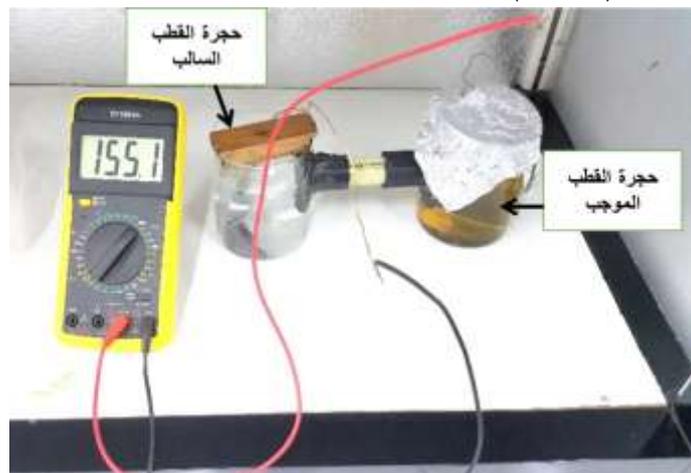
ثم اختبر تأثير اختلاف طول الجسر الملحي (4, 8, 12) cm على قيمة الجهد الكهربائي الناتج (Ogugbue *et al.*, 2015)



الشكل 2: مكونات خلية الوقود الميكروبية

3-4. تحضير خلية الوقود الميكروبية وتشغيلها:

بعد تعقيم مكونات خلية الوقود الميكروبية بالأوتوكلاف بدرجة حرارة 121 م° لمدة 15 دقيقة. تم وصل جسر الأغاروز الملحي بين الحجرتين بشكل محكم جيداً. أضيف إلى حجرة القطب الموجب 250 ml من مزرعة سائلة لجراثيم *E. coli* بعمر 18 ساعة وبتعداد خلوي 10^8 Cell/ml (تقابل 2 ماكفرلاند) في بداية التجربة. أغلقت الحجرة بغطاء مثقوب يمر من خلاله سلك نحاسي متصل بالالكترود الموجب داخل الحجرة ثم ضخ غاز النتروجين لمدة 30 دقيقة لجعل هذه الحجرة لا هوائية (Zou et al., 2007). أما بالنسبة لحجرة القطب السالب تم إضافة 250 ml من الماء المقطر إلى هذه الحجرة، ثم وصل القطبين الموجب والسالب بأسلاك من النحاس. حضنت خلية الوقود الميكروبية عند درجة حرارة 23-25 م° ودرجة ال pH 7. أخذت قياسات الجهد الكهربائي وتعداد الخلايا الجرثومية خلال الحضان باستخدام جهاز قياس متعدد افومتر رقمي وجهاز السيكتروفوتومتر عن طريق الكثافة الضوئية على التوالي وذلك بعد 2، 6، 9، 12، 22، 24 ساعة من بدء التشغيل (الشكل 3).



الشكل 3: قياس الجهد الكهربائي في خلية الوقود الميكروبية باستخدام جهاز قياس متعدد DT9205A.

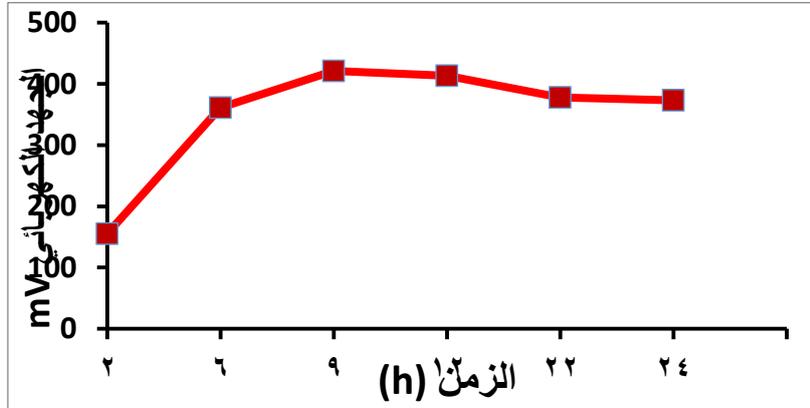
3-5. التجارب المخبرية:

أجريت عدة تجارب على نفس الخلية الميكروبية السابقة لمعرفة تأثير تركيز المادة العضوية وطول الجسر الملحي في إنتاج الكهرباء بواسطة الـ *E. coli*.
تأثير اختلاف طول الجسر الملحي: تم اختبار اختلاف طول الجسر الملحي (4, 8, 12) cm لمعرفة تأثيره على قيمة الجهد الكهربائي الناتج.
تأثير تركيز المادة العضوية: تم اختبار عدة تراكيز من الجلوكوز (1, 2, 3, 4) g/l لمعرفة تأثير تركيز المادة العضوية على قيمة الجهد الكهربائي وطبقت نفس الشروط في مرحلة تحضير الخلية الميكروبية.

النتائج والمناقشة

1. الجهد الناتج في خلية الوقود الميكروبية

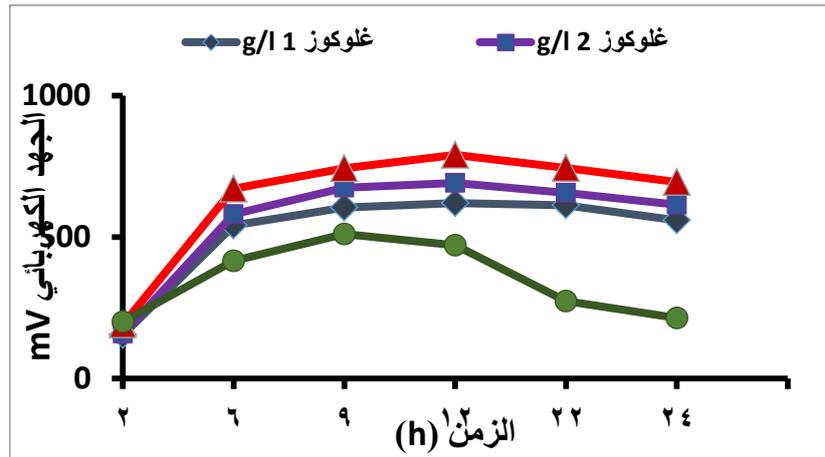
أظهرت النتائج الأولية أن الجهد الكهربائي الناتج في الخلية الميكروبية تراوح بين (155-421) mV (الشكل 4). سجلت أعلى قيمة عند 9 ساعات من بداية الحضانة وبلغت 421 mV. توافقت هذه النتيجة مع دراسات سابقة (Al-Shehri *et al.*, 2011). يشير ذلك إلى أن أعلى قيمة للجهد سجلت في منتصف المرحلة اللوغاريتمية من منحنى النمو لجراثيم *E. coli*. يمكن أن تعزى هذه القيمة المسجلة إلى النمو السريع للجراثيم وللخصائص الفيزيولوجية للـ *E. coli* (Wang *et al.*, 2010).



الشكل (4). الجهد الكهربائي (mV) المنتج من خلية الوقود الميكروبي باستخدام جراثيم *E. coli* خلال فترة الحضانة.

2. تأثير اختلاف تركيز المادة العضوية:

يظهر الشكل (5) تأثير تراكيز مختلفة من الجلوكوز (1, 2, 3, 4) g/l في حجرة القطب الموجب على الجهد الكهربائي المنتج بواسطة الـ *E. coli*. إذ بينت النتائج أن أعلى قيمة للجهد الكهربائي 791 mV سجلت عند تركيز جلوكوز 3 g/l بينما أدنى قيمة سجلت عند تركيز جلوكوز 4 g/l وذلك بقيمة 250 mV. يمكن أن تعزى هذه النتيجة إلى تزايد تشكيل أيون الهيدروجين (H^+) بسبب قيام الجراثيم بتفكيك المادة العضوية وانخفاض درجة الحموضة التي تزيد الجهد الكهربائي (Hamad *et al.*, 2020).

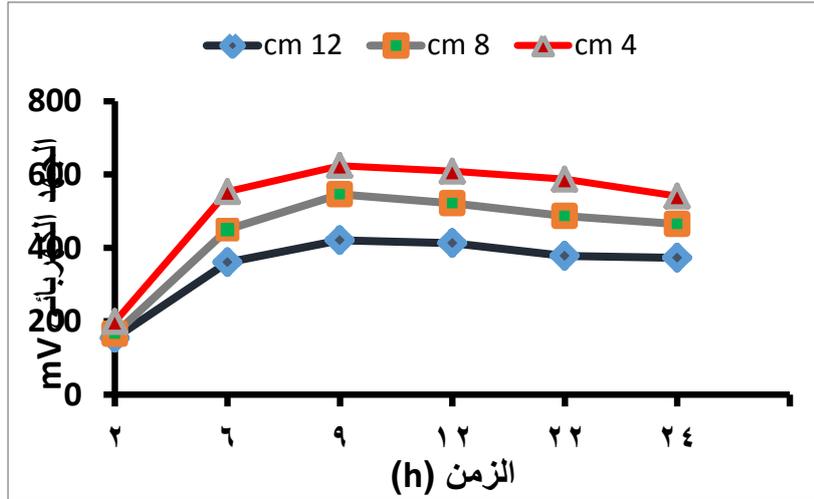


الشكل 5. الجهد الكهربائي المنتج (mV) من خلية الوقود الميكروبي عند تراكيز مختلفة من الغلوكوز g/l (1,2,3,4) باستخدام جراثيم *E. coli* خلال فترة الحضان.

يمكن أن يعزى انخفاض قيمة الجهد الكهربائي عند زيادة تركيز الغلوكوز المضاف إلى 4 g/l إلى زيادة لزوجة المحلول مما يعيق حركة الجراثيم نحو القطب الموجب، بالإضافة إلى انخفاض في فرق الجهد بين الكاثود والأنود بسبب الزيادة الملحوظة في عدد أيونات H^+ في الأنود بسبب قيام الجراثيم بتفكيك المادة العضوية وكذلك ترسب أو التصاق الغلوكوز على سطح القطب مما يزيد المقاومة الكهربائية عند السطح. تتوافق هذه النتائج مع نتائج دراسات سابقة والتي أظهرت أن التركيز الأمثل للمادة العضوية (الغلوكوز) للحصول على أعلى جهد هو 3 g/l (Hamad *et al.*, 2020).

3. تأثير اختلاف طول الجسر الملحي:

أظهرت النتائج أن أعلى قيم سجلت للجهد الكهربائي الناتج كانت بعد 9 ساعات من بدء الحضان. كما ظهرت النتائج أن طول الجسر الملحي يؤثر على قيمة الجهد الكهربائي الناتج. سجلت أعلى قيمة للجهد الكهربائي الناتج 624 mV عند استخدام الجسر الملحي بطول 4 cm، بينما سجلت أدنى قيمة للجهد الكهربائي 421 mV عند استخدام جسر ملحي بطول 12 cm (الشكل 6). يدل هذا على أن هناك علاقة عكسية ما بين طول الجسر الملحي وقيمة الجهد الكهربائي الناتج فكلما كان طول الجسر الملحي أقصر كان الجهد الكهربائي الناتج أكبر. قد يعزى هذا لقصر المسافة بين الأقطاب الكهربائية في حجرة الكاثود وحجرة الأنود يتوافق هذا مع دراسة Ogugbue وزملائه 2015.



الشكل 6. الجهد الكهربائي المنتج من خلية الوقود الميكروبي عند أطوال مختلفة للجسر الملحي (4، 8، و12) باستخدام جراثيم *E. coli* خلال فترة الحضان.

يمكن أن نستنتج من هذه الدراسة أن توليد الكهرباء في خلية الوقود الميكروبية باستخدام جراثيم *E. coli* البحرية يتأثر بتركيز المادة العضوية وطول الجسر الملحي حيث سجلت أعلى قيمة للجهد الناتج عند تركيز الجلوكوز 3 g/l واستخدام جسر ملحي بطول 4 cm بينما عند ازدياد تركيز الجلوكوز إلى 4 g/l واستخدام جسر ملحي بطول 12 cm انخفضت قيمة الجهد الناتج وهذا يتفق مع دراسة Ogugbue وزملائه 2015 و Hamad وزملائه 2020.

الاستنتاجات والتوصيات

- إمكانية تصميم خلايا الوقود الميكروبية بتكاليف منخفضة وسهولة التحكم فيها
 - بينت النتائج أن إنتاج الكهرباء بواسطة جراثيم *E. coli* البحرية أعلى مقارنة بالدراسات الأخرى.
 - أفضل تركيز للمادة العضوية (الجلوكوز) لإنتاج الكهرباء 3 g/l في خلية الوقود الميكروبية.
 - أفضل قياس لطول الجسر الملحي لإنتاج الكهرباء 4 cm في خلية الوقود الميكروبية.
- من المفضل التوسع في اختبار عدد واسع من الجراثيم البحرية وكذلك أنواع مختلفة من الالكتروودات للحصول على نتائج قيمة من الجهد الكهربائي وكذلك إمكانية استخدامها في تحلية مياه البحر.

Reference

- ALLEN, R. M., & BENNETTO, H. P. *Microbial fuel-cells*. Applied biochemistry and biotechnology, 39(1), 1993,27-40.
- AL-SHEHRI, A. N., GHANEM, K. M., & AL-GARNI, S. M. *A comparative study for electricity generation in microbial fuel cell reactor with and without mediators*. Scientific Research and Essays, 6(29), 2011,6197-6202.
- GUPTA, SAMEER KR. *Studies on microbial fuel cell using rice water as substrate*. National Institute Of Technology, Rourkela, 2014. PhD Thesis.
- HAMAD, M. F., ALI, I. S., ALABDLY, H. A., KADER, H. D. A., & HASAN, B. O. *The Use of Copper and Aluminum Electrodes for Energy Production in a Microbial Fuel Cell*. Journal of Engineering, 26(6), 2020, 72-84.
- HAMMOD,R., QARA ALI, A. and AL ALI, B. *The bioactivity of Bacillus sp. marine bacteria isolated from marine sediment of Lattakia city towards pathogenic bacteria*. International Journal of Agriculture & Environmental Science, 8 (2), 2021, 30-34.
- LEWIS, N.S. and NOCERA, D.G. *Powering the planet: chemical challenges in solar energy utilization*. PNAS 103(43), 2006, 15729-15735.
- LI, Z., ZHANG, X., ZENG, Y., AND LEI, L., *Electricity production by an overflowtype wetted-wall microbial fuel cell*. Bioresource Technology. 100, 2009, 2551-2555.
- LOGAN, B. E. *Microbial fuel cells*. John Wiley & Sons, 2008.
- OGUGBUE, CHIMEZIE JASON; EBODE, EDEGBAI EGILOMHE; LEERA, SOLOMON. *Electricity generation from swine wastewater using microbial fuel cell*. Journal of Ecological Engineering, 2015, 16.5.
- REDDY, N. R., RAMAN, K. N., BABU, O. A., & MURALIDHARAN, A. *Potential stage in wastewater treatment for generation of bioelectricity using MFC*. In Current Research Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology, 2009. 322-326.
- RUSLI, S. F. N., BAKAR, M. H. A., LOH, K. S., & MASTAR, M. S. *Review of high-performance biocathode using stainless steel and carbon-based materials in Microbial Fuel Cell for electricity and water treatment*. International Journal of Hydrogen Energy, 44(58), 2019, 30772-30787.
- SRIVASTAVA, P., YADAV, A. K., GARANIYA, V., & ABBASSI, R. *Constructed Wetland Coupled Microbial Fuel Cell Technology: Development and Potential Applications*. In Microbial Electrochemical Technology Elsevier. 2019,1021-1036.
- WANG, C. T., CHEN, W. J., & HUANG, R. Y. *Influence of growth curve phase on electricity performance of microbial fuel cell by Escherichia coli*. International Journal Of Hydrogen Energy, 35(13), 2010,7217-7223.
- ZOU, Y., SUN, L., XU, F., & YANG, L. *E. coli microbial fuel cell using new methylene blue as electron mediator*. Chemical Journal Of Chinese Universities-Chinese Edition, 28(3), 2007, 510.