

## 研究报告



## 微嗜酸寡养单胞菌 EFS1 的产电性能及在污水处理中的应用

令利军\* 杨彩云 李子彬 罗鸿 冯升来 赵云花 涂艺馨

西北师范大学生命科学学院 甘肃 兰州 730070

**摘要:**【背景】微生物燃料电池(Microbial Fuel Cell, MFC)作为一种新型的燃料电池资源,在产电的同时可应用于污水处理领域,达到资源最大化的目的。【目的】从MFC中分离获得一株可培养微生物,研究其产电特性及在污水处理中的微生物絮凝、重金属耐受、苯酚降解性能,为扩展产电菌资源库提供理论基础。【方法】利用WO<sub>3</sub>纳米探针从MFC阳极中筛选获得一株具备产电和絮凝性能的菌株,命名为EFS1。运用循环伏安分析结合扫描电镜观测阳极电极;改变外电阻测定极化曲线和功率密度曲线。测定菌株的絮凝、重金属耐受及苯酚降解性能。【结果】经16S rRNA基因序列分析,结合形态学和生理生化鉴定菌株EFS1为微嗜酸寡养单胞菌(*Stenotrophomonas acidaminiphila*)。菌株EFS1具有稳定的产电周期,周期电压最高可达300 mV,功率密度可达56.25 mW/m<sup>2</sup>;扫描电镜发现菌株存在直接接触电极及分泌电子中介体传递电子的方式;MFC内阻为1 000 Ω左右。有氧条件下菌株的絮凝率可达到70%,存在电子受体的无氧环境中可达到80%;该菌株还具有良好的Cd<sup>2+</sup>、Cu<sup>2+</sup>、Mn<sup>2+</sup>耐受性及苯酚降解性能,在48 h、2–4 mg/L时苯酚降解率达到了100%。【结论】研究验证了产电菌EFS1具备絮凝能力、重金属耐受、苯酚降解的可能性,为产电菌的开发及污水处理方面提供理论依据。

**关键词:** 微生物燃料电池, 生物产电, 生物絮凝, 重金属耐受, 苯酚降解, 寡养单胞菌属

## Electrical performance and application in sewage treatment of an electricigenic strain *Stenotrophomonas acidaminiphila* EFS1

LING Lijun\* YANG Caiyun LI Zibin LUO Hong FENG Shenglai ZHAO Yunhua  
TU Yixin

College of Life Sciences, Northwest Normal University, Lanzhou, Gansu 730070, China

**Abstract:** [Background] As a new type of fuel cell resource, microbial fuel cell (MFC) can be used in sewage treatment field to maximize resources while generating electricity. [Objective] A culturable microorganism isolated from MFC was used to study its electrical performance and to characterize the flocculation ability, heavy metal tolerance and the possibility of phenol degradation in sewage treatment of *Stenotrophomonas* sp. which provides a theoretical basis for expanding the resources pool of electricigens. [Methods] An electrogenic bacterial strain named EFS1 was isolated from the anode of MFC using a WO<sub>3</sub>

**Foundation items:** Special Fund Project for Guiding Scientific and Technological Innovation and Development of Gansu Province (2019ZX-05); Higher Education Industry Support Plan of Gansu Province (2020C-21)

\*Corresponding author: E-mail: 13919343210@163.com

Received: 11-08-2020; Accepted: 31-10-2020; Published online: 25-02-2021

基金项目: 甘肃省引导科技创新发展专项资金项目(2019ZX-05); 甘肃省高等学校产业支撑计划(2020C-21)

\*通信作者: E-mail: 13919343210@163.com

收稿日期: 2020-08-11; 接受日期: 2020-10-31; 网络首发日期: 2021-02-25

nano-probe. The anode electrode was observed by cyclic voltammetry combined with scanning electron microscope, and the polarization curve and power density curve were measured by changing the external resistance. Finally, the flocculation, heavy metal tolerance and phenol degradation of the strain were determined. **[Results]** The strain was identified as *Stenotrophomonas acidaminiphila* through the evidences of 16S rRNA, morphology, physiology and biochemistry. The strain EFS1 had a stable cycle of electricity production, the maximum periodic voltage was 300 mV, and the power density was up to 56.25 mW/m<sup>2</sup>, scanning electron microscopy found that the strain had direct contact with electrodes and secreted electron mediators to transfer electrons; the internal resistance of MFC was about 1 000 Ω. The flocculation rate of the strain could reach 70% under aerobic conditions and 80% in an anaerobic environment with electron acceptor. The strain also had good tolerance to Cd<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Mn<sup>2+</sup> and phenol degradation performance, in which the phenol degradation rate reached 100% at 48 h and 2–4 mg/L. **[Conclusion]** This study verified that the electrogenic bacteria strain EFS1 had flocculation ability, heavy metal tolerance, and the possibility of phenol degradation and provide theoretical base for the development of electricity producing bacteria and sewage treatment.

**Keywords:** microbial fuel cell (MFC), bio-electricity generation, bioflocculation, heavy metal resistance, phenol degradation, *Stenotrophomonas* sp.

随着经济的高速发展, 环境污染、能源短缺问题日趋严重, 环境负担日益增大。传统外电源的电化学活化方式造成能耗高、二次污染并且易腐蚀设备, 因此, 开发一种新型绿色的电化学活性方式极其重要<sup>[1]</sup>。微生物因其在污染治理、能源生产上的独特优势而受到广泛关注。已有报道称由有机废水或合成型碳水化合物作为底物而氧化产生直流电的手段开发出微生物燃料电池(Microbial Fuel Cell, MFC)<sup>[2]</sup>。MFC 由质子交换膜(Proton Exchange Membrane, PEM)隔开的阳极室和阴极室组成。有机物在阳极室中被细菌氧化产生电子和质子, 电子通过介体的作用或富集在 MFC 中的电化学活性细菌传递到阳极。电子由外电路传递到阴极, 质子通过 PEM 内部转移; 最后, 阴极中外部供应的氧化剂与电子和质子相结合产生电流<sup>[3]</sup>。同时, 在污水中存在的大量有机物可作为 MFC 的“燃料”, 在处理有机废物的同时产生电能<sup>[4-7]</sup>。目前研究主要集中于构建反应器、选育良好的产电微生物、提高微生物的产电性能及处理有色染料废水, 从而达到污水净化与资源化的双重目的<sup>[2]</sup>。

微生物絮凝剂(Microbial Flocculant, MBF)也被广泛应用于污水处理中, 它是微生物在生长过程中产生的聚合物, 主要由大分子物质组成, 如糖蛋白、

多糖、蛋白质、纤维素和核酸等<sup>[3]</sup>。Lian 等<sup>[8]</sup>发现微生物的絮凝能力, 主要是通过连接高岭土颗粒和絮凝剂分子形成矿物-MBF 复合物后, 通过电荷中和促进絮体的形成来聚集成大的颗粒物而沉淀, 从而提高絮凝效率。Zhong 等<sup>[9]</sup>运用微生物及化学絮凝剂(Polyaluminium Chloride, PAC)进行制革废水的絮凝效果测试, 发现微生物对废水的絮凝效果明显优于 PAC。Jia 等<sup>[10]</sup>筛选出 6 种 MBF, 其发酵上清液对工业污水等的化学需氧量有较好的去除效果。因此微生物作为生物絮凝剂具有良好的市场前景<sup>[11-13]</sup>。微生物絮凝剂与无机混凝剂及有机合成高分子聚合物相比, 具有生产周期短、生物易降解及副产物无毒等特点。当产电微生物具有良好的絮凝效果, 污水处理的效率将会有很大提升。目前由于产电微生物资源的有限性, 关于产电菌絮凝的研究也鲜有报道。此外, 微生物菌株已被确定能被应用于重金属及苯酚处理中, 重金属离子会与污水中有机物以络合、螯合的方式形成新的毒性化合物, 加速水体的污染化<sup>[14]</sup>。菌株细胞壁中的多种基团可与重金属离子进行配位络合反应后形成无机沉淀, 从而达到重金属离子的去除<sup>[15]</sup>, 但许多微生物对苯酚的代谢途径主要存在于邻位途径及间位途径中。苯酚先通过苯酚羟化酶形成邻苯二酚后, 在邻位途径

中由邻苯二酚 1,2-双加氧酶在 2 个羟基之间开环/间位途径中,由邻苯二酚 2,3-双加氧酶在 2 个羟基旁开环后,进入三羧酸循环而达到苯酚的生物降解<sup>[16]</sup>。因此,微生物在环境修复方面具有较大的应用潜力。

本研究报道从 MFC 阳极中筛选获得的菌株 EFS1 的产电性能及其特性,探究该产电菌是否具有絮凝、重金属耐受、苯酚降解的能力,研究结果对扩展产电微生物资源、挖掘产电微生物潜能,提高污水处理效率具有一定的意义。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 微生物分离及培养基

菌株 EFS1 分离自接种湖底淤泥后长期稳定运行且阳极液澄清的 MFC。LB 培养基(g/L):胰蛋白胨 10.0, NaCl 10.0, 酵母提取物 5.0, 调节 pH 7.0–7.2, 固体培养则采用加入 2%琼脂的 LB 培养基。

#### 1.1.2 主要试剂和仪器

细菌基因组 DNA 提取试剂盒、PCR 试剂, 兰州天启基因检测公司。PCR 仪, 杭州郎基科学仪器有限公司; 紫外分光光度计, 上海昂拉仪器有限公司; 温控摇床, 上海天呈实验仪器制造有限公司; 电化学工作站, 上海辰华仪器有限公司; 扫描电子显微镜, 蔡司公司。

### 1.2 具产电性能微生物的分离

无菌刮取阳极电极生物膜后于 LB 液体培养基中 37 °C、170 r/min 富集培养过夜, 平板涂布法分离不同菌落形态的菌株。以 WO<sub>3</sub> 纳米探针为指示剂初步鉴定菌株产电性能。WO<sub>3</sub> 是以钨酸钠和氯化钠为前体, 经过 180 °C、18 h 水热合成反应生成, 在有阳离子(H<sup>+</sup>、Li<sup>+</sup>、Na<sup>+</sup>、K<sup>+</sup>等)存在的条件下接受电化学活性电子后生成蓝色的钨青铜, 因此可以通过颜色的变化来筛选产电微生物, 扫描电镜观察生成的产物<sup>[17]</sup>。

### 1.3 菌种鉴定

#### 1.3.1 菌株形态学和生理生化特征鉴定

将菌液稀释涂布于 LB 平板上, 37 °C 孵育过

夜, 在光学显微镜下观察菌落形态。参照《常见细菌系统鉴定手册》<sup>[18]</sup>对菌株进行生理生化鉴定。

#### 1.3.2 菌株分子生物学鉴定

挑取单菌落于 10 μL TE 缓冲液中反复煮沸冻融后作为 PCR 的基因组 DNA 模板。利用细菌通用引物 27F (5'-AGAGTTTGTGATCTGGCTCAG-3')和 1492R (5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3')对 16S rRNA 基因序列进行 PCR 扩增<sup>[19]</sup>。PCR 反应条件及反应体系参考文献[20]。PCR 产物用 1%琼脂糖凝胶电泳进行检测, 产物经切胶纯化后测序。将测序结果利用 BLAST 进行核酸序列比对。运用 MEGA 7.0 构建系统发育树。

### 1.4 菌株电化学性能研究

#### 1.4.1 菌株产电性能测定

在无菌条件下组装灭菌反应器后以 LB 液体培养基为阳极液, 40 mmol/L K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>]和 120 mmol/L NaCl 溶液为阴极液<sup>[21]</sup>, 接种 10 mL 菌悬液进行 30 °C 恒温培养, 启动 MFC。隔 2 h 记录一次。电压低于 50 mV 后同时更换阳极液和阴极液。LB 培养基为对照, 电池稳定运行 3 个周期后再次换液, 进行微生物电化学活性检测。

#### 1.4.2 菌株循环伏安分析

以阳极为工作电极, 以阴极为对电极, 在阳极室阳极附近插入 Ag/AgCl 参比电极, 进行循环伏安测试。当电池电压达到峰值后, 取 MFC 的阳极液进行 6 000 r/min 离心 5 min 获得其上清, 在相同体系中以与阳极规格相同的碳毡为工作电极, 以铂丝为对电极将上清液进行循环伏安扫描, 变换扫速为 10–100 mV/s, 扫描电压范围为–0.3–0.4 V<sup>[22]</sup>。

#### 1.4.3 极化曲线和功率密度曲线分析

电池开路运行 12 h 后, 依次连接阻值为 30、10、5、1、0.8、0.5、0.3、0.2、0.1 kΩ 的外阻, 记录不同阻值下运行 20 min 后的电压值。根据欧姆定律计算电流密度(mA/m<sup>2</sup>,  $I=V/R \times A$ ), 由公式  $P=V^2/R \times A$  计算功率密度(mW/cm<sup>2</sup>)。其中,  $V$  表示电池测量电压(mV),  $R$  表示外阻(Ω),  $A$  表示阳极投影面积(cm<sup>2</sup>)。

#### 1.4.4 阳极细菌扫描电镜观察

MFC 第 3 周期产电结束后, 在无菌条件下剪取 1 cm×1 cm 阳极膜, 戊二醛固定 2 h 后乙醇梯度脱水, 冷冻干燥过夜后用扫描电镜观察, 以原始碳毡为对照<sup>[23]</sup>。

#### 1.5 絮凝性能研究

在初始 pH 7.0、170 r/min 条件下, 取培养时间在 36、48、60、72、84、96 h 的菌悬液。以 4% 投加量滴加到高岭土悬浊液中, 快速搅拌 3 min 再慢速搅拌 5 min, 静置 10 min 后检测各组絮凝率, 实验各 3 次重复。在 20 mmol/L 柠檬酸铁的无氧环境中测定菌株在 MFC 中的絮凝率, 以 LB 液体培养基为对照测定其絮凝率<sup>[24]</sup>。

#### 1.6 重金属耐受性能研究

在 5 mL LB 液体培养基内加入 0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、7.0 mmol/L 的 Cd<sup>2+</sup>、Cu<sup>2+</sup>、Mn<sup>2+</sup>, 实验各 3 次重复。灭菌后, 在每个摇菌管内加入 100 μL 菌悬液, 37 °C、170 r/min 下恒温振荡 12 h 后, 取 1.5 mL 菌悬液 7 000 r/min 离心 5 min, 无菌水洗脱菌体 2 次后, 重悬, 测定 OD<sub>600</sub> 时菌悬液的吸光值<sup>[14]</sup>。

#### 1.7 苯酚降解性能研究

在 5 mL 基础培养基内加入 2、4、6、8、10、12 mg/L 的苯酚, 实验各 3 次重复。灭菌后, 在每个摇菌管内加入 100 μL 菌悬液, 37 °C、170 r/min 下恒温振荡 24、48 h 后, 用 4-氨基安替比林法测定苯酚降解率<sup>[25]</sup>。

#### 1.8 数据统计分析

单因素方差分析法(ANOVA)进行数据分析, SPSS Statistics 20.0 进行邓肯检验以确定显著性差异( $P < 0.05$ ), 使用 Origin 9.0 进行绘图。

## 2 结果与分析

### 2.1 菌株的筛选鉴定

经扫描电镜观察, 实验中通过水热法合成的 WO<sub>3</sub> 纳米晶体的形貌特征与 Lai 等<sup>[26]</sup>报道一致, 说明实验室合成的 WO<sub>3</sub> 可作为纳米探针筛选检测电化学活性菌。从 MFC 中分离得到 26 株菌, 其中筛

选获得了一株可培养的具有良好产电及絮凝性的菌株, 命名为 EFS1。菌落形态呈淡黄色, 不透明, 圆形, 表面光滑, 边缘整齐, 质地均匀有光泽。生理生化特征显示为: 革兰氏阴性, 过氧化氢酶阳性, 明胶液化, 不能水解淀粉, V-P、甲基红、脲酶及吲哚试验均为阴性, 其碳源利用试验结果见表 1。

PCR 产物经凝胶电泳检测后, 其长度约在 1 400 bp, 测序后提交至 GenBank 获得序列号为 MK355617.1, BLAST 进行同源性比对后发现该序列与 *Stenotrophomonas* sp. 相似性最高。利用 MEGA 7.0 建立系统发育树的结果如图 1 所示。菌株 EFS1 与 *Stenotrophomonas acidaminiphila* strain AMX19 位于同一分支。结合形态学、生理生化鉴定, 可认为菌株 EFS1 为微嗜酸寡氧单胞菌。

### 2.2 菌株 EFS1 的产电性能分析

菌株 EFS1 具有稳定的产电周期, 在底物为 LB 培养基时每周期维持 10 d 左右, 第 1 周期在接种后 5 d 电压达到峰值 100 mV, 然后随着产物逐步被利用, 电压逐渐回落, 更换阳极液和阴极液后电压快速升高, 第 2、3 周期电压峰值平均达到了 280 mV, 如图 2 所示。

表 1 菌株 EFS1 碳源利用结果

Table 1 Results of carbon source utilization of strain EFS1

Chemicals	EFS1
D-glucose	+
Mannitol	+
L-arabinose	-
Xylitol	-
D-galactose	-
Inositol	-
D-sorbitol	-
D-cellobiose	-
D-lactose	-
D-maltose	+
Sucrose	+
D-trehalose	+
D-melezitose	-
D-raffinose	-

注: +: 阳性; -: 阴性

Note: +: Positive; -: Negative

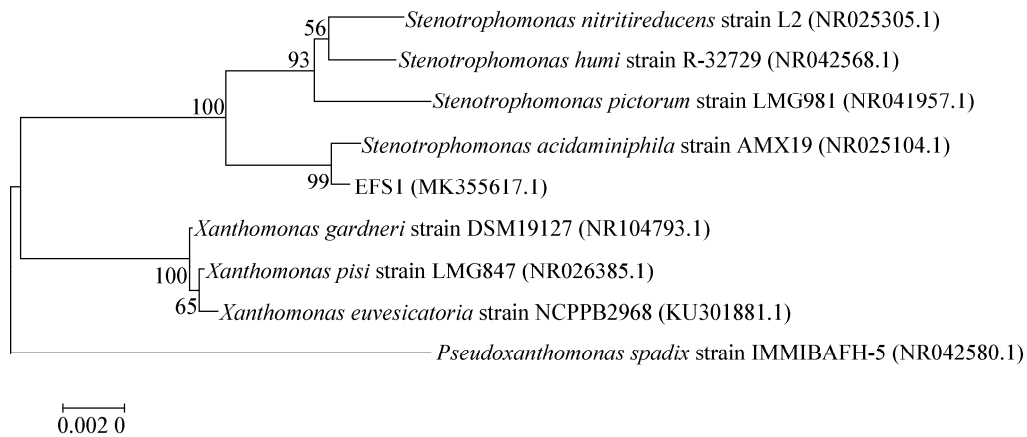


图 1 菌株 EFS1 基于 16S rRNA 基因序列构建的系统发育树

Figure 1 Phylogenetic tree for strain EFS1 based on 16S rRNA gene sequence

注：括号中的序号：菌株登录号；分支点上的数字：Bootstrap 支持率；标尺刻度：序列差异的分支长度

Note: Numbers in parentheses: The sequence accession number; Numbers in each branch points: The percentages supported by bootstrap; Bar: Nucleotide divergence

### 2.3 菌株 EFS1 的电化学性能分析

与未接种菌株电池相比，接种菌株电池具有明显的氧化还原峰，经过回归分析后发现氧化还原峰的位置与扫速呈现一定的线性关系。在电压回升的不同阶段，氧化还原峰的大小具有一定差异(图 3)，而且通过对其上清液的循环伏安扫描发现，其上清

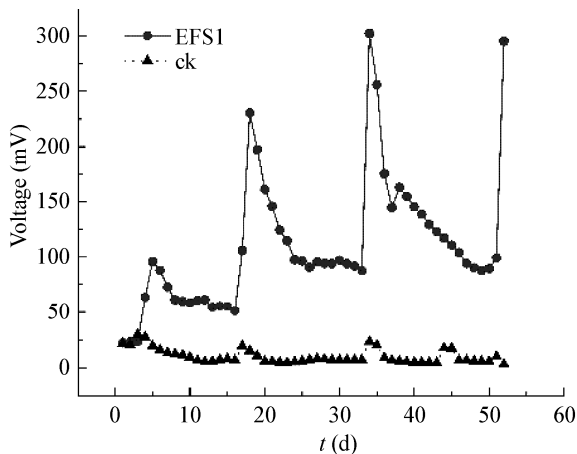


图 2 菌株 EFS1 的 MFC 电压曲线

Figure 2 Voltage curves of MFCs operated with strain EFS1 in batch-fed mode

液同样具有一定的氧化还原峰。极化曲线和功率密度曲线显示在对应外电阻为 1 000  $\Omega$  的时候功率密度达到最大值(图 4)。

### 2.4 菌株 EFS1 的絮凝性能分析

随着时间的延长，有氧条件下菌株 EFS1 絮凝活性随时间的延长逐步升高，在 48 h 达到最高点，后又出现缓慢下降的趋势。在无氧条件下，菌株絮凝活性基本保持稳定，而且比有氧条件下的活性高(图 5)。

### 2.5 扫描电镜观察

与原始碳毡相比，运行 3 周期后的微生物燃料电池阳极碳毡附着了大量菌体，而且观察到附着菌体有丝状物与电极连接(图 6)。

### 2.6 重金属耐受性能研究

由图 7 可知，EFS1 菌株随着  $Mn^{2+}$ 、 $Cu^{2+}$ 、 $Cd^{3+}$  浓度的增加均具有耐受性。其中当  $Mn^{2+}$ 、 $Cu^{2+}$  浓度为 0.5–4.0 mmol/L 时，其浓度与菌体生长量几乎呈线性关系，4 mmol/L 后菌体生长量逐渐平稳。但在  $Cd^{3+}$  浓度为 1 mmol/L 时菌体生长量达到最高后逐渐下降。

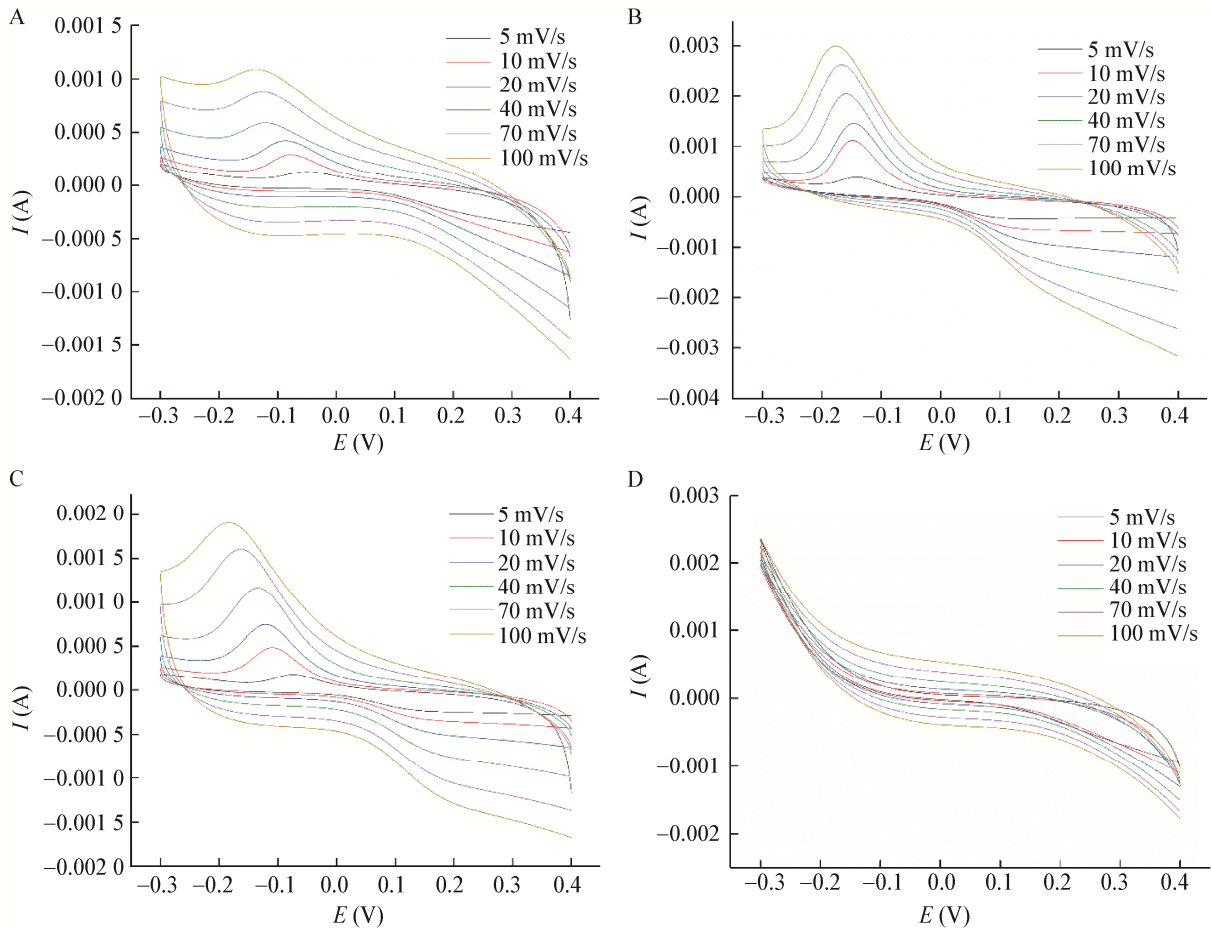


图 3 菌株 EFS1 循环伏安扫描分析

Figure 3 Cyclic voltammetric scanning analysis of strain EFS1

注: A: 电压上升期; B: 电压稳定期; C: 电压稳定期阳极液上清; D: 不接种菌株对照

Note: A: Voltage rise period; B: Voltage stabilization period; C: Anolyte supernatant during voltage stability; D: No inoculation control

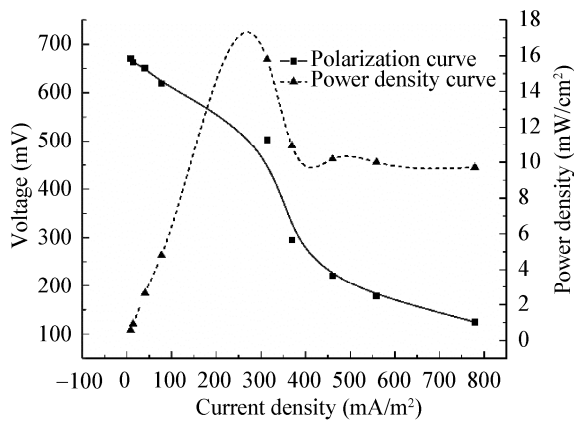


图 4 极化曲线和功率密度曲线

Figure 4 Polarization curve and power density curve of MFCs operated with strain EFS1

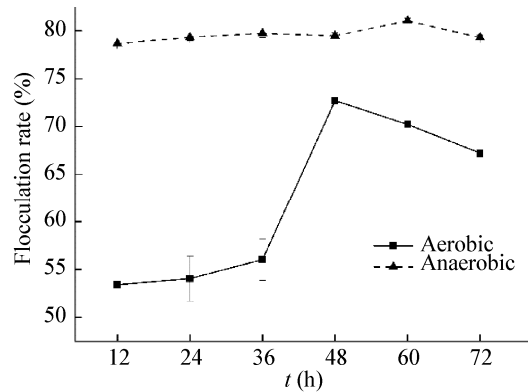


图 5 有氧条件下和存在电子受体的无氧环境中菌株 EFS1 絮凝活性

Figure 5 Flocculation activity of strain EFS1 under aerobic conditions and in an anaerobic environment with electron acceptors

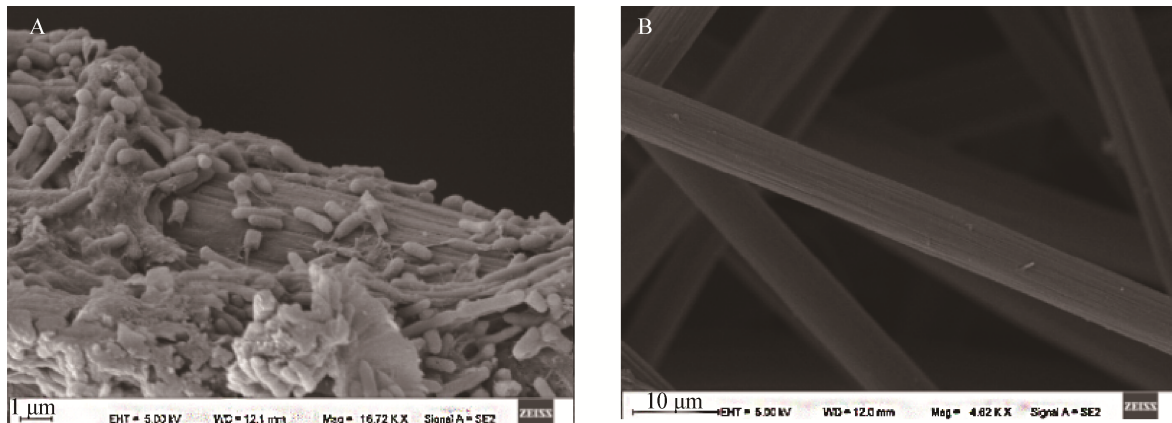


图 6 微生物燃料电池阳极(A)和原始碳毡(B)电极扫描电镜观察

Figure 6 Scanning electron microscopic observation of microbial fuel cell anode (A) and original carbon felt electrode (B)

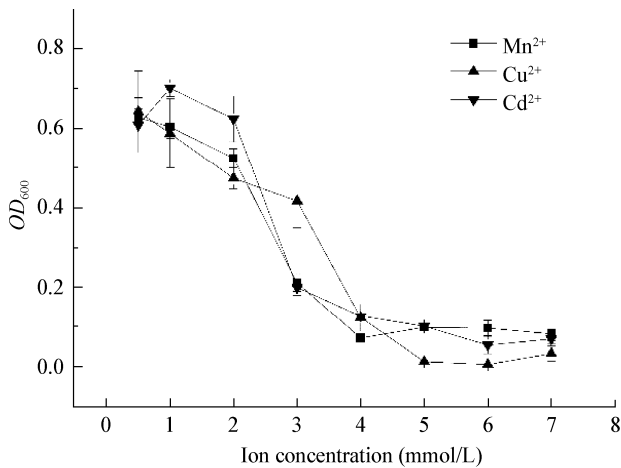


图 7 离子浓度对菌株 EFS1 耐受重金属离子的影响

Figure 7 Effect of ion concentration on tolerance of strain EFS1 to heavy metal ions

### 2.7 苯酚降解性能研究

菌株在苯酚作为唯一碳源的环境中培养 24 h 时,随着苯酚浓度的逐渐升高,其降解率呈现先增加后下降的趋势,6 mg/L 时苯酚降解率达到最高;培养 48 h 时,苯酚浓度为 2-4 mg/L 时苯酚降解率达到 100%,而后随着浓度的升高其降解率逐渐降低(图 8)。

## 3 讨论

寡养单胞菌属是一类革兰氏阴性杆状细菌,该菌属细菌被广泛应用于污水中的降解方面。本研究

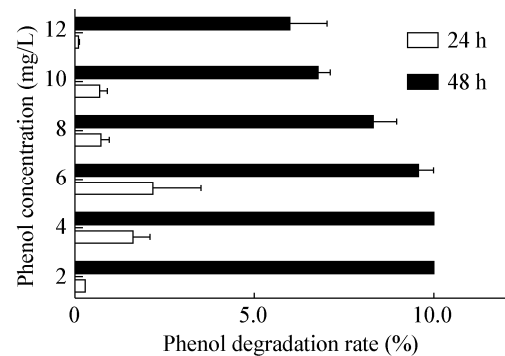


图 8 不同苯酚浓度下菌株 EFS1 对苯酚的降解性能测定结果

Figure 8 Determination of phenol degradation by strain EFS1 under different concentration gradients

从湖底淤泥接种的 MFC 中获得一株具有良好产电和絮凝性能的菌株 EFS1,经鉴定其为微嗜酸寡养单胞菌。已有研究报道寡氧单胞菌属细菌对污水中常见的污染物如咪吩磺隆<sup>[27]</sup>、DDT<sup>[28]</sup>、芬<sup>[29]</sup>等具有良好的降解能力,而且在土壤修复中也发挥了重要作用<sup>[30-32]</sup>。此外,该菌属还被用于植物病害防治<sup>[33]</sup>。在环境污染的生物修复方面具有潜在应用价值。同时,将菌株应用于 MFC 进行产电性能的检测也越来越多。已报道有关单菌株接种的 MFC 其最大功率密度大都在 200 mW 以下,但也有可达到 3 000 mW<sup>[34-35]</sup>的菌株,但目前尚无寡养单胞菌属产电性能的相关报道。本研究实验结果显示,菌

株 EFS1 具有一定的产电性能, 可在每个产电周期中稳定产生最高  $56.25 \text{ mW/m}^2$  的功率。同时, 其与已报道克雷伯氏菌循环伏安扫描结果相似。克雷伯氏菌株在电池运行过程中分泌产生了电子中介体, 也有相关研究报道该菌株产生的主要电子中介体为腐殖质<sup>[36]</sup>。更换电极液后电压稳定期测得的循环伏安曲线中氧化还原峰明显强于电压上升期, 可能是由于产生的电子中介体逐步积累所造成的。氧化峰电位与扫描速度之间良好的线性关系表明氧化还原反应还可能基于直接接触电极的菌体所产生<sup>[37]</sup>。当然, 纯菌种燃料电池的性能取决于多个方面, 主要包括菌株自身的电化学活性和微生物燃料电池的构建等<sup>[38]</sup>。

MBF 因其低毒无害、无二次污染等优势, 常被应用于污水处理中<sup>[39-40]</sup>。EFS1 菌株具有良好的絮凝性能, 在有氧条件下絮凝率可达 70%, 高于同类微生物。这可能是不同环境下絮凝机理不同所致, 也可能与不同需氧量下产生的不同代谢产物、菌体活性或者三价铁离子的还原也有关<sup>[41-42]</sup>。利用微生物进行污水中的多种重金属离子净化时, 一般采用表面吸附及内在积累 2 种形式。研究发现 EFS1 菌株对重金属具有较强的耐受性。有文献报道称这种现象的产生可认为是微生物表面含有的多种组成成分能提供许多与金属离子结合的官能基团, 这些基团能以螯合、活菌体吸收、静电吸引及沉积的方式去除污水中的重金属离子; 但是金属离子浓度越高, 菌体表面的活性吸附位点更容易被占满<sup>[43]</sup>。生物对金属离子的吸附量超过自身的承受范围时, 会使菌体的结构发生改变, 此时又会有部分的金属离子被释放出来<sup>[44]</sup>。菌体对重金属离子的耐受性为应用微生物作为污水中金属离子的净化剂提供了一种可能。然而苯酚作为一种高毒的有机化合物存在于污水中时, 低浓度情况下也会给环境带来巨大的危害<sup>[45]</sup>。因此, 对苯酚的降解去除是极其重要的。实验结果显示菌株 EFS1 具有较好的苯酚降解效果, 48 h 时其降解效率可达 100%。Liu 等<sup>[16]</sup>报道 *Stenotrophomonas sp.* 具有降解多种芳香化合物的潜

力。Gunasundari 等<sup>[46]</sup>从制革废水中分离出一株 *Stenotrophomonas sp.* 菌株, 经过重要环境参数统计优化后苯酚降解率达到 100%。因此该菌株对苯酚的降解具有良好的应用前景。

## 4 结论

(1) 从以湖底淤泥接种的 MFC 中分离获得一株具有产电、絮凝及重金属吸附性能的菌株 EFS1, 经形态学、生理生化、分子生物学分析鉴定为微嗜酸寡养单胞菌。

(2) 菌株 EFS1 具备良好的产电性能。在外接电阻为  $1\ 000 \ \Omega$  时, 每周期电压最高可达 300 mV, 功率密度可达  $56.25 \text{ mW/m}^2$ , 循环伏安法获得了明显的氧化还原峰, 功率密度法测试得到电池电阻为  $1\ 000 \ \Omega$  左右。

(3) 菌株 EFS1 是通过结合中介体和直接接触电极的方式来传递氧化底物过程中产生的电子。菌株不但具备良好的电化学性能, 还具备优良的絮凝活性。有氧条件下絮凝率可达 70%, 在类似 MFC 环境中, 絮凝率可达 80%。

(4) 菌株 EFS1 对  $\text{Mn}^{2+}$ 、 $\text{Cd}^{3+}$ 、 $\text{Cu}^{2+}$  都具有良好的耐受性。其对  $\text{Cd}^{3+}$  的耐受性较强, 可能是通过金属离子与菌体表面的活性基团结合来提高菌体的耐受性。

(5) 菌株 EFS1 在 24 h 和 48 h 时均有较好的苯酚降解能力。在 48 h 时菌株处于低浓度苯酚溶液中, 降解率达到 100%, 高浓度溶液中其降解率达 60%。该菌株在污水净化中具有较高的应用价值。

## REFERENCES

- [1] Feng JS, Yao HX, Cai C, Wang XH, Zhang Y. Microbial fuel cell electro-activated persulfate to degrade methyl orange azo dye[J]. Research of Environmental Sciences, 2019, 32(5): 913-920 (in Chinese)  
冯俊生, 姚海祥, 蔡晨, 王晓红, 张郢. 微生物燃料电池电活化过硫酸盐降解甲基橙偶氮染料[J]. 环境科学研究, 2019, 32(5): 913-920
- [2] Wang B, Huang JX, Zhang XB, Wang W, Xiong XJ, Xu FC. Isolation and characterization of an electricity-producing strain *Shewanella sp.* S2 from marine[J]. Microbiology China, 2010, 37(3): 342-348 (in Chinese)



- 王彪, 黄杰勋, 章晓波, 王蔚, 熊小京, 徐方成. 一株海洋产电菌 *Shewanella* sp. S2 的筛选和产电分析[J]. 微生物学通报, 2010, 37(3): 342-348
- [3] Ghangrekar MM, Shinde VB. Simultaneous sewage treatment and electricity generation in membrane-less microbial fuel cell[J]. Water Science and Technology, 2008, 58(1): 37-43
- [4] Tian YS, Mei XX, Liang Q, Wu D, Ren NQ, Xing DF. Biological degradation of potato pulp waste and microbial community structure in microbial fuel cells[J]. RSC Advances, 2017, 7(14): 8376-8380
- [5] Sivasankar P, Poongodi S, Seedeve P, Sivakumar M, Murugan T, Loganathan S. Bioremediation of wastewater through a quorum sensing triggered MFC: a sustainable measure for waste to energy concept[J]. Journal of Environmental Management, 2019, 237: 84-93
- [6] Jia JN, Tang Y, Liu BF, Wu D, Ren NQ, Xing DF. Electricity generation from food wastes and microbial community structure in microbial fuel cells[J]. Bioresource Technology, 2013, 144: 94-99
- [7] Feng YJ, Wang X, Logan BE, Lee H. Brewery wastewater treatment using air-cathode microbial fuel cells[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2008, 78(5): 873-880
- [8] Lian B, Chen Y, Zhao J, Teng HH, Zhu LJ, Yuan S. Microbial flocculation by *Bacillus mucilaginosus*: applications and mechanisms[J]. Bioresource Technology, 2008, 99(11): 4825-4831
- [9] Zhong CY, Sun S, Zhang DJ, Liu L, Zhou S, Zhou JG. Production of a bioflocculant from ramie biodegumming wastewater using a biomass-degrading strain and its application in the treatment of pulping wastewater[J]. Chemosphere, 2020, 253: 126727
- [10] Jia BJ, Yu JM. The research status and development trend of microbial flocculant[J]. Physics Procedia, 2012, 24: 425-428
- [11] Chen W, Zheng HL, Zhai J, Wang YL, Xue WW, Tang XM, Zhang ZG, Sun YJ. Characterization and coagulation-flocculation performance of a composite coagulant: poly-ferric-aluminum-silicate-sulfate[J]. Desalination and Water Treatment, 2015, 56(7): 1776-1786
- [12] Agunbiade MO, Van Heerden E, Pohl CH, Ashafa AT. Flocculating performance of a bioflocculant produced by *Arthrobacter humicola* in sewage waste water treatment[J]. BMC Biotechnology, 2017, 17(1): 51
- [13] Bar-Or Y, Shilo M. Characterization of macromolecular flocculants produced by *Phormidium* sp. strain J-1 and by *Anabaenopsis circularis* PCC 6720[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1987, 53(9): 2226-2230
- [14] Zhang WJ, Xiao LP, Deng ZY. Study on the degradation performance of Cd<sup>2+</sup> and Pb<sup>2+</sup> by *Stenotrophomonas acidaminiphila* during integrated phenol/heavy metal wastewater treatment[A]//Proceedings of the Technical Exchange Meeting on Heavy Metal Pollution Control in Rivers[C]. Changsha: National Water Special Office, Water Special River Theme Group, 2012: 172-179 (in Chinese)
- 张雯娟, 肖利平, 邓志毅. 微嗜酸寡养单胞菌对重金属/苯酚复合污染废水中 Cd<sup>2+</sup>、Pb<sup>2+</sup> 的降解特性[A]//国家水体污染控制与治理科技重大专项河流重金属污染控制技术交流会议论文集[C]. 长沙: 国家水专项办公室, 水专项河流主题组, 2012: 172-179
- [15] Yang T, Chen ML, Wang JH. Genetic and chemical modification of cells for selective separation and analysis of heavy metals of biological or environmental significance[J]. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2015, 66: 90-102
- [16] Liu YG, Pan C, Xia WB, Zeng GM, Zhou M, Liu YY, Ke J, Huang C. Simultaneous removal of Cr(VI) and phenol in consortium culture of *Bacillus* sp. and *Pseudomonas putida* Migula (CCTCC AB92019)[J]. Transactions of Nonferrous Metals Society of China, 2008, 18(4): 1014-1020
- [17] Yuan SJ, He H, Sheng GP, Chen JJ, Tong ZH, Cheng YY, Li WW, Lin ZQ, Zhang F, Yu HQ. A photometric high-throughput method for identification of electrochemically active bacteria using a WO<sub>3</sub> nanocluster probe[J]. Scientific Reports, 2013, 3: 1315
- [18] Dong XZ, Cai MY. Common Bacterial System Identification Manual[J]. Beijing: Science Press, 2001 (in Chinese)  
东秀珠, 蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册[M]. 北京: 科学出版社, 2001
- [19] Suzuki MT, Giovannoni SJ. Bias caused by template annealing in the amplification of mixtures of 16S rRNA genes by PCR[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1996, 62(2): 625-630
- [20] Luo JM, Yang J, He HH, Jin T, Zhou L, Wang M, Zhou MH. A new electrochemically active bacterium phylogenetically related to *Tolomonas osonensis* and power performance in MFCs[J]. Bioresource Technology, 2013, 139: 141-148
- [21] Fan LP, Zheng YJ, Miao XH. Effects of catholyte and dissolved oxygen on microbial fuel cell performance[J]. Journal of Chemical Engineering of Chinese Universities, 2016, 30(2): 491-496 (in Chinese)  
樊立萍, 郑钰姣, 苗晓慧. 阴极液及溶氧对微生物燃料电池性能的影响[J]. 高校化学工程学报, 2016, 30(2): 491-496
- [22] Liu T, Yu YY, Deng XP, Ng CK, Cao B, Wang JY, Rice SA, Kjelleberg S, Song H. Enhanced *Shewanella* biofilm promotes bioelectricity generation[J]. Biotechnology and Bioengineering, 2015, 112(10): 2051-2059
- [23] Peng Y, Zhu NW, Nie HY. Isolation of an electrogen *Klebsiella* sp. Z6 from anodic biofilm and its electricity-generating characteristics[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2013, 33(4): 1035-1042 (in Chinese)  
彭月, 朱能武, 聂红燕. 一株克雷伯氏菌(*Klebsiella* sp.) Z6 的分离及其产电特性研究[J]. 环境科学学报, 2013, 33(4): 1035-1042
- [24] Lei GY, Ding CP, Yang JX. Isolation of an excellent bio-flocculant-producing strain and its application in the treatment of cold-rolling waste oily water[J]. Environmental Science, 2011, 32(9): 2716-2723 (in Chinese)

- 雷国元, 丁翠萍, 杨家轩. 1 株高效产絮凝剂菌株的分离及其在冷轧含油废水处理中的应用[J]. 环境科学, 2011, 32(9): 2716-2723
- [25] Folsom BR, Chapman PJ, Pritchard PH. Phenol and trichloroethylene degradation by *Pseudomonas cepacia* G4: kinetics and interactions between substrates[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1990, 56(5): 1279-1285
- [26] Lai CW, Sreekantan S. Fabrication of WO<sub>3</sub> nanostructures by anodization method for visible-light driven water splitting and photodegradation of methyl orange[J]. Materials Science in Semiconductor Processing, 2013, 16(2): 303-310
- [27] Huang X, He J, Pan JJ, Hong Q, Li SP. Separation identification and degradation characteristics of thifensulfuron-methyl degradation bacteria FLX[J]. China Environmental Science, 2006, 26(2): 214-218 (in Chinese)  
黄星, 何健, 潘继杰, 洪青, 李顺鹏. 噻吩磺隆降解菌 FLX 的分离鉴定及降解特性[J]. 中国环境科学, 2006, 26(2): 214-218
- [28] Li HQ, Li HM, Jiang JZ, Yang XL, Guo RJ, Ping SZ, Zhang W. Isolation and characterization of a DDT degradation bacterium strain D-1[J]. Microbiology China, 2008, 35(5): 696-699 (in Chinese)  
李红权, 李红梅, 蒋继志, 杨雪丽, 郭荣君, 平淑珍, 张维. 一株 DDT 降解菌的筛选、鉴定及降解特性的初步研究[J]. 微生物学通报, 2008, 35(5): 696-699
- [29] Tang YB, Wang XC, Chen FY, Ma SS, Yang X. Screening, identification and degradation characteristics of a dominant fluorene-degrading strain[J]. China Environmental Science, 2010, 30(8): 1086-1090 (in Chinese)  
唐玉斌, 王晓朝, 陈芳艳, 马姗姗, 杨旭. 芴降解优势菌的筛选鉴定及降解特性研究[J]. 中国环境科学, 2010, 30(8): 1086-1090
- [30] Zhang QM, Saleem M, Wang CX. Probiotic strain *Stenotrophomonas acidaminiphila* BJ1 degrades and reduces chlorothalonil toxicity to soil enzymes, microbial communities and plant roots[J]. AMB Express, 2017, 7(1): 227
- [31] Uniyal S, Paliwal R, Sharma RK, Rai JPN. Degradation of fipronil by *Stenotrophomonas acidaminiphila* isolated from rhizospheric soil of *Zea mays*[J]. 3 Biotech, 2016, 6(1): 48
- [32] Aziz A, Agamuthu P, Alaribe FO, Fauziah SH. Biodegradation of benzo[a]pyrene by bacterial consortium isolated from mangrove sediment[J]. Environmental Technology, 2018, 39(4): 527-535
- [33] Wang CX, Zhang QM, Li GF, Dong XL, Li BH. Identification of the antagonistic bacteria BJ1 and its antifungal activity against *Valsa ceratosperma*[J]. Acta Phytologica Sinica, 2012, 39(5): 431-437 (in Chinese)  
王彩霞, 张清明, 李桂舫, 董向丽, 李保华. 苹果树腐烂病拮抗细菌菌株 BJ1 的鉴定及其抑菌作用[J]. 植物保护学报, 2012, 39(5): 431-437
- [34] Xing DF, Zuo Y, Cheng SA, Regan JM, Logan BE. Electricity generation by *Rhodospseudomonas palustris* DX-1[J]. Environmental Science & Technology, 2008, 42(11): 4146-4151
- [35] Bond DR, Lovley DR. Evidence for involvement of an electron shuttle in electricity generation by *Geothrix fermentans*[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2005, 71(4): 2186-2189
- [36] Liu Y, Yuan LJ. Isolation of an electrogen *Klebsiella oxytoca* d7 and its electricity-generating mechanism[J]. China Environmental Science, 2017, 37(9): 3540-3548 (in Chinese)  
刘玥, 袁林江. 一株产电菌 *Klebsiella oxytoca* d7 的分离及产电机理[J]. 中国环境科学, 2017, 37(9): 3540-3548
- [37] Holmes DE, Bond DR, Lovley DR. Electron transfer by *Desulfobulbus propionicus* to Fe(III) and graphite electrodes[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2004, 70(2): 1234-1237
- [38] Li M, Zhou MH, Tian XY, Tan CL, McDaniel CT, Hassett DJ, Gu TY. Microbial fuel cell (MFC) power performance improvement through enhanced microbial electrogenicity[J]. Biotechnology Advances, 2018, 36(4): 1316-1327
- [39] Chen Z, Li ZP, Liu PZ, Liu Y, Wang YP, Li QB, He N. Characterization of a novel biofloculant from a marine bacterium and its application in dye wastewater treatment[J]. BMC Biotechnology, 2017, 17(1): 84
- [40] Abu Tawila Z, Ismail S, Dadrassia A, Usman M. Production and characterization of a biofloculant produced by *Bacillus salmalaya* 139S1-7 and its applications in wastewater treatment[J]. Molecules, 2018, 23(10): 2689
- [41] Cheng JP, Zheng M, Zhang LY. Screening of flocculent-producing strains and studying on time course[J]. Environmental Science and Technology, 2001, 24(2): 12-15 (in Chinese)  
程金平, 郑敏, 张兰英. 微生物絮凝剂产生菌的筛选及产絮凝剂的周期研究[J]. 环境科学与技术, 2001, 24(2): 12-15
- [42] Wilén BM, Keiding K, Nielsen PH. Flocculation of activated sludge flocs by stimulation of the aerobic biological activity[J]. Water Research, 2004, 38(18): 3909-3919
- [43] Dai JJ. Use biosorption method removing heavy metal ion mixed wastewater[J]. Public Communication of Science & Technology, 2011(1): 90,196 (in Chinese)  
戴集君. 用生物吸附法去除废水重金属混合离子[J]. 科技传播, 2011(1): 90,196
- [44] Tzu TW, Tsuritani T, Sato K. Sorption of Pb(II), Cd(II), and Ni(II) toxic metal ions by alginate-bentonite[J]. Journal of Environmental Protection, 2013, 4(1): 51-55
- [45] Annadurai G, Mathalai Balan S, Murugesan T. Box-Behnken design in the development of optimized complex medium for phenol degradation using *Pseudomonas putida* (NICM 2174)[J]. Bioprocess Engineering, 1999, 21(5): 415-421
- [46] Gunasundari D, Muthukumar K. Simultaneous Cr(VI) reduction and phenol degradation using *Stenotrophomonas* sp. isolated from tannery effluent contaminated soil[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2013, 20(9): 6563-6573