

纯菌株与混合菌株在 MFC 中降解喹啉及产电性能的研究

陈姗姗¹, 张翠萍¹, 刘广立^{1*}, 张仁铎¹, 李明臣¹, 全向春²

(1. 中山大学环境科学与工程学院, 广州 510275; 2. 北京师范大学环境学院, 北京 100875)

摘要:微生物燃料电池(microbial fuel cell, MFC)阳极微生物菌群组成与 MFC 产电性能有重要关系. 从稳定运行了 210 d 以上, 以 $200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 喹啉为燃料的 MFC 阳极室分离提纯出 4 株兼性厌氧菌 Q1、b、c 和 d, 分别代表原 MFC 中所有 4 类不同菌落形态的可培养菌. 16S rDNA 序列分析结果表明, 菌株 Q1、c 和 d 属于假单胞菌属(*Pseudomonas* sp.), 菌株 b 属于伯克霍尔德菌属(*Burkholderia* sp.). 通过构建双室 MFC, 以 $200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 喹啉和 $300 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 葡萄糖为混合燃料, 以铁氰化钾为电子受体测定各菌株产电能力, 结果表明菌株 b、c 和 d 均为非产电菌. 产电菌 Q1 与非产电菌 b、c、d 复合产电电荷量依次为 3.00、3.57 和 5.13 C, 库仑效率依次为 3.85%、4.59% 和 6.58%, 产电菌与非产电菌对燃料的降解利用存在竞争关系, 使得复合菌产电能力比产电菌 Q1 单独时的产电能力差. 在 MFC 中, 非产电菌与产电菌复合产电时 24 h 内对喹啉的去除率均可以达到 100%, 降解喹啉效果优于 4 株菌单独构建的 MFC, 即混合菌更有利于利用复杂碳源. GC/MS 的测定结果表明, 产电菌株 Q1 构建的纯菌 MFC 和原混合菌 MFC 周期结束时出水中存在的喹啉代谢产物均为 2-羟基喹啉和苯酚.

关键词:微生物燃料电池; 非产电菌; 喹啉; 降解; 共基质; 产电性能

中图分类号: X382 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2010)09-2148-07

Electricity Generation and Quinoline Degradation of Pure Strains and Mixed Strains in the Microbial Fuel Cell

CHEN Shan-shan¹, ZHANG Cui-ping¹, LIU Guang-li¹, ZHANG Ren-duo¹, LI Ming-chen¹, QUAN Xiang-chun²

(1. School of Environmental Science and Engineering, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China; 2. School of Environment, Beijing Normal University, Beijing 100875, China)

Abstract: Microbial flora composition of microbial fuel cells (MFC) is important to the electricity generation. Four bacterium strains Q1, b, c and d which represent all different morphology of culturable bacterium were isolated from a MFC using $200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ quinoline as the fuel and operating for at least 210 days. Strains Q1, c and d were *Pseudomonas* sp. based on 16S rDNA sequence analysis, while strain b was *Burkholderia* sp. Double-chamber MFCs using $200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ quinoline and $300 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ glucose as the fuel and potassium ferricyanide as the electron acceptor were constructed. Results showed that strain b, c and d were non-electrogenesis. The electrical charges of MFC inoculated electrogenesis strain Q1 with non-electrogenesis strain b, c and d respectively were 3.00, 3.57 and 5.13 C, and the columbic efficiency were 3.85%, 4.59% and 6.58%, which were all lower than that inoculated with pure Q1, because of the interspecific competition of electrogenesis and non-electrogenesis bacteria. Combinations of Q1 with the other three strains respectively resulted in 100% of quinoline degradation rates within 24 h, which is better than pure cultures, that is, mixed microbial populations perform better in MFC when complex organics are used as the fuel. GC/MS analyses showed that only 2(1H)-quinolinone and phenol existed in the effluent of the MFC, which was inoculated with only Q1 or mixed bacteria.

Key words: microbial fuel cell(MFC); non-electrogenesis; quinoline; biodegradation; co-substance; electricity generation

微生物燃料电池(microbial fuel cell, MFC)是微生物降解有机物, 将有机物的化学能转化成电能的装置^[1]. 以电池中微生物种属是否单一来分类, 可分为纯菌 MFC 和混合菌 MFC. 由于纯菌电池维护上的困难, 以及实际污水成分一般较复杂, 实验中用的大多数是混合菌 MFC^[2~4]. 有研究发现, 在使用相同浓度相同种类基质的情况下, 混合菌 MFC 产生的电流比纯菌 MFC 大 6 倍^[5]. 但纯菌 MFC 的运行在科研中也有非常重要的意义, 因使用单一菌种研究微生物产电机理及降解过程难度较使用混合菌低,

而且得出的结论也更为可靠^[6~8].

目前已有关于 MFC 中产电菌与非产电菌种间关系的研究, 但研究中多针对以易降解有机物为燃料的 MFC^[9~11]. 对以难降解有机物为燃料的 MFC,

收稿日期: 2009-10-11; 修订日期: 2010-03-30

基金项目: 国家自然科学基金项目(50608070, 50779080); 环境模拟与污染控制国家重点联合实验室专项基金项目(08K02ESPCT); 广东省教育部产学研结合项目(2009B090300324)

作者简介: 陈姗姗(1986~), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为微生物燃料电池在污水处理中的应用, E-mail: saandpi@yahoo.com.cn

* 通讯联系人, E-mail: liugl@mail.sysu.edu.cn

张翠萍等^[12]的研究推测,以葡萄糖和喹啉为混合燃料的混合菌 MFC 中有可能存在 2 种菌群,一类为快速降解喹啉菌群,一类为产电菌群.以葡萄糖和喹啉为混合燃料的纯菌 MFC 的研究^[13]亦推测,混合菌 MFC 中,非产电菌对燃料的竞争导致仅小部分燃料被利用来产电,此两推论尚未有进一步实验验证.

本研究通过筛选以 $200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 喹啉为燃料的混合菌 MFC 中所有不同菌落形态的可培养菌,分离提纯出 4 株兼性厌氧菌代表原 MFC 中所有 4 类不同菌落形态的可培养菌,对比分析单一菌株和两两复合菌株的产电性能和降解喹啉性能,分析各菌株间关系,并进一步研究了混合菌 MFC 阳极微生物各菌群所起作用.

1 材料与方法

1.1 菌种的分离和纯化

从一个稳定运行 210 d 以上的以 $200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 喹啉为燃料的双极室循环 MFC 中 16 次取阳极液用液体稀释法分离. 固体培养基: Na_2HPO_4 $4.0896 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, NaH_2PO_4 $2.544 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, NH_4Cl $0.31 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, KCl $0.13 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 少量维生素和微量元素, $500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 葡萄糖和 $5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 喹啉 2% 琼脂. 培养皿涂布后于厌氧箱 (Don Whitley Scientific, DG250 workstation) 中恒温 (30°C) 倒置培养. 每培养 3~4 d 后划线纯化分离, 16 次涂布的观察统计证明混合菌 MFC 中可培养菌有 4 种不同形态, 多次纯化后得到的 4 株菌 (分别代表 4 种不同形态的可培养菌), 在液体培养基中分别富集后, 各自移入经灭菌的 MFC 反应器的阳极室, 测定其产电性能. 4 株菌分别命名为 Q1、b、c、d. 电化学活性最强的菌株 Q1 已用 16S rRNA 序列分析鉴定为假单胞菌属 (*Pseudomonas* sp.), 与 *Pseudomonas citronellolis* DSM 50332^T 的同源性为 96.9%^[13].

1.2 菌株 16S rDNA 序列分析

采用试剂盒 FastDNA[®] SPIN Kit for Soil (MP Biomedicals, Santa Ana, CA) 提取 MFC 阳极电极上微生物的基因组 DNA, 然后进行 PCR 扩增. 采用对大多数细菌和古细菌 16S rDNA 基因 V3 区都具有特异性的引物对 V3-2 (5'-ATTACCGCGGCTGCTGG-3') 和 V3-3 (5'-CGCCGCGCGCGCGGCGGGCGGGC GGGGACGCGGGGCTACGGGAGGCAGCAG-3') (Invitrogen Biotechnology Co. Ltd) 在 $25 \mu\text{L}$ 的反应体系进行 PCR 扩增. $25 \mu\text{L}$ 反应体系组成为: $2 \mu\text{L}$ 模板, $2.5 \mu\text{L}$ $10 \times \text{PCR Buffer}$, $2.0 \mu\text{L}$ DNTP

mixture $0.5 \mu\text{L}$ 每种引物 $0.13 \mu\text{L}$ *Taq* 酶, 其余用无菌超纯水补足. PCR 扩增程序如下: 94°C 预变性 5 min; 接着 10 个循环, 每个循环包括 94°C 预变性 30 s, 61°C 退火 30 s (每个循环退火温度降低 0.5°C), 和 72°C 延伸 1 min; 然后接着 25 个循环, 每个循环包括 94°C 预变性 30 s, 55°C 退火 30 s, 和 72°C 最终延伸 1 min. 琼脂糖凝胶电泳检测扩增产物的大小后, 将扩增产物克隆后进行测序. 测序结果通过在线分析 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>), 与 GenBank 中的 16S rDNA 基因序列进行相似性比较^[14].

1.3 电化学活性测定

菌株的电化学活性分别采用循环伏安法 (CV) 和 MFC 进行测定.

1.3.1 循环伏安法

4 株菌在已灭菌的液体培养基中厌氧培养 48h 后, 取 20mL 菌悬液, 经离心和清洗后重悬于含 $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl 的磷酸盐缓冲溶液中, 然后用电化学工作站 (CHI 660C), 用玻碳电极 (直径为 3mm, CHI104), 铂丝电极 (CHI115) 和 Ag/AgCl 参比电极 (CHI111) 以三电极模式, 在高纯 N_2 保护下, 以 $0.020 \text{ V} \cdot \text{s}^{-1}$ 的充/放电频率在 $-0.600 \sim +1.000 \text{ V}$ 之间循环测试菌悬液的氧化还原特性^[15], 绘制循环伏安曲线.

1.3.2 MFC 产电性能测试

采用双极室间歇式 MFC, 阳极室和阴极室总体积分别均为 14 mL ($\pi \times 1.5 \text{ cm} \times 1.5 \text{ cm} \times 2 \text{ cm}$). 阳极材料为碳纤维毛刷, 填充毛刷后阳极室有效体积为 10 mL . 阴极材料为碳布 (UT70-20), 表面积为 7 cm^2 ($\pi \times 1.5 \text{ cm} \times 1.5 \text{ cm}$), 阴极室投加 $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 铁氰化钾为电子受体. 两室以质子交换膜 (Nafion 212) 隔开. 外阻为 1000Ω .

阳极液的碳源由 $200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 喹啉和 $300 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 葡萄糖组成, 无机盐主要成分为: Na_2HPO_4 $4.0896 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, NaH_2PO_4 $2.544 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, NH_4Cl $0.31 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, KCl $0.13 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 以及少量维生素和微量元素. MFC 反应器和阳极液经 121°C 灭菌 20 min 后, 在阳极室接种单一菌株或两两混合的菌株, 开始运行并由数据采集系统 (DT85) 记录输出电压, 记录频率为 $2 \text{ 次} \cdot \text{min}^{-1}$. 温度控制在 $(30 \pm 1)^\circ\text{C}$.

库仑效率 CE 按照公式 (1)^[16] 计算:

$$\text{CE} = \frac{\sum_{i=1}^n U_i t_i}{RFb\Delta SV} M \quad (1)$$

电荷量 $Q(\text{C})$ 按照公式 (2) 计算:

$$Q = \frac{\sum_{i=1}^n U_i t_i}{R} \tag{2}$$

式中, U_i 为 t_i 时刻 MFC 输出电压, R 为外电阻, F 为法拉第常数, $96\,485\text{ C}\cdot\text{mol}^{-1}$, b 为 1 mol COD 所对应的电子数, 等于 $4\text{ e}^{-}\cdot\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$, ΔS 为 COD 去除浓度 ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$), V 为使用基质体积 (L). M 为氧分子量, 等于 $32\text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$.

1.4 喹啉浓度的测定

喹啉的浓度采用 HPLC 分析 (Agilen1100, USA), 流动相为甲醇: 水 = 80: 20 (体积比), 流速 $1.0\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, 色谱柱为 TC-C18 反相柱 (ODS, $250\text{ mm}\times 4.6\text{ mm}$, $5\text{ }\mu\text{m}$), 柱温 25°C , 测定波长为 $275\text{ nm}^{[12]}$.

1.5 喹啉代谢产物测定

以喹啉与葡萄糖为混合燃料, 1 个用菌株 Q1 构建的纯菌 MFC 和 1 个用原混合菌构建的 MFC 运行

周期结束后, 保留其出水研究代谢产物. 先用氯仿分多次将出水中的有机物萃取出来, 加入经灼烧后的无水硫酸钠吸水后, 再用氮气吹脱氯仿浓缩目标物. 代谢产物中的有机物用气相色谱质谱联用仪 (GC-MS) 鉴定.

2 结果与分析

2.1 菌株筛选纯化和鉴定结果

用活菌计数法^[17]对 64 个涂布培养皿进行统计, 与 Q1 形态一致的菌落在 64 个培养皿中比例均占群落总体的 80% 以上, 是阳极液能够以固体培养基培养的细菌中的优势菌. 其中的非产电菌鉴定结果见表 1.

从鉴定结果中看出, 可培养菌中以假单胞菌属 (*Pseudomonas* sp.) 居多, 这是因为假单胞菌属的细菌能以多种有机物为单一碳源, 适应能力强^[18].

表 1 3 株非产电菌株鉴定结果
Table 1 Identification of the three non-electrogenesis bacteria

菌株	最接近菌种 (基因库中编码)	相似度		菌落形态					
		/%	颜色	形状	干湿情况	高度	透明程度	大小/mm	边缘
b	<i>Burkholderia</i> sp. BP23-1 (GU112180.1)	100	蓝色	圆形	湿润	隆起	不透明	1	整齐
c	<i>Pseudomonas</i> sp. BCBo7 (EU140960.1)	100	中间橙色 外沿白色	不规则	干燥	凹下	不透明	2	锯齿
d	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> clone CMC1126 (GU414571.1)	100	橙色	圆形	湿润	隆起	不透明	1~3	整齐

2.2 单一菌株性能

2.2.1 单一菌株电化学活性

用循环伏安法测纯菌悬液, 峰可代表菌株细胞组成的电化学活性. 菌株 Q1 在 $+0.40\text{ V}$ 左右出现一个氧化峰, 峰高约 $1.7\text{ }\mu\text{A}$, 在 $+0.60\text{ V}$ 左右出现一个很小的还原峰^[13]. 菌株 b、c、d 的结果如图 1 所示, 这 3 株菌均只有氧化峰, 峰高约 $0.7\text{ }\mu\text{A}$, 小于菌株 Q1. 表明菌株 b、c、d 细胞组成的电化学活性相

似, 均弱于菌株 Q1.

2.2.2 单一菌株 MFC 产电性能

以 $200\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 喹啉和 $300\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 葡萄糖为混合燃料时, 菌株 Q1 最高电压可达 176 mV , 电荷量达 11.30 C , 库仑效率为 14.50% ^[13]. 菌株 b、c、d 的产电性能如图 2 所示. 3 株菌单独在电池中存在时, 均不产电.

2.2.3 单一菌株降解喹啉性能

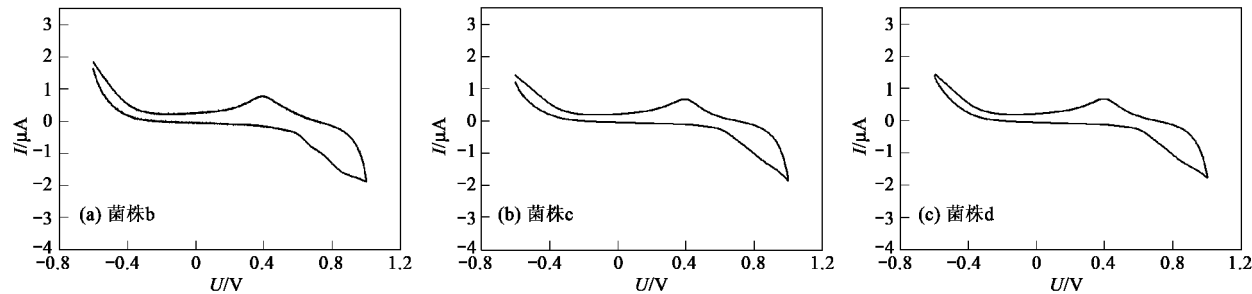


图 1 菌株 b、菌株 c 和菌株 d 循环伏安曲线

Fig. 1 Cyclic voltammograms for strain b, strain c and strain d

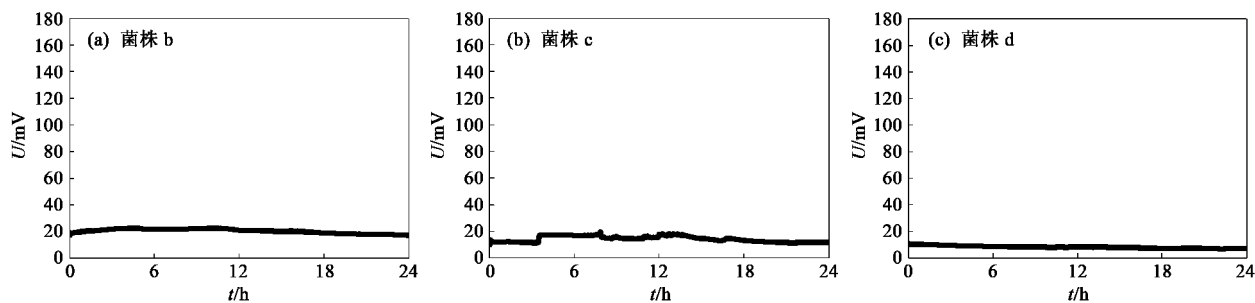


图2 菌株 b、菌株 c 和菌株 d 以 $200\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 喹啉和 $300\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 葡萄糖为燃料产电电压

Fig. 2 Voltages generation by strain b , strain c and strain d using $200\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ quinoline and $300\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ glucose as the fuel

将 4 株菌以 $200\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 喹啉和 $300\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 葡萄糖为碳源分别进行普通厌氧培养和在 MFC 中培养 24 h 后测喹啉浓度 ,产电菌 Q1 在 MFC 中 24h 后去除喹啉率达 99.53%^[13] ,非产电菌株 b、c、d 的降解效果如表 2 所示.

由表 2 可知 ,非产电菌株 b 和 c 在 MFC 中虽不

产电 ,但与普通厌氧培养相比 ,在 MFC 中喹啉去除率更高 ,即其更适应 MFC 环境. 非产电菌株 d 情况相反. 只有当喹啉去除率达到一定百分比时 ,如表 2 中的 54.69% 和 47.38% ,中间产物积累到一定的量 ,出水才有明显的颜色改变 ,其中的菌株 b 和 c 代谢产物明显有所不同.

表 2 3 菌株以 $200\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 喹啉和 $300\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 葡萄糖为碳源在 24 h 后对喹啉去除率

Table 2 Quinoline degradation rates of the 3 strains using $200\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ quinoline and $300\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ glucose concentrations after 24 h

菌株	进水颜色	普通厌氧培养			在 MFC 中培养			使用 MFC 对喹啉去除率影响 (MFC 中喹啉去除率 - 普通厌氧培养下喹啉去除率) / %
		剩余喹啉浓度 / $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	喹啉去除率 / %	出水颜色	剩余喹啉浓度 / $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	喹啉去除率 / %	出水颜色	
b	无色	138.88	30.56	无色	90.62	54.69	淡黄	+24.13
c	无色	177.46	11.27	无色	105.24	47.38	淡粉红	+36.11
d	无色	158.81	20.59	无色	184.44	7.78	无色	-12.81

2.3 产电菌 Q1 与非产电菌复合的性能

2.3.1 复合菌株 MFC 产电性能

当以喹啉初始浓度 $200\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和葡萄糖初始浓度 $300\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 为混合燃料时 ,共同接种产电菌 Q1

与 1 株非产电菌于 MFC 阳极 ,产电性能见图 3 与表 3 ,从中可看出 ,Q1 与菌株 b 混合时产电效果最差 ,菌株 Q1 与菌株 d 混合时产电效果最佳 ,但 3 种组合的产电效果均不如菌株 Q1 单独产电^[13] 时好.

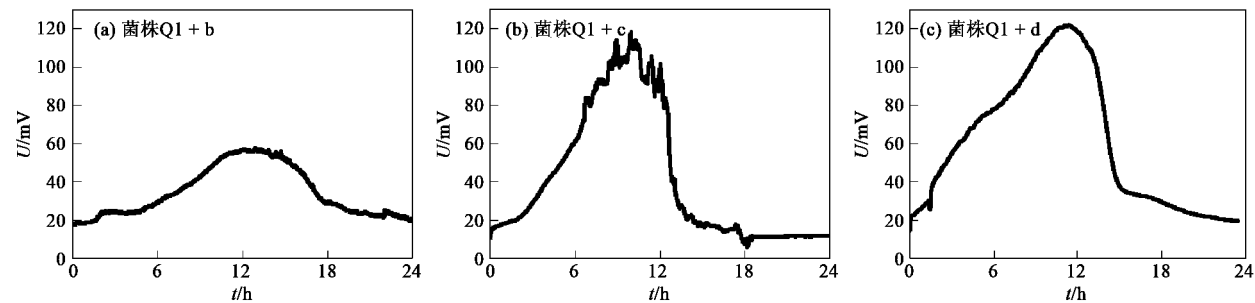


图3 菌株 Q1 和菌株 b 复合 ,菌株 Q1 和菌株 c 复合以及菌株 Q1 和菌株 d 复合以 $200\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 喹啉和 $300\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 葡萄糖为燃料产电电压

Fig. 3 Voltages generation by strain Q1 + b , strain Q1 + c , strain Q1 + d using $200\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ quinoline and $300\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ glucose as the fuel

2.3.2 复合菌株降解喹啉性能

当以喹啉初始浓度 $200\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和葡萄糖初始

浓度 $300\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 为混合燃料时 ,共同接种产电菌 Q1 与 1 株非产电菌于 MFC 阳极 ,24 h 后降解喹啉

特性见表 4. 由表 4 可看出 ,当 Q1 与 1 株非产电菌共存于阳极时 ,对喹啉的去除率在 24h 后都能达到 100% .

表 3 菌株 Q1 复合非产电菌株以 200 mg•L⁻¹ 喹啉和 300 mg•L⁻¹ 葡萄糖为燃料产电数据表
Table 3 Electricity generation performance by strain Q1 combining with the 3 non-electrogenesis strains using 200 mg•L⁻¹ quinoline and 300 mg•L⁻¹ glucose as the fuel

菌株	最高电压 /mV	电荷量 /C	库仑效率 /%
Q1 + b	57	3.00	3.85
Q1 + c	118	3.57	4.59
Q1 + d	122	5.13	6.58

表 4 菌株 Q1 复合非产电菌株以 200 mg•L⁻¹ 喹啉和 300 mg•L⁻¹ 葡萄糖为燃料在 24 h 后去除喹啉结果
Table 4 Quinoline degradation rates of strain Q1 combining with 3 non-electrogenesis strains using 200 mg•L⁻¹ quinoline and 300 mg•L⁻¹ glucose as fuel after 24 h

菌种代号	剩余喹啉浓度 / mg•L ⁻¹	喹啉去除率 /%	出水颜色
Q1 + b	0	100	黄
Q1 + c	0	100	粉红
Q1 + d	0	100	淡粉红

2.4 代谢产物测定

产电菌株 Q1 和原混合菌 MFC 周期结束时出水中存在的有机物均为 2-羟基喹啉和苯酚. 代谢产物质谱图见图 4.

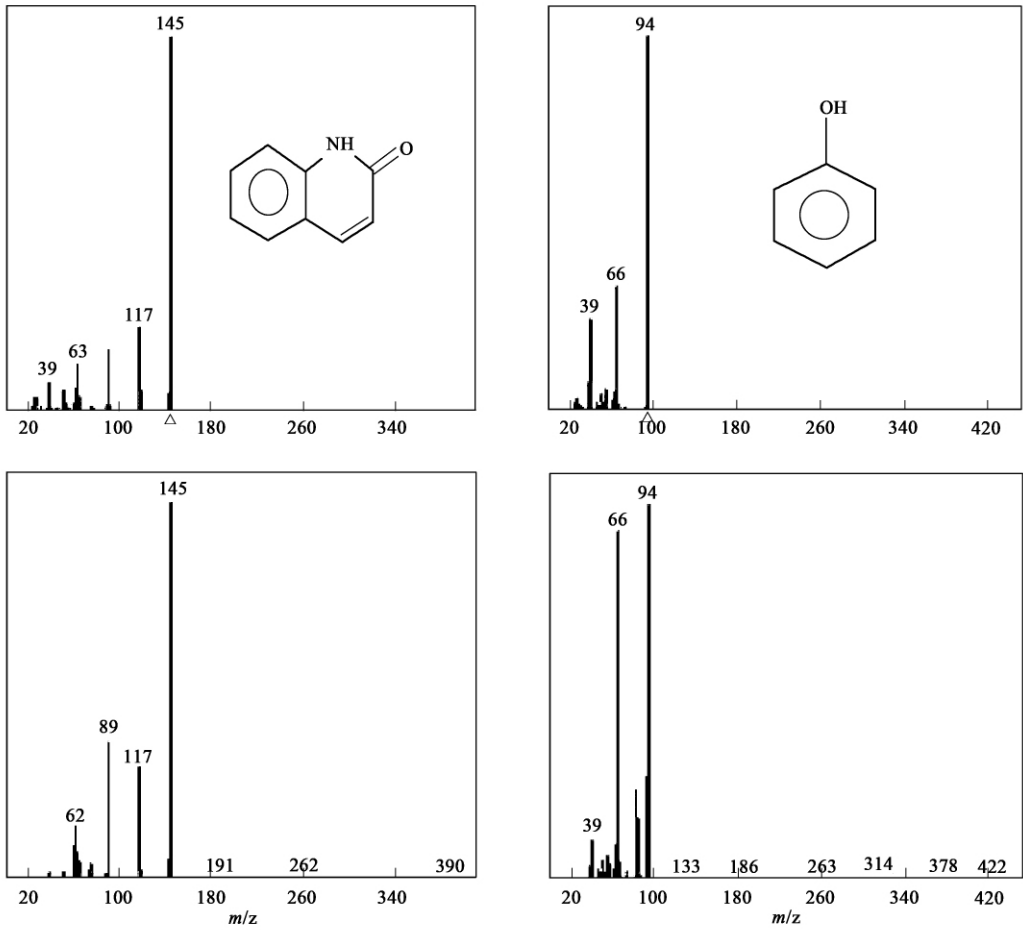


图 4 菌株 Q1 和原混合菌代谢产物质谱图
Fig. 4 Metabolites mass spectrograms of bacterium strain Q1 and original mixed strains

3 讨论

3.1 产电性能

当以 200 mg•L⁻¹ 喹啉和 300 mg•L⁻¹ 葡萄糖为碳源时 ,产电菌 Q1 与非产电菌复合产电的效果均

不如产电菌 Q1 单独产电时效果好. 将表 2 中 3 种非产电菌单独在 MFC 里培养时去除喹啉的数据与表 3 中 3 种组合产电的电荷量对比 ,可看出 ,随着非产电菌株的去除喹啉性能由好变差 ,它们与菌株 Q1 复合产电的产电效果由差变好 ,这是由于当 MFC 里

有 2 种细菌共存的时候,部分燃料被菌株 b、c、d 消耗,没能被菌株 Q1 利用来产电的缘故。被非产电菌消耗的喹啉越多,菌株 Q1 利用来产电的喹啉量就越少,产电效果就越差。以喹啉为燃料的产电菌与非产电菌间存在的这一竞争关系,与梁鹏等^[9]、Borole 等^[10]对易降解有机物 MFC 的研究一致。

Park 等^[19]的研究指出,纯菌产电效果不如混合菌的原因有两个方面,一是有机物在纯菌电池中不能被完全氧化,二是分离出来的纯菌并非原混合菌 MFC 中唯一的产电菌。本研究中由纯菌和原混合菌 MFC 代谢产物的测定结果(见图 4)可知,以 Q1 构建的 MFC 对有机物氧化的终产物和原混合菌构建的 MFC 的完全一致,都为 2-羟基喹啉和苯酚,证明产电菌 Q1 单独存在于 MFC 中时产电效果之所以劣于原混合菌 MFC,并非由于有机物没有完全氧化,而是因为原混合菌 MFC 中,不只存在 Q1 这 1 株产电菌。

3.2 单一菌株与复合菌株去除喹啉特性对比

非产电菌 b、c、d 去除喹啉效果均不如目前已发表的文献中的不产电的降解喹啉菌,与同属的菌对比,柏耀辉等^[20]指出 *Pseudomonas* sp. 菌在 3 h 内能完全降解 $192 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 喹啉, Wang 等^[21]指出 *Burkholderia* sp. 菌在 2 h 内能完全降解 $200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 喹啉,说明本研究中的菌株 b、c、d 降解喹啉效率不高。

从表 2 可以看出,以 $300 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 葡萄糖和 $200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 喹啉为混合燃料时,非产电菌株 b、c 虽不产电,但在 MFC 中降解喹啉的效果比普通厌氧培养的好,去除率分别高出普通培养 24.13% 和 36.11%,菌 d 则相反。菌株在不同培养条件下对喹啉去除率的改变,说明 MFC 环境中某些因素例如电极,能导致细菌的一些代谢碳源所需酶被激活或被抑制。

当产电菌株 Q1 和 3 株非产电菌分别复合培养时,24 h 内都能 100% 去除喹啉(见表 4),去除效果比 4 株菌构建的纯菌 MFC 的都要好。这和 More 等^[22]和 Niessen 等^[23]的研究一致,即与单一菌相比,混合菌由于有不同细菌种类存在,更有利于利用复杂碳源,复杂碳源包括实际废水,或本研究中的易降解有机物葡萄糖和难降解有机物喹啉组成的混合燃料。

4 结论

(1) 从以 $200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 喹啉为燃料的混合菌 MFC 阳极分离提纯出 4 株兼性厌氧菌 Q1、b、c、d,分别

代表原 MFC 中所有 4 类不同菌落形态的可培养菌。16S rDNA 序列分析结果表明,菌株 Q1、c 和 d 属于假单胞菌属(*Pseudomonas* sp.),菌株 b 属于伯克霍尔德菌属(*Burkholderia* sp.)。菌株 b、c、d 均为非产电菌。

(2) 当以 $200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 喹啉和 $300 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 葡萄糖为混合燃料产电时,产电菌 Q1 与非产电菌 b、c、d 复合产电时获得的电荷量分别为 3.00、3.57 和 5.13 C,库仑效率分别为 3.85%、4.59% 和 6.58%,产电菌与非产电菌对燃料的降解利用存在竞争关系,使得复合菌产电能力比产电菌 Q1 单独时的产电能力差。

(3) 在 MFC 中,非产电菌与产电菌复合培养时 24 h 内对喹啉的去除率达 100%,降解喹啉效果优于 4 株菌构建的纯菌 MFC(分别为 Q1:99.53%,b:54.69%,c:47.38%,d:7.78%)。

(4) 产电菌株 Q1 构建的纯菌 MFC 和原混合菌 MFC 周期结束时出水中存在的喹啉代谢产物均为 2-羟基喹啉和苯酚。

参考文献:

- [1] Logan B E. Microbial Fuel Cells [M]. USA: John Wiley & Sons, 2008. 4-6.
- [2] Kim B H, Park H S, Kim K J, et al. Enrichment of microbial community generation electricity using a fuel-cell-type electrochemical cell [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2004, 63 (6): 672-681.
- [3] Logan B E, Regan J M. Electricity-producing bacterial communities in microbial fuel cells [J]. Trends in Microbiology, 2006, 14 (12): 512-518.
- [4] Phung N T, Lee J, Kang K H, et al. Analysis of microbial diversity in oligotrophic microbial fuel cells using 16S rDNA sequences [J]. FEMS Microbiology Letters, 2004, 233 (1): 77-82.
- [5] Park D H, Zeikus J G. Impact of electrode composition on electricity generation in a single compartment fuel cell using *Shewanella putrefaciens* [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2002, 59: 58-61.
- [6] Gorby Y A, Yanina S. Electrically conductive bacterial nanowires produced by *Shewanella oneidensis* strain MR-1 and other microorganisms [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA, 2006, 103 (30): 11358-11363.
- [7] Rabacy K, Boon N, Hofte M, et al. Microbial phenazine production enhances electron transfer in biofuel cells [J]. Environmental Science and Technology, 2005, 39 (9): 3401-3408.
- [8] Kodama Y, Watanabe K. An electricity-generating prostocate bacterium strain Mf52 isolated from a microbial fuel cell [J]. Federation of European Microbiological Societies, 2008, 288:

- 55-61.
- [9] 梁鹏,黄霞,范明志,等. 双筒型微生物燃料电池产电及污水净化特性的研究 [J]. 环境科学, 2009, **30** (2): 616-620.
- [10] Borole A P, Hamilton C Y, Vishnivetskaya T, *et al.* Improving power production in acetate-fed microbial fuel cells via enrichment of exoelectrogenic organisms in flow-through systems [J]. Biochemical Engineering Journal, 2009, **48**: 71-80.
- [11] Behera M, Ghangrekar M M. Performance of microbial fuel cell in response to change in sludge loading rate at different anodic feed pH [J]. Bioresource Technology, 2009, **100**: 5114-5121.
- [12] 张翠萍,王志强,刘广立,等. 降解喹啉的微生物燃料电池的产电特性研究 [J]. 环境科学学报, 2009, **29** (4): 740-746.
- [13] 陈姗姗,张翠萍,刘广立,等. 一株以喹啉为燃料的产电假单胞菌(*Pseudomonas* sp.) Q1 的特性研究 [J]. 环境科学学报, 2010, **30** (6): 1130-1137.
- [14] Li J, Liu G L, Zhang R D, *et al.* Electricity generation by two types of microbial fuel cells using nitrobenzene as the anodic or cathodic reactants [J]. Bioresource Technology, 2010, **101** (11): 4013-4020.
- [15] Park H S, Kim B H, Kim H S, *et al.* A novel electrochemically active and Fe(III)-reducing bacterium phylogenetically related to *Clostridium butyricum* isolated from a microbial fuel cell [J]. Anaerobe, 2001, **7** (6): 297-306.
- [16] Liu H, Logan B E. Electricity generation using an air-cathode single chamber microbial fuel cell in the presence and absence of a proton exchange membrane [J]. Environmental Science and Technology, 2004, **38**: 4040-4046.
- [17] 陈声明,林海萍,张立钦. 微生物生态学导论 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2007. 172-174.
- [18] Wang J L, Quan X C, Han L P, *et al.* Microbial degradation of quinoline by immobilized cells of *Burkholderia picektti* [J]. Water Research, 2002, **36**: 2288-2296.
- [19] Park D H, Zeikus J G. Impact of electrode composition on electricity generation in a single compartment fuel cell using *Shewanella putrefaciens* [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2002, **59**: 58-61.
- [20] 柏耀辉,赵翠,肖亚娜,等. 降解喹啉的假单胞菌 BW003 菌株的分离、鉴定和降解特性 [J]. 环境科学, 2008, **29** (12): 3546-3553.
- [21] Wang J L, Wu W Z, Zhao X. Microbial degradation of quinoline: kinetics study with *Burkholderia picektti* [J]. Biomedical and Environmental Sciences, 2004, **17** (1): 21-28.
- [22] More T T, Ghangrekar M M. Improving performance of microbial fuel cell with ultrasonication pre-treatment of mixed anaerobic inoculum sludge [J]. Bioresource Technology, 2010, **101**: 562-567.
- [23] Niessen J, Schroder U, Scholz F. Exploiting complex carbohydrates for microbial electricity generation—a bacterial fuel cell operating on starch [J]. Electrochemistry Communications, 2004, **38**: 955-958.