

一株产电菌 *Nitrateductor* sp. WJ5-4 的筛选及产电分析

刘盛萍^{1,2} 吴晶³ 吴克^{2,4*} 俞志敏^{2,4} 巫杨^{1,2}

- (1. 合肥学院 生物与环境工程系 安徽 合肥 230601)
- (2. 安徽省环境污染防治与生态修复协同创新中心 安徽 合肥 230601)
- (3. 泰州市环保局 江苏 泰州 225308)
- (4. 合肥环境工程研究院 安徽 合肥 230601)

摘要: 【目的】从生物垃圾燃料电池阳极淋洗液中分离一株产电菌 WJ5-4, 研究其产电特性。

【方法】根据菌株的形态、生理生化性质及 16S rRNA 基因测序分析确定其种属, 以该菌株为产电菌, 以生物垃圾为底物, 构建微生物燃料电池(Microbial fuel cell, MFC), 研究在不同接种浓度和底物固含量条件下菌株的产电性能。【结果】菌株 WJ5-4 被初步鉴定属于 *Nitrateductor* 属, 当接种量 200 mL 时可获得最大功率密度 135.16 mW/m²、稳定电压 370 mV 和总有机碳(Total organic carbon, TOC)降解率 41.46%。当底物固含量为 23%时, 可获得最大功率密度 163.69 mW/m²、稳定电压 434 mV 和 TOC 降解率 46.29%。【结论】WJ5-4 菌能够利用较高固含量的生物垃圾产电, 产电周期较长, 为下一步微生物燃料电池处理生物垃圾提供科学依据。

关键词: 产电菌, *Nitrateductor*, 微生物燃料电池, 生物垃圾

Isolation and characterization of an electricity-producing strain *Nitrateductor* sp. WJ5-4

LIU Sheng-Ping^{1,2} WU Jing³ WU Ke^{2,4*} YU Zhi-Min^{2,4} WU Yang^{1,2}

- (1. Department of Biological and Environmental Engineering, Hefei University, Hefei, Anhui 230601, China)
- (2. Collaborative Innovation Center for Environmental Pollution Precaution and Ecological Rehabilitation of Anhui, Hefei, Anhui 230601, China)
- (3. Taizhou Environmental Protection Bureau, Taizhou, Jiangsu 225308, China)
- (4. Hefei Institute of Environmental Engineering, Hefei, Anhui 230601, China)

Abstract: [Objective] To isolate and obtain an electrochemically bacterium (exoelectrogen), strain WJ5-4, from anode leachate of MFC using biowaste as substrate and to study its electrical characteristics. [Methods] The strain was identified by morphological observation, physiological and biochemical properties and 16S rDNA sequence analysis. MFC (microbial fuel cell) was constructed using strain WJ5-4 as exoelectrogen and using biowaste as substrate. The electrical properties of strain WJ5-4 was studied on different inoculation concentration and solid content. [Results] The strain WJ5-4

基金项目: 安徽省教育厅自然科学研究项目(No. KJ2011B138); 安徽省高等教育振兴计划人才项目(No. 20131128); 合肥学院重点学科项目(No. 2014XK01); 学科带头人培养对象项目(No. 2014DT02)

*通讯作者: Tel: 86-551-62158149; 信箱: wuke@hfu.edu.cn

收稿日期: 2014-08-08; 接受日期: 2014-11-25; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2014-11-26

belonged to *Nitratireductor*, when inoculation concentration was 200 mL, the maximum power density was 135.16 mW/m², stable working voltage was 370 mV and degradation of TOC (total organic carbon) was up to 41.46%. When solid content was 23%, power density was 163.69 mW/m², the voltage was 434 mV, and degradation of TOC was up to 46.29%. **[Conclusion]** Strain WJ5-4 could produce electricity using higher solid content biowaste, and the electricity production cycle was longer. These results would provide reliable basis for further treatment of biowaste by the means of MFC.

Keywords: Exoelectrogen, *Nitratireductor*, Microbial fuel cell, Biowaste

微生物燃料电池(Microbial fuel cell, MFC)是一种利用微生物作为催化剂将有机质化学能转变为电能的新颖技术装备^[1-5],在可再生能源、废水处理、生物传感及生物修复等领域具有广泛的应用^[6-8]。在MFC中核心是微生物(统称为产电菌),作为生物催化剂,能利用各种有机物包括废物及生物质维持自身生长,并将获得的电子传递到电极。

根据电池中微生物种属组成进行分类,可分为混合菌MFC和纯菌MFC,使用单一菌种研究微生物的产电机理以及降解过程难度较使用混合菌低,相对于混合菌产电,单菌产电降低了对MFC运行条件如产电菌的生长代谢环境的控制、燃料的选择等,研究结果表明光合细菌 *Rhodospseudomonas palustris*, 其单独产电能力比其存在的群落混合菌高^[9]。因此筛选高效产电单菌将是微生物燃料电池中产电菌的研究趋势之一。目前,报道的产电微生物有二十多种,大部分隶属变形菌门,嗜温革兰氏阴性菌^[6,10],代表的产电菌有已完成了全基因组测序的硫还原地杆菌(*Geobacter sulfurreducens*)和希瓦氏菌(*Shewanella oneidensis*)^[11-16],还有厚壁菌门的嗜热革兰氏阳性菌,其中 *T. potens* strain JR 和 *T. ferriacetica* strain Z-0001 能在无介质条件下将电子传递到电极^[17]。产电菌的筛选目前还没有统一的方法,本文以运行稳定的生物垃圾燃料电池中阳极淋洗液作为菌种来源,通过多次富集培养,平板分离筛选得到一株产电菌 WJ5-4,本文主要报道该菌的筛选、鉴定和产电分析等工作。

1 材料与方法

1.1 培养基

液体富集培养基(g/L): 可溶性淀粉 10.0,

K₂HPO₄·3H₂O 1.0, MgSO₄·7H₂O 1.0, NaCl 1.0, CaCl₂ 0.5, (NH₄)₂SO₄ 2.0, 微量元素 10 mL, 微量元素溶液成分为(g/L): FeSO₄·7H₂O 1.0, ZnCl₂ 0.1, MnSO₄·H₂O 0.06, CoCl₂·7H₂O 0.12, Na₂S·9H₂O 1.0, pH 7.0-7.4。固体分离培养基为在液体富集培养基的基础上加入 2%琼脂。基础培养基为在液体富集培养基上去除淀粉及(NH₄)₂SO₄,根据具体实验项目补加碳源和氮源。

1.2 产电装置

实验装置采用试剂瓶型双室微生物燃料电池,阳极室装入固含量约 29%的生物垃圾,阴极室加入磷酸盐缓冲溶液,阴阳室装液体积均为 1 800 mL,两室之间通过盐桥传递质子。阴极电极为高纯碳棒,镀 PbO₂作催化剂,有效面积 22.97 cm²,阳极电极为碳纤维布,尺寸 10 cm×17 cm,考虑阳极电极尽可能大,以及阳极电极始终处于漂浮状态不宜计算有效面积,计算电流密度和功率密度以阴极面积为基准。两电极用涂有环氧树脂的铜导线接出,外接电阻为 1 000 Ω,导线和铁夹避免深入溶液下,以免导线和铁夹被氧化腐蚀失去导电能力、短路或降低电压数据。阳极室反应器以生料带及环氧树脂封口密封,阳极室顶端中央打孔插入排气管及导线,边缘打孔放置盐桥,反应器侧壁 1 500 mL 液面处打孔以便取样测试(图 1)。

1.3 产电菌筛选

以生物垃圾为底物,污水处理厂活性污泥为接种物,构建双室 MFC,待其运行至稳定期后,取出 MFC 阳极碳纤维布,用去离子水冲洗碳纤维布为接种菌液,吸取菌液利用液体富集培养基富集,按 1% 接种,以液体石蜡进行液封,经过多次富集至一定

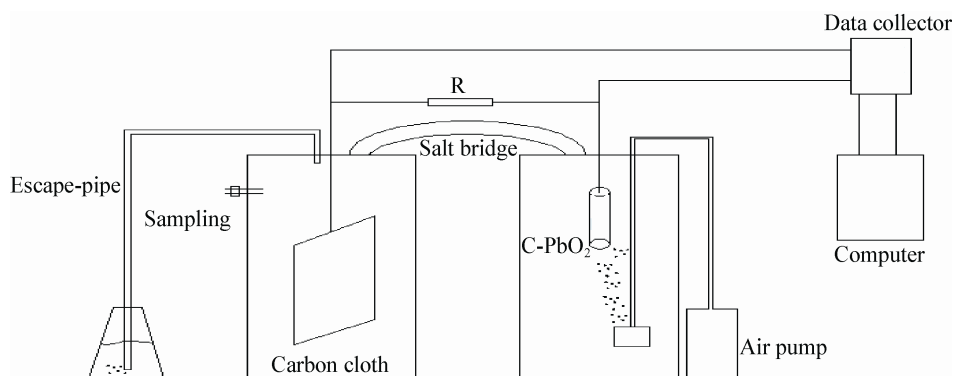


图1 微生物燃料电池装置结构图
Figure 1 Structure diagram of MFC

程度时采用双层叠皿法 0.2 mL 稀释涂布于琼脂平板^[18], 以液体石蜡液封、保鲜膜包裹, 置于厌氧培养箱培养, 液体富集培养和固体分离培养温度均为 30 °C, 操作过程中要减少与空气的接触, 防止漏氧及感染杂菌。从琼脂平板中挑选单个菌落再次进行液体富集, 稀释涂布分离, 选用“固—液—固”反复的方法培养^[19], 直到平板上呈现形态、大小、颜色都一致的菌落。

1.4 分析方法

菌体浓度用紫外可见分光光度计(UV-757)测量, 波长 600 nm。细菌形态用扫描电子显微镜(Philips XL30)观察, MFC 实时电压采集使用 USB 数据采集器及电压实时监测软件(rbh8251)将数据传送到计算机, 电压记录频率为 1 Hz。极化曲线、功率密度曲线及最大功率密度: MFC 产电稳定后断开外电路 3–6 h, 从高电阻 50 000 Ω 至低电阻 100 Ω 改变外电阻, 待电压稳定记录电压值。根据欧姆定律计算电流密度 I 和功率密度 P , 结合功率密度曲线的最大功率密度点和极化曲线, 利用欧姆定律计算出 MFC 稳定状态下的内阻 R 。用 TOC/TC 分析仪(MUTI 2100C/N)测定阳极室整个体系(液相和固相)的 TOC 含量。

$$P (\text{mW}/\text{m}^2) = \frac{10^7 \times E^2}{R \times A} \quad (1)$$

$$I (\text{mA}/\text{cm}^2) = \frac{E \times 10^3}{R \times A} \quad (2)$$

其中, R 是外电阻(Ω), A 是阴极面积(cm^2), E 是所测电压(V)。

1.5 菌株的 PCR 扩增与 16S rRNA 基因测序

以基因组 DNA 为模板 PCR 扩增 16S rRNA 基因。PCR 反应体系选用 25 μL 反应体系: 模板(基因组) 1 μL ; Primer up (10 $\mu\text{mol}/\text{L}$) 0.5 μL ; Primer down (10 $\mu\text{mol}/\text{L}$) 0.5 μL ; dNTPs mix (10 mmol/L) 0.5 μL ; 10 \times Taq reaction buffer 2.5 μL ; Taq (5 U/ μL) 0.2 μL 加水至 25 μL 。PCR 扩增条件: 94 °C 5 min; 94 °C 30 s, 55 °C 35 s, 72 °C 1 min, 35 个循环; 72 °C 8 min。扩增的 PCR 产物在 1.5% 琼脂糖凝胶上进行电泳分离, 经 UNIQ-10PCR Product Purification Kit (Sangon and NSBC) 纯化。将纯化的 PCR 产物连接到载体 pUCm-T 上。提取有 16S rRNA 基因插入的质粒并测序, 序列测定由上海生工生物工程技术有限公司完成。

2 结果与分析

2.1 产电菌筛选

经过多次富集、分离和产电实验, 得到一株产电能力较强的菌株 WJ5-4。菌液用扫描电子显微镜观察(图 2), 可知该产电菌形态单一整齐, 乳白色, 杆状, 呈层状附着于培养基表面, 革兰氏反应为阴性。

2.2 16S rRNA 基因进化关系分析

将测序所得 16S rRNA 基因序列提交到 GenBank,

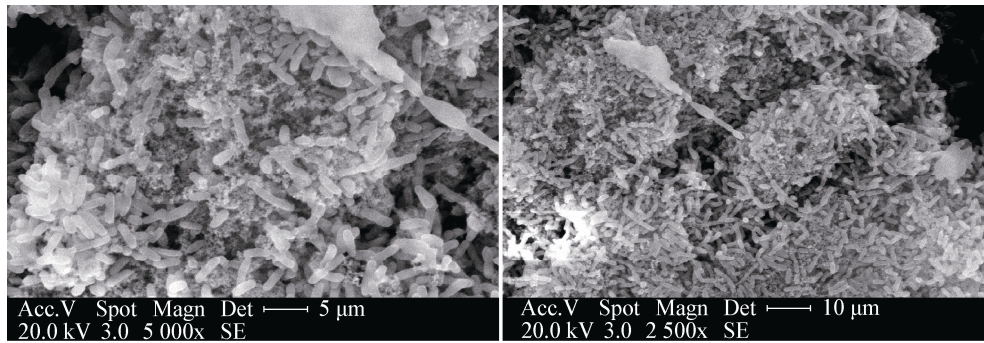


图2 菌株 WJ5-4 的扫描电镜图
Figure 2 SEM picture of strain WJ5-4

在 EzBioCloud 中比对,发现 WJ5-4 与 *Nitratireductor aquimarinus* CL-SC21^T 的相似性最高,为 99.35%。从 EzBioCloud 中选择与 WJ5-4 相似性最接近的细菌,从 GenBank 中调用其 16S rRNA 基因序列,通过 MEGA 5.05 以邻位相接法构建系统发育树(图 3)。将叶杆菌科 *Aquamicrobium aestuarii* strain G210^T、*Pseudaminobacter salicylatoxidans*^T、*Mesorhizobium thioanganeticum*^T 作为外群种 (Outgroup),从系统发育树中可以发现,WJ5-4 与 *Nitratireductor* 属最为接近,形成一个簇群,并与 *Nitratireductor aquimarinus* CL-SC21^T 相似性最高,位于同一分支(图 3)。综上,可以推测菌株 WJ5-4 属于 α -变形菌纲(Alphaproteobacteria)、柄杆菌目(Caulobacterales)、叶杆菌科(Phyllobacteriaceae)、*Nitratireductor* 属,暂命名为 *Nitratireductor* sp. WJ5-4 菌。

2.3 生理生化分析

菌株 WJ5-4 部分生理生化性质如表 1 和图 4 所

示,其最适生长 pH 为 6.5,最适生长温度为 35 °C。在基础培养基上添加硫酸铵为氮源,研究碳源利用情况,得出 WJ5-4 能很好地利用葡萄糖、乳糖、柠檬酸三铵、淀粉为碳源,不能利用正丁醇;以淀粉为碳源,测试氮源对生长的影响,得出 WJ5-4 能利用尿素、还原性硝酸盐,不能利用亚硝酸盐。在液体富集培养基中添加酵母膏,从中可以看出添加酵母膏(0.1 g/L)后菌种提前 73 h 进入稳定期,菌液浓度提高 1.4 倍,作为生长因子能明显促进 WJ5-4 菌生长。

2.4 产电分析

在 MFC 阳极室中接种 35 °C 富集培养 4 d 的纯菌液 WJ5-4,菌液浓度约为 5×10^7 个/mL,OD 值约为 0.467,以生物垃圾为底物,在无菌操作的条件下,通过改变接种浓度和阳极底物固含量,研究菌 WJ5-4 的产电特性。

2.4.1 接种浓度对菌 WJ5-4 产电能力的影响:综合图 5-8 和表 2 可以看出,接种浓度投加 100-400 mL

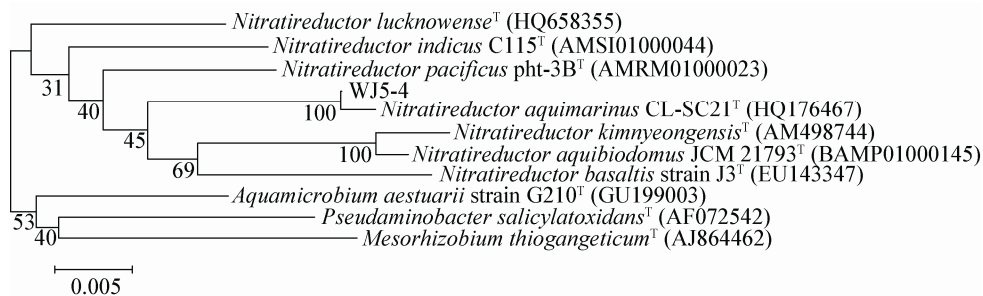


图3 菌株 WJ5-4 的 16S rRNA 基因系统发育树
Figure 3 Phylogenetic tree of strain WJ5-4 based on 16S rRNA gene sequences

表 1 菌株 WJ5-4 的生理生化性质
Table 1 Comparison of physiological and biochemical characteristics of WJ5-4

测试项目 Test items	WJ5-4
最佳生长温度 Optimal temperature for growth (°C)	35
最佳生长 pH Optimal pH for growth	6.5
葡萄糖 Glucose	+
羧甲基纤维素钠 Carboxymethylcellulose sodium	w
柠檬酸三铵 Ammonium citrate	+
邻苯二甲酸氢钾 Potassium hydrogen phthalate	w
正丁醇 Butyl alcohol	-
乳糖 Lactose	+
淀粉 Starch	+
尿素 Urea	+
还原硝酸盐 Nitrate reduction	+
还原亚硝酸盐 Nitrite reduction	-

注: +: 生长良好; w: 生长差; -: 不生长。

Note: +: Positive reaction; w: Weak; -: Negative reaction.

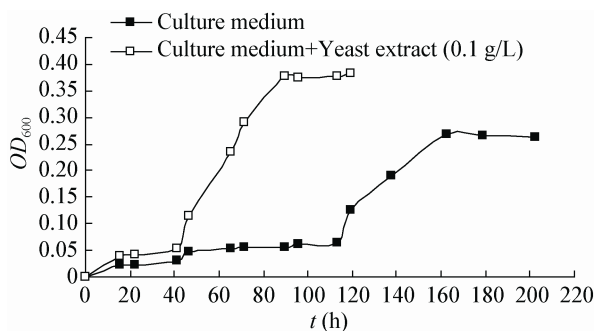


图 4 酵母膏对菌株 WJ5-4 生长的影响

Figure 4 Influence of yeast extract on growth of strain WJ5-4

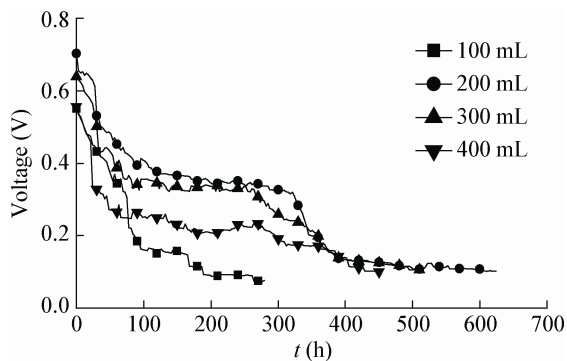


图 5 接种浓度对电压的影响

Figure 5 Effect of inoculation concentration on voltage

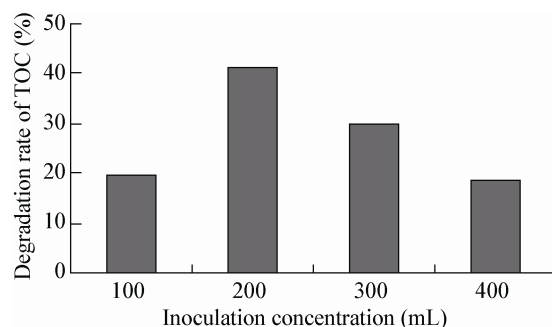


图 6 接种浓度对 TOC 降解率的影响

Figure 6 Effect of inoculation concentration on degradation rate of TOC

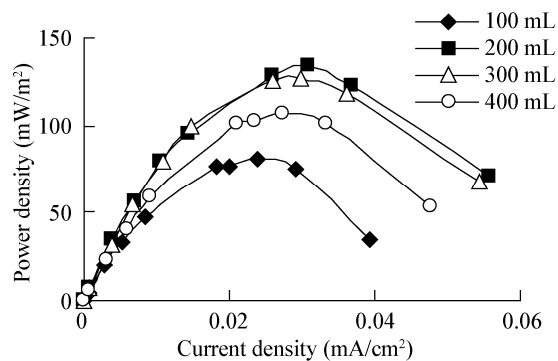


图 7 接种浓度对功率密度的影响

Figure 7 Effect of inoculation concentration on power density

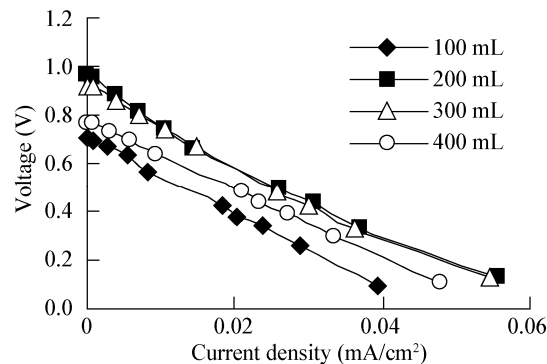


图 8 接种浓度对极化曲线的影响

Figure 8 Effect of inoculation concentration on polarization curves

表 2 不同接种浓度的产电数据及 TOC 降解率

Table 2 Electricity generation performance and degradation rates of TOC on different inoculation concentration

接种浓度 Inoculation concentration (mL)	100	200	300	400
稳定电压 Stable voltage (mV)	153	370	334	221
最大功率密度 Maximum power density (mW/m ²)	81.06	135.16	128.07	106.94
内阻 Internal resistance (Ω)	686.50	667.04	660.38	608.72
TOC 降解率 Degradation rate of TOC (%)	19.56	41.46	30.05	18.63

的稳定工作电压分别为 153、370、334 和 221 mV。最大功率密度分别为 81.06、135.16、128.07 和 106.94 mW/m²。依据功率密度曲线和极化曲线可计算出内阻分别为 686.50、667.04、660.38 和 608.72 Ω 。当接种浓度为 200 mL 时,以生物垃圾为底物的微生物燃料电池可获得最大功率密度、最大输出电压。

接种浓度 100、200、300 和 400 mL 的微生物燃料电池 TOC 降解率分别为 19.56%、41.46%、30.05% 和 18.63%。接种浓度为 200 mL 时,TOC 降解率最大。

2.4.2 固含量对 WJ5-4 菌产电能力的影响:综合图

9–12 和表 3 可以看出,当接种浓度为 200 mL,固含量为 6%–29%的稳定工作电压分别为 210、317、403、434 和 350 mV。最大功率密度分别为 107.05、107.05、124.52、163.69 和 133.51 mW/m²。内阻分别为 607.9、645.3、669、667.2 和 667 Ω 。当固含量为 23%时,可获得最大功率密度、最大输出电压。不同固含量内阻没有明显区别,与不同接种量的实验结果一致。固含量 6%–29%的 TOC 降解率分别为 18.3%、21.75%、35%、46.29%和 42.37%。当固含量为 23%时,TOC 降解率最大。

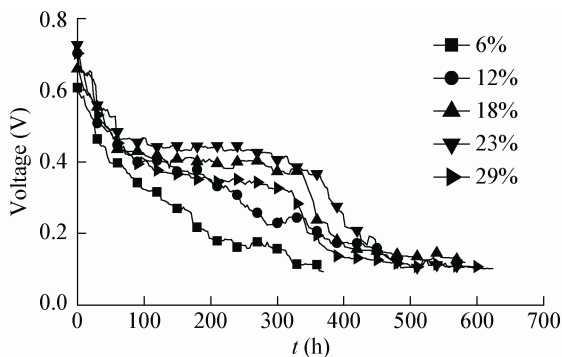


图 9 固含量对电压的影响

Figure 9 Effect of solid content on voltage

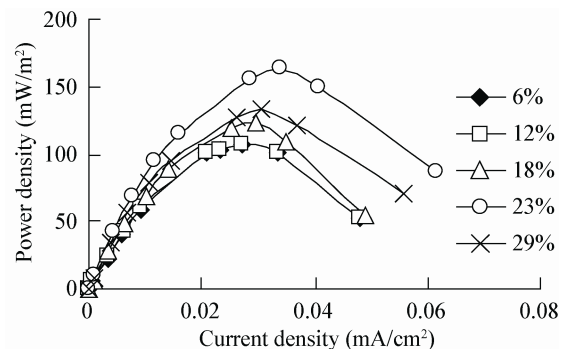


图 11 固含量对功率密度的影响

Figure 11 Effect of solid content on power density

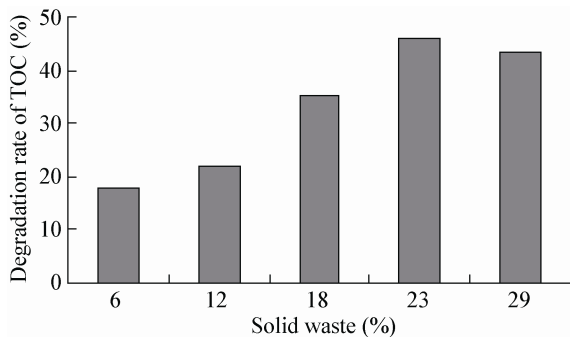


图 10 固含量对 TOC 降解率的影响

Figure 10 Effect of solid content on degradation rate of TOC

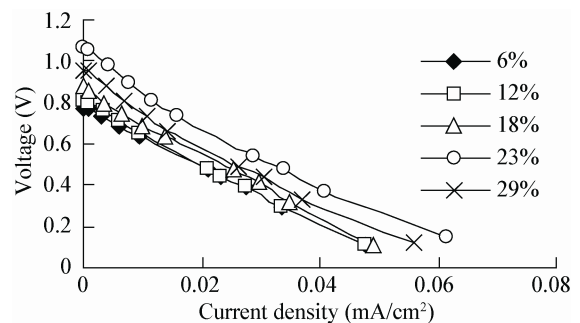


图 12 固含量对极化曲线的影响

Figure 12 Effect of solid content on polarization curves

表3 不同固含量的产电数据及 TOC 降解率
Table 3 Electricity generation performance and degradation rates of TOC on different solid content

固含量 Solid content (%)	稳定电压 Stable voltage (mV)	最大功率密度 Maximum power density (mW/m ²)	内阻 Internal resistance (Ω)	TOC 降解率 Degradation rate of TOC (%)
6	210	107.05	607.90	18.30
12	317	107.05	645.30	21.75
18	403	124.52	669.00	35.00
23	434	163.69	667.20	46.29
29	350	133.51	667.00	42.37

3 讨论

本实验筛选了一株产电菌, 暂命名为 *Nitratireductor* sp. WJ5-4, 相关文献[6,20-21]报道 *Nitratireductor* sp. 菌为变形菌门、甲型变形菌纲、根瘤菌目、叶杆菌科, 生长条件相对简单, 能利用多种碳源生长。目前可分为 6 个种, 分别为 *Nitratireductor aquibiodomus*、*Nitratireductor basaltis*、*Nitratireductor kimnyeongensis*、*Nitratireductor indicus*、*N. pacificus* 和 *Nitratireductor aquimarinus*。目前 *Nitratireductor* sp. 菌用于微生物燃料电池的研究较少。

MFC 中阳极室同于厌氧发酵反应, 接种物浓度对发酵过程的启动和运行有着重要影响, 本实验随着接种物浓度(100–200 mL)在一定范围内升高, 微生物燃料电池启动加快, 功率密度得到提高, 增加到一定比例后, 底物可利用的营养成分不足, 限制了微生物的活性, 导致功率密度降低, 同关正军等[22]研究结果基本一致。底物是微生物新陈代谢和生物量增长的来源, 从本次实验结果看, 生物垃圾固含量从 6%–23% 变化时, 供给微生物消化的营养物质充足, 继续增加底物, 阳极表面的微生物容易附着许多黏性状物质, 增加传质阻力和系统的欧姆阻力, 使体系导电性能下降, 从而降低了输出功率, 同郑晓[23]、唐玉兰等[24]的研究结果相一致。

不同接种浓度及固含量的电池内阻没有明显变化, 约在 607–687 Ω 之间, 相对于液体为底物的 MFC 内阻较高, 实验装置及固相到液相的传质阻力

是系统内阻的主要原因之一, 底物浓度也会影响内阻[25], Nam 等[26]研究了单室 MFC 利用 4 种不同浓度发酵废水的产电情况, 当浓度高于 3.84 g COD/(L·d) 时, 浓度进一步增加对 MFC 的内阻基本没有影响, 本次实验底物浓度远大于 3.84 g COD/(L·d), 内阻没有明显变化。

总体看来, 以生物垃圾为底物的 MFC 运行时间长, 最大产电周期达到 624 h, 这是以固体为底物最大的优点, 产电过程中不需要频繁更换底物, 为产电菌的富集和生长提供了更加稳定的环境[27]。

目前, 有相当多种类的生物质被应用到 MFC 中, 贾斌等[28]、Liu 等[29]、郑晓等[30]研究以剩余污泥作为燃料, 输出电压在 400–700 mV 之间, 输出功率密度在 40–250 mW/m² 之间, 其中贾斌等研究的电池内阻在 300 Ω 左右; 黄发明等[31]以象草秸秆水解产物为燃料, 功率密度达到 125.89 mW/m², 其 COD 去除率达到 83.44%; 冯玉杰等[32]以汽爆秸秆固体为底物进行微生物产电, 最大功率密度达到 406 mW/m², 同前人研究相比, 本实验产能处于中等水平(最大功率密度 163.69 mW/m²), TOC 降解率相对于梁敏等[33]研究的以剩余污泥为底物的微生物燃料电池(TOC 降解率最大为 25%)较高, 相对于燃料电池处理有机废水的 TOC 降解率(80%以上)[34]要低很多, 与液体燃料的 MFC 相比, 内阻较大, 功率密度较低, 下一步研究可通过优化 MFC 结构, 如改变 MFC 结构为单室 MFC, 使用质子膜代替盐桥作为传质材料、替换阳极电极为碳刷等尽可能降

低电池内阻的电压损失,以提高MFC的产电能力。

以生物垃圾为底物的燃料电池初始电压较高,有学者认为可能是体系未稳定造成,系统电压是由于阴阳极室电解质浓度不同而在盐桥两端处形成液接电势造成的^[23,35],受装置和底物浓度影响,但影响时间较短,系统的电压可能是微生物产电和底物还原性电位的综合作用,这个有待进一步研究。

4 结论

本文分离出一株产电菌 WJ5-4,初步鉴定为 *Nitratireductor* 属,并进行了产电实验。结果表明:改变接种浓度 100、200、300 和 400 mL,当接种浓度 200 mL 时可获得最大功率密度 135.16 mW/m²、稳定输出电压 370 mV 和最大 TOC 降解率 41.46%。当改变固含量 6%、12%、18%、23%和 29%得出,当固含量为 23%时,可获得最大功率密度 163.69 mW/m²、输出电压 434 mV 和最大 TOC 降解率 46.29%。WJ5-4 可以利用较高固含量的生物垃圾产电,在生物垃圾处理方面具有很好的价值,相对于以液体为底物的 MFC,生物垃圾燃料电池产电周期长,但内阻较大,TOC 降解率不高,在后期研究中尝试通过前期酶解底物或改进装置降低内阻,提高 TOC 降解率。

参考文献

- [1] Fan DL, Wang LY, Chen YW. Wait microbial fuel cells the latest research progress[J]. Modern Chemical Industry, 2011, 31(6): 14-18
- [2] Lemuel BW, Ching HS, James FC. Bioelectrochemical fuel cells[J]. Enzyme and Microbial Technology, 1982, 4(3): 137-142
- [3] Reimers CE, Tender LM, Fertig S, et al. Harvesting energy from the marine sediment-water interface[J]. Environmental Science & Technology, 2001, 35(1): 192-195
- [4] Kim HJ, Park HS, Hyun MS, et al. A mediator-less microbial fuel cell using a metal reducing bacterium, *Shewanella putrefaciens*[J]. Enzyme and Microbial Technology, 2002, 30(2): 145-152
- [5] Gil GC, Chang IS, Kim BH, et al. Operational parameters affecting the performance of a mediator-less microbial fuel cell[J]. Biosensors and Bioelectronics, 2003, 18(4): 327-334
- [6] Logan BE. Exoelectrogenic bacteria that power microbial fuel cells[J]. Nature Reviews Microbiology, 2009, 7(5): 375-381
- [7] Chang IS, Moon H, Jang JK, et al. Improvement of a microbial fuel cell performance as a BOD sensor using respiratory inhibitors[J]. Biosens Bioelectron, 2005, 20(9): 1856-1859
- [8] Logan BE, Hamelers B, Rozendal RA, et al. Microbial fuel cells: methodology and technology[J]. Environmental Science & Technology, 2006, 40(17): 5181-5192
- [9] Xing DF, Zuo Y, Logan BE, et al. Electricity generation by *Rhodospseudomonas palustris* DX-1[J]. Environmental Science & Technology, 2008, 42: 4146-4151
- [10] Fedorovich V, Knighton MC, Pagaling E, et al. Novel electrochemically active bacterium phylogenetically related to *Arcobacter butzleri*, isolated from a microbial fuel cell[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2009, 75(23): 7326-7334
- [11] Holmes DE, Chaudhuri SK, Nevin KP, et al. Microarray and genetic analysis of electron transfer to electrodes in *Geobacter sulfurreducens*[J]. Environmental Microbiology, 2006, 8(10): 1805-1815
- [12] Von Canstein H, Ogawa J, Shimizu S, et al. Secretion of flavins by *Shewanella* species and their role in extracellular electron transfer[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2008, 74(3): 615-623
- [13] Gorby YA, Yanina S, McLean JS, et al. Electrically conductive bacterial nanowires produced by *Shewanella oneidensis* strain MR-1 and other microorganisms[J]. Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America, 2006, 103(30): 11358-11363
- [14] Marsili E, Baron DB, Shikhare ID, et al. *Shewanella* secretes flavins that mediate extracellular electron transfer[J]. Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America, 2008, 105(10): 3968-3973
- [15] Firer-Sherwood M, Pulcu GS, Elliott SJ. Electrochemical interrogations of the Mtr cytochromes from *Shewanella*: opening a potential window[J]. Journal of Biological Inorganic Chemistry, 2008, 13(6): 849-854
- [16] Bretschger O, Obraztsova A, Sturm CA, et al. Current production and metal oxide reduction by *Shewanella oneidensis* MR-1 wild type and mutants[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2007, 73(21): 7003-7012
- [17] Marshall CW, May HD. Electrochemical evidence of direct electrode reduction by a thermophilic Gram-positive bacterium, *Thermincola ferriacetica*[J]. Energy & Environmental Science, 2009, 2(6): 699-705
- [18] Wang GG. Study on the isolation and purification of SRB and removal kinetics of heval metal[D]. Hefei: Master's Thesis of Hefei University of Technology, 2011 (in Chinese)
王国刚. 功能性硫酸盐还原菌的分离纯化与去除重金属动力学研究[D]. 合肥: 合肥工业大学硕士学位论文, 2011
- [19] Li YF, Ren NQ, Chen Y, et al. The experimental anaerobic operation of isolation and culture on hydrogen-producing and fermentative bacteria[J]. Journal of Harbin Institute of Technology, 2004, 36(12): 1589-1592 (in Chinese)
李永峰, 任南琪, 陈瑛, 等. 发酵产氢细菌分离培养的厌氧实验操作技术[J]. 哈尔滨工业大学学报, 2004, 36(12): 1589-1592
- [20] Manickam N, Pareek S, Kaur I, et al. *Nitratireductor lucknowense* sp. nov., a novel bacterium isolated from a pesticide contaminated soil[J]. Antonie van Leeuwenhoek, 2012, 101(1): 125-131

- [21] Lai QL, Yu ZW, Wang JN, et al. *Nitratireductor pacificus* sp. nov. isolated from a pyrene-degrading consortium[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2011, 61(Pt6): 1386-1391
- [22] Guan ZJ, Li WZ, Zheng GX, et al. Effect of inoculation concentration on anaerobic fermentation by solid-liquid separated solution of dairy manure[J]. Journal of Northeast Agricultural University, 2011, 42(5): 63-67 (in Chinese)
关正军, 李文哲, 郑国香, 等. 接种量对牛粪分离液厌氧发酵特性影响[J]. 东北农业大学学报, 2011, 42(5): 63-67
- [23] Zheng Y. The electrical properties and changes on the substrates of microbial fuel cells using excess sludge as fuel[D]. Changsha: Master's Thesis of Hunan University, 2010 (in Chinese)
郑晓. 剩余污泥微生物燃料电池的产电性能及基质变化研究[D]. 长沙: 湖南大学硕士学位论文, 2010
- [24] Tang YL, Wang J, Zhao JT, et al. Simulation study on effect of substrate concentration on performance of MFC and biomass growth[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2013, 7(1): 137-142 (in Chinese)
唐玉兰, 王娇, 赵景涛, 等. 底物浓度影响微生物燃料电池性能和生物生长的模拟研究[J]. 环境工程学报, 2013, 7(1): 137-142
- [25] Yang F, Li ZH, Xiao BY, et al. Analysis of internal resistance and its influencing factors of MFC[J]. Microbiology China, 2011, 38(7): 1098-1105 (in Chinese)
杨芳, 李兆华, 肖本益, 等. 微生物燃料电池内阻及其影响因素分析[J]. 微生物学通报, 2011, 38(7): 1098-1105
- [26] Nam JY, Kim HW, Lim KH, et al. Effects of organic loading rates on the continuous electricity generation from fermented wastewater using a single-chamber microbial fuel cell[J]. Bioresource Technology, 2010, 101(1): S33-S37
- [27] Cui JX, Wang X, Tang JC. Application of microbial fuel cell (MFC) in solid waste composting[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2012, 28(3): 295-304 (in Chinese)
崔晋鑫, 王鑫, 唐景春. 微生物燃料电池在固体废物堆肥中的应用进展[J]. 生物工程学报, 2012, 28(3): 295-304
- [28] Jia B, Liu ZH, Li XM, et al. Electricity production from surplus sludge using microbial fuel cells[J]. Environmental Science, 2009, 30(4): 1227-1231 (in Chinese)
贾斌, 刘志华, 李小明, 等. 剩余污泥为燃料的微生物燃料电池产电特性研究[J]. 环境科学, 2009, 30(4): 1227-1231
- [29] Liu ZH, Li XM, Jia B, et al. Production of electricity from surplus sludge using a single chamber floating-cathode microbial fuel cell[J]. Water Science and Technology, 2009, 60(9): 2399-2404
- [30] Zheng Y, Liu ZH, Li XM, et al. Influencing factors for output power density of microbial fuel cells using excess sludge from wastewater treatment plant as fuel[J]. China Environmental Science, 2010, 30(1): 64-68 (in Chinese)
郑晓, 刘志华, 李小明, 等. 剩余污泥生物燃料电池输出功率密度的影响因素[J]. 中国环境科学, 2010, 30(1): 64-68
- [31] Huang FM, Pan R, Zhang S, et al. Power generation characteristics of microbial fuel cells with biomass[J]. Journal of Wuhan University of Technology, 2012, 34(5): 96-100 (in Chinese)
黄发明, 潘蓉, 张晟, 等. 生物质废弃物 MFC 产电试验研究[J]. 武汉理工大学学报, 2012, 34(5): 96-100
- [32] Feng YJ, Wang X, Wang HM, et al. Electricity generation from corn stover by cellulose degradation bacteria and exoelectrogenic bacteria[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2009, 29(11): 2295-2299 (in Chinese)
冯玉杰, 王鑫, 王赫名, 等. 玉米秸秆为底物的纤维素降解菌与产电菌联合产电的可行性[J]. 环境科学学报, 2009, 29(11): 2295-2299
- [33] Liang M, Tao HC, Li SF, et al. Treatment of Cu^{2+} -containing wastewater by microbial fuel cell with excess sludge as anodic substrate[J]. Environmental Science, 2011, 32(1): 179-185 (in Chinese)
梁敏, 陶虎春, 李绍峰, 等. 剩余污泥为底物的微生物燃料电池处理含铜废水[J]. 环境科学, 2011, 32(1): 179-185
- [34] Rabaey Kossieur W, Verhaege M. Continuous microbial fuel cells convert carbohydrates to electricity[J]. Water Science and Technology, 2005, 52(1/2): 515-523
- [35] Jia B. Studied on electricity production from surplus sludge using microbial fuel cells[D]. Changsha: Master's Thesis of Hunan University, 2008 (in Chinese)
贾斌. 剩余污泥为燃料的微生物燃料电池研究[D]. 长沙: 湖南大学硕士学位论文, 2008