DOI: 10.13376/j.cbls/2018080

文章编号: 1004-0374(2018)06-0680-10

# 微生物胞外电子传递过程及其应用研究进展

张多瑞<sup>1,2</sup>, 聂珍媛<sup>1,2\*</sup>, 刘李柱<sup>1,2</sup>, 杨洪英<sup>3</sup>, 夏金兰<sup>1,2\*</sup> (1中南大学资源加工与生物工程学院, 长沙 410083; 2中南大学教育部 生物冶金重点实验室, 长沙 410083; 3东北大学冶金学院, 沈阳 110819)

**摘** 要:电活性微生物的胞外电子传递在微生物电合成、矿物生物浸出、生物质能回收及污染物原位修复 等方面表现出广阔的应用前景,因而受到研究者们的广泛关注。现综述近年来电活性微生物胞外电子传递 过程及其应用的相关研究成果,指出该领域面临的主要问题和发展方向。未来应加强微生物胞外电子传递 路径及分子机制等方面的研究,分离筛选更高效的电活性菌种,优化反应器工艺设计,拓宽电活性微生物 的应用领域,提高相应设备的效率。

关键词:电活性微生物;胞外电子传递;生物浸出;微生物燃料电池 中图分类号:X172;Q937 文献标志码:A

# Mechanisms of microbial extracellular electron transfer and its application

ZHANG Duo-Rui<sup>1,2</sup>, NIE Zhen-Yuan<sup>1,2\*</sup>, LIU Li-Zhu<sup>1,2</sup>, YANG Hong-Ying<sup>3</sup>, XIA Jin-Lan<sup>1,2\*</sup>
(1 School of Minerals Processing And Bioengineering, Central South University, Changsha 410083, China;
2 Key Laboratory of Biometallurgy of Ministry of Education, Central South University, Changsha 410083, China;
3 School of Metallurgy, Northeastern University, Shenyang 110819, China)

**Abstract:** Extracellular electron transfer (EET) has been attracting more and more attention because its prosperous application potential in microbial electrosynthesis, bioleaching of minerals, recovery of biomass energy and *in-situ* bioremediation of heavy metals. In this review, we summarized some recent work relevant to EET process of electroactive microorganisms and its applications, and pointed out some main problems and the direction of future researches in this field. In future, in order to broaden the application of electroactive bacteria and improve the output efficiency of electrical equipment, more attention should be paid to the evaluation of electron transfer pathway and molecular mechanism of extracellular respiration, isolation of more efficient electroactive bacteria, and optimization of reactor design.

Key words: electroactive bacteria; extracellular electron transfer; bioleaching; microbial fuel cell (MFC)

自然界中大多数微生物因其绝缘性的细胞壁外 膜使得细胞内部形成相对封闭的胞内电化学环境, 底物在胞内氧化所产生的电子沿着电子传递链 (electron transport chain, ETC)(或称呼吸链)逐步传 递到末端电子受体(如O<sub>2</sub>或一些中间代谢产物), 并偶联质子跨膜转运至质膜外,形成跨膜质子势, 驱动 ATP 的合成,满足细胞生长代谢过程中的能量 需求<sup>11</sup>。在长期自然选择和进化过程中,部分微生 物衍生出了一些独特的电子传递方式,它们可与外 界环境进行双向电子传递和能量传递,从而建立起 胞内外氧化还原过程的直接联系,这类微生物被称 为电活性微生物(产电微生物和亲电微生物)。电 活性微生物与外部环境之间存在着复杂的相互作

收稿日期: 2017-07-28; 修回日期: 2018-02-02 基金项目: 国家自然科学基金项目-辽宁联合基金重点课 题(U1608254); 国家自然科学基金项目(51774342); 中南 大学中央高校基本科研业务费专项资金(1053320180301) \*通信作者: E-mail: jlxia@csu.edu.cn (夏金兰); E-mail: zynie@csu.edu.cn (聂珍媛) 用<sup>[2]</sup>,氧化能源物质产生的电子既可以由胞内向胞 外电极传递(如胞外呼吸菌),也可由胞外传递至 胞内(如部分嗜酸浸矿微生物)。它们如引擎般驱 动了多个重要的生物地球化学过程,包括岩石风化 和土壤形成,污染物的迁移、转化和归趋,碳、氮、 锰、铁等多种金属和非金属元素的循环,以及重金 属与放射性废弃物的固定与活化等<sup>[3-4]</sup>。

微生物的胞外呼吸过程可借助一系列氧化还原 蛋白、电子介体或"纳米导线"<sup>[5]</sup>,将胞内氧化有 机质产生的电子传递到胞外电极,这种由内而外传 递电子的呼吸类型也被称为胞外呼吸。如图1所示, 胞外呼吸与传统的有氧呼吸和胞内厌氧呼吸相比有 两点主要的差异:(1)最终电子受体为固体,无法 进入细胞<sup>[6]</sup>;(2)产生的电子必须经内膜跨过周质 传递到细胞外膜,然后通过外膜上的多血红素细 胞色素 c、"纳米导线 (Nanowires)"或电子穿梭体 等方式传递到胞外,难度显著加大<sup>[7]</sup>。希瓦氏菌 *Shewanella oneidensis* MR-1和 *Geobacter sulfurreducens*  胞外呼吸过程中两种不同的电子传递途径如图 1 所示<sup>[8-11]</sup>。

#### 1 胞外呼吸的主要类型

根据电子受体的不同, 胞外呼吸的 3 种主要类型如下:

#### 1.1 铁(锰)呼吸(iron /manganese respiration)

铁(锰)呼吸是进化最早,且研究最深入的胞 外呼吸形式。它是指微生物以细胞外不溶性的铁 (锰)氧化物,如针铁矿 (α-FeOOH)、赤铁矿 (α-Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) 或 MnO<sub>2</sub>等作为末端电子受体,彻底氧化电子供体 产能的过程<sup>[12]</sup>。铁呼吸是微生物胞外呼吸的主要部 分,自然界中诸多的氧化铁矿石均可作为胞外良好 的电子受体<sup>[13-14]</sup>。

$$Fe^{3+} + e^{-} \rightarrow Fe^{2+}$$
 (1)

 $MnOOH + 3H^+ + e^- \rightarrow Mn^{2+} + 2H_2O$  (2)

除极少数乳酸细菌外,自然界中所有的生物,



图1 有氧呼吸、胞内无氧呼吸和胞外无氧呼吸电子传递链模型

无论是原核还是真核、单细胞还是多细胞生物,铁 都是必需的营养元素(尽管是微量元素)<sup>[15]</sup>。长期 以来普遍认为,在微氧或厌氧环境中,以氧化型含 铁矿物为最终电子受体的铁还原菌介导的氧化铁异 化还原过程<sup>[16]</sup>与以游离态亚铁作为电子供体的铁 氧化菌介导的生物成矿过程<sup>[17]</sup>在自然界中铁的地 球化学循环起着重要的作用。

## 1.2 腐殖质呼吸(humic substances respiration)

腐殖质 (humic substances, HS) 是自然界中重要 的有机质组分,是由动、植物及微生物残体经长期 的物理、化学、生物等作用而逐渐演化成的高分子 醌类聚合物,广泛存在于土壤、浅海、河流水体及 沉积物中<sup>[18-19]</sup>。研究表明,腐殖质既可作为微生物 胞外呼吸的电子受体,也可以电子穿梭体的角色参 与到其他形式的胞外呼吸电子传递过程中<sup>[20]</sup>。由于 环境中腐殖质的提取与表征比较困难,多种醌类物 质常被作为类腐殖质模拟物进行研究,包括 AODS (9,10-anthraquinone-2,6-disulfonic acid, 蔥醌 -2,6-二 磺酸)、2-HNO (2-hydroxy-1,4-naphoquinone, 2-羟基-1,4- 萘醌)、AQS (9,10-anthraquinone-2-sulfonic acid, 2- 蒽醌磺酸) 以及 AQC (9,10-anthraquinone-2-carboxylic acid, 蔥醌 -2- 羧酸) 等<sup>[21-22]</sup>。Scott 等<sup>[23]</sup> 通过电子 自旋共振波谱分析直接证明了腐殖质中的醌基是微 生物还原过程中真正接受电子的官能团。同时,大 量研究利用循环伏安法证实醌类物质具有反复接受 和给出电子的能力<sup>[24]</sup>。如图2所示, 醌存在对位 和邻位两种形式,根据其氧化还原程度,还原态为 氢醌 (hydroquinone, QH<sub>2</sub>),氧化态为醌 (quinone, Q), 处于两者之间的为半醌自由基 (QH<sup>·</sup>),醌类物质在 胞外呼吸菌的作用下接受电子还原成氢醌,这些氢 醌被胞外电子受体 (如铁氧化物)氧化成相应的半 醌,最后氧化为醌,如此循环往复,参与胞外电子 传递过程。

Smith 等<sup>[25]</sup> 研究表明,腐殖质(醌类物质)既可以介导微生物间的胞外电子传递,也可以介导微 生物与非生物"电极"(如铁、锰等氧化性矿物) 间的电子传递过程。

## 1.3 产电呼吸(microbial electricigenic respiration)

产电呼吸是指产电微生物在微生物燃料电池 (microbial fuel cell, MFC) 阳极室中彻底分解有机物 产生 CO, 及少量能量以维持自身生长所需,释放出 的电子经外电路由阳极传递到阴极,还原阴极电子 受体 (O<sub>2</sub>、Fe<sup>3+</sup>等)循环产生电流的过程。2006年, Lovley<sup>[26]</sup> 首次指出产电微生物在 MFC 中采用一种 新型的产能呼吸方式——微生物产电呼吸。目前, 关于产电微生物的称谓并不统一,如胞外产电微生 物 (exoelectrogens)<sup>[27]</sup>、阳极呼吸菌 (anodere-spiring bacteria)<sup>[28]</sup>、电化学活性菌 (electrochemically active bacteria, EAB)<sup>[29]</sup>、亲电极菌 (electrodophile)<sup>[30]</sup>、异 化铁还原菌(dissimilatory iron reducing bacteria, DIRB)<sup>[31]</sup> 等均被用来指代产电微生物。事实上,铁还原菌不 一定都能进行产电呼吸,而且有研究表明,产电呼 吸和铁呼吸过程中用于电子转移的特殊蛋白是不一 样的<sup>[32]</sup>。此外,有电化学活性的细菌也不一定可以



图2 醌的邻、对位结构及醌、半醌、氢醌之间电子传递可逆

进行产电呼吸。Logan和Regan<sup>[33]</sup>提出以"Electricigens" 作为产电微生物的规范术语,专门指能够利用电极 为唯一电子受体彻底氧化有机物的微生物。已报道 的产电微生物主要有泥细菌 (Geobacter, G)、铁还 原红螺菌 (Rhodoferax ferrireducens)等。

#### 2 电活性细菌与胞外受体间的电子传递方式

微生物与胞外电极间的电子传递机制主要有 3 种方式:(1)直接接触机制(微生物直接利用外膜上 的 Cytc 或细胞表面附属物,或称"纳米导线"将 电子传递至受体);(2)电子穿梭体 (electron shuttle, ES) 介导的电子传递;(3)间接的电子传递机制(微 生物通过自身代谢产物如氢气、甲酸等完成与胞外 电极间的电子交换)。

#### 2.1 细胞色素c类蛋白介导的直接接触电子转移

直接接触电子转移是指微生物细胞内氧化有机 物产生电子跨过细胞周质传递到外膜后,直接依靠 细菌外膜上的细胞色素 c 类蛋白被传递给胞外的不 溶性固体受体。S. oneidensis 和 G. sulfurreducens 的 部分细胞色素 c 类蛋白通常分布于外膜表面, 容易 与胞外受体直接接触,从而将胞内经呼吸链传出的 电子传递至胞外。如图 1 所示,在 S. onoidensis MR-1 细胞内,还原态辅酶Q解离下来的电子被细胞膜内 的细胞色素 Cym A 接受,再传递给周质蛋白 Fcc, 和 STC (small tetrahaem cytochrome) 跨过周质空间, 然后由细胞色素 Mtr A 携带电子穿过细胞膜, 最后 通过膜外上的Mtr C和OmcA传递到电子受体<sup>[34-36]</sup>。 而 G. sulfurreducens 则是利用内膜蛋白 ImcH 和 CbcL 接收来自辅酶 Q 解离的电子,并将其传递给 周质蛋白 PpcA 或 PpcD,跨过周质空间后,再将电 子传递给外膜蛋白 OmaB、OmaC、OmcB 及 OmcC, 最终传递到胞外的固体电子受体上,完成了电子的 向外传递<sup>[37-38]</sup>。

# 2.2 纳米导线介导的电子转移

微生物纳米导线 (microbial nanowires) 最初是 由 Reguera 等<sup>[39]</sup> 在胞外呼吸菌 *Geobacter sulfurreducens* DL1 的细胞表面发现。随后 Gorby 等<sup>[40]</sup> 证实其他 属的细菌 *S. oneidensis* MR-1、*Pelotomaculum thermopropionium*、*Synechocystis* PCC6803 等都可以产生长数 十微米, 直径 100 nm 的导电结构。如图 3a 所示, *S. oneidensis* MR-1 可利用自身产生的纳米导线和其他 的细胞连接在一起;在 MFC 的阳极表面,*S. oneidensis* MR-1 细胞之间通过纳米导线连接(图 3c);如图 3b 和图 3d 所示,希瓦氏菌和地杆菌<sup>[41]</sup> 这两种不同属 的细菌也可以通过纳米导线联系起来。2016年, Shi 等<sup>[42]</sup>研究表明,希瓦氏菌的纳米导线是其细胞 膜的外突而非蛋白微丝,与地杆菌的纳米导线有本 质区别。2007年,Ntarl-agiannis等<sup>[43]</sup>用扫描电极 证实 *S.oneidensis* MR-1 的细菌与细菌、细菌与矿物 间形成了大量丝状的导电网络,并且产生了生物电 流信号。Richter等<sup>[44]</sup>通过循环伏安法 (CV)测试并 证明了菌毛在电活性细菌胞外电子传递过程中起重 要的作用。

#### 2.3 电子穿梭体介导转移(MET)

电子穿梭体 (ES), 也称氧化还原介体 (redox mediator, RM), 是能可逆地参与氧化还原反应的特 殊电子载体<sup>[45]</sup>,它们既可以介导内部电子的胞外输 出,也可以介导外部电子的输入。ES 介导的电子 转移是利用自身产生或人工合成的外源电子介体将 胞内代谢产生的电子经呼吸链及其他途径递至胞外 受体, 按照 ES 的来源可分为内生 ES 和外生 ES。 内生 ES 是由微生物产生并分泌到细胞外具有电子 传递功能的物质,如黄素类、黑色素等,在微生物 胞外电子传递过程中的应用广泛,但其具体作用机 制并不明晰。Brutinel 和 Gralnick<sup>[46]</sup> 提出了 Shewanella 菌分泌黄素类物质作为 ES 介导胞外电子传递的可 能机制,如图4所示,微生物在胞内分解有机物所 产生的部分黄素腺嘌呤二核苷酸 (flavin adenine dinucleotide, FAD) 跨膜进入周质, 一方面与周质蛋 白 (如 FccA)结合为辅助因子参与一些代谢过程; 另一方面,也可在 UshA (5'- 核苷酸酶)的作用下水 解为黄素单核苷酸 (flavin mononucleotide, FMN) 和 腺苷一磷酸 (adenosine monophosphate, AMP)<sup>[47]</sup>。FMN 透过外膜直接脱磷酸为核黄素 (riboflavin, RF), 或 者得到来自 Mtrc 的电子而被还原为 FMN<sub>red</sub>, 然后 再通过扩散将电子传递至胞外电子受体,自身又变 成FMN<sub>ax</sub>,以此方式来介导电活性微生物与胞外受 体间的电子传递过程。外生 ES 包括环境中天然存 在或人工合成的具有接受和给出电子能力的各种氧 化还原物质。腐殖质及醌类物质是微生物胞外电子 传递过程中应用最广泛的外生 ES<sup>[48]</sup>,关于其作用 机理,上文已有相应介绍。

#### 2.4 嗜酸浸矿微生物的胞外电子传递

目前已分离和应用的浸矿微生物主要是一些嗜酸性的细菌和古细菌,如 Acidithiobacillus ferrooxidans、 Sulfobacillus thermosulfidooxidans、Acidianus manzaensis 等。在浸矿微生物和硫化矿相互作用过程中,浸矿 微生物的作用主要有两个:(1)通过铁氧化微生物



(a) Shewanella oneidensis MR-1通过纳米导线和其他细胞的连接; (b) 纳米导线的扫描隧道显微镜观察; (c) Shewanella oneidensis MR-1在MFC阳极表面的生长; (d) Pelotomaculum thermopropionicum和Methanothermobacter thermautotrophicus之间 通过纳米导线连接





图4 胞外电子传递过程中的电子穿梭机制(以内生电子穿梭体FMN为例)

把 Fe<sup>2+</sup> 氧化为 Fe<sup>3+</sup>; (2) 通过硫氧化微生物把单质 硫和还原性的硫化物最终氧化为硫酸,再生 H<sup>+</sup>,维 持浸矿微生物生长所需要的酸性环境,并为酸溶性 矿物的溶解提供质子<sup>[49-51]</sup>。

 $4\mathrm{Fe}^{2+} + 4\mathrm{H}^{+} + \mathrm{O}_2 \xrightarrow{\mathrm{microbial}} 4\mathrm{Fe}^{3+} + 2\mathrm{H}_2\mathrm{O} \qquad (3)$ 

$$2 S^{0} + 3O_{2} + 2H_{2}O \xrightarrow{\text{microbial}} 2SO_{4}^{2-} + 4H^{+}$$
 (4)

嗜酸氧化亚铁硫杆菌 *A. ferrooxidans* 是一种好 氧的化能自养菌,属于革兰氏阴性菌,主要生长在 pH=1~3 的酸性环境中,是迄今已报道的 20 多种浸 矿菌中研究最多的细菌<sup>[52]</sup>,其铁氧化系统电子传递 模型如图 5 所示<sup>[53-55]</sup>。亚铁的氧化在其胞外多聚物 (extracellular polymeric substances, EPS) 中进行,产 生的电子可能的顺电势梯度传递途径为:  $Fe^{2+} \rightarrow$ Cyc2  $\rightarrow$  Rus  $\rightarrow$  Cyc1  $\rightarrow$  Cytc 氧化酶 $\rightarrow$  O<sub>2</sub>;可能的 逆电势梯度传递途径为  $Fe^{2+} \rightarrow$  Cyc2  $\rightarrow$  Rus  $\rightarrow$ CycA  $\rightarrow$  Cytbc1 复合体  $\rightarrow$  CoQ  $\rightarrow$  NADH-Q 还原酶。

#### 3 电活性微生物电化学效应的意义与应用

# 3.1 污染物消减与元素迁移

微生物与自然界中固体"电极"间的作用形式 多样,主要包括微生物介导的腐蚀、沉淀、矿化及 电活性吸附降解等,如Fe(III)氧化类矿物。事实上, 除Fe(III)氧化物外,电活性微生物也可将其他污 染性和非污染性的高价金属类金属含氧酸盐,如 Mn(IV)、U(VI)、Co(III)、V(V)、Cr(VI)、 Mo(VII)、Se(IV和VI),甚至As(V)等,还原 为低价形态<sup>[56]</sup>。细菌对U(VI)、Cr(VI)和Se(IV/VI) 的还原使相应污染物由溶解态转化为低价固态,降 低了其生物毒性和环境迁移性,而对As(V)的还 原则会得到更高毒性的As(III)<sup>[57-58]</sup>。

#### 3.2 基于MFC系统的相关应用

近 10 年来,关于 MFC 的研究报道数量呈指数 型增长,其基本原理及相关应用如图 6 所示。美国 学者 Logan<sup>[59]</sup> 教授于 2005 年提出可将微生物发电 技术与有机废水处理相结合的观点,该方式因将产 电和污水净化同步进行而受到相关学者的广泛关注。

近几年,基于微生物燃料电池制备化学品吸引 了许多研究者的目光,目前,利用微生物电合成方 式所产物质主要包括氢气、过氧化氢以及部分低分 子有机物。(1)制氢:用于产氢的微生物燃料电池 通常被称为微生物电解电池 (microbial electrolysis cell, MEC),Liu等<sup>[60]</sup>于2005年首次提出利用 MEC产 氢的设想,其发生过程是将恒定的外部电压施加于 MFC系统,使质子在阴极被还原并产生氢气。 Cheng和 Logan<sup>[61]</sup>首次将废水作为 MFC 的基质进 行产氢,产氢率高达90%。就目前而言,MEC 是 最有效且高度环保的氢生产途径,它利用电活性细



图5 A. ferrooxidans亚铁氧化系统电子传递模式图





菌将有机物转化成氢气及其他化学物质(如甲烷、 乙酸、甲酸等),但这项技术还处在萌芽阶段,工 业化应用仍面临许多挑战<sup>[62]</sup>。(2)制备 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 及合成 Fenton 试剂:目前,H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>的传统工业生产存在高能 耗的缺点,利用 MFC 的阴极通过溶解氧的不完全 反应制备 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 是一种环保且低成本的方式,若再 加入 Fe<sup>2+</sup>, 过氧化氢则可与 Fe<sup>2+</sup>结合, 生成 Fenton 试剂。因 Fenton 试剂具有极强的氧化能力,因此, 特别适用于某些具有生物毒性且难降解的工业废 水的处理。(3) 合成生物化学品。MFC 中的生物化 学合成过程往往是阳极和阴极共同作用的结果,阳 极降解有机物提供电子,而生物阴极合成有价值的 生物化学品。此外,电活性微生物在微生物传感器 及其他领域(如生物医学领域)也具有广阔的应用 前景。Kenji 等<sup>[63]</sup> 基于 MFC 设计了一种超微型心 脏起搏器,利用微量血糖作为燃料发电,可长时间 运行。

#### 3.3 低品位难浸金属硫化矿物的生物氧化

微生物对自然界中亚铁的氧化以硫化矿物的生物浸出为例,微生物对铁原生硫化矿,如黄铁矿 (FeS<sub>2</sub>)、黄铜矿 (CuFeS<sub>2</sub>)、砷黄铁矿 (FeAsS)(也称 毒砂)等的生物氧化,对湿地及硫化物沉积物中铁 的循环有着重要的贡献,同时,依托该类微生物发 展起来的生物冶金技术具有流程短、能耗小、成本 低、污染少等优点,在有效回收复杂低品位硫化矿 中有价金属中具有重要的研究价值和应用前景<sup>[64]</sup> 在我国,德兴铜矿于1979年就开始致力于研究利 用含细菌的酸性矿井水,从低品位铜矿石中回收铜 的生物堆浸技术。2000年12月,烟台黄金冶炼公 司率先采用生物预氧化技术处理金精矿,使金的回 收率达96%。2003年7月,辽宁天利金业有限责 任公司生物氧化提金厂竣工投产。在国外,智利的 Lo Aguire 矿从1980—1996年采用微生物对铜矿石 进行堆浸,处理量为1.6万 t/d<sup>[65]</sup>。目前,生物氧化 堆浸和槽浸工艺都已工业化,并取得了较好的生产 技术指标,而且在充气方式、洗涤方式及菌种培养 等方面都有了明显的进展。目前,高效浸矿微生物 仍然是生物冶金在应用方面的瓶颈问题之一,耐寒、 高温、盐及重金属离子等的高活性浸矿微生物的筛 选是该领域亟需完成的重要任务之一。

#### 4 总结与展望

胞外呼吸的发现和研究不仅丰富了人们对微生 物代谢多样性的认识,并在污染物降解、清洁能源 开发及生物电合成等领域展示出巨大的应用潜力。 然而,目前关于电活性微生物胞外呼吸的电子传递 机制尚不明确,在不同的环境条件下,同种微生物 电子传递链的组成和传递机制是否相同、不同菌群 如何协同完成胞外电子传递,都是亟待解决的问题。 胞内电子传递链组分及电子在细胞与胞外受体之间

电子传递的方式等还有待更深入的研究, MFC 电 能输出效率因自身内阻(包括电解液及质子交换膜 的阻力)、电极材料及其表面性质等因素而普遍较 低。后续的研究当致力于以下几个方面:(1)综合 利用分子生物学、生物化学、电化学、物理学等方法, 进一步明确与电活性细菌胞外电子传递相关的组分 及传递途径,完善胞外电子传递过程中的分子机制, 为加速电子转移提供理论指导。(2)发现更多能作 为电活性细菌胞外电子传递过程中的电子受体物 质,扩大研究范围,以期发现更多类型的电子传递 途径, 深入了解不同特性微生物在元素地球化学循 环中的作用。(3)发现并分离更高效的电活性微生 物。借助更多现代微生物分离方法来分离更高效的 电活性菌种,以期提高生物电能输出效率。(4)优 化 MFC 结构,降低成本,提高产能效率。(5) 矿物 的生物浸出过程中往往会生成大量次生铁矿物(如 黄钾铁矾、黄铵铁矾等),它们会覆盖在矿物表面, 阻抑矿物的进一步溶出。胞外呼吸菌对次生铁矿物 的还原,在消除阻抑作用同时,还可以为浸矿微生 物提供能源物质。因此,深入探究矿物的生物氧化 及还原的耦合机制,对于提高金属硫化矿物的生物 浸出率及相关元素生物地球化学循环方式的阐明具 有重要的意义。

# [参考文献]

- Wang JY, Zhu SG, Xu CF. Biochemistry[M]. Beijing: Higher Education Press, 2002: 118-23
- [2] Kato S. Biotechnological aspects of microbial extracellular electron transfer. Microb Environ, 2015, 30: 133-9
- [3] Chen MJ, Liu C, Li X, et al. Iron reduction coupled to reductive dechlorination in red soil: a review. Soil Sci, 2014, 179: 457-67
- [4] Pan GX, Lu HF, Li LQ, et al. Soil carbon sequestration with bioactivity: A new emerging frontier for sustainable soil management. Advan Earth Sci, 2015, 30: 940-50
- [5] Saffarini D, Brockman K, Beliaev A, et al. Shewanella oneidensis, and extracellular electron transfer to metal oxides[M]// Bacteria-Metal Interactions.West-Berlin: Springer International Publishing, 2015: 21-40
- [6] Gralnick JA, Newman DK. Extracellular respiration. Mol Microbiol, 2007, 65: 1-11
- [7] Ma C, Zhou SG, Zhuang L. Electron transfer mechanism of extracellular respiration: a review. Acta Ecol Sin, 2011, 31: 2008-18
- [8] Dan C, Gralnick JA. Modularity of the Mtr respiratory pathway of *Shewanella oneidensis* strain MR-1. Mol Microbiol, 2010, 77: 995-1008
- [9] Sturm G, Richter K, Doetsch A, et al. A dynamic periplasmic electron transfer network enables respiratory

flexibility beyond a thermodynamic regulatory regime. ISME J, 2015, 9: 1802-11

- [10] Liu Y, Wang Z, Liu J, et al. A trans-outer membrane porincytochrome protein complex for extracellular electron transfer by *Geobacter sulfurreducens* PCA. Environ Microbiol Rep, 2014, 6: 776-85
- [11] Liu Y, Fredrickson JK, Zachara JM, et al. Direct involvement of ombB, omaB, and omcB genes in extracellular reduction of Fe (III) by *Geobacter sulfurreducens* PCA. Front Microbiol, 2015, 6: 1075
- [12] Xu W, Hu P, Li YH, et al. Mechanisms of microbial Fe (III) respiration: a review. Chin J Ecol, 2008, 27: 1037-42
- [13] O'Loughlin EJ, Gorski CA, Scherer MM, et al. Effects of oxyanions, natural organic matter, and bacterial cell numbers on the bioreduction of lepidocrocite (α-FeOOH) and the formation of secondary mineralization products. Environ Sci Technol, 2010, 44: 4570-6
- [14] O'Loughlin EJ, Boyanov MI, Flynn TM, et al. Effects of bound phosphate on the bioreduction of lepidocrocite (α-FeOOH) and maghemite (α-Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) and formation of secondary minerals. Environ Sci Technol, 2013, 47: 9157-66
- [15] Pandey A, Bringel F, Meyer JM. Iron requirement and search for siderophores in lactic acid bacteria. Appl Microbiol Biotechnol, 1994, 40: 735-9
- [16] Chen M, Liu C, Li F, et al. Correlations between soil geochemical properties and Fe (III) reduction suggest microbial reducibility of iron in different soils from Southern China. Catena, 2014, 123: 176-87
- [17] Kappler A, Schink B, Newman DK. Fe (III) mineral formation and cell encrustation by the nitrate-dependent Fe(II)-oxidizer strain BoFeN1. Geobiology, 2005, 3: 235-45
- [18] Kondo K, Okamoto A, Hashimoto K, et al. Sulfurmediated electron shuttling sustains microbial longdistance extracellular electron transfer with the aid of metallic iron sulfides. Langmuir, 2015, 31: 7427-34
- [19] Wu YD, Li FB, Liu TX. Mechanism of extracellular electron transfer among microbe-humus-mineral in soil: a review. Acta Pedol Sin, 2016, 53: 278-85
- [20] Piepenbrock A, Schröder C, Kappler A. Electron transfer from humic substances to biogenic and abiogenic Fe(III) oxyhydroxide minerals. Environ Sci Technol, 2014, 48: 1656-4
- [21] Alvarez LH, Cervantes FJ. (Bio) nanotechnologies to enhance environmental quality and energy production. J Chem Technol Biotechnol, 2011, 86: 1354-63
- [22] Wolf M, Kappler A, Jiang J, et al. Effects of humic substances and quinones at low concentrations on ferrihydrite reduction by *Geobacter metallireducens*. Environ Sci Technol, 2009, 43: 5679-85
- [23] Scott DT, McKnight DM, Blunt-Harris EL, et al. Quinone moieties act as electron acceptors in the reduction of humic substances by humics-reducing microorganisms. Environ Sci Technol, 1998, 32: 2984-9
- [24] Li X, Liu T, Liu L, et al. Dependence of the electron transfer capacity on the kinetics of quinone-mediated Fe

(III) reduction by two iron/humic reducing bacteria. RSC Advan, 2014, 4: 2284-90

- [25] Smith JA, Nevin KP, Lovley DR. Syntrophic growth via quinone-mediated interspecies electron transfer. Front Microbiol, 2015, 6: 121
- [26] Lovley DR. Bug juice: harvesting electricity with microorganisms. Nat Rev Microbiol, 2006, 4: 497-508
- [27] Bergua M, Levy I, Casamitjana R, et al. Exoelectrogens in microbial fuel cells toward bioelectricity generation: a review. Int J Energy Res, 2015, 39: 1048-67
- [28] Song J, Sasaki D, Sasaki K, et al. Comprehensive metabolomic analyses of anode-respiring *Geobacter* sulfurreducens, cells: the impact of anode-respiration activity on intracellular metabolite levels. Process Biochem, 2016, 51: 34-8
- [29] Chang IS, Moon H, Bretschger O, et al. Electrochemically active bacteria (EAB) and mediator-less microbial fuel cells. J Microbiol Biotechnol, 2006, 16: 163-77
- [30] Park DH, Zeikus JG. Improved fuel cell and electrode designs for producing electricity from microbial degradation. Biotechnol Bioeng, 2003, 81: 348-55
- [31] Esther J, Sukla LB, Pradhan N, et al. Fe (III) reduction strategies of dissimilatory iron reducing bacteria. Korean J Chem Eng, 2015, 32: 1-14
- [32] Holmes D, Chaudhuri S, Nevin K, et al. Microarray and genetic analysis of electron transfer to electrodes in *Geobacter sulfurreducens*. Environ Microbiol, 2006, 8: 1805-15
- [33] Logan BE, Regan JM. Electricity-producing bacterial communities in microbial fuel cells. Trends Microbiol, 2006, 14: 512-18
- [34] Sturm G, Richter K, Doetsch A, et al. A dynamic periplasmic electron transfer network enables respiratory flexibility beyond a thermodynamic regulatory regime. ISME J, 2015, 9: 1802-11
- [35] Mcmillan DG, Marritt SJ, Firer-Sherwood MA, et al. Protein-protein interaction regulates the direction of catalysis and electron transfer in a redox enzyme complex. J Am Chem Soc, 2013, 135: 10550-6
- [36] Shi L, Deng S, Marshall MJ, et al. Direct involvement of type II secretion system in extracellular translocation of *Shewanella oneidensis* outer membrane cytochromes MtrC and OmcA. J Bacteriol, 2008, 190: 5512-6
- [37] Zacharoff L, Chi HC, Bond DR. Reduction of low potential electron acceptors requires the CbcL inner membrane cytochrome of *Geobacter sulfurreducens*. Bioelectrochemistry, 2016, 107: 7-13
- [38] Yang T, Adhikari RY, Malvankar NS, et al. The low conductivity of *Geobacter uraniireducens* pili suggests a diversity of extracellular electron transfer mechanisms in the genus geobacter. Front Microbiol, 2016, 7: 1-9
- [39] Reguera G, Nevin KP, Nicoll JS, et al. Biofilm and nanowire production leads to increased current in geobacter sulfurreducens fuel cells. Appl Environ Microbiol, 2006, 72: 7345-8
- [40] Gorby YA, Yanina S, McLean JS, et al. Electrically conductive bacterial nanowires produced by *Shewanella*

oneidensis strain MR-1 and other microorganisms. Proc Natl Acad Sci USA, 2006, 103: 11358-63

- [41] Shi L, Richardson DJ, Wang Z, et al. The roles of outer membrane cytochromes of *Shewanella* and *Geobacter* in extracellular electron transfer. Environ Microbiol Rev, 2009, 1: 220-7
- [42] Shi L, Dong H, Reguera G, et al. Extracellular electron transfer mechanisms between microorganisms and minerals. Nat Rev Microbiol, 2016, 14: 651-62
- [43] Ntarlagiannis D, Atekwana EA, Hill EA, et al. Microbial nanowires: is the subsurface "hardwired"? Geophys Res Lett, 2007, 34: 17305
- [44] Richter H, Nevin KP, Jia H, et al. Cyclic voltammetry of biofilms of wild type and mutant *Geobacter sulfurreducens* on fuel cell anodes indicates possible roles of OmcB, OmcZ, type IV pili, and protons in extracellular electron transfer. Energ Environ Sci, 2009, 2: 506-16
- [45] Watanabe K, Manefield M, Lee M, et al. Electron shuttles in biotechnology. Curr Opin Biotechnol, 2009, 20: 633-41
- [46] Brutinel ED, Gralnick JA. Shuttling happens: soluble flavin mediators of extracellular electron transfer in *Shewanella*. Appl Microbiol Biotechnol, 2012, 93: 41-8
- [47] Covington ED, Gelbmann CB, Kotloski NJ, et al. An essential role for UshA in processing of extracellular flavin electron shuttles by *Shewanella oneidensis*. Mol Microbiol, 2010, 78: 519-32
- [48] Kumar R, Singh L, Zularisam AW. Exoelectrogens: recent advances in molecular drivers involved in extracellular electron transfer and strategies used to improve it for microbial fuel cell applications. Renew Sust Energ Rev, 2016, 56: 1322-36
- [49] Vera M, Schippers A, Sand W. Progress in bioleaching: fundamentals and mechanisms of bacterial metal sulfide oxidation-part A. Appl Microbiol Biotechnol, 2013, 97: 7529-41
- [50] Klauber C. A critical review of the surface chemistry of acidic ferric sulphate dissolution of chalcopyrite with regards to hindered dissolution. Int J Mineral Proces, 2008, 86: 1-17
- [51] Xia JL, Liu HC, Nie ZY, et al. Synchrotron radiation based STXM analysis and micro-XRF mapping of differential expression of extracellular thiol groups by *Acidithiobacillus ferrooxidans* grown on Fe<sup>2+</sup> and S<sup>0</sup>. J Microbiol Methods, 2013, 94: 257-61
- [52] Zhang CG, Xia JL, Qiu GZ. Progress in research on Fe<sup>2+</sup> oxidation system of *Acidithiobacillus ferrooxidans*. Chn J Nonferrous Metals, 2006, 16: 1239-49
- [53] Quatrini R, Appia-Ayme C, Denis Y, et al. Extending the models for iron and sulfur oxidation in the extreme acidophile *Acidithiobacillus ferrooxidans*. BMC Genomics, 2009, 10: 394
- [54] Elbehti A, Brasseur G, Lemeslemeunier D. First evidence for existence of an uphill electron transfer through the bc1 and NADH-Q oxidoreductase complexes of the acidophilic obligate chemolithotrophic ferrous ion-oxidizing bacterium *Thiobacillus ferrooxidans*. J Bacteriol, 2000, 182: 3602-6
- [55] Ingledew WJ, Cox JC, Halling PJ. A proposed mechanism

for energy conservation during Fe<sup>2+</sup> oxidation by *Thiobacillus ferrooxidans*: chemiosmotic coupling to net H<sup>+</sup> influx. FEMS Microbiol Lett, 1977, 2: 193-7

- [56] Lloyd JR, Lovley DR. Microbial detoxification of metals and radionuclides. Curr Opin Biotechnol, 2001, 12: 248-53
- [57] Brookshaw DR, Coker VS, Lloyd JR, et al. Redox interactions between Cr(VI) and Fe(II) in bioreduced biotite and chlorite. Environ Sci Technol, 2014, 48: 11337-42
- [58] Crean DE, Coker VS, van der Laan G, et al. Engineering biogenic magnetite for sustained Cr(VI) remediation in flow-through systems. Environ Sci Technol, 2012, 46: 3352-59
- [59] Logan BE. Generating electricity from wastewater treatment. Water Environ Res, 2005, 77: 211
- [60] Liu H, Grot S, Logan BE. Electrochemically assisted microbial production of hydrogen from acetate. Environ Sci Technol, 2005, 39: 4317-20

- [61] Cheng S, Logan BE. Sustainable and efficient biohydrogen production via electro-hydrogenesis. Proc Natl Acad Sci USA, 2007, 104: 18871-73
- [62] Kadier A, Kalil M S, Abdeshahian P, et al. Recent advances and emerging challenges in microbial electrolysis cells (MECs) for microbial production of hydrogen and value-added chemicals. Renew Sust Energ Rev, 2016, 61: 501-25
- [63] Kenji S, Masaru S, Masashi I. Micro-integrated cardiac pacemarker and distributed cardiac pacing system[P]. WO2004012811, 2004
- [64] Xia JL, Yang Y, He H, et al. Surface analysis of sulfur speciation on pyrite bioleached by extreme thermophile *Acidianus manzaensis* using Raman and XANES spectroscopy. Hydrometallurgy, 2010, 96: 129-5
- [65] Bustos S, Castro S, Montealegre R. The sociedad minera pudahuel bacterial thin-layer leaching process at Lo Aguirre. FEMS Microbiol Rev, 1993, 11: 231-5