环境工程学报
Chinese Journal of Environmental Engineering
第 15 卷 第 12 期 2021 年 12 月
Vol. 15, No.12 Dec. 2021
http://www.cjee.ac.cn E-mail: cjee@rcees.ac.cn (010) 62941074
文章栏目：环境生物技术
DOI 10.12030/j.cjee.202104122 中图分类号 X703 文献标识码 A

迟明妹, 路平平, 孙晓娇, 等. 铁基纳米材料对苯甲酸降解菌 *Sporotomaculum syntrophicum* 与产甲烷菌 *Methanospirillum hungatei* 的厌氧互营体系降解苯甲酸的影响[J]. 环境工程学报，2021, 15(12): 4049-4056.
CHI Mingmei, LU Pingping, SUN Xiaojiao, et al. Effect of iron -based nanomaterials on anaerobic benzoate degradation by syntrophic co-culture of *Sporotomaculum syntrophicum* and *Methanospirillum hungatei*[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2021, 15(12): 4049-4056.

铁基纳米材料对苯甲酸降解菌 *Sporotomaculum syntrophicum* 与产甲烷菌 *Methanospirillum hungatei* 的厌氧互营体系降解苯甲酸的影响

迟明妹, 路平平, 孙晓娇, 徐艳, 陈光辉, 张培玉, 邱艳玲✉
青岛大学环境科学与工程学院, 青岛 266071

第一作者：迟明妹 (1995—)，女，硕士研究生。研究方向：环境微生物。E-mail：chimingmei@yeah.net
✉通信作者：邱艳玲 (1972—)，女，博士，教授。研究方向：环境微生物。E-mail: qiuyl@qibebt.ac.cn

摘　要　为探究铁基纳米材料在苯甲酸厌氧互营代谢过程中的作用，以厚壁菌门的厌氧互营苯甲酸降解菌 *Sporotomaculum syntrophicum* 与产甲烷菌 *Methanospirillum hungatei* 的共培养体系为研究对象，考察投加铁基纳米颗粒四氧化三铁 (Fe_3O_4 NPs) 和三氧化二铁 (Fe_2O_3 NPs) 对苯甲酸厌氧降解转化甲烷的影响。结果表明：10～500 mg·L^{-1} 的 Fe_3O_4 纳米颗粒对苯甲酸降解速率及产甲烷量没有显著影响；而高浓度的 Fe_3O_4 纳米颗粒对苯甲酸降解及产甲烷速率产生了明显的抑制作用，当添加 Fe_3O_4 纳米颗粒的质量浓度为 600、800、1 000 mg·L^{-1} 时，第 15 天的产甲烷量分别减少了 24.29%、44.13% 和 61.54%。低浓度和高浓度的 Fe_2O_3 纳米颗粒对苯甲酸的降解及甲烷的产生均无影响。质量浓度为 10～1 000 mg·L^{-1} 的 Fe_3O_4 NPs 和 Fe_2O_3 NPs 均不能促进 *S. syntrophicum* 与 *M. hungatei* 共培养体系的种间电子传递过程。本研究结果可为导电材料强化厌氧纯菌降解苯甲酸，以及利用导电材料强化苯甲酸废水及木质纤维素类固体废弃物的处理提供参考。

关键词　Fe_3O_4 和 Fe_2O_3 纳米颗粒；苯甲酸厌氧互营降解；种间电子传递；厌氧互营苯甲酸降解菌 (*Sporotomaculum syntrophicum*)

苯甲酸是常见的难降解工业废水组分之一，也是苯系物及木质纤维素类废弃物厌氧代谢过程中的重要中间产物。芳香族化合物需要经苯甲酸和苯甲酰辅酶 A 通过 β 氧化，形成乙酸、H_2 和 CO_2[1-3]。在厌氧产甲烷的过程中，苯甲酸降解为乙酸的反应是与产甲烷菌利用乙酸和氢气的互营产甲烷反应相结合而进行的。有学者发现，厌氧微生物互营降解苯甲酸与有机酸的产甲烷过程中存在种间直接电子传递 (direct interspecies electron transfer，DIET) 过程[4-5]。LOVELY 等[6-7] 最早发现了种间直接电子传递的机制，即厌氧沉积物中的微生物在进行有机质氧化的过程中会释放电子到胞外，以 Fe(Ⅲ) 为电子受体，并可产生超细粒磁铁矿。纳米 Fe_3O_4(nanoparticles，Fe_3O_4 NPs) 是一种性

收稿日期：2021-04-18；**录用日期**：2021-07-05
基金项目：国家自然科学基金资助项目 (51878363)；山东省自然科学基金资助项目 (ZR2019MEE028, ZR2019YQ18)；宁夏回族自治区重点研发计划项目 (2020BBF03008)；山东省高等学校青创人才引育计划 (DC2000000961)

环境工程学报版权所有

能稳定、无毒、导电性强、制备简单且生物相容性较好的磁性材料[8]。添加 Fe_3O_4 NPs 等可促进废水、废弃物产甲烷的过程[8-10]。目前，关于这类导电材料用于强化有机酸互营产甲烷菌群的 DIET 过程的研究较多。已确认能进行 DIET 的微生物主要有地杆菌 (*Geobacter*) 和希瓦氏菌 (*Shewanella*)[10]。通常，*Geobacter* 被认为是厌氧消化体系能发生 DIET 的标志微生物，但 *Geobacter* 的存在并不是发生 DIET 的必要条件。这是由于导电物质可富集某些具有胞外电子转移能力的微生物，实现厌氧消化体系主要电子转移方式的改变[11]。有研究表明，*Desulfuromonas*、*Pseudomonas* 等电活性微生物可能也具有进行 DIET 的能力[12-13]。因此，需要进一步探究地杆菌以外微生物的 DIET 能力及作用机制，并优化导电材料强化厌氧消化产甲烷的工艺，以促进有机废水和废弃物的资源化处理。

研究苯甲酸的微生物降解过程，对于提高芳香族类污染物的降解效率有重要意义。关于铁氧化物对苯甲酸降解影响的研究表明，铁基材料可促进苯甲酸的降解。例如，ZHUANG 等[14] 以水稻土为接种物，发现纳米磁铁矿 (1.93 $g·L^{-1}$) 和赤铁矿 (2 $g·L^{-1}$) 使苯甲酸的降解率分别提高了 53% 和 25%，促进了芽孢杆菌 *Bacillaceae* 与产甲烷菌 *Methanobacterium* 之间的直接电子传递。AROMOKEYE 等[15] 以海洋沉积物的富集培养物为实验对象，研究了磁铁矿和纤铁矿对苯甲酸降解的影响后发现：添加磁铁矿 (6.96 $g·L^{-1}$) 或赤铁矿 (4.8 $g·L^{-1}$) 可加速苯甲酸的降解和促进甲烷生成，使苯甲酸降解速率提高 22.55%；而纤铁矿抑制了苯甲酸降解和甲烷生成，使苯甲酸降解速率降低 45.10%~56.37%；添加磁铁矿的体系中苯甲酸厌氧降解菌 *Sporotomaculum* 作为主要微生物 (占细菌的 53%~62%)，而添加纤铁矿的体系中主要微生物为脱硫肠状菌 *Desulfotomaculum*(占细菌的 20%~37%)。马金莲[16] 以底泥沉积物为接种物，发现添加 Fe_3O_4 NPs(1.55 $g·L^{-1}$) 和 Fe_2O_3(1.6 $g·L^{-1}$) 可提升硫酸盐还原条件下的苯甲酸降解速率。YAN 等[17] 以中温苯酚与葡萄糖人工合成废水厌氧处理污泥为接种物，通过批次实验发现：纳米磁铁矿提高了苯酚的厌氧降解速度，增强了苯酚厌氧降解菌 *Syntrophorhabdus* 和苯甲酸厌氧降解菌 *Syntrophus* 的富集及互营代谢过程。

苯甲酸厌氧降解菌作为互营微生物，其生长十分缓慢，难以分离培养[18]。文献报道过的这类降解菌有 8 种，主要分布在厚壁菌门 (Firmicutes) 和变形菌门 (Proteobacteria)[18-19]。*Sporotomaculum syntrophicum*(后简称 *S. syntrophicum*) 是厚壁菌门的一种可产生孢子的细菌，具有苯甲酸降解速度快、耐受性强的特性，当其与产甲烷菌共培养时可将苯甲酸转化为甲烷[20]。本研究以 *S. syntrophicum* 与产甲烷菌 *Methanospirillum hungatei*(后简称 *M. hungatei*) 的共培养体系为研究对象，研究添加纳米 Fe_3O_4 和 Fe_2O_3 对苯甲酸厌氧降解过程的影响，以期为铁基纳米材料强化苯甲酸污染物的去除提供参考。

1 材料与方法

1.1 菌种、培养基和培养条件

实验中使用的纯菌种 *S. syntrophicum*(DSM 14795) 和 *M. hungatei*(DSM 864) 的共生培养体系由本实验室之前的研究[20] 培养获得。*S. syntrophicum* 属于厚壁菌门的厌氧苯甲酸互营降解菌，分离自对苯二甲酸产生废水的厌氧污泥。将其与氢营养产甲烷菌 *M. hungatei* 共培养后，可将苯甲酸转化为乙酸、二氧化碳和甲烷，并产生少量丁酸。

培养基采用 widdel 培养基[21]。以氮气和二氧化碳混合气体 (体积比为 4∶1) 置换培养基及瓶中气体，用丁基橡胶塞和铝盖密封，高温 (121℃) 下蒸汽灭菌 20 min。灭菌后加入半胱氨酸和硫化钠。采用 5 $mmol·L^{-1}$ 苯甲酸和 0.01% 酵母提取物作为底物进行 *S. syntrophicum* 和 *M. hungatei* 的共培养，于内部温度为 37 ℃ 的黑暗培养箱中静置培养。

环境工程学报版权所有

Fe_3O_4 和 Fe_2O_3 纳米颗粒购买于阿拉丁化学试剂有限公司，分别表示为 Fe_3O_4 NPs 和 Fe_2O_3 NPs。Fe_3O_4 NPs 粒径大小为 20 nm，纯度为 99%，形状为球形颗粒，颜色呈黑色。Fe_2O_3 NPs 粒径大小为 30 nm，纯度为 99.5%，形状为球形颗粒，颜色呈红棕色。

1.2　纳米颗粒对 *S. syntrophicum* 厌氧降解苯甲酸的影响

在有效体积为 35 mL 的厌氧管中，加入 15 mL 培养基。在培养基中分别加入质量浓度为 10、20、50、100、200、300、400、500 mg·L^{-1}(低浓度系列) 及 600、800、1 000 mg·L^{-1}(高浓度系列) 的 2 种铁基纳米颗粒，每个梯度设置 3 组平行。初始苯甲酸浓度为 5 mmol·L^{-1}。酵母提取物 (0.01%) 为生长因子。在培养基配制过程中添加 2 种纳米颗粒，然后置换培养基中的气体，用丁基橡胶塞和铝盖密封。按照体积分数为 25% 的比例接种 *S. syntrophicum* 与 *M. hungatei* 的共生培养系，于 37℃ 恒温培养箱中静置培养。实验周期为 30 d，每 3 d 取 1 次样，测定甲烷、苯甲酸及乙酸浓度。

1.3　分析方法

甲烷用 SP-7802 型气相色谱法热导检测器 (TCD) 测定。取发酵液液体 0.5 mL，以 13 000 r·min^{-1} 的转速离心 5 min，取离心后上清液，使用 SP-7820 气相色谱仪测定苯甲酸和乙酸浓度。色谱条件如文献 [22] 所述。

1.4　数据分析

苯甲酸、甲烷及乙酸数据以 (平均值±标准偏差) 表示，并用 SPSS.22 软件对数据进行单因素方差分析，$p<0.05$ 作为分析标准。

2　结果与讨论

2.1　Fe_3O_4 NPs 对 *S. syntrophicum* 厌氧降解苯甲酸产甲烷的影响

2.1.1　低浓度 Fe_3O_4 NPs 的影响

为研究 Fe_3O_4 NPs 的质量浓度对 *S. syntrophicum* 厌氧降解苯甲酸产甲烷的影响，采用批式实验进行低浓度组 (其质量浓度分别为 10、20、50、100、200、300、400、500 mg·L^{-1}) 的实验 (结果如图 1 所示)。产甲烷过程中甲烷浓度变化如图 1(a) 所示，添加 8 个质量浓度梯度 10~500 mg·L^{-1} Fe_3O_4 NPs 对甲烷产量没有明显促进或抑制作用，累计产生甲烷浓度为 2.88~3.38 mmol·L^{-1}，与未添加空白对照组 (甲烷浓度 3.15 mmol·L^{-1}) 相差不大。在实验的前6 d，所有体系中甲烷浓度均呈现快速增长趋势，添加组和空白对照组的启动时间基本一致。启动后 6~18 d，所有体系中甲烷浓度的变化趋势基本一致，均呈现为先增加后趋于平缓的变化趋势，说明产甲烷速率没有差别。在实验终点，所有体系中的甲烷浓度均达到理论值，约 3 mmol·L^{-1}，符合苯甲酸降解的量论关系式[20](式 (1))。对照组和实验组的甲烷产量没有明显差别，不存在显著差异 ($p>0.05$)。

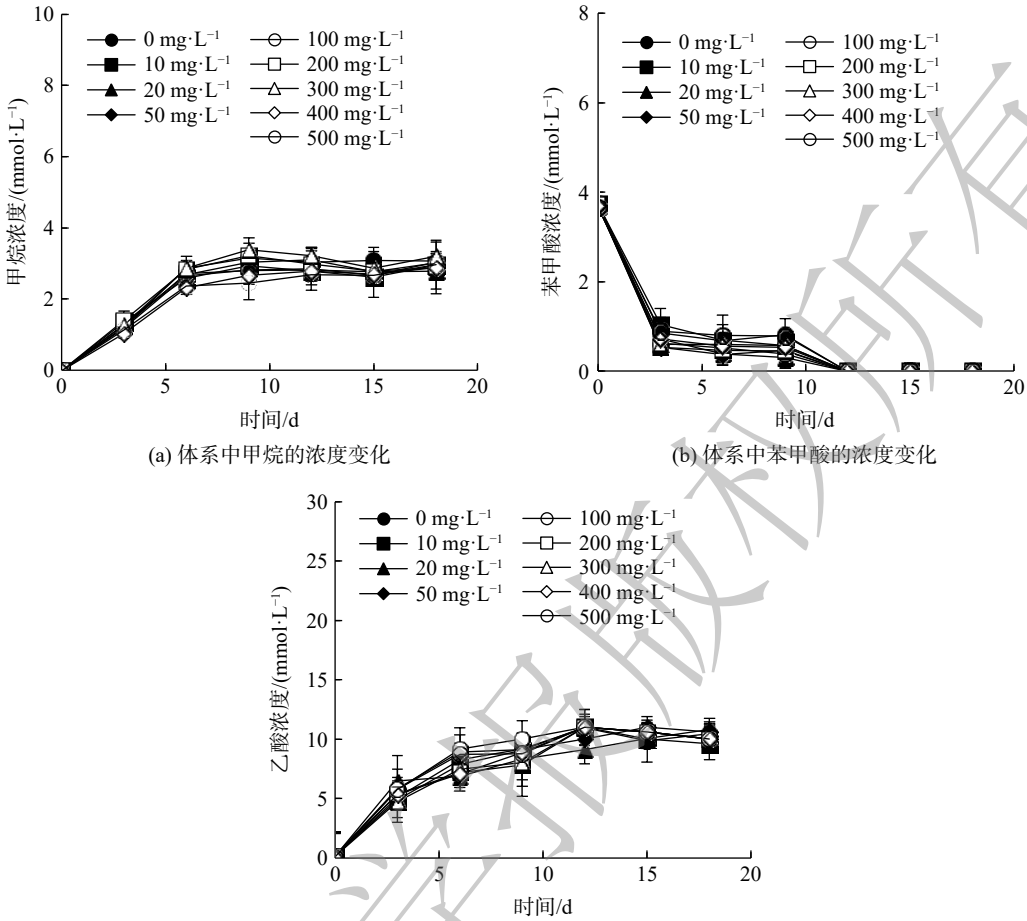
$$C_6H_5COO^- + 4.5H_2O \longrightarrow 3CH_3COO^- + 2H^+ + 0.25CO_2 + 0.75CH_4 \tag{1}$$

苯甲酸厌氧降解过程如图 1(b) 所示，添加 10~500 mg·L^{-1} Fe_3O_4 NPs 的实验组和对照组，苯甲酸均呈现先快速降解后缓慢降解的变化趋势，最终在 12 d 前后实现完全降解。所有体系中苯甲酸的降解速度一样，说明添加 Fe_3O_4 NPs 对苯甲酸的厌氧降解速度没有明显影响。体系中的产乙酸过程如图 1(c) 所示，苯甲酸降解过程中累积的乙酸浓度达到约 11 mmol·L^{-1}，也符合苯甲酸降解的量论关系式。综上所述，10~500 mg·L^{-1} Fe_3O_4 NPs 对 *S. syntrophicum* 与产甲烷菌 *M. hungatei* 的苯甲酸厌氧降解、甲烷产量和产乙酸过程均没有明显的促进或抑制作用。

2.1.2　高浓度 Fe_3O_4 NPs 的影响

进一步研究了高浓度 (600、800、1 000 mg·L^{-1})Fe_3O_4 NPs 对苯甲酸厌氧降解的影响，产甲烷过程如图 2(a) 所示，高浓度 Fe_3O_4 NPs 对甲烷产量有明显抑制作用。实验启动 6 d后，进入快速产甲

环境工程学报版权所有



(a) 体系中甲烷的浓度变化

(b) 体系中苯甲酸的浓度变化

(c) 体系中乙酸的浓度变化

注：体系中 Fe_3O_4 NPs 的质量浓度为 10 ~ 500 mg·L^{-1}。

图 1 低浓度 Fe_3O_4 NPs 对 *S. syntrophicum* 和 *M. hungatei* 互营共培养厌氧降解苯甲酸的影响

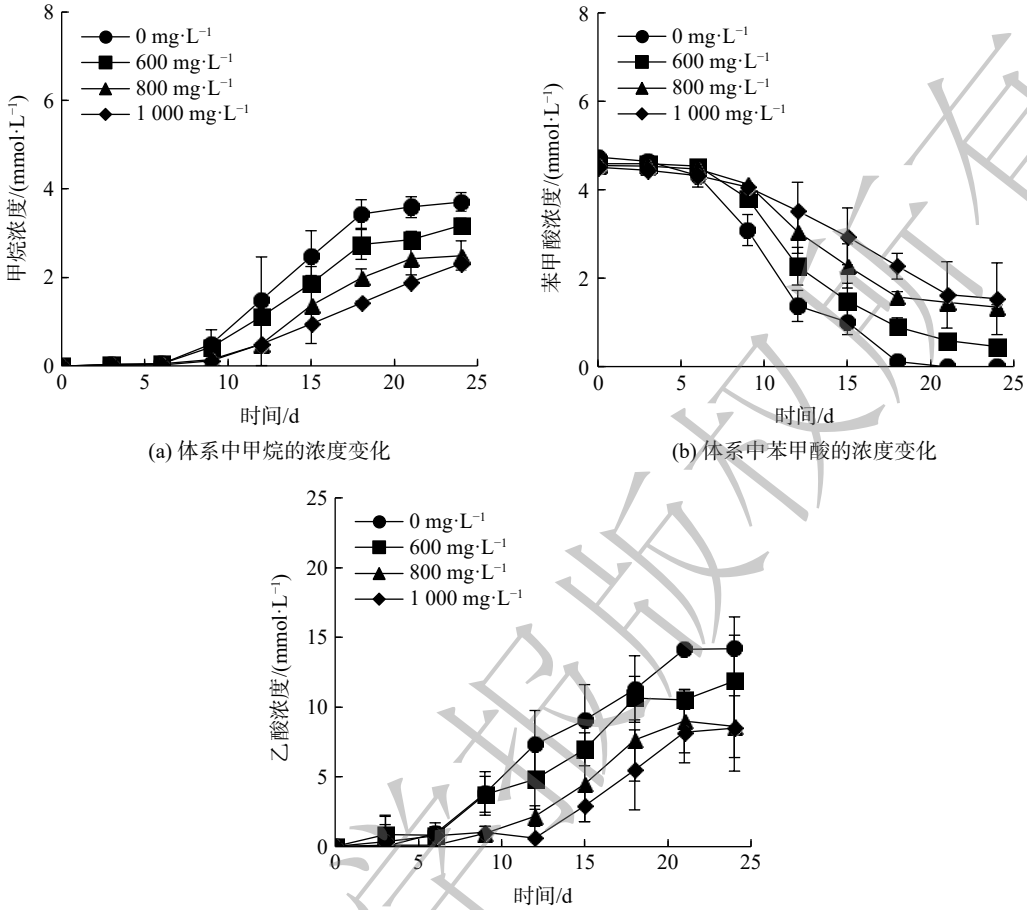
Fig. 1 Effects of Fe_3O_4 NPs at low dosages on anaerobic degradation of benzoate by syntrophic co-culture of *S. syntrophicum* and *M. hungatei*

烷阶段，甲烷浓度均呈现先快速增长后趋于平缓的变化趋势。未添加 Fe_3O_4 NPs 的对照组的产甲烷速率明显高于 Fe_3O_4 NPs 添加体系。在 20 d 左右，最终甲烷累计产生浓度达 3.78 mmol·L^{-1}。第 15 天为所有体系生长最快的一天，对照组和实验组的甲烷产量差别较大，存在显著性差异 ($p<0.05$)。此时，对照组的甲烷浓度达到 2.47 mmol·L^{-1}，而添加高浓度 Fe_3O_4 NPs(600、800、1 000 mg·L^{-1}) 的体系中，产甲烷浓度分别减少了 24.29%，44.13% 和 61.54%。

体系中苯甲酸的厌氧降解过程如图 2(b) 所示，添加高浓度 Fe_3O_4 NPs(600、800、1 000 mg·L^{-1}) 对苯甲酸降解具有明显的抑制作用。未添加 Fe_3O_4 NPs 的对照组，启动 6 d 后苯甲酸呈现先快速降解后缓慢降解的变化趋势，最终在 24 d 左右完全降解。添加高浓度 Fe_3O_4 NPs(600、800 和 1 000 mg·L^{-1}) 的实验组，在启动 0~15 d，苯甲酸降解速率分别下降了 16.53%、39.11% 和 58.06%。体系中产乙酸的过程如图 2(c) 所示，添加高浓度 Fe_3O_4 NPs(600、800、1 000 mg·L^{-1}) 对乙酸的累积具有明显抑制作用。未添加 Fe_3O_4 NPs 的对照组中累积乙酸的浓度最终达到 14 mmol·L^{-1} 左右，符合苯甲酸降解的量论关系式。添加 600、800 和 1 000 mg·L^{-1} 纳米 Fe_3O_4 的实验组，启动 15 d 后累积的乙酸浓度分别减少了 23.15%，50.83% 和 67.81%。

综上所述，添加高浓度 Fe_3O_4 NPs 对 *S. syntrophicum* 与 *M. hungatei* 厌氧降解苯甲酸的产甲烷和

环境工程学报版权所有



(a) 体系中甲烷的浓度变化　(b) 体系中苯甲酸的浓度变化　(c) 体系中乙酸的浓度变化

注：体系中 Fe_3O_4 NPs 的质量浓度为 600~1 000 mg·L^{-1}。

图 2　高浓度 Fe_3O_4 NPs 对 *S. syntrophicum* 和 *M. hungatei* 互营共培养厌氧降解苯甲酸的影响

Fig. 2　Effects of Fe_3O_4 NPs at high dosages on anaerobic degradation of benzoate by syntrophic co-culture of *S. syntrophicum* and *M. hungatei*

产乙酸过程具有明显的抑制作用。抑制效果随 Fe_3O_4 NPs 浓度增大而增强，添加浓度为 1 000 mg·L^{-1} 的 Fe_3O_4 NPs 时抑制作用最强，产甲烷量比对照组减少了 61.54%。高浓度 Fe_3O_4 NPs 表现出的抑制作用可能是由于 Fe_3O_4NPs 具有磁性，磁铁矿的存在会使微生物表面团聚现象增强，包围在微生物周围的铁氧化物颗粒层阻碍了互营菌间的代谢，产生了不良影响[8-9]。

2.2　Fe_2O_3NPs 对 *S. syntrophicum* 厌氧降解苯甲酸产甲烷的影响

添加不同质量浓度 (10~1 000 mg·L^{-1}) 的 Fe_2O_3NPs 对 *S. syntrophicum* 与产甲烷菌 *M. hungatei* 厌氧降解苯甲酸产甲烷的影响如图 3 所示。Fe_2O_3 NPs 对甲烷产量并没有明显的促进或抑制作用。在实验的第 3 天，所有体系均开始产甲烷，添加组和空白对照组的启动时间基本一致。启动的前 12 d，添加不同质量浓度 Fe_2O_3 NPs 累计产生的甲烷浓度为 2.86~3.27 mmol·L^{-1}，与未添加空白对照组 (3.03 mmol·L^{-1}) 相差不大，所有反应体系内累积产甲烷浓度均达到理论值。在第 12 天，对照组和实验组的甲烷产量没有明显差别，不存在显著差异 (p>0.05)，苯甲酸厌氧降解的趋势基本保持一致。在未添加 Fe_2O_3 NPs 的对照组和添加 Fe_2O_3 NPs(质量浓度为 10~1 000 mg·L^{-1}) 的实验组中，苯甲酸均在第 12 天被完全降解。因此，添加 Fe_2O_3 NPs(质量浓度为 10~1 000 mg·L^{-1}) 对所有 *S. syntrophicum* 与产甲烷菌 *M. hungatei* 共培养体系的甲烷产量及苯甲酸降解速率均不存在明显的促进或抑制作用。

环境工程学报版权所有

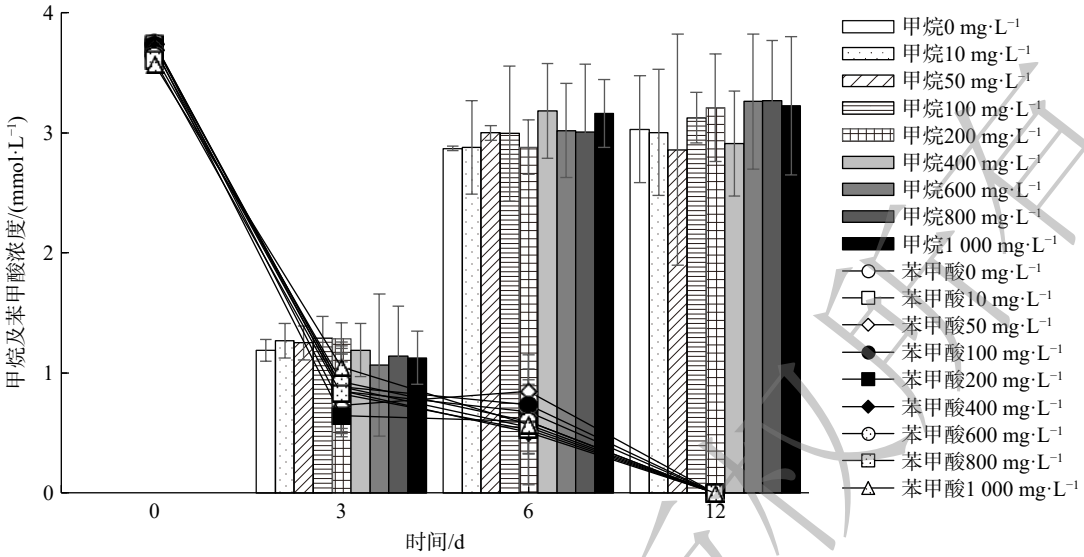


图 3 Fe_2O_3 NPs 对 *S. syntrophicum* 和 *M. hungatei* 互营共培养厌氧降解苯甲酸及产甲烷的影响

Fig. 3 Effects of Fe_2O_3 NPs on anaerobic degradation of benzoate and methane production by syntrophic co-culture of *S. syntrophicum* and *M. hungatei*

2.3 多种导电材料对苯甲酸厌氧降解的影响

有学者以水稻土[14]、海洋沉积物[15]、污泥[17]等作为接种物，采用复合菌群研究了铁基纳米材料对苯甲酸厌氧消化产甲烷过程的影响，但并未研究具体的苯甲酸厌氧降解菌。本研究以 *S. syntrophicum* 和 *M. hungatei* 的互营共培养纯菌体系为研究对象，探究了质量浓度为 10~1 000 mg·L^{-1} 的 Fe_3O_4 NPs 和 Fe_2O_3 NPs 对苯甲酸厌氧降解的影响。表 1 反映了添加外源导电铁材料对苯酚及苯甲酸的厌氧消化产甲烷过程中 DIET 及主要菌群的影响。

有关文献[14-15,17]报道的研究中，其接种物主要为复合菌群，以考查导电材料苯酚和苯甲酸降解过程的影响。添加不同的导电材料使体系的某些菌群发生变化，苯甲酸厌氧互营降解菌 *Syntrophus*

表 1 导电材料对苯酚和苯甲酸厌氧降解的影响

Table 1 Effect of conductive materials on anaerobic phenol and benzoate degradation

反应体系	芳香族化合物的种类	芳香族化合物的浓度/(mmol·L^{-1})	互营厌氧菌	产甲烷菌	导电材料种类	导电材料的质量浓度/(g·L^{-1})	对底物降解率的影响
苯酚废水厌氧处理污泥[17]	苯酚	10.64	*Syntrophorhabdus*, *Syntrophus*	*Methanosaeta*	纳米磁铁矿	5.44	提高100%
水稻土[14]	苯甲酸	8.6	*Bacillaceae*, *Peptococcaceae*	*Methanobacterium*	赤铁矿	2	提高25%
					纳米磁铁矿	1.93	提高53%
苯甲酸驯化体系[15]	苯甲酸	5	*Sporotomaculum*	*Methanobacterium*	磁铁矿	6.96	提高约22.55%
			Desulfotomaculum	*Methanosarcina*, *Methanoculleus*, *Methanosaeta*	纤铁矿	4.8	降低45.10%~56.37%
互营共培养体系	苯甲酸	5	*S. syntrophicum*	*Methanosarcina*, *Methanoculleus*, *Methanosaeta*	Fe_3O_4 NPs	0.01~1	0.01~0.5 g·L^{-1}无影响；1 g·L^{-1}，抑制61%
					Fe_2O_3 NPs	0.01~1	无影响

注：互营共培养体系指的本研究的结果。

环境工程学报版权所有

和 *Sporotomaculum* 可能参与了苯甲酸互营产甲烷的 DIET 过程[14-15]。纳米磁铁矿提高了苯酚的厌氧降解速度，增强了苯酚厌氧降解菌 *Syntrophorhabdus* 和苯甲酸厌氧互营降解菌 *Syntrophus* 的富集，磁铁矿添加组中以苯酚厌氧互营降解菌 *Syntrophorhabdus* 为主，其丰度是对照组的 2.3 倍，这种增强作用涉及到 DIET 过程[17]。本研究同 AROMOKEYE 等[15]发现的主要菌群均为 *Sporotomaculum* 属，但降解效果不同。AROMOKEYE 等[15]发现，添加磁铁矿能加速苯甲酸降解和甲烷生成；而本研究发现，Fe_2O_3 NPs 及低浓度 Fe_3O_4 NPs 对苯甲酸降解并没有作用，高浓度 (600~1 000 mg·L^{-1})Fe_3O_4 NPs 对苯甲酸的降解具有一定抑制效果。造成这一现象的原因在于苯甲酸厌氧降解菌与产甲烷菌的种类差异。本研究采用 *S. syntrophicum* 的纯菌和 *M. hungatei* 的互营共培养体系；而 AROMOKEYE 等[15]则是以复合菌系为研究对象，主要微生物为 *Sporotomaculum* 和 *Methanosarcina*近缘微生物。由于沉积物中微生物的种类繁多，高通量测序技术并不能明确鉴定功能菌种就是 *S. syntrophicum*。

3　结论

1) 以 *S. syntrophicum* 与产甲烷菌 *M. hungatei* 构建的互营共培养体系为研究对象，分别添加质量浓度为 10~500 mg·L^{-1} 的 Fe_3O_4 NPs 和质量浓度为 10~1 000 mg·L^{-1} 的 Fe_2O_3 NPs 对苯甲酸厌氧降解均无抑制或促进作用。

2) 质量浓度为 600~1 000 mg·L^{-1} 的 Fe_3O_4 NPs 对苯甲酸厌氧降解过程具有一定的抑制作用，且抑制效果随 Fe_3O_4 NPs 浓度增大而增强。高浓度 Fe_3O_4 NPs 具有磁性，会使微生物表面团聚现象增强，阻碍互营菌间的代谢，产生不良影响。

3) 质量浓度为 10~1 000 mg·L^{-1} 的 Fe_3O_4 NPs 和 Fe_2O_3 NPs 均不能促进 *S. syntrophicum* 与 *M. hungatei* 共培养体系的种间电子传递过程。导电材料参与互营产甲烷的 DIET 过程与苯甲酸厌氧降解菌与产甲烷菌的种类有关。纯菌互营厌氧降解苯甲酸的体系与复合菌群互营的体系存在差异。

参 考 文 献

[1] LEVEN L, NYBERG K, SCHNURER A. Conversion of phenols during anaerobic digestion of organic solid waste: A review of important microorganisms and impact of temperature[J]. Journal of Environmental Management, 2012, 95(1): S99-S103.

[2] 张晓云, 盖忠辉, 台萃, 等. 微生物降解苯甲酸的研究进展[J]. 微生物学通报, 2012, 39(12): 1808-1816.

[3] FANG H, LIU Y, KE S Z, et al. Anaerobic degradation of phenol in wastewater at ambient temperature[J]. Water Science and Technology, 2004, 49(1): 95-102.

[4] ROTARU A E, SHRESTHA P M, LIU F, et al. A new model for electron flow during anaerobic digestion: Direct interspecies electron transfer to *Methanosaeta* for the reduction of carbon dioxide to methane[J]. Energy & Environmental Science, 2014, 7(1): 408-415.

[5] LI H, CHANG J, LIU P, et al. Direct interspecies electron transfer accelerates syntrophic oxidation of butyrate in paddy soil enrichments[J]. Environmental Microbiology, 2014, 17(5): 1533-1547.

[6] LOVLEY D R, PHILLIPS E J P. Availability of ferric iron for microbial reduction in bottom sediments of the freshwater tidal Potomac River[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1986, 52(4): 751-757.

[7] LOVLEY D R, STOLZ J F, NORD G L, et al. Anaerobic production of magnetite by a dissimilatory iron-reducing microorganism[J]. Nature, 1987, 330(6145): 252-254.

[8] 郭红红, 牧辉, 张晓东, 等. 纳米四氧化三铁对甲烷生物合成途径的影响[J]. 可再生能源, 2018, 36(9): 1271-1277.

[9] 钱风越. Fe_3O_4纳米颗粒对厌氧消化产甲烷过程的影响研究 [D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2015.

[10] 张杰, 陆雅海. 互营氧化产甲烷微生物种间电子传递研究进展[J]. 微生物学通报, 2015, 42(5): 920-927.

[11] 黄玲艳, 刘星, 周顺桂. 微生物直接种间电子传递: 机制及应用[J]. 土壤学报, 2018, 55(6): 1313-1324.

[12] 靖宪月, 陈姗姗, 周顺桂. 吸收胞外电子的电活性微生物[J]. 微生物学报, 2018, 58(1): 19-27.

[13] MARUTHUPANDY M, ANAND M, MADURAIVEERAN G, et al. Electrical conductivity measurements of bacterial nanowires from *Pseudomonas aeruginosa*[J]. Advances in Natural Sciences-Nanoscience and Nanotechnology, 2015, 6(4): 045007.

[14] ZHUANG L, TANG J, WANG Y Q, et al. Conductive iron oxide minerals accelerate syntrophic cooperation in methanogenic benzoate

环境工程学报版权所有

degradation[J]. Journal of Hazardous Materials, 2015, 293: 37-45.

[15] AROMOKEYE D A, ONI O E, TEBBEN J, et al. Crystalline iron oxides stimulate methanogenic benzoate degradation in marine sediment-derived enrichment cultures[J]. The ISME Journal, 2020, 15(4): 965-980.

[16] 马金莲. 磁铁矿促进有机质厌氧降解过程及微生物机制初探[D]. 北京: 中国科学院研究生院, 2016.

[17] YAN W, SUN F, LIU J, et al. Enhanced anaerobic phenol degradation by conductive materials via EPS and microbial community alteration[J]. Chemical Engineering Journal, 2018, 352: 1-9.

[18] 张雪, 张辉, 承磊. 获取有机物厌氧降解产甲烷过程中关键功能类群-互营细菌培养物[J]. 微生物学报, 2019, 59(2): 211-223.

[19] PLUGGE C M, BALK M, STAMS A. *Desulfotomaculum thermobenzoicum* subsp. *thermosyntrophicum* subsp. nov., a thermophilic, syntrophic, propionate-oxidizing, spore-forming bacterium[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2002, 52(2): 391-399.

[20] QIU Y L, SEKIGUCHI Y, IMACHI H, et al. *Sporotomaculum syntrophicum* sp. nov., a novel anaerobic, syntrophic benzoate-degrading bacterium isolated from methanogenic sludge treating wastewater from terephthalate manufacturing[J]. Archives of Microbiology, 2003, 179: 242-249.

[21] SEKIGUCHI Y, KAMAGATA Y, NAKAMURA K, et al. *Syntrophothermus lipocalidus* gen. nov., sp. nov., a novel thermophilic, syntrophic, fatty-acid-oxidizing anaerobe which utilizes isobutyrate[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2000, 50: 771-779.

[22] 谢彤彤, 吴凯旋, 迟明妹, 等. 酒糟厌氧消化液中丙酸互营降解菌的富集培养与群落解析[J]. 应用与环境生物学报, 2020, 26(6): 1406-1410.

(责任编辑: 靳炜)

Effect of iron -based nanomaterials on anaerobic benzoate degradation by syntrophic co-culture of *Sporotomaculum syntrophicum* and *Methanospirillum hungatei*

CHI Mingmei, LU Pingping, SUN Xiaojiao, XU Yan, CHEN Guanghui, ZHANG Peiyu, QIU Yanling*

School of Environmental Science and Engineering, Qingdao University, Qingdao 266071, China

*Corresponding author, E-mail: qiuyl@qibebt.ac.cn

Abstract To unveil the role of iron-based nanomaterials in syntrophic anaerobic degradation of benzoate, ferric oxide nanoparticles Fe_3O_4 NPs and Fe_2O_3 NPs were added to the syntrophic co-culture of Sporotomaculum syntrophicum (belonging to Firmicutes) and Methanospirillum hungatei and their effects were investigated. The results showed that adding Fe_3O_4 NPs at low concentration (10～500 mg·L^{-1}) did not significantly impact the benzoate degradation rate and methane production. However, high dosage of Fe_3O_4 NPs revealed serious inhibition. At Fe_3O_4 NPs dosages of 600, 800 and 1 000 mg·L^{-1}, the methane production was reduced by 24.29%, 44.13% and 61.54%, respectively on day 15. Neither low nor high dosages of Fe_2O_3 NPs (10～1 000 mg·L^{-1}) influenced benzoate degradation and methane production or was able to promote the interspecies electron transfer in S. syntrophicum and M. hungatei co-culture. This study can provide a reference for enhancing anaerobic degradation of benzoate with pure culture, as well as for treating benzoate wastewater and lignocellulosic solid wastes with conductive materials.

Keywords Fe_3O_4 & Fe_2O_3 nanoparticles; syntrophic anaerobic benzoate degradation; direct interspecies electron transfer (DIET); *Sporotomaculum syntrophicum*

环境工程学报版权所有