



铁氧化物对有机质厌氧产甲烷过程的影响及其机制

张 勋, 陈天虎, 王 进, 岳正波 *

合肥工业大学资源与环境工程学院, 安徽合肥 230009

摘要: 甲烷(CH₄)不仅是自然界产生的重要温室气体,也是人类已经推广利用的可再生能源之一。作为自然界广泛存在的矿物,铁氧化物同厌氧微生物的交互作用对产甲烷过程具有显著的影响。主要针对不同铁氧化物-厌氧微生物体系内的产甲烷效率,铁氧化物及微生物群落演化,铁氧化物的作用机制等进行总结分析。铁氧化物在微生物的作用下会发生溶解、还原并可能产生新的矿物。而铁氧化物的直接和间接影响微生物群组成,进而影响产甲烷过程,主要体现在4个方面:(1)铁氧化物溶解及生物还原产生的Fe³⁺/Fe²⁺影响微生物活性和体系氧化还原电位;(2)铁还原菌和产甲烷菌竞争产甲烷基质;(3)铁氧化物对产甲烷菌的直接抑制毒性;(4)具有导电性能的铁氧化物可以作为电子传递媒介促进铁还原菌或脂肪酸氧化菌与产甲烷菌之间的直接电子传递过程。最后,探讨了铁氧化物促进产甲烷过程尚需解决的主要问题及研究趋势,以期推动铁氧化物-厌氧微生物交互作用及其环境效应方面的研究工作。

关键词: 铁氧化物; 厌氧微生物; 电子传递; 甲烷

中图分类号: P66 文章编号: 1000-2383(2018)S2-0136-09 收稿日期: 2017-10-13

Influence of Iron Oxides on Methanogenic Process of Organic Matter and Related Mechanism

Zhang Xun, Chen Tianhu, Wang Jin, Yue Zhengbo *

School of Resources and Environmental Engineering, Hefei University of Technology, Anhui 230009, China

Abstract: Methane is one of the most important greenhouse gases from nature and the renewable energy sources that human beings have explored extensively. Iron oxides, abundant mineral sources on earth, its interaction with anaerobic microorganism can exert significant influences on the methanogenic process. This review summarizes and discusses the different influences of iron oxides-anaerobic microorganism on the process of methanogenesis, including the change of iron oxides and microbial community, and the action mechanisms of iron oxides. Iron oxide could be dissolved and reduced by the microbe and novel mineral phase is generated under certain conditions. Microbial community and the function are influenced by the iron oxides which result in the change of methanogenic process. The influence could be mainly summarized as follows: (1) Fe³⁺/Fe²⁺ generated from the dissolution and reduction of iron oxides influenced the microbial activity and redox potential of the surrounding environments; (2) iron reducing bacteria competed with methanogens for substrate; (3) direct toxicity of iron oxides on methanogens; (4) conductive iron oxides worked as electron conduits and promoted direct interspecies electron transfer between iron reducing bacteria /syntrophic bacteria and methanogens. Finally, the research trends and main problems are proposed, which are expected to promote the studies on interaction between iron oxides and anaerobic microorganism and their environment effects.

Key words: iron oxides; anaerobic microorganism; electron transfer; methane

0 引言

微生物-矿物界面的交互作用能够实现环境中能量和物质之间的相互转换,贯穿于整个生物新陈代

谢的过程,同时对所处的环境产生影响。铁元素在地壳中含量丰富,以铁氧化物和铁氢氧化物等形式广泛存在于地表沉积物和土壤中。由于存在形态的多样性及Fe³⁺/Fe²⁺之间的氧化还原循环作用,铁氧化

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (No. 41572326)
作者简介: 张勋 (1991—), 男, 博士研究生, 主要从事环境微生物研究工作, ORCID: 0000-0003-2759-098X. Email: zhangxunfighting@126.com
* 通讯作者: 岳正波, ORCID: 0000-0003-3295-9542. Email: zbyue@hfut.edu.cn

物在环境中不仅可以作为微生物代谢反应过程中的电子供体或电子受体, 而且能够作为电子传递的通道, 直接驱动环境中关键元素的地球化学循环过程 (Kappler and Straub, 2005; Kim and Strathmann, 2007). 甲烷是比二氧化碳强 22 倍以上的温室气体, 在全球变化、全球变暖等当前至关重要的研究中扮演重要角色. 大气中绝大部分甲烷来源于有机质的厌氧降解, 参与的主要微生物是严格厌氧的产甲烷古菌. 同时作为一种清洁能源, 以甲烷为最终产物的厌氧消化技术在生物质能源、废水处理、固体废物资源化等领域也有广阔的应用前景. 多年来微生物-铁氧化物交互作用对有机质产甲烷过程的影响是国内外多学科研究的热点前沿之一 (Liu *et al.*, 2011; Kato *et al.*, 2012; Jiang *et al.*, 2013; Sivan *et al.*, 2014). 本论文对近年来的铁氧化物同厌氧产甲烷微生物的交互作用方面, 包括矿物变化、微生物群落演化及作用机制等方面进行总结分析.

1 不同铁氧化物对产甲烷过程的影响

铁以多种形式存在于环境中, 比较常见的氧化态为二价和三价, 常见铁氧化物主要包括针铁矿、纤铁矿、赤铁矿、水铁矿、磁铁矿、磁赤铁矿等 (Scheinost and Schulze, 1999). 不同的铁氧化物对产甲烷过程的影响也不尽相同.

1.1 水铁矿

水铁矿是一种结晶弱、粒径小的铁氢氧化物, 多为棕橘黄色, 化学方程式为 $\text{Fe}_5\text{HO}_8 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 比表面积为 $100 \sim 700 \text{ m}^2/\text{g}$. Jäckel and Schnell (2000) 发现添加 15 g/kg 的水铁矿时, 水稻土甲烷排放量仅达到底物理论产气量的 57.1% , 而提高添加量为 30 g/kg 时, 甲烷的排放量仅仅为理论值的 15.6% . Roden (2003) 发现结晶度较差的铁氧化物存在时, 湿地沉积物产甲烷过程也会受到明显抑制. Teh *et al.* (2008) 以 $\text{H}^{13}\text{CO}_3^-$ 和 $^{13}\text{CH}_3\text{COO}^-$ 为底物, 比较了 CH_4 和 CO_2 的同位素比值变化, 发现在无定形铁氢氧化物存在时热带雨林土壤中铁还原菌和产甲烷菌产生激烈的竞争作用, 从而抑制甲烷产生. Hori *et al.* (2010) 利用稳定性同位素探针技术, 以 2 mol/L 的 ^{13}C 标记乙酸钠为底物, 添加水铁矿 $140 \mu\text{mol/g}$ 能够抑制 77% 的甲烷产量. Kato *et al.* (2012) 以 20 mol/L 乙酸钠或乙醇为底物, 水铁矿的加入也会抑制水稻土的产甲烷过程. 张天娇等 (2014) 发现干湿交替和水铁矿耦合对

水稻土中甲烷的排放有很好的抑制效果. Karvinen *et al.* (2015) 发现结晶度低的铁氧化物能够抑制湖底沉积物中甲烷的产生.

1.2 纤铁矿

纤铁矿是一种氢氧化物矿物, 斜方晶系, 颜色为红至红褐色, 化学式为 $\gamma\text{-FeO}(\text{OH})$, 比表面积为 $15 \sim 260 \text{ m}^2/\text{g}$. 曲东和 Sylvia (2002) 发现在水稻土中添加纤铁矿, 其生物还原加快了体系内乙酸和 H_2 的消耗过程, 进而抑制产甲烷过程. 同时发现无定形氧化铁相对于纤铁矿对甲烷产生有更强的抑制作用. Jiang *et al.* (2013) 发现向沉积物底泥中添加四方纤铁矿, Fe^{3+} 经过生物还原作用产生 Fe^{2+} , 再经过生物氧化形成三价铁, 最终演变成针铁矿, 铁的生物还原及氧化过程可以参与甲烷的产生过程.

1.3 针铁矿

针铁矿是一种分布很广的水合铁氧化物, 为斜方双锥晶类, 颜色为褐黄色至褐红色, 化学式为 $\alpha\text{-FeO}(\text{OH})$, 比表面积为 $8 \sim 200 \text{ m}^2/\text{g}$. Zhu *et al.* (2017) 发现加入针铁矿可以显著提高乙酸产甲烷过程, 甲烷产生速率相对于对照可以提高约 15% . Tan *et al.* (2015) 以巢湖蓝藻为研究对象, 发现添加低浓度 (2 mmol/L) 的针铁矿对蓝藻产甲烷有抑制作用, 而当添加量提高至 10 mmol/L 和 20 mmol/L 时, 针铁矿又表现为促进作用. Ma *et al.* (2015) 发现针铁矿能够促进水生植物蒲草的厌氧产甲烷过程, 基于底物分解计算的甲烷产率及总甲烷产量显著提升.

1.4 赤铁矿

赤铁矿属六方晶系的氧化物矿物, 颜色为中度红棕色, 化学式为 Fe_2O_3 , 比表面积为 $10 \sim 100 \text{ m}^2/\text{g}$. Kato *et al.* (2012) 以乙酸钠或乙醇为底物, 向水稻土中添加赤铁矿, 能够促进产甲烷. Zhu *et al.* (2015) 发现赤铁矿能够提高乙酸的厌氧产甲烷过程速率以及缩短迟滞期, 低比表面积赤铁矿的促进效果更好. Zhuang *et al.* (2015) 以含有苯甲酸的水稻土为研究对象, 添加 25 mol/L 的赤铁矿能够加速苯甲酸降解成乙酸, 从而加快产甲烷的速率, 相对于空白对照组速率提升 25% .

1.5 磁铁矿

磁铁矿属等轴晶系的氧化铁矿物, 颜色为黑色, 具有强磁性, 化学式为 Fe_3O_4 , 比表面积为 $10 \sim 100 \text{ m}^2/\text{g}$. 以水稻土为研究对象, Kato *et al.* (2012) 发现磁铁矿能够促进乙酸或乙醇为底物的厌氧产甲烷过程. Cruz *et al.* (2014) 以污水处理厂厌氧污泥为接

种物, 添加磁铁矿可以使得丙酸产甲烷的过程速率显著提升 33%. 以乙醇为底物, Yang *et al.*(2015) 发现磁铁矿的添加能够提高水稻土产甲烷的速率和减少迟滞期. Yamada *et al.*(2015) 人证实 在 55 °C 条件下以丙酸盐为底物的厌氧污泥产甲烷体系中, 磁铁矿能够提高微生物丰度以及促进电子互营养传递. Jing *et al.*(2017) 发现添加 10 mg/L 磁铁矿能够提高丙酸钠产甲烷 44% 的速率. Zhuang *et al.*(2015) 发现磁铁矿能够促进苯甲酸厌氧降解产甲烷, 产甲烷速率显著提高约 53%. Abdelsalam *et al.*(2017) 探究了纳米磁铁矿对牛粪厌氧消化产甲烷过程的影响, 发现磁铁矿对体系加累积甲烷产量提高了 1.96 倍.

铁氧化物从形态上区分主要存在着结构态和游离态. 结构态的铁氧化物因同晶置换而存在于粘土矿物的结构内. 游离态的铁氧化物指附着在粘土矿物表面的氧化铁及其水合物的统称, 包括晶体状态或无定形态, 无定形氧化铁的比表面积大, 活性较高. 磁铁矿中的二价铁和三价铁在晶体中的位置处于无序状态, 因而电子可以快速发生转移, 导致磁铁矿具有很好的导电性, 而赤铁矿属于半导电铁氧化物, 水铁矿属于绝缘体. 上述差异可能是不同铁氧化物对产甲烷过程影响差异较大的主要原因 (Jackson, 1964; Scheinost and Schulze, 1999; Kato *et al.*, 2010).

2 铁氧化物同厌氧微生物的交互作用

2.1 铁氧化物的变化

铁氧化物在厌氧微生物的作用下会发生溶解、还原等, 在特定的条件下会产生新的矿物. Jiang *et al.*(2013) 发现四方纤铁矿中铁的生物还原及氧化过程参与了甲烷产生过程, 最终演变为针铁矿. Liu *et al.*(2011) 发现产甲烷菌 *Methanosarcinabarkeri* 能够利用针铁矿中的 Fe^{3+} 作为电子传递受体进行能量传递和新陈代谢, 在磷酸盐缓冲体系中会产生蓝铁

矿. (Zhang *et al.*, 2012) 发现 *M.barkeri* 具有还原粘土矿物绿脱石中铁的能力, 还原过程伴随着蓝铁矿的生成.

2.2 微生物群落的演变

研究者使用了不同来源的微生物为接种物, 分析了多种铁氧化物体系内的微生物群落组成 (表 1). Kato *et al.*(2012) 在水稻土中添加磁铁矿或赤铁矿后, *Geobacter* 和 *Methanosarcina* 丰度得到显著提升, 而且 *Methanosarcina* 受到抑制时, *Geobacter* 也停止生长. Jing *et al.*(2017) 发现添加磁铁矿影响产甲烷古菌群落丰度, 利用基于 iTRAQ 定量蛋白质组学分析技术表明体系中的 *Methanospirillum* 和 *Methanospaerula* 参与种间直接电子传递过, 而主导地位的 *Methanosaeta* 和 *Methanosarcina* 可能没有参与. Zhuang *et al.*(2015) 发现添加铁氧化物后受苯甲酸污染的水稻土中 *Bacillaceae*, *Peptococcaceae* 和 *Methanobacterium* 等的丰度显著提升. 马金莲 (2016) 发现高浓度氨氮条件下产甲烷菌主要为 *Methanobacteriaceae* 和 *Methanosarcinaceae*, 添加磁铁矿后 *Geobacter* 和 *Methanobacteriaceae* 得到明显富集. Yang *et al.*(2015) 人水稻土中加入磁铁矿使得具有还原三价铁能力的兼性铁还原菌 (*Dechloromonas*, *Thauera*, *Desulfovibrio* 和 *Clostridium* 以及利用氢气的产甲烷菌 *Methanobacterium* 得到显著富集, 而传统认为参与直接电子传递的地杆菌属 *Geobacter* 只有少量的 0.65%. 研究者得到的普遍结论为具有良好导电性的铁氧化物能够促进种间的电子传递, 以电子介导的方式来调控脂肪酸氧化菌和产甲烷菌之间的电子传递, 从而提高了底物分解速率和产甲烷速率 (Ma *et al.*, 2015; Baek *et al.*, 2016). 但是, 通常情况下同时也存在利用乙酸和氢气产甲烷途径, 各种产甲烷途径对甲烷产生的相对贡献尚未有明确的定量分析结果.

表 1 不同铁氧化物-厌氧微生物体系内的主要细菌及产甲烷菌

Table 1 Main bacteria and methanogen species in the different iron oxide-anaerobic microorganism systems

底物	接种物	添加矿物	细菌	产甲烷菌	参考文献
乙醇/乙酸	水稻土	赤铁矿/磁铁矿	<i>Geobacter</i>	<i>Methanosarcina</i>	Kato <i>et al.</i> , 2012
乙酸	河底污泥	四方纤铁矿	<i>Clostridium</i>	<i>Methanosarcina</i>	Jiang <i>et al.</i> , 2013
乙酸/丙酸	反应器污泥	磁铁矿	<i>Tepidoanaerobacter</i> , <i>Coprothermobacter</i>	<i>Methanosarcina</i>	Yamada <i>et al.</i> , 2015
乙醇	水稻土	磁铁矿	<i>Dechloromonas</i> , <i>Thauera</i> , <i>Desulfovibrio</i>	<i>Methanobacterium</i>	Yang <i>et al.</i> , 2015
苯甲酸	水稻土	赤铁矿/磁铁矿	<i>Bacillaceae</i> , <i>Peptococcaceae</i>	<i>Methanobacterium</i>	Zhuang <i>et al.</i> , 2015
蓝藻	酒厂污泥	针铁矿	<i>Clostridium</i>	<i>Methanosaeta</i>	Yue <i>et al.</i> , 2015
丙酸	发电厂污泥	磁铁矿	<i>Chloroflexi</i>	<i>Methanosaeta</i>	Baek <i>et al.</i> , 2016
丙酸	反应器污泥	磁铁矿	<i>Thauera</i>	<i>Methanospirillum</i> , <i>Methanospaerula</i>	Jing <i>et al.</i> , 2017
乙酸	热带雨林土	无定形氧化铁	<i>Fe(III)-reducing bactreia</i>	<i>Methanogenic archaea</i>	Teh <i>et al.</i> , 2008

3 铁氧化物对有机质厌氧产甲烷过程的影响机制

厌氧环境下铁氧化物及其水解、生物还原过程将对微生物组成、活性及代谢途径等产生直接和间接的影响,进而影响有机质的厌氧产甲烷过程 (Weber *et al.*, 2006).

3.1 铁氧化物溶解及生物还原产生的 $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ 的作用

微生物驱动的 $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ 循环转化具有很重要的生态环境意义 (图1). 产甲烷菌最适宜的氧化还原电势 (Eh) 值在 -150 mV 以下 (Harrison *et al.*, 2013), 明显低于部分铁氧化物的 Eh 值, 如水铁矿的值为 -100 mV 到 100 mV (Stumm and Morgan, 2012). 因此, 环境中水铁矿的存在可以提高系统 Eh 值, 抑制产甲烷菌活性. 而生物还原过程产生的 Fe^{2+} 能够降低氧化还原电位, 促进产甲烷菌生长以及促进辅酶 F420 的产生, 进而提高产甲烷微生物活性 (Zhang *et al.*, 2009; Zhang *et al.*, 2012; Ma *et al.*, 2015; Tan *et al.*, 2015). 在复杂底物如长链脂肪酸存在的体系中, Fe^{2+} 还能够和长链脂肪酸产生沉淀, 降低其毒性作用, 进而有利于甲烷的产生 (Li and Wrenn, 2001).

3.2 铁还原菌与产甲烷菌对产甲烷基质的竞争

在底物限制性条件下, 铁还原菌发生代谢所需的底物浓度要求比产甲烷菌低, 有利于铁还原菌优先利用底物, 从而降低甲烷产量 (Achtnich *et al.*, 1995; 曲东和 Sylvia, 2002). 矿物的结晶程度直接影响 Fe^{3+} 的还原活性和生物可利用性, 进而影响铁还原菌和产甲烷菌对底物的竞争作用. 通常情况下, 结晶程度低的铁氧化物更容易被铁还原菌利用, 如水铁矿比纤铁矿、赤铁矿等更易被微生物利用还原, 且对产甲烷的抑制作用更为显著.

3.3 铁氧化物对产甲烷菌的直接抑制作用

除了铁还原菌, 某些产甲烷菌可以直接利用乙酸或 H_2 还原铁氧化物, 此过程可能不受铁氧化物结晶度的限制. Roden (2003) 以富集培养的湿地沉积物微生物为接种物, 研究发现在相同的比表面积条件下, 加入结晶程度较高的赤铁矿和无定形铁氧化物都可以使得铁还原途径增强, 产甲烷途径受到抑制. Bond and Lovley (2002) 研究发现产甲烷菌 (*M.barkeri* MS, *Methanococcusvoltagei* A3) 能够以氢气底物还原相当数量的铁氧化物, 即使加入 BES 抑制产甲烷途径 (抑制效率为 96%) 时也能够进行铁还原. 铁氧化物存在时 *Methanosphaeracuniculi* 1R7, *Methanobacteriumpalustre* F 以及以乙酸为基质的 *M.barkeri* MS 的生长受到完全抑制. Van *et al.*(2004) 研究发现添加 $\text{Fe}(\text{OH})_3$ 浓度在 $0\sim 10\text{ mol/L}$ 之间可抑制 *Methanospirillumhungatei* 和 *M.barkeri* 的产甲烷过程. 用 H_2/CO_2 培养的 *M.hungatei* 和 *M.barkeri* 对三价铁的还原能力高于用乙酸培养的产甲烷菌. 产甲烷菌利用 H_2 还原 Fe^{3+} 过程对产甲烷过程的抑制程度要高于利用乙酸还原 Fe^{3+} 过程. *M.barkeri* 具有还原针铁矿的功能, 从而降低甲烷产量 (Liu *et al.*, 2011). 除了铁氧化物, 产甲烷菌如 *Methanosarcinamazei* 能够部分还原粘土矿物的三价铁 (Zhang *et al.*, 2012). 综上所述, 产甲烷菌还原 Fe^{3+} 也是铁氧化物抑制甲烷产生的重要途径之一.

3.4 铁氧化物作为 DIET 发生媒介强化产甲烷过程

传统认为厌氧降解产甲烷代谢机制是互营降解产生电子, 再由种间氢/甲酸转移给产甲烷菌生成甲烷 (东秀珠, 1993). 根据产甲烷过程中碳代谢途径的差异, 可以分为 CO_2 还原途径, 乙酸发酵途径和甲基裂解途径, 如图2所示 (承磊等, 2016).

最新研究发现, 微生物之间的电子转移可能以另一种更直接的方式进行即种间直接电子转移 (Direct Interspecies Electron Transfer, DIET). DIET 过程主要发生不同微生物之间, 可以通过鞭毛、菌毛或分泌的细胞色素等途径发生 (Gorby *et al.*, 2006; Malvankar *et al.*, 2011; Summers *et al.*, 2012; Rotaru *et al.*, 2014; Holmes *et al.*, 2017; Phuc *et al.*, 2017), 也可由具有导电特性的物质如铁氧化物、颗粒活性炭、碳纳米管等完成 (Kato *et al.*, 2012; Cruz *et al.*, 2014; Zhuang *et al.*, 2015).

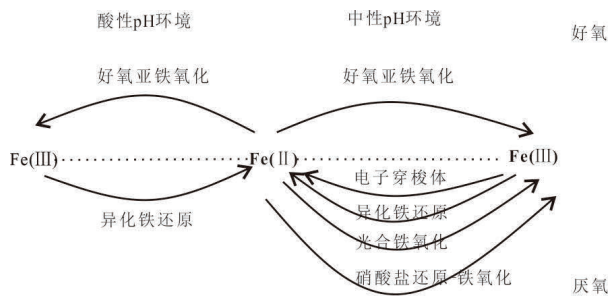


图 1 环境中微生物驱动铁氧化还原循环 (Konhauser *et al.*, 2011)

Fig.1 Microbial Fe(III)-reduction and Fe(II)-oxidation processes in environments

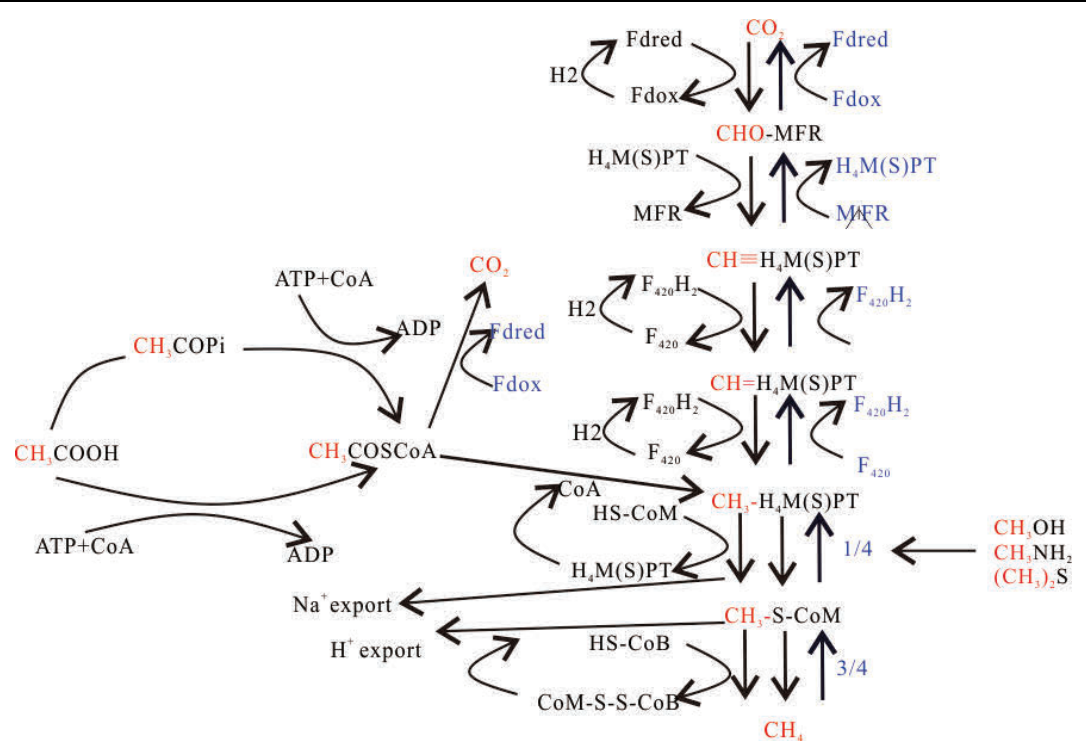


图 2 产甲烷古菌的产甲烷代谢途径 (承磊等, 2016)
Fig.2 Methanogenic pathway of methanogens.

作为一种新的种间电子途径, 在产甲烷环境体系内 DIET 也得到了人们的广泛关注和研究. Kato *et al.*(2012) 发现水稻土中添加 (半) 导体铁氧化物 (赤铁矿和磁铁矿) 能够创建一种特殊的种间相互联系, 进而促进乙醇或乙酸的产甲烷过程. 克隆文库结果分析表明铁氧化物的加入能够刺激 *Geobacter* 的生长, BES 的添加能够抑制甲烷产生和 *Geobacter* 生长. 因此, 地杆菌与产甲烷菌可能是以铁氧化物为载体进行直接电子传递互营关系. 除了常见的地杆菌属之外, 脂肪酸氧化菌同产甲烷菌之间的 DIET 也得到了人们的广泛研究和关注. Cruz *et al.*(2014) 添加纳米级磁铁矿之后体系产甲烷的速率得到显著的提升 (33%), 同时研究了氢气分压对产甲烷的影响. 当氢分压很大的情况下理论上丙酸钠氧化的吉布斯自由能为吸热过程不能自发进行, 但是在磁铁矿存在的情况下, 此过程可以正常发生. 作者认为关键在于丙酸降解成乙酸的细菌可以将产生的电子通过磁铁矿直接传递给产甲烷菌 (*Methanosaetaceae* 进行 CO_2 还原生成甲烷. 理论计算结果也表明磁铁矿介导的 DIET 电子传递速率比种间 H_2 过程快约 10^6 倍. Li *et al.*(2014) 以水稻土微生物的富集体为研究对象, 证实添加纳米磁铁矿明显促进丁酸互营氧化产甲烷过程. 分子生物学及 DNA-SIP 结果表明参与该过程的

微生物有 *Syntrophomonadaceae*、*Geobacteraceae* 和 *Methanosarcinaceae*、*Methanocellales*、*Methanobacteriales*, 其中 *Geobacteraceae* 的生长与纳米磁铁矿的浓度呈显著正相关. 而使用二氧化硅覆盖磁铁矿表面阻断其导电性能后, 则相应的促进作用消失. 纳米磁铁矿极可能激发了丁酸互营氧化菌与产甲烷菌之间的直接电子传递, 而 *Geobacter* 在该过程中扮演重要角色. Zhuang *et al.*(2015) 发现苯甲酸氧化菌代谢过程中产生的电子通过铁氧化物直接传递给 CO_2 产甲烷. Yang *et al.*(2015) 发现具有还原三价铁能力的兼性铁还原菌 (*Dechloromonas*, *Thauera*, *Desulfovibrio* 和 *Clostridium* 以及产甲烷菌 *Methanobacterium* 之间可能建立了一种互营产甲烷的机制. Jing *et al.*(2017) 阐述了磁铁矿促进丙酸降解产甲烷的机制, 如图3所示.

种间氢或甲酸电子转移在脂肪酸互营降解产甲烷过程中的相对重要性并没有完全确定 (刘鹏飞和陆雅海, 2013). 由导电矿物介导的 DIET 相对于传统的种间 H_2 /甲酸转移电子的传递效率更加高效, 且不易受到 H_2 和甲酸浓度的影响, 因此其在加速有机质降解产生生物能源等方面有重要的应用前景 (Cruz *et al.*, 2014). 但是目前, 尽管众多研究者对 DIET 现象进行了广泛研究, 关于 DIET 的研究多集中在地杆菌属. 已有直接证据证明能够进行 DIET 的微生物

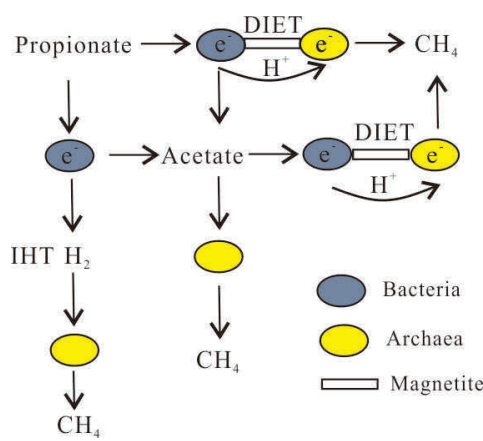


图 3 磁铁矿促进丙酸产甲烷的机制 (Jing *et al.*, 2017)
Fig.3 The proposed methane production mechanism from propionate facilitated by magnetite

有 *G. metallireducens*, *M. barkeri* 和 *M. harundinacea* (唐子阳等, 2016). 而对于其他铁还原菌、脂肪酸氧化菌同产甲烷之间以铁氧化物作为媒介发生 DIET 尚缺乏直接的证据.

3.5 铁氧化物-产甲烷体系内微生物代谢产物的作用

微生物代谢产物主要包括胞外聚合物和溶解性微生物代谢产物, 其中血红蛋白、腐殖酸类物质、核黄素、黄素单核苷酸和绿脓菌素等具有传递电子能力 (Marsili *et al.*, 2008; Li *et al.*, 2012; Chen *et al.*, 2013). 这些物质不仅可以供自身传递电子, 也可以被其他微生物利用进行胞外电子传递从而有效提高微生物代谢效率 (Pham *et al.*, 2008; 毕冉等, 2013), 而纳米矿物会刺激微生物分泌胞外聚合物和溶解性微生物代谢产物 (Tourney and Ngwenya, 2014). 此类具有电子传递能力的微生物代谢产物在铁氧化物促进产甲烷过程中也具有一定的作用.

Bond and Lovley (2002) 研究 *M.barkeri* MS 和 *M.voltaei* A3 时发现以氢气或甲醇为底物, 加入 AQDS 能够提高铁氧化物的还原效率, 增强其对甲烷产生的抑制作用, 但可以缩短产甲烷过程的延迟时间. *M.barkeri* 和 *M.voltaei* 能够以氢气为电子供体, 以 AQDS 为电子传递体还原铁氧化物, 即使添加产甲烷菌抑制剂 BES 条件下, 铁还原也能够发生. Liu *et al.* (2011) 发现 AQDS 存在时 *M.barkeri* 对铁氧化物的还原效率由 3% 显著提高到 30%. 上述研究表明产甲烷菌胞外聚合物可能和 AQDS 之间存在某种协同作用, 进而影响产甲烷和铁还原过程. Li *et al.* (2014) 在纳米磁铁矿促进丁酸互营氧化产甲烷的体系中添加 AQDS, 在第一代培养中 AQDS 的影响并不

显著, 在第二代培养中显著增强了磁铁矿的刺激作用. Zhou *et al.* (2014) 研究发现加入 AQDS 不仅可以单独促进产甲烷作用, 而且进一步增强赤铁矿对产甲烷的促进作用. 但是对磁铁矿促进产甲烷作用并无显著影响, 这表明 AQDS 和铁氧化物对产甲烷过程具有协同作用, 但是受到铁氧化物性能如导电性的影响. Li *et al.* (2016) 研究发现 *Shewanellaoneidensis* 和 *Pseudomonas putida* 产生的胞外聚合物中血红素结合蛋白具有氧化还原性能, 在胞外电子传递过程及微生物-铁氧化物界面作用中具有重要作用. Zhu *et al.* (2017) 发现针铁矿促进了微生物代谢产物的生成. 利用透析袋对代谢产物进行富集可以进一步提高产甲烷速率. 作者推测 SMP 中具有胞外电子传递能力的黄素类物质可以提高微生物之间电子转移效率, 进而促进产甲烷. 微生物体内还存在着众多与种间电子传递相关的功能蛋白, 但目前的研究还不够充分 (Smith *et al.*, 2015).

4 研究展望

合理利用天然或人工合成的铁氧化物作用于厌氧产甲烷体系对于温室效应的缓解以及生物能源的开发具有重要的意义和应用价值. 微生物生长及活性都受到环境因子如 pH、温度、底物浓度及微量元素的影响, 而铁氧化物的结晶程度和比表面积直接影响其 Fe^{3+} 的生物可利用型. 这些因素的综合效应将决定其对甲烷产生过程的影响. Yao *et al.* (2017) 基于投加的铁氧化物投加量、比表面积和底物浓度提出了一个概念模型, 用以评价体系甲烷产生的影响, 但该模型未能阐明不同铁氧化物的影响. 而对于 DIET、种间氢、甲酸作为种间电子传递途径、以及乙酸裂解途径对于体系甲烷产生的定量计算和表达尚无有效的判别手段和方法.

除了地杆菌属, 文献报道中发现的互营菌同产甲烷菌之间发生的 DIET 过程尚无直接证据. 未来亟需利用稳定性同位素示踪技术、宏基因组分析、基因敲除等技术在纯培养体系中确定参与 DIET 过程的微生物种类并揭示其作用机制. 微生物代谢产物在铁氧化物同微生物交互作用中具有极其重要的角色, 其作用并不清晰, 需要利用光谱、色谱、电化学分析等现代分析测试技术, 并结合生物技术对其进行深入分析和研究.

References

- Abdelsalam, E., Samer, M., Attia, Y.A., et al., 2017. Influence of Zero Valent Iron Nanoparticles and Magnetic Iron Oxide Nanoparticles on Biogas and Methane Production from Anaerobic Digestion of Manure. *Energy*, 120: 842–853. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2016.11.137>
- Achtnich, C., Bak, F., Conrad, R., 1995. Competition for Electron Donors among Nitrate Reducers, Ferric Iron Reducers, Sulfate Reducers, and Methanogens in Anoxic Paddy Soil. *Biology and Fertility of Soils*, 19(1): 65–72. <https://doi.org/10.1007/bf00336349>
- Baek, G., Jung, H., Kim, J., et al., 2016. A Long-Term Study on the Effect of Magnetite Supplementation in Continuous Anaerobic Digestion of Dairy Effluent—Magnetic Separation and Recycling of Magnetite. *Bioresource Technology*, 241: 830–840. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.10.019>
- Bi, R., Zhou, S.G., Yuan, T., et al., 2013. Electron Transfer Capacities of Dissolved Organic Matter and its Ecological Effects. *Acta Ecologica Sinica*, 33(1): 0045–0052 (in Chinese with English abstract).
- Bond, D.R., Lovley, D.R., 2002. Reduction of Fe(III) Oxide by Methanogens in the Presence and Absence of Extracellular Quinones. *Environmental Microbiology*, 4(2): 115–124. <https://doi.org/10.1046/j.1462-2920.2002.00279.x>
- Chen, J.J., Chen, W., He, H., et al., 2013. Manipulation of Microbial Extracellular Electron Transfer by Changing Molecular Structure of Phenazine-Type Redox Mediators. *Environmental Science & Technology*, 47(2): 1033–1039. <https://doi.org/10.1021/es304189t>
- Cruz, V.C., Rossetti, S., Fazi, S., et al., 2014. Magnetite Particles Triggering a Faster and More Robust Syntrophic Pathway of Methanogenic Propionate Degradation. *Environmental Science & Technology*, 48(13): 7536–7543. <https://doi.org/10.1021/es5016789>
- Cheng, L., Zheng, Z.Z., Wang, C., et al., 2016. Recent Advances in Methanogens. *Microbiol. China*, 43(5): 1143–1164 (in Chinese with English abstract).
- Dong, X.Z., 1993. The Mechanism of Syntrophic Methanogenesis in Anaerobic Degradation Process. *Microbiol. China*, 20(1): 36–42 (in Chinese).
- Gorby, Y.A., Yanina, S., McLean, J.S., et al., 2006. Electrically Conductive Bacterial Nanowires Produced by *Shewanella Oneidensis* Strain MR-1 and Other Microorganisms. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(30): 11358–11363. <https://doi.org/10.1073/pnas.0604517103>
- Harrison, K.T., Beare, M.H., Meenken, E.D., et al., 2013. Soil Organic Matter and Texture Affect Responses to Dry/Wet Cycles: Effects on Carbon Dioxide and Nitrous Oxide Emissions. *Soil Biology and Biochemistry*, 57: 43–55. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2012.10.008>
- Holmes, D.E., Shrestha, P.M., Walker, D.J.F., et al., 2017. Metatranscriptomic Evidence for Direct Interspecies Electron Transfer between *Geobacter* and *Methanoxithrix* Species in Methanogenic Rice Paddy Soils. *Applied and Environmental Microbiology*, 83(9): e00223–e00317. <https://doi.org/10.1128/AEM.00223-17>
- Hori, T., Müller, A., Igarashi, Y., et al., 2010. Identification of Iron-Reducing Microorganisms in Anoxic Rice Paddy Soil by ¹³C-Acetate Probing. *The ISME Journal*, 4(2): 267–278. <https://doi.org/10.1038/ismej.2009.100>
- Jäckel, U., Schnell, S., 2000. Suppression of Methane Emission from Rice Paddies by Ferric Iron Fertilization. *Soil Biology and Biochemistry*, 32(11/12): 1811–1814. [https://doi.org/10.1016/s0038-0717\(00\)00094-8](https://doi.org/10.1016/s0038-0717(00)00094-8)
- Jiang, S., Park, S., Yoon, Y., et al., 2013. Methanogenesis Facilitated by Geobiochemical Iron Cycle in a Novel Syntrophic Methanogenic Microbial Community. *Environment Science Technology*, 47(17): 10078–10084. <https://doi.org/10.1021/es402412c>
- Jackson, M.L. 1964. Chemical Composition of Soils. Chapman and Hall, London.
- Jing, Y.H., Wan, J.J., Angelidaki, I., et al., 2017. ITRAQ Quantitative Proteomic Analysis Reveals the Pathways for Methanation of Propionate Facilitated by Magnetite. *Water Research*, 108: 212–221. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.10.077>
- Konhauser, K.O., Kappler, A., Roden, E.E., 2011. Iron in Microbial Metabolisms. *Elements*, 7(2): 89–93. <https://doi.org/10.2113/gselements.7.2.89>
- Kappler, A., Straub, K.L., 2005. Geomicrobiological Cycling of Iron. *Reviews in Mineralogy and Geochemistry*, 59(1): 85–108. <https://doi.org/10.2138/rmg.2005.59.5>
- Kato, S., Nakamura, R., Kai, F., et al., 2010. Respiratory Interactions of Soil Bacteria with (Semi)Conductive Iron-Oxide Minerals. *Environmental Microbiology*, 12(12): 3114–3123. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2010.02284.x>
- Kim, D., Strathmann, T.J., 2007. Role of Organically Complexed Iron(II) Species in the Reductive Transformation of RDX in Anoxic Environments. *Environmental Science & Technology*, 41(4): 1257–1264. <https://doi.org/10.1021/es062365a>
- Karvinen, A., Lehtinen, L., Kankaala, P., 2015. Variable Effects of Iron (Fe (III)) Additions on Potential Methane Production in Boreal Lake Littoral Sediments. *Wetlands*, 35(1): 137–146. <https://doi.org/10.1007/s13157-014-0602-6>
- Kato, S., Hashimoto, K., Watanabe, K., 2012. Methanogenesis Facilitated by Electric Syntrophy via (Semi)conductive Iron-Oxide Minerals. *Environmental Microbiology*, 14(7): 1646–1654. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2011.02611.x>
- Li, Z.K., Wrenn, B.A., 2004. Effects of Ferric Hydroxide on the Anaerobic Biodegradation Kinetics and Toxicity of Vegetable Oil in Freshwater Sediments. *Water Research*, 38(18): 3859–3868. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2004.07.010>
- Liu, D., Wang, H.M., Dong, H.L., et al., 2011. Mineral Transformations Associated with Goethite Reduction by *Methanosarcina barkeri*. *Chemical Geology*, 288(1/2): 53–60. <https://doi.org/10.1016/j.chemgeo.2011.06.013>
- Li, H.J., Chang, J.L., Liu, P.F., et al., 2014. Direct Interspecies Electron Transfer Accelerates Syntrophic Oxidation of Butyrate in

- Paddy Soil Enrichments. *Environmental Microbiology*, 17(5): 1533–1547. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.12576>
- Li, S.W., Sheng, G.P., Cheng, Y.Y., et al., 2016. Redox Properties of Extracellular Polymeric Substances (EPS) from Electroactive Bacteria. *Scientific Reports*, 6(1): 39098. <https://doi.org/10.1038/srep39098>
- Li, R., Tiedje, J.M., Chiu, C.C., et al., 2012. Soluble Electron Shuttles can Mediate Energy Taxis toward Insoluble Electron Acceptors. *Environment Science & Technology* 46: 2813–2820. <https://doi.org/10.1021/es204302w>
- Liu, P.F., Lu, Y.H., 2013. A Review of Syntrophic Fatty Acids Oxidation in Anoxic Paddy Soil. *Microbiol. China*, 40(1): 109–122 (in Chinese with English abstract).
- Malvankar, N. S., Vargas, M., Nevin, K. P., et al., 2011. Tunable Metallic-Like Conductivity in Microbial Nanowire Networks. *Nature Nanotechnology*, 6(9): 573–579. <https://doi.org/10.1038/nnano.2011.119>
- Marsili, E., Baron, D.B., Shikhare, I.D., et al., 2008. Shewanella Secretes Flavins that Mediate Extracellular Electron Transfer. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(10): 3968–3973. <https://doi.org/10.1073/pnas.0710525105>
- Ma, D., Wang, J., Chen, T.H., et al., 2015. Iron-Oxide-Promoted Anaerobic Process of the Aquatic Plant of Curly Leaf Pondweed. *Energy & Fuels*, 29(7): 4356–4360. <https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.5b00573>
- Ma, J.L., 2016. Magnetite Promote Anaerobic Degradation of Organic Matters (Dissertation). University of Chinese Academy of Sciences, Beijing (in Chinese with English abstract).
- Pham, T.H., Boon, N., Aelterman, P., et al., 2008. Metabolites Produced by Pseudomonas Sp. Enable a Gram-Positive Bacterium to Achieve Extracellular Electron Transfer. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 77(5): 1119–1129. <https://doi.org/10.1007/s00253-007-1248-6>
- Phuc, T.H., Stephen, R.L., Liang, S., et al., 2017. Syntrophic Anaerobic Photosynthesis via Direct Interspecies Electron Transfer. *Nature Communications*, 8: 13924. <https://doi.org/10.1038/ncomms13924>
- Qu, D., Sylvia, S., 2002. Suppression of Methanogenesis by Iron Oxides in Paddy Soil. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 22 (1): 65–69 (in Chinese with English abstract).
- Roden, E.E., 2003. Diversion of Electron Flow from Methanogenesis to Crystalline Fe(III) Oxide Reduction in Carbon-Limited Cultures of Wetland Sediment Microorganisms. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(9): 5702–5706. <https://doi.org/10.1128/aem.69.9.5702-5706.2003>
- Rotaru, A.E., Shrestha, P.M., Liu, F.H., et al., 2014. A New Model for Electron Flow during Anaerobic Digestion: Direct Interspecies Electron Transfer to Methanosaeta for the Reduction of Carbon Dioxide to Methane. *Energy Environ Science*, 7(1): 408–415. <https://doi.org/10.1039/c3ee42189a>
- Scheinost, A.C., Schulze, D.G., 1999. Soil Mineralogy 3. Oxide Minerals. In: Sumner, M.E., Kampf, N., eds., Handbook of Soil Science. CRC Press, USA.
- Sivan, O., Antler, G., Turchyn, A.V., et al., 2014. Iron Oxides Stimulate Sulfate-Driven Anaerobic Methane Oxidation in Seeps. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(40): E4139–E4147. <https://doi.org/10.1073/pnas.1412269111>
- Stumm, W., Morgan, J.J., 2012. Aquatic Chemistry: Chemical Equilibria and Rates in Natural Waters. John Wiley and Sons, New York.
- Summers, Z.M., Fogarty, H.E., Leang, C., et al., 2012. Direct Exchange of Electrons within Aggregates of an Evolved Syntrophic Coculture of Anaerobic Bacteria. *Science*, 330(6009): 1413–1415. <https://doi.org/10.1126/science.1196526>
- Smith, J.A., Nevin, K.P., Lovley, D.R., 2015. Syntrophic Growth Via Quinone-Mediated Interspecies Electron Transfer. *Frontiers in Microbiology*, 6(41): 121. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00121>
- Tourney, J., Ngwenya, B.T., 2014. The Role of Bacterial Extracellular Polymeric Substances in Geomicrobiology. *Chemical Geology*, 386: 115–132. <https://doi.org/10.1016/j.chemgeo.2014.08.011>
- Tan, J., Wang, J., Xue, J., et al., 2015. Methane Production and Microbial Community Analysis in the Goethite Facilitated Anaerobic Reactors Using Algal Biomass. *Fuel*, 145: 196–201. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2014.12.087>
- Tang, Z.Y., Tang, J., Zhuang, L., et al., 2016. Influence of Iron Oxides on Microbial Methanogenesis and Related Mechanisms. *Acta Ecologica Sinica*, 35(6): 1653–1660 (in Chinese with English abstract).
- Teh, Y.A., Dubinsky, E.A., Silver, W.L., et al., 2008. Suppression of Methanogenesis by Dissimilatory Fe(III)-Reducing Bacteria in Tropical Rain Forest Soils: Implications for Ecosystem Methane Flux. *Global Change Biology*, 14(2): 413–422. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2007.01487.x>
- Van, B.P.M., Scholten, J.C.M., Stams, A.J.M., 2004. Direct Inhibition of Methanogenesis by Ferric Iron. *FEMS Microbiology Ecology*, 49(2): 261–268. <https://doi.org/10.1016/j.femsec.2004.03.017>
- Weber, K.A., Achenbach, L.A., Coates, J.D., 2006. Microorganisms Pumping Iron: Anaerobic Microbial Iron Oxidation and Reduction. *Nature Reviews Microbiology*, 4(10): 752–764. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1490>
- Yamada, C., Kato, S., Ueno, Y., et al., 2015. Conductive Iron Oxides Accelerate Thermophilic Methanogenesis from Acetate and Propionate. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 119(6): 678–682. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2014.11.001>
- Yue, Z.B., Ma, D., Wang, J., et al., 2015. Goethite Promoted Anaerobic Digestion of Algal Biomass in Continuous Stirring-Tank Reactors. *Fuel*, 159: 883–886. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2015.07.059>
- Yang, Z.M., Shi, X.S., Wang, C.S., et al., 2015. Magnetite Nanoparticles Facilitate Methane Production from Ethanol Via Acting as Electron Acceptors. *Scientific Reports*, 5(1): 16118. <https://doi.org/10.1038/srep16118>
- Yao, D.F., Zhang, X., Wang, G.W., et al., 2017. A Novel Parameter for Evaluating the Influence of Iron Oxide on the Methanogenic Process. *Biochemical Engineering Journal*, 125: 144–150.
- Zhou, S.G., Xu, J., Yang, G., et al., 2014. Methanogenesis Affected by the Co-occurrence of Iron(III) Oxides and Humic Substances.

- FEMS Microbiology Ecology*, 88(1): 107–20. <https://doi.org/10.1111/1574-6941.12274>
- Zhang, L.S., Keller, J., Yuan, Z.G., 2009. Inhibition of Sulfate-Reducing and Methanogenic Activities of Anaerobic Sewer Biofilms by Ferric Iron Dosing. *Water Research*, 43(17): 4123–4132. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2009.06.013>
- Zhu, D., Wang, J., Chen, T.H., et al., 2015. Comparison of Hematite-Facilitated Anaerobic Digestion of Acetate and Beef Extract. *Environmental Technology*, 36(18): 2295–2299. <https://doi.org/10.1080/09593330.2015.1026288>
- Zhu, M.Y., Peng, S.C., Tao, W., et al., 2017. Response of Methane Production and Microbial Community to the Enrichment of Soluble Microbial Products in Goethite-Dosed Anaerobic Reactors. *Fuel*, 191: 495–499. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2016.11.108>
- Zhuang, L., Tang, J., Wang, Y.Q., et al., 2015. Conductive Iron Oxide Minerals Accelerate Syntrophic Cooperation in Methanogenic Benzoate Degradation. *Journal of Hazardous Materials*, 293: 37–45. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2015.03.039>
- Zhang, T.J., Tang, J., Zhuang, L., et al., 2014. Effects of Different Iron Oxides on Methane Emission in Paddy Soil as Related to Drying/Wetting Cycles. *Environment Science*, 5(3): 901–907 (in Chinese with English abstract).
- Zhang, J., Dong, H.L., Liu, D., et al., 2012. Microbial Reduction of Fe(III) in Illite: Smectite Minerals by Methanogen *Methanosarcina Mazei*. *Chemical Geology*, 292–293: 35–44. <https://doi.org/10.1016/j.chemgeo.2011.11.003>

附中文参考文献

- 毕冉, 周顺桂, 袁田, 等, 2013. 水溶性有机物电子转移能力及其生态效应. *生态学报*, 33(1): 45–52.
- 承磊, 郑珍珍, 王聪, 等, 2016. 产甲烷古菌研究进展. *微生物学通报*, 43(5): 1143–1164.
- 东秀珠, 1993. 厌氧降解中互营产甲烷代谢机制的探讨. *微生物学通报*, 20(1): 36–42.
- 马金莲, 2016. 磁铁矿促进有机质厌氧降解过程及微生物机制初探 (硕士学位论文). 北京: 中国科学院大学.
- 刘鹏飞, 陆雅海, 2013. 水稻土中脂肪酸互营氧化的研究进展. *微生物学通报*, 40(1): 109–122.
- 曲东, Sylvia S., 2002. 外源氧化铁对水稻土甲烷形成的抑制. *环境科学学报*, 22 (1): 65–69.
- 唐子阳, 汤佳, 庄莉, 等, 2016. 土壤铁氧化物对有机质产甲烷过程的影响及其机制. *生态学杂志*, 35(6): 1653–1660.
- 张天娇, 汤佳, 庄莉, 等, 2014. 干湿交替条件下不同晶型铁氧化物对水稻土甲烷排放的影响. *环境科学*, 5(3): 901–907.