

分类号：X705

密 级：公开

单位代码：10363

学 号：2210620133

猪粪在 CW-MFC 中的稳定化及重金属处理研究

Study on the stabilization and heavy metal treatment essment of swine manure in CW-MFC

学生姓名：	唐晓露
指导教师：	徐大勇
专 业：	环境科学与工程
研究方向：	环境生态修复

论文答辩日期：2024 年 5 月 30 日

安徽工程大学学位论文原创性声明

本人郑重声明：我恪守学术道德，崇尚严谨学风。所呈交的学位论文，是本人在导师的指导下，独立进行研究工作所取得的成果。除文中已明确注明和引用的内容外，本论文不包含任何其他个人或集体已经发表或撰写过的作品及成果的内容。论文为本人亲自撰写，我对所写的内容负责，并完全意识到本声明的法律后果由本人承担。

学位论文作者签名： 

日期：2024年5月30日

安徽工程大学学位论文版权使用授权书

学位论文作者完全了解学校有关保留、使用学位论文的规定，同意学校保留并向国家有关部门或机构送交论文的复印件和电子版，允许论文被查阅或借阅。本人授权安徽工程大学可以将本学位论文的全部或部分内容编入有关数据库进行检索，可以采用影印、缩印或扫描等复制手段保存和汇编本学位论文。

保密□，在__年解密后适用本版权书。

本学位论文属于

不保密 ☒。

学位论文作者签名： 

日期：2024年5月30日

教师签名： 

日期：2024年5月30日

猪粪在 CW-MFC 中的稳定化及重金属处理效果研究

摘 要

我国是全球最大的养猪国之一，养猪业对畜牧业和经济发展至关重要。然而，随着养猪规模的增长，猪粪产量剧增。虽然猪粪含有丰富的有机物和营养成分，但也含有重金属等有害物质，未经处理或处理不当会导致环境污染，对周边生态系统造成影响。因此，猪粪的稳定化和重金属处理具有重要意义。常用的重金属去除方法存在药剂用量大和二次污染等问题，虽然堆肥在猪粪有机物处理方面有优势，但对重金属的处理效果有限。人工湿地微生物燃料电池（Constructed wetland-microbial fuel cell, CW-MFC）将人工湿地和微生物燃料电池的优势结合起来，在有机物稳定化和重金属处理方面表现出良好效果，是一种有效的污染生态处理方法。因此，将 CW-MFC 系统应用于猪粪的稳定化和重金属去除，以及对系统运行效果和影响因素的研究具有重要意义，可为猪粪处理及其资源化处理提供新途径。

在 CW-MFC 中，填料和微生物群落是系统除污产电的关键影响因素。基于此，本研究以猪粪为研究对象，探究填料类型对猪粪稳定化及其重金属的处理效果，明确 CW-MFC 处理猪粪系统的产电性能，并阐明重金属在 CW-MFC 系统中迁移转化规律。通过微生物接种和分析 CW-MFC 系统微生物群落结构及丰度变化，进一步阐明系统产能及重金属的去除机理。主要研究内容及结果如下：

（1）利用沸石、活性炭、煤渣和海绵铁构建了 CW-MFC 系统，探究了不同填料类型对稳定化猪粪及去除重金属的影响。结果

显示, 填充了海绵铁 (DRI) 的 DRI-CW-MFC 系统对 Cu、Pb 和 Zn 的去除效率最高, 分别为 56.9%、39.5%和 69.1%, 且电压输出达到 337.4 mV, 最大功率密度为 1090.8 mW/m², 产电性能最佳。XPS 分析表明, 在阴极表面观察到 Cu、Pb、Zn 的富集。此外, DRI-CW-MFC 系统促进了猪粪的稳定化, DOC 降低了 51.9%, FA 含量下降 63.2%, 而 HA 含量略有上升。DRI-CW-MFC 系统在猪粪稳定化、重金属去除和生物产电方面表现最佳。微生物群落分析推测 *Ruminiclostridium*、*Roseimarinus*、*Saccharofermentans*、*BBMC-4*、*Haliangium* 等菌属在强化 CW-MFC 系统处理猪粪中的重金属方面发挥了重要作用。

(2) 优选出的海绵铁为阳极填料构建 CW-MFC 系统, 研究了不同接种微生物对猪粪稳定化及重金属去除效果的影响。结果显示, 以 *Halobacillus* sp.为接种微生物的 CW-MFC-1 系统表现出最优异的电性能, 输出电压达 366.9 mV, 最大功率密度为 950.3 mW/m², 对 Cu、Pb 和 Zn 的去除率分别为 43.4%、62.9%和 47.3%, 比未加入微生物的系统表现更佳。此外, CW-MFC-1 系统对猪粪的稳定化效果也最好, DOC 降低 42.1%, FA 含量下降 59.3%, HA 略有上升, 表现出更高的稳定性。微生物群落分析指出, 接种了 *Halobacillus* sp. 的 CW-MFC-1 系统中富集的 *Acetobacterium*、*Christensenellaceae R_7 group*、*Macellibacteroides* 等菌属可能在猪粪稳定化、重金属去除和生物产电方面发挥了重要作用。

(3) 在最佳填料及最适接种微生物投加下, 系统分析了猪粪重金属在 CW-MFC-1 填料、植物、电极、微生物间迁移转化的规律及相关机理。在 CW-MFC-1 系统中, Cu、Pb 和 Zn 在基质、电极和植物中的分布比例呈现出明显的差异, 其中基质对重金属有较高的吸

附效果，植物主要通过根部对重金属进行吸收。XPS 分析表明，重金属与 O 结合而固定在阴极表面。此外，CW-MFC 系统有助于将重金属由易迁移形态转化为稳定形态。高通量测序结果显示，CW-MFC 系统中不同部位的微生物群落结构存在显著差异，对重金属去除可能是由于不同部位优势菌属如 *Dechloromonas*、*Pseudomonas*、*Desulfobulbus* 、 *Clostridium_sensu_stricto_1* 、 *Proteiniphilum* 、 *Acidovorax* 的丰度增加及这些优势菌之间的协同作用所致。微生物通过参与多种代谢过程和生物反应来调节微生物细胞内运输、趋化和抗氧化系统。此外，CW-MFC 系统对猪粪重金属的高效去除主要涉及植物根系根表铁膜的吸附、电极的化学反应和电化学活性、填料表面的化学吸附、微生物介导的生物吸附、生物催化及生物转化固定作用。

关键词：猪粪，CW-MFC，稳定化，填料，微生物接种，重金属去除机理

Study on the stabilization and heavy metal treatment essment of swine manure in CW-MFC

ABSTRACT

China is one of the largest pig-raising countries in the world, and the pig industry is crucial to animal husbandry and economic development. However, with the increase in the scale of pig farming, pig manure production has increased dramatically. Although pig manure is rich in organic matter and nutrients, it also contains harmful substances such as heavy metals. Untreated or improperly handled will lead to environmental pollution and affect the surrounding ecosystem. Therefore, the stabilization of pig manure and heavy metal treatment are of great significance. Commonly used heavy metal removal methods have problems such as large dosage of chemicals and secondary pollution. Although composting has advantages in the treatment of pig manure organic matter, the treatment effect on heavy metals is limited. Constructed wetland-microbial fuel cell (CW-MFC) combines the advantages of constructed wetland and microbial fuel cell, and shows good results in organic matter stabilization and heavy metal treatment. It is an effective ecological treatment method for pollution. Therefore, it is of great significance to apply the CW-MFC system to the stabilization and heavy metal removal of pig manure, as well as the research on the operation effect and influencing factors of the system, which can provide a new way for pig manure treatment and resource treatment.

In CW-MFC, filler and microbial community are the key factors affecting the decontamination and power generation of the system. Based on this, this study took pig manure as the research object, explored the treatment effect of filler type on pig manure stabilization and heavy metals, clarified the electricity generation performance of CW-MFC treatment of pig manure system, and clarified the migration and transformation of heavy metals in CW-MFC system. Through microbial inoculation and analysis of CW-MFC system microbial community structure and abundance changes, further clarify the system capacity and heavy metal removal mechanism. The main research contents and results are as follows :

(1) The CW-MFC system was constructed by using zeolite, activated carbon, cinder and sponge iron, and the effects of different filler types on the stabilization of pig manure and the removal of heavy metals were investigated. The results showed that the DRI-CW-MFC system filled with sponge iron (DRI) had the highest removal efficiency of Cu, Pb and Zn, which were 56.9%, 39.5% and 69.1%, respectively. The voltage output reached 337.4 mV, and the maximum power density was 1090.8 mW/m², which was the best power generation performance. XPS analysis showed that the enrichment of Cu, Pb and Zn was observed on the cathode surface. In addition, the DRI-CW-MFC system promoted the stabilization of pig manure, DOC decreased by 51.9%, FA content decreased by 63.2%, while HA content increased slightly. The DRI-CW-MFC system performed best in pig manure stabilization, heavy metal removal and bioelectricity generation. Microbial community analysis suggested that *Ruminiclostridium*, *Saccharofermentans*, *Roseimarinus*, *Haliangium*, *BBMC-4* and other genera played an important role in strengthening the CW-MFC system to treat heavy metals in pig manure.

(2) The CW-MFC system was constructed by using the

optimized sponge iron as the anode filler. The results showed that the CW-MFC-1 system inoculated with *Halobacillus* sp. showed the best electrical performance, with an output voltage of 366.9 mV and a maximum power density of 950.3 mW/m². The removal rates of Cu, Pb and Zn were 43.4%, 62.9% and 47.3%, respectively, which were better than those of the system without microorganisms. In addition, the CW-MFC-1 system also had the best stabilization effect on pig manure. DOC decreased by 42.1%, FA content decreased by 59.3%, and HA increased slightly, showing higher stability. Microbial community analysis indicated that the *Acetobacterium*, *Christensenellaceae* R _ 7 group and *Macellibacteroides* enriched in the CW-MFC-1 system inoculated with *Halobacillus* sp. may play an important role in pig manure stabilization, heavy metal removal and bioelectricity generation.

(3) The migration and transformation of heavy metals in pig manure between CW-MFC-1 filler, plant, electrode and microorganism were systematically analyzed under the optimum filler and the optimum inoculation microorganism dosage, and the removal mechanism was clarified. In the CW-MFC-1 system, the distribution ratios of Cu, Pb and Zn in the substrate, electrode and plant showed obvious differences. The substrate had a high adsorption effect on heavy metals, and the plants mainly adsorbed heavy metals through the roots. XPS analysis showed that heavy metals were bound to O and fixed on the cathode surface. In addition, the CW-MFC system helps to transform heavy metals from easy-to-migrate forms to stable forms. The results of high-throughput sequencing showed that there were significant differences in the microbial community structure in different parts of the CW-MFC system. The removal of heavy metals may be due to the increase in the abundance of dominant bacteria such as *Dechloromonas*, *Pseudomonas*, *Desulfobulbus*, *Clostridium_sensu_stricto_1*, *Proteiniphilum*, *Acidovorax*

in different parts and the synergy between these dominant bacteria. Microorganisms regulate microbial intracellular transport, chemotaxis and antioxidant systems by participating in a variety of metabolic processes and biological reactions. In addition, the efficient removal of heavy metals in pig manure by CW-MFC system mainly involves the adsorption of iron film on the root surface of plant roots, the chemical reaction and electrochemical activity of the electrode, the chemical adsorption on the surface of the filler, the microbial-mediated biosorption, biocatalysis and biotransformation fixation.

KEY WORDS: Pig manure, CW-MFC, stabilization, filler, microbial inoculation, heavy metal removal mechanism

目 录

摘 要.....	I
ABSTRACT.....	IV
第 1 章 绪论.....	- 1 -
1.1. 猪粪来源及危害	- 1 -
1.1.1. 猪粪来源及特征	- 1 -
1.1.2. 重金属的处理方法	- 1 -
1.1.3. 猪粪的稳定化	- 3 -
1.2. 人工湿地微生物燃料电池（CW-MFC）	- 4 -
1.2.1. CW-MFC 工作原理	- 4 -
1.2.2. CW-MFC 性能影响因素	- 5 -
1.2.3. CW-MFC 在环境中的应用	- 8 -
1.3. 研究目的意义和研究内容	- 8 -
1.3.1. 研究目的意义	- 8 -
1.3.2. 研究内容	- 9 -
1.3.3. 技术路线	- 10 -
第 2 章 实验材料与方法.....	- 11 -
2.1. 实验材料	- 11 -
2.1.1. 实验仪器与试剂	- 11 -
2.1.2. 实验猪粪	- 12 -
2.1.3. 实验植物	- 12 -
2.1.4. 实验填料	- 12 -
2.2. 分析指标及测定方法	- 12 -
2.2.1. 水质测定	- 12 -
2.2.2. 猪粪稳定化指标测定	- 13 -
2.2.3. 植物指标测定	- 13 -
2.2.4. 重金属测定和价态分析	- 14 -
2.2.5. 电化学分析指标	- 15 -
2.2.6. 微生物分析	- 16 -
2.2.7. 数据分析方法	- 17 -
第 3 章 不同填料对猪粪在 CW-MFC 中稳定化及重金属处理效能研究	- 18 -
3.1. 实验设计与采样运行	- 18 -
3.1.1. CW-MFC 系统的构建与接种启动	- 18 -

3.1.2. 系统的运行与采样	- 19 -
3.2. 结果与分析	- 19 -
3.2.1. 填料对 CW-MFC 电极 pH 和 COD 的影响	- 19 -
3.2.2. 填料对 CW-MFC 产电性能的影响	- 21 -
3.2.3. 填料对 CW-MFC 中猪粪稳定化的影响	- 22 -
3.2.4. 填料对 CW-MFC 处理猪粪重金属的影响	- 25 -
3.2.5. 猪粪重金属在 CW-MFC 电极中的富集	- 26 -
3.2.6. CW-MFC 阳极微生物群落结构	- 28 -
3.3. 小结	- 33 -
第 4 章 微生物接种对猪粪在 CW-MFC 的稳定化及重金属处理效能的影响	- 34 -
4.1. 实验设计与采样运行	- 34 -
4.1.1. CW-MFC 系统的构建	- 34 -
4.1.2. 接种微生物	- 34 -
4.1.3. 接种及系统运行采样	- 35 -
4.2. 结果与分析	- 35 -
4.2.1. 微生物接种对 CW-MFC 的 pH 和 COD 的影响	- 35 -
4.2.2. 接种微生物对 CW-MFC 的产电性能的影响	- 36 -
4.2.3. 接种微生物对 CW-MFC 中猪粪稳定化的影响	- 38 -
4.2.4. 接种微生物对 CW-MFC 处理猪粪重金属的影响	- 40 -
4.2.5. CW-MFC 阳极微生物群落结构	- 41 -
4.3. 小结	- 46 -
第 5 章 猪粪重金属在 CW-MFC 中的迁移转化研究	- 47 -
5.1. 实验设计与采样运行	- 47 -
5.1.1. CW-MFC 系统的构建	- 47 -
5.1.2. 接种微生物	- 47 -
5.1.3. 接种及系统运行采样	- 47 -
5.2. 结果与分析	- 47 -
5.2.1. 植物对重金属的富集作用	- 47 -
5.2.2. 重金属在系统中的分布	- 49 -
5.2.3. 重金属的形态变化	- 49 -
5.2.4. 重金属的价态分析	- 51 -
5.2.5. CW-MFC 微生物群落结构	- 53 -
5.2.6. 机理分析	- 60 -
5.3. 小结	- 62 -

第 6 章 结论与展望.....	- 64 -
6.1. 结论	- 64 -
6.2. 创新点	- 65 -
6.3. 不足及展望	- 66 -
参考文献	- 67 -
攻读学位期间发表的论文及其他成果	- 78 -
致 谢.....	- 79 -

第1章 绪论

1.1. 猪粪来源及危害

1.1.1. 猪粪来源及特征

随着我国经济的发展和人民生活水平的提高,蛋、肉、奶等畜禽产品的需求不断增长,推动了我国畜禽业的蓬勃发展。养猪业的发展随之而来的是大量猪粪的产生,若处理不当,容易对环境造成不利影响。经发酵的猪粪会产生硫化氢等有臭气体,污染空气的同时可能会加剧温室效应。猪粪渗滤液则可能导致土壤和水体有机物和重金属污染,对环境和人类健康带来潜在危害。因此需要采取适当的措施来处理和利用猪粪,以减少其对生态系统的不良影响。

在规模化养殖中,往往会在饲料中会添加 Cu、Pb、Zn 等多种微量重金属元素,以此来降低生猪疾病发生率,提高养殖户的经济效益^[1]。但由于畜禽对重金属的吸收率较低,通常粪便中有较高的重金属累计残留^[2, 3]。猪粪中含有大量氮(N)、磷(P)、钾(K)和有机质等营养元素^[1, 3],将猪粪用作有机肥可以提高土壤肥力和作物质量、但猪粪施用过程也带来了土壤重金属污染问题。研究表明,牲畜粪便是中国农业土壤中重金属的主要来源之一^[4]。

研究发现,施用猪粪有机肥会造成土壤 Cu、Zn 总量增加,长期施用势必造成农田重金属的富集。丹麦学者 Jensen 等^[5]从 1998 年至 2014 年间对施用猪粪的土壤进行重金属监测,发现土壤中 Cu 和 Zn 的浓度显著增加。Luo 等^[6]考察不同输入源对我国农田土壤重金属总量的影响,结果发现,大气沉降输入的 Hg、Ni 和 Pb 占 43-85%,而牲畜粪便中 Cd、Cu 和 Zn 的输入分别占总量约 55%、69%和 51%。Li 等^[7]发现,施用猪粪会使土壤中 Cu、Pb、Zn 和 Cd 的浓度分别增加 118.3%、54.9%、57.6%和 122.2%,同时也会增加重金属在蔬菜中的富集风险。综上,长期施用猪粪有机肥势必造成农田重金属的富集,随着生态链的延伸,农产品中重金属含量可能超过浓度限值,影响食品安全,进而对人体健康造成影响。

1.1.2. 重金属的处理方法

有关重金属的处理方法有很多,主要包括化学浸提法^[8]、生物浸出法^[9]、钝

化剂吸附法^[10]等。

（1）化学浸提法

化学浸提法是常用于处理重金属污染的方法之一，利用化学试剂与重金属形成络合物或沉淀，从而将重金属有效地提取出来。Zhang 等^[11]研究表明，与 NaClO 相比，NaNO₂ 对 Cu、Zn 和 Ni 去除效果更好，但会对土壤中总磷造成一定损失。Chu 等^[12]用酸浸法对土壤中 Zn、Cd、Cu 的去除率均可超 50%。化学浸提法操作简单、效率高、处理速度快，但也存在试剂成本高、废物处理困难等缺点。尽管化学浸提法在处理某些类型的重金属污染上具有一定效果，但它容易引发二次污染。因此，在处理猪粪重金属时，尤其不适合使用化学浸提法，因为猪粪本身可能含有丰富的有机物和微生物群，是重要的农业资源，化学浸提会严重影响其后续资源化利用。

（2）生物浸出

生物浸出是一种利用生物体（如微生物或植物）来去除重金属的有效方法，因其操作条件温和，被认为是一种环境友好型的处理方法^[13]。目前，已有一些利用微生物（如细菌、真菌和微生物群落）去除猪粪重金属的研究。Wei 等^[14]将本地硫氧化菌（*sulfur-oxidizing bacteria*）富集作为猪粪生物浸出的接种物，该细菌经过 12d 浸出实验后对猪粪中 Zn、Mn 和 Cu 的去除效率分别达到 93%-97%、96%-98%和 48%-94%，而残留的重金属则能够稳定存在于猪粪中，显著降低了猪粪重金属的生物毒性。据报道，真菌如丛枝菌根真菌(*arbuscular mycorrhizal fungi*)^[15]、丁香拟青霉（*Paecilomyces lilacinus*）^[16]、霉菌（*Cunninghamella elegans*）^[17]等也可以通过原位或异位生物修复技术高效处理重金属污染的土壤^[18]。此外，一些超富集植物也被应用于提取或固定土壤中的污染物。将这些植物种植在猪粪堆附近或直接添加到猪粪中，可以通过植物吸收重金属来减少其在环境中的浓度^[19]。

（3）钝化剂吸附法

钝化剂吸附法是利用一种或多种物质（钝化剂）与重金属发生吸附作用，将重金属固定在其表面或内部，从而降低其在环境中的活性和毒性。这些材料如活性炭、粘土、纳米材料和滑石，不仅适用于土壤重金属的稳定修复，同时也可用作废水中重金属的吸附材料^[20]。Chen 等^[21]通过间歇吸附实验发现，生物

炭的表面存在大量的含氧基团，这使其具有较高的反应活性，它能够与环境中的重金属离子发生络合或螯合反应，对重金属离子的迁移、转化和有效性产生显著影响。Ye 等^[22]筛选不同种类（海泡石、沸石、石榴石）和不同添加量（1、2、3 和 5%）对重金属修复，结果表明，5%的沸石对土壤中重金属 Cu、Zn、Cd、Pb 的钝化修复的效果最好。郭忠云等^[23]研究发现，投加玉米秸秆生物炭（CB）和水稻壳生物炭（HB）能够促进猪粪中的 Cr、Cu、Pb 和 Zn 转化为更稳定的金属形态，且投加 HB 有更优的重金属钝化效果。钝化剂吸附法操作简单、效率高、成本低廉等，但也存在着吸附容量有限、再生成本较高等缺点。

上述方法中，它们在处理重金属方面效果均有一定效果，但也存在药剂用量大和二次污染的问题。以及系统运行效果和相关影响因素值得深入研究，为猪粪处理和资源化提供新的路径。

1.1.3. 猪粪的稳定化

猪粪的稳定化是指通过一系列处理方法将其中的有机物质分解和转化成为更加稳定和成熟的有机质^[24]，从而减少其对环境的负面影响，同时提高其在农业生产中的利用效率。稳定化处理可以降低猪粪中的有害气体和微生物含量，改善其气味特性，提高营养元素的吸收利用率，并将有机废弃物转化为有机肥料或生物质能源，减少资源浪费，降低环境负荷。所以，猪粪稳定化处理过程不仅能够减少猪场废弃物对环境的污染，还能提高肥料的利用率，促进资源化利用，提升农场经济效益，保障人畜健康。这一过程对于现代畜禽养殖的可持续发展至关重要，是环保、资源利用和经济效益的有机结合。

猪粪无害化处理和资源化的重要技术之一就是堆肥发酵。在堆肥过程中，腐殖质（HS）是评价堆肥质量的核心功能物质^[25]。堆肥过程的核心在于将新鲜有机物转化为腐殖质^[26]。腐殖质在农业中扮演着重要的角色，它通过与重金属（HMs）形成络合物的方式，降低重金属对环境的污染^[27]，在一定程度上减少重金属含量。Wu 等^[4]研究结果表明，Cu、Zn、Cd 和 Pb 在强制通气+翻转（FV+T）处理下的钝化效果最好，分别达到 63.80%、34.07%、86.54%和 45.14%。Chen 等^[28]采用强制通风对猪粪进行静态堆肥处理，堆肥结束后，小麦秸秆生物炭（BC）磷改性生物炭（BP）分别降低了铜和锌的浓度 12.04%、

15.15%和 26.91%、36.50%。Wen 等^[29]利用堆肥技术生物降解畜禽粪便中残留的抗生素并固化重金属，结果表明，畜禽粪便中 Cu 和 Zn 的生物利用度状态由交换态和还原态转变为氧化态，并形成具有明显钝化的残留物。

值得注意的是，尽管堆肥是处理猪粪的常用方法，能够对猪粪起到很好的稳定化作用，提高其在农业生产中有效性及其利用率，但堆肥对猪粪重金属的去除不彻底，在温度、pH 等环境条件发生改变时，重金属的化学形态会发生改变，其生物毒性面临再次增加的风险。因此，寻找一种既能稳定化猪粪，又能有效去除重金属的生态方法尤为重要。人工湿地微生物燃料系统（CW-MFC）为此提供了可能，它可以利用湿地植物和微生物分解废物，在产生电能的同时减少有机废物残留和重金属释放，因此具有更高的环保性和可持续性。

1.2. 人工湿地微生物燃料电池（CW-MFC）

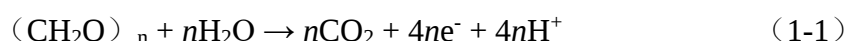
1.2.1. CW-MFC 工作原理

人工湿地（CW）是一种模拟自然湿地的人工构造，通过基质、湿地植物和微生物的作用对水体进行净化^[30]。它通过湿地植物和微生物的作用，及基质吸附，有效吸附和转化水中的重金属，实现重金属污染的治理和修复。微生物燃料电池（MFC）是一种利用微生物代谢活动产生的电子转移来产生电能的技术。在该系统中，阳极电活性细菌将有机物质氧化成为质子和电子，电子通过外部电路转移到阴极，质子在内部从阳极流向阴极，从而产生电流^[31, 32]。

人工湿地，尤其是垂直流人工湿地存在下层厌氧、上层好氧的天然环境，而 MFCs 在运行过程中需要阳极厌氧和阴极好氧的环境，这与 CW 存在的天然氧化还原电位梯度有高度一致^[33]。CW-MFC 正是利用了 CW 天然的氧化还原梯度通过外加电路构建而成，CW 底层的厌氧环境作为 MFC 的阳极，顶层的好氧环境作为 MFC 的阴极^[34, 35]。

CW-MFC 系统的电极反应式如下所示^[36]。

阳极：



阴极：



和传统 CW 系统相比, MFC 的加入使 CW-MFC 具有更好的微生物降解作用和底物吸附作用^[37]。

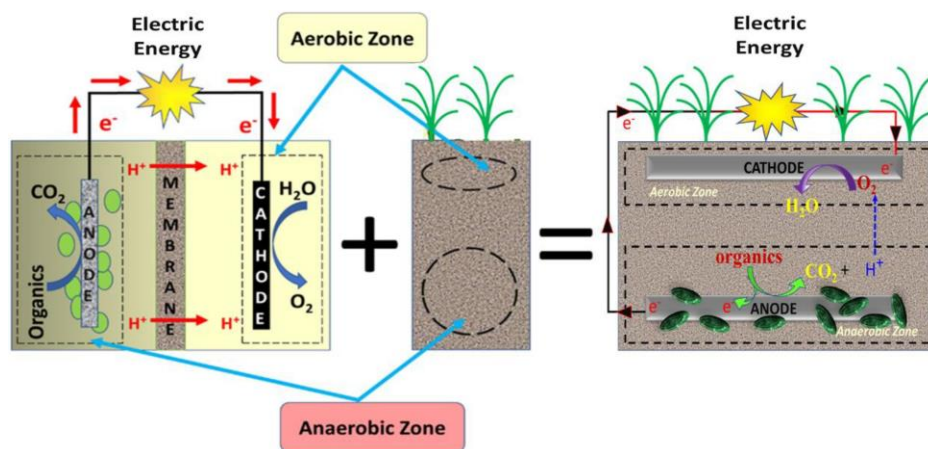


图 1- 1 CW-MFC 原理示意图^[38]

Fig.1- 1 Schematic diagram of CW-MFC principle^[38]

1.2.2. CW-MFC 性能影响因素

(1) 基质

CW-MFC 系统是一种利用微生物将有机物降解并产生电能的技术, 而基质是微生物生长和活动的关键因素之一, 它可以影响微生物的代谢活性、生物量和群落结构, 从而影响燃料电池的性能。用于 CW-MFC 的填料可分为导电材料和非导电材料。非导电材料一般包括沙子和陶粒等, 而导电材料通常为活性炭和石墨^[31]。

基质的孔隙率、比表面积和吸附能力都存在一定差异, 从而对 CW-MFC 系统的整体性能产生了不同影响。Yakar 等^[39]比较了沙子、沸石和火山岩三种基质对 CW-MFC 污染物去除和产电性能的影响, 研究表明, 当沸石作为 CW-MFC 填料时, 系统对 COD、 NH_4^+ 、 NO_3^- 和 TP 的去除率较高, 分别为 92.1%、93.2%、81.1%和 96.7%, 且产电性能可以达到 $1.008 \pm 0.14 \text{ V}$ 。这主要是因为沸石的比表面积在三者中最高, 有利于微生物的附着生长和污染物质的吸附。Chen 等^[40]将沸石、煤渣、陶粒和颗粒活性炭作为 CW-MFC 系统的填料进行比较研究, 结果表明, 填充了活性炭的系统对镍的去除效果最好, 在不同初始镍浓度下对镍的去除率均超过 99%。Jiang 等^[41]研究了黄铁矿和碱改性稻壳

(RH) 作为人工湿地基质对脱氮除磷的影响, 结果表明黄铁矿的总磷 (TP) 去除率比对照组高 10-20%, 氨氮去除率提高了约 10%。Dai 等^[42]研究发现, 一种新型铁碳填料的 CW-MFC 系统在处理废水中抗生素环丙沙星方面具有较好的去除效果。Hou 等^[43]建立了一种碳材料为电极, 海绵铁 (SI) 为填料的新型系统 (e-SICW), 结果表明, e-SICW 可以减少 $\text{NH}_4^+\cdot\text{N}$ 积累, 强化了硝酸盐 ($\text{NO}_3^-\cdot\text{N}$)、总氮 (TN) 和 TP 去除。而海绵铁因其可还原性、高机械强度、成本效益和可操作性等优点, 将其作为基质应用于 CW-MFC 系统在污染物去除和产电方面效果显著。

不同湿地基质影响湿地氧化环境、微生物群落结构, 从而改变系统对污染物的去除效果及产电性能^[44]。Xiao 等^[45]探索了将玄武岩纤维 (BF) 掺入 CWs 中作为底物以增强净化性能的方法, 研究发现, 添加 BF 明显提高了氮和磷的去除效率, 底物酶活性分析表明, BF-CW 的脱氢酶 (DHA), 脲酶 (UA) 和磷酸酶 (PST) 的活性高于 C-CW。此外, 高通量测序分析表明, BF-CW 中关键功能细菌的丰度高于 C-CW, 并且 BF-CW 中的群落结构对污染物负荷的变化具有更强的抵抗力。Wang 等^[46]构建了四个以不同尺寸石英砂为基质的 CW-MFC 系统, 结果表明较大填料尺寸的 CW-MFC 显著提高了电化学活性细菌 (β -变形杆菌) 的相对丰度, 同时增加生物的发电量 (8.91 mW/m^2)。

(2) 微生物

微生物群落结构对 CW-MFC 系统的稳定性、性能和产电效率具有显著影响。微生物群落结构中的各类微生物对有机物质的降解能力不同, 根际细菌通过分解阳极层的有机物, 来增加植物营养来源^[47]。此外, 微生物还可将有机物质分解为可供电化学活性细菌 (EAB) 利用的产物, 从而提高 MFC 的产电效率。在 MFC 系统中, 微生物需要通过电子转移链将产生的电子传递到电极上。微生物群落结构的不同可能导致电子转移通路的差异, 影响到电子传递的效率和速率, 进而影响 MFC 的产电性能。Pelissari 等^[48]研究表明, 饱和垂直下流型湿地对氮的去除效率较高, 这主要是因为饱和条件促进了与碳可用性相关的氧化还原电位, 进而富集大量硫酸盐还原细菌 (如脱硫杆菌和脱硫酸杆菌) 来减少湿地的硫酸盐, 提升了湿地反硝化能力。

根系和基质中的微生物群落在 CWs 中对污染物的去除起着重要作用^[49], 它

们的变化会影响 CWs 的去除效率和生态系统稳定性^[50]。根际微生物可以帮助湿地植物降解、吸收或固定湿地中的外源污染物，提高植物对污染胁迫的耐受性^[51, 52]。Dai 等^[53]从活性污泥中分离出 3 种甲醛降解细菌 *Paenibacillus*、*Hyphomicrobium* 和 *Ensifer* 用于增强 CW-MFC 的性能，结果表明，微生物强化后的 CW-MFC 系统显著提高了甲醛、TP 和 COD 的去除率，证明了微生物在 CW-MFC 系统中的重要性。

(3) 植物

植物是人工湿地微生物燃料电池组成之一。植物的存在会影响到人工湿地中的底物供应和营养循环，提供有机废弃物和碳源，同时通过气孔释放氧气，促进底物降解和微生物的代谢活性，从而增强电池的电流产生能力^[54]。Liu 等^[55]研究了种植美人蕉、菖蒲和水生菖蒲的 CW-MFC 系统对畜禽废水处理和发电影响，结果表明，美人蕉系统的去除效果最好，COD 和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 去除率分别达到 88.07%和 75.02%，平均输出电压 $715\pm 20\text{ mV}$ ，最大功率密度 0.4136 W/m^3 。Yang 等^[56]研究发现，鸢尾的种植能够增强 CW-MFC 对 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的去除（66.2%），并显著促进生物产电，最大功率密度为 25.14 mW/m^2 。除此之外，植物根系分泌的化合物和根际微生物对微生物群落结构有一定的调节作用，能够有效促进有益微生物的生长和活性，抑制有害微生物的生长，从而提高系统的稳定性和效率。

(4) 电极材料

电极材料是 MFC 的核心组件，其类型及组成方式会影响系统的性能^[31]。近年来，对 CW-MFC 系统的电极材料如石墨材料^[46]、不锈钢网（SSM）^[57]、泡沫镍（FN）^[58]，和改性的重金属电极等进行了广泛的研究和探索。Srivastava 等^[59]研究表明，CW-MFC 的废水处理、产电和功能稳定性取决于电极材料或导电基质及其表面积。碳基材料具有良好的生物相容性和导电性，因此碳基材料如碳毡，碳布及活性炭通常用作 CW-MFC 中的电极^[60]。金属基材料，特别是由氧化钛纳米片组成的三维多孔结构，因其良好的耐腐蚀性和成本效益也是阳极材料不错选择^[61, 62]。在 CW-MFC 系统中，阴、阳极电极之间的距离也是一个重要的变量。若电极间距过小，则氧气会向阳极室扩散；而当电极间距过大，则会增加系统的内阻。这两种情况都不利于 CW-MFC 系统的发电^[63]。

由上所述,影响 CW-MFC 系统运行的因素很多,且这些因素间存在相互影响。其中基质起到了纽带的作用,它除自身对污染物的去除作用外,也是湿地植物、微生物生长的载体,对 CW-MFC 的运行至关重要。为此,本研究将着重探讨基质对 CW-MFC 稳定化猪粪及处理重金属的影响。

1.2.3. CW-MFC 在环境中的应用

人工湿地微生物燃料电池(CW-MFC)结合了人工湿地和微生物燃料电池的优势,在处理污染物的同时也能够产生电能,是一种新型的生态环保技术^[64],在污水及其重金属、污泥稳定化及重金属处理方面表现优异^[36, 65]。Mu 等^[66]人在处理含铬废水的 CW-MFC 系统中发现,最佳条件为电极间距为 10 cm、进水中 Cr(VI)浓度为 60 mg/L、COD 浓度为 500 mg/L,以及水力停留时间为 3 天。在这种条件下,系统的最高功率密度可达 458.2 mW/m³,Cr(VI)和 COD 的去除率分别为 90.7%和 92.5%。Wang 等^[67]使用上流人工湿地-微生物燃料电池含 Zn(II)废水,结果表明,CW-MFC 组合 Zn(II)表现出较好的去除效率,微生物群落结构表明,Zn(II)显著降低了赭菌属、亚硝基单胞菌属、假单胞菌属和脱氯单胞菌属等功能属的丰度,抑制了阳极中微生物的丰富度。

刘婷婷等^[68]构建 CW-MFC 用于污泥中 Zn 和 Ni 的去除,并考察了电极间距对 Zn 和 Ni 去除效果及其产电性能的影响。结果表明,间距为 12cm 时系统对 Zn 和 Ni 去除效果最好,分别较 CW 提高了 64%和 26%,此时 CW-MFC 系统的最高输出电压和最大功率密度分别达到 513mV 和 50.76mW/m³。Wang 等^[69]利用 CW-MFC 系统去除污泥中的重金属(Zn 和 Ni),研究表明填料为活性炭(GAC)植物为水葫芦的 CW-MFC 系统对 Zn 和 Ni 去除效率更高,此研究为 CW-MFC 系统的优化和含重金属污泥的资源化利用提供了理论指导。

1.3. 研究目的意义和研究内容

1.3.1. 研究目的意义

猪粪产量巨大,含有丰富的有机质,N、P 等营养元素,是重要的农业生产资源,同时也因其含有重金属等有害物质,未经稳定化的猪粪还会滋生蚊蝇和产生难闻的气味,如不加以有效处理会对土壤、水体和生态系统造成污染和危

害。目前常用于重金属处理和猪粪稳定化的方法包括化学沉淀法、生物浸出法，钝化剂沉淀法和堆肥发酵往往会伴随着运行成本高，易产生二次污染、重金属不能有效去除等问题。因此，探索一种既经济高效、又对环境无害的猪粪处理方法具有重要的理论和实际意义。

CW-MFC 以其独特的组成结构，在有机物稳定化和重金属处理方面具有显著优势。通过湿地植物和微生物的协同作用，有机物得到有效降解和转化，同时，微生物燃料电池的电化学过程可以促进重金属的吸附和转化。这种综合性的处理方法为猪粪的污染处理及资源化提供了一种高效、可持续的解决方案。

基于此，本文分别以不同填料构建 CW-MFC 系统，考察其对猪粪稳定化及其重金属处理效果和产电性能的影响，筛选最佳填料，同时分析重金属在系统内的迁移转化规律和系统微生物群落变化。进而对系统微生物进行筛选纯化，并将其作为接种微生物投入到新的以最佳填料为基质的 CW-MFC 系统中，分析接种微生物对 CW-MFC 系统处理猪粪中重金属的去除效能，阐明 CW-MFC 处理猪粪中重金属的机理。本研究结果猪粪的稳定化及重金属处理提供了新的思路。

1.3.2. 研究内容

具体内容包括：

（1）填料对猪粪在 CW-MFC 的稳定化及重金属处理效能的影响

选择沸石、活性炭、煤渣和海绵铁作为湿地填料构建 CW-MFC 系统，分析湿地填料对猪粪中 DOC、腐殖质、腐殖酸和胡敏酸的变化及猪粪中重金属 Cu、Pb、Zn 的去除效果和微生物群落结构的影响，明确上述条件对 CW-MFC 系统电压、功率密度等产电性能的影响，筛选基质材料。

（2）微生物接种对猪粪在 CW-MFC 的稳定化及重金属处理效能的影响

以优选出的基质材料为阳极，构建 CW-MFC 系统，通过微生物筛选纯化并接种到 CW-MFC 系统，明确不同接种微生物 CW-MFC 系统微生物群落特征变化，阐明不同接种微生物对猪粪稳定化及猪粪中重金属的去除效果的影响，以及对系统产电性能的影响。

（3）猪粪重金属在 CW-MFC 系统中迁移转化规律及去除机理研究

在最佳填料及最适接种微生物投加下，对系统填料、电极、植物等不同组

分进行重金属总量及化学形态、电子价态分析、微生物群落分析和植物根表铁膜分析，阐明猪粪重金属在 CW-MFC 填料、植物、微生物间迁移转化的规律，明确其去除机理。

1.3.3. 技术路线

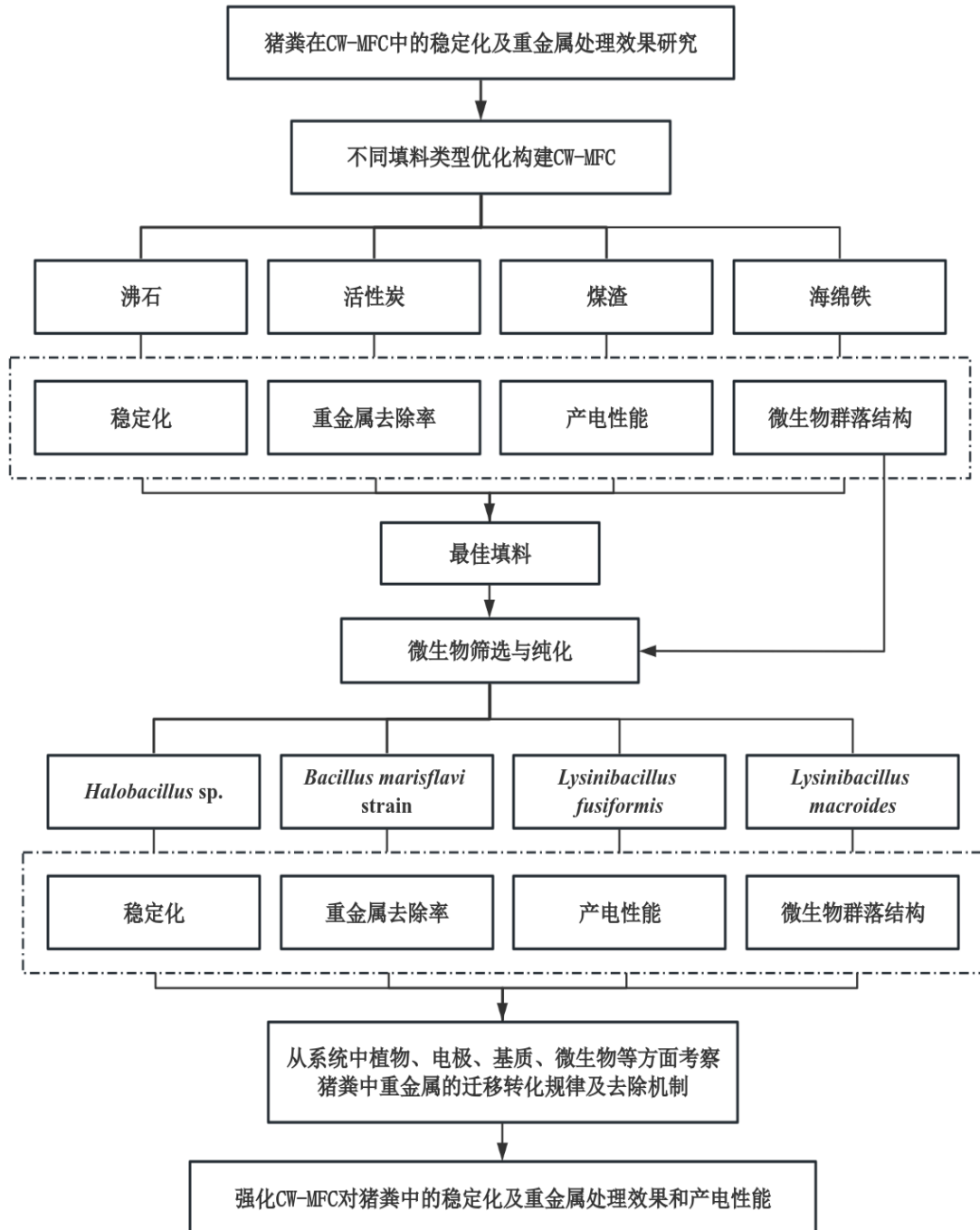


图 1- 2 研究技术路线

Fig.1- 2 The research technical schematic.

第2章 实验材料与方法

2.1. 实验材料

2.1.1. 实验仪器与试剂

研究所用到的实验设备和药品已分别列于表 2-1 和表 2-2。

表 2- 1 实验仪器及设备

Table 2- 1 Instruments and equipments.

仪器名称	型号	生产商
火焰原子吸收分光光度计	WFX-220A	北京瑞利分析仪器有限公司
分析天平	Bsa124-cw	赛多利斯科学仪器有限公司
便携式酸度计	PHB-4	上海仪电科学仪器股份有限公司
无纸记录仪	MIK-R9600	杭州米科传感技术有限公司
高速台式冷冻离心机	Velocity 14R Pro	上海天美天平仪器有限公司
COD 智能消解仪	5B-1F (V8)	北京连华永兴科技发展有限公司
化学需氧量 (COD) 快速测定仪	5B-3F (V8)	北京连华永兴科技发展有限公司
震荡培养箱	HYL-C	太仓市强乐实验设备有限公司
鼓风干燥箱	DNG-9101-2	上海三发科学仪器有限公司
超声波清洗器	KH-300DE	昆山禾创超声仪器有限公司
总有机碳分析仪	TOC-2000	上海元析仪器有限公司

表 2- 2 实验所用的药品与试剂

Table 2- 2 Chemicals and reagents used in the experiment t.

药品名称	纯度	生产商
HNO ₃	AR	中国国药集团化学试剂有限公司
HCl	AR	中国国药集团化学试剂有限公司
HClO ₄	AR	中国国药集团化学试剂有限公司
H ₂ SO ₄	AR, 95%	中国国药集团化学试剂有限公司
C ₆ H ₁₂ O ₆	AR	中国国药集团化学试剂有限公司
NH ₄ Cl	AR	中国国药集团化学试剂有限公司
KH ₂ PO ₄	AR	中国国药集团化学试剂有限公司
CH ₃ COOH	AR	中国国药集团化学试剂有限公司
H ₂ O ₂	AR	中国国药集团化学试剂有限公司
COD 专用耗材	D	北京连华永兴科技发展有限公司
COD 专用耗材	Eg	北京连华永兴科技发展有限公司
重金属标液	GR	国家有色金属分析检测中心

2.1.2. 实验猪粪

实验猪粪来自芜湖市湾沚区某养猪厂。

表 2-3 猪粪的基本性质

Table 2-3 The basic properties of pig manure.

重金属含量(mg/kg)			DOC	HS	FA	HA	pH	含水量 (%)
Cu	Pb	Zn	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)		
103.3±	76.9±	751.9±	9490.3±	1219.8±	733.9±	485.8±	6.4±0.9	87±3
5.7	6.4	2.0	560.5	20.4	15.8	22.1		

2.1.3. 实验植物

湿地植物为水葫芦，来源于网购(沐阳县绿水之韵种子经营部)，用水洗根部后，水培一周备用。

2.1.4. 实验填料

分别以沸石、活性炭、煤渣和海绵铁四种填料为阳极填料层构建 CW-MFC，四种填料均来源于网购。填料的基本属性如表 2-4 所示。

表 2-4 填料基本性质

Table 2-4 The basic properties of fillers.

填料种类	粒径 (mm)	pH	比表面积 (m ² /g)
沸石	4-8	8.54	9.84
活性炭	4-8	8.98	16.41
煤渣	4-8	8.22	4.35
海绵铁	4-8	9.11	13.98

2.2. 分析指标及测定方法

2.2.1. 水质测定

(1) COD 浓度测定

采用快速消解分光光度法 (HJ/T399-2007) 对过滤后的阳极水样进行测定。

(2) pH 的测定

系统阴极、阳极的 pH 采用便携式 pH 计 (pHB-4 型, 上海雷磁) 测定。

2.2.2. 猪粪稳定化指标测定

(1) 水溶性有机碳 (DOC)

称取0.1 g猪粪样品粉末，按照 (1g:30mL) 的比例与30 mL的去离子水在50 mL塑料离心管中混合。在200 rpm, 25 °C的条件下，将混合后的样品放置于气浴恒温振荡器中振荡24 h，后在10000 rpm, 4 °C的条件下离心20 min，将上清液收集，并过0.45 μm的滤膜。用总有机碳分析仪 (TOC-2000) 测定。

(2) 总腐殖酸含量 (HS)、富里酸含量 (FA)、胡敏酸含量 (HA)

总腐殖酸 (HS) 测定：称取 0.5 g 风干样品于 50 mL 离心管中，加入 10 mL 碱性焦磷酸钠，在振荡培养箱中振荡 30 min 后静置 14 h (温度控制在 20°C 左右)，之后将离心管以 8000 r/min 转速离心 10 min。用 0.45 μm 滤膜进行过滤后放入总有机碳分析仪中测定腐殖酸总碳含量。

富里酸含量 (FA) 测定：吸取 5 mL 待测液于 50 mL 烧杯中，在电热板加热的情况下加入 1N HNO₃ 使 pH 值调节至 1 左右，80 °C 加热 30 min 使胡敏酸完全沉淀后，静置过夜。第 2 d 用定性滤纸将溶液进行过滤，再用 0.01 mol·L⁻¹ HNO₃ 溶液洗涤沉淀物直至滤液为无色，用 0.45 μm 滤膜过滤后放入总有机碳分析仪重测定富里酸含量。

胡敏酸 (HA) 测定：根据测出的腐殖酸和富里酸含量的差值计算出胡敏酸含量。

$$HA = HS - FA \quad (2-1)$$

2.2.3. 植物指标测定

(1) 植物生物量的测定

将植物样品置于清水中清洗除去泥沙，在 80°C 条件下烘干至恒重，分别称取烘干后的植物根部和茎叶的生物量。

(2) 生物富集系数 (BCF)

生物富集系数是评价植物对重金属积累能力的重要指标，富集系数越大，说明植物对该元素的富集能力越强，其公式如下：

$$BCF = \frac{C_{shoot/root}}{C_s} \quad (2-2)$$

式中, $c_{shoot/root}$: 植物地上部/根部重金属含量, mg/kg; c_s : 生长基质中重金属含量, mg/kg。

(3) 转运系数 (TF)

转运系数可以用来评价植物根部向茎叶转移重金属的能力, 能够体现植物从地下部分向地上部分转运重金属的能力和分配情况, 公式如下:

$$TF = \frac{c_{shoot}}{c_{root}} \quad (2-3)$$

式中, c_{shoot} : 植物地上部重金属含量, mg/kg; c_{root} : 植物根部重金属含量, mg/kg。

(4) 根表铁膜 (IP-Fe)

采用连二亚硫酸钠-柠檬酸钠-重碳酸钠提取法 (sodium dithionite-citrate-bicarbonate, DCB 法) 测定根表铁膜含量^[70]。根系用蒸馏水反复冲洗后用滤纸将吸干表面水分。将其剪成约 1 cm 长, 1 g 重的样品, 放入 50 mL 离心管中, 分别加入柠檬酸钠, 碳酸氢钠和连二亚硫酸钠 (保险粉) 作为提取液, 摇匀后置于恒温振荡机上振荡 3 h。将提取完的根系用去离子水冲洗, 并将提取液过滤到 50 mL 容量瓶中定容, 采用原子吸收分光光度法 (北京瑞利分析仪器有限公司, WFX-220A) 测定提取液中 Fe、Cu、Pb、Zn 含量。

2.2.4. 重金属测定和价态分析

(1) 水样重金属含量的测定

取 10 mL 水样于 25 mL 比色管中, 加入 5 mL HNO_3 , 密封后在高压灭菌锅中 121°C 消解 30 min, 完全冷却后用 0.45 μm 滤膜抽滤后采用原子吸收分光光度法测定消解后的重金属总量。

(2) 猪粪重金属含量的测定

将猪粪置于在 65°C, 经过 24 小时的干燥后取 0.2 g 样品, 与 10 mL 王水、5 mL 高氯酸以及 2 mL 浓硫酸混合, 在 185 和 205 °C 下分别进行 3 小时和 7 小时的消解, 冷却后用 0.45 μm 的滤膜进行抽滤。将滤液定容至 50 mL, 然后采用原子吸收分光光度法测定消解后的重金属总含量。

(3) 基质吸附重金属含量的测定

将烘干的基质经磨成粉末, 取 0.2 g 样品, 与 10 mL 王水、5 mL 高氯酸以

及 2 mL 浓硫酸混合，在 185 和 205 摄氏度下分别进行 3 h 和 7 h 的消解，冷却后用 0.45 μm 的滤膜进行抽滤。将滤液定容至 50 mL，然后采用原子吸收分光光度法测定消解后的重金属总含量。

（4）电极吸附重金属含量的测定

电极经烘干后磨成粉末，称取 0.20 g 样品，后采用与基质样品相同的消解和重金属测定方法。

（5）植物重金属含量的测定

植物根系和地上部经烘干后磨成粉末，分别称取 0.20 g 样品，后采用与基质样品相同的消解和重金属测定方法。

（6）重金属化学形态分析

实验猪粪中重金属的化学形态采用改进 BCR 连续提取法^[71]进行测定。

（7）重金属价态分析

阴极表面元素的化学组成及化学形态通过 X 射线光电子能谱（XPS，AXIS NOVA，Shimadzu，日本）进行了表征；阴极表面的形态用场发射扫描电子显微镜（SEM，JSM-7500F，JEOL，日本）进行表征。

2.2.5. 电化学分析指标

（1）电压与电流

各系统的输出电压由无纸记录仪（MIK-R9600）进行监测并记录，根据欧姆定律可计算得到电流。

$$I = V / R_{\text{ex}} \quad (2-4)$$

式中， I ：电池电流，mA； V ：系统输出电压，mV； R_{ex} ：外接电阻值，固定为 1 000 Ω 。

（2）功率密度

功率密度指的是单位体积或单位面积电池产生的功率值。本研究采用最大面积功率密度进行计算与分析。计算公式如下

$$I_A = V / R_{\text{ex}} \quad (2-5)$$

$$P_A = U^2 / V_A R \quad (2-6)$$

式中， I_A ：电流密度，mA/m²； V_A ：阳极有效工作面积，m²。 U ：电路电

压, V ; P_A : 功率密度, mW/m^2 ; R : 电路电阻, Ω 。

(3) 极化曲线

极化曲线被视为评估 MFC 性能的关键手段。本研究通过稳态放电方法来测定极化曲线, 即在电压稳定后, 通过改变不同的外部电阻 ($R_e=100-10000$), 以获得极化曲线, 从而揭示该系统的内阻和产电性能。

2.2.6. 微生物分析

分别在填料优化实验和微生物优化接种实验结束后, 收集 CW-MFCs 阳极周围和 CW 中填料样品, 利用高通量测序技术分析系统内微生物群落结构的响应差异性。选取在处理猪粪中重金属方面表现最佳的 CW-MF1 系统 (植物为水葫芦, 电极间距为 15 cm, 基质为海绵铁, 接种微生物为 *Halobacillus sp.*) 将整个系统内不同部位的微生物群落作为研究对象, 从系统内不同部位 (基质、阳极碳毡、植物根系) 进行取样, 提取微生物的总 DNA, 并寄送至上海凌恩生物科技有限公司 (中国上海) 进行高通量测序分析。

高通量测序的流程如下: 使用土壤 DNA 试剂盒 E.Z.N.A.® (Omega Bio-tek, Norcross, GA, U.S.) 提取样本中的微生物组总 DNA。细菌群落结构研究采用 16s rRNA 全长通用引物 341F 5'- CCTAYGGGRBGCASCAG-3' and 806R 5'- GGACTACNNGGGTATCTAAT-3' 进行 PCR 扩增 (16S rDNAV3-V4), 每个样本的扩增引物含有 8 碱基标签序列用以区分样本。准备 20 μ l 的 PCR 反应体系, 如下: 4 μ l 的 5x FastPfu Buffer, 2 μ L 的 2.5 mM dNTPs, 上下游引物各 0.8 μ L (5 μ M), 0.4 μ L 的 FastPfu Polymerase, 以及 10 ng 模板 DNA。PCR 扩增实验程序如下: 95 $^{\circ}$ C 下进行 5 分钟; 在 95 $^{\circ}$ C 下进行 30 秒, 在 55 $^{\circ}$ C 下进行 30 秒, 在 72 $^{\circ}$ C 下进行 45 秒, 上述三步骤进行 28 个循环, 最后 72 $^{\circ}$ C 保持 10 分钟。扩增产物经 2% 琼脂糖凝胶电泳后采用 AxyPrep DNA Gel Extraction Kit (Axygen Biosciences, Union City, CA, U.S.) 试剂盒进行纯化。使用 NEXTFLEX® Rapid DNA-Seq Kit 建库试剂盒进行文库构建, 待文库合格后, 利用 Illumina 公司的 Miseq PE300 平台进行上机测序。测序后将原始的 fastq 文件使用 FLASH 平台进行过滤得到优化序列, 并采用相同数量的序列来比较不同样品的微生物群落结构。使用 UPARSE 软件, 根据 97% 的相似度对序列进行 OTU 聚类, 利用 RDP 分类器对每个 OTU 代表序列进行物种分类。考察填料、微生

物接种对 CW-MFC 处理猪粪重金属过程中阳极微生物的测序结果分别以登录号 SUB14284496、SUB14365547 保藏在 NCBI GenBank 中，而 CW-MFC-1 体系中不同部位的微生物测序结果以登录号 SUB14365809 保藏在 NCBI GenBank 中。

2.2.7. 数据分析方法

采用 Originpro2018 软件进行数据处理和分析。此外，还利用 Advantage5.948 对 XPS 数据进行了分峰拟合，用于重金属的价态分析。

第3章 不同填料对猪粪在 CW-MFC 中稳定化及重金属处理效能研究

填料是人工湿地微生物燃料电池（CW-MFC）稳定运行的关键因素之一^[32]，其孔隙率、比表面积、颗粒大小、形状和导电性能等特性均会影响 CW-MFC 对污染物的处理效能。有研究表明，在 CW-MFC 处理系统中，不同填料对污染物的吸附以及对微生物影响差异明显^[72]。因此，针对人工湿地微生物燃料电池处理猪粪系统，研究不同填料对猪粪的稳定化及其重金属的处理效果、系统产能的影响具有重要的理论和实践意义。

为此，本研究拟采用沸石、活性炭、煤渣和海绵铁作为 CW-MFC 的阳极层，以探究其对猪粪稳定化及其重金属的去除效能的影响，并筛选出最佳填料。通过 XPS 分析阴极上重金属的价态变化，并利用高通量测序分析阳极层填料中微生物群落结构，阐明猪粪中重金属的去除机理。

3.1. 实验设计与采样运行

3.1.1. CW-MFC 系统的构建与接种启动

采用容量为 10 L 的聚丙烯桶构建 CW-MFC 系统，由下而上依次是 3cm 的砾石层（粒径为 2-4 cm）、8 cm 的填料层（粒径为 5-8 mm，分别为沸石、活性炭、煤渣和海绵铁）、3 cm 的细砂层（粒径为 0.1-1 mm）和 5 cm 猪粪层，出水口距底部 3 cm。阴极位于气液交界面，电极间距均为 15 cm，阳极和阴极通过单芯铜线和 1000 Ω 的外接电阻构成闭合回路。

本实验构建了 4 个 CW-MFC 系统，分别以沸石、活性炭、煤渣和海绵铁为阳极层，装置分别命名为 ZEO-CW-MFC、GAC-CW-MFC、COA-CW-MFC 和 DRI-CW-MFC。同时构建以海绵铁为阳极层的 CW 系统作为对照，命名为 DRI-CW。桶外用黑色塑料膜包裹防止藻类繁殖，所选用的湿地植物为水葫芦，从市场采购并经过一周的水培后，选取生长状况良好且大小较为一致的植物，将其等量植入系统的阴极中，以此完成系统的搭建。

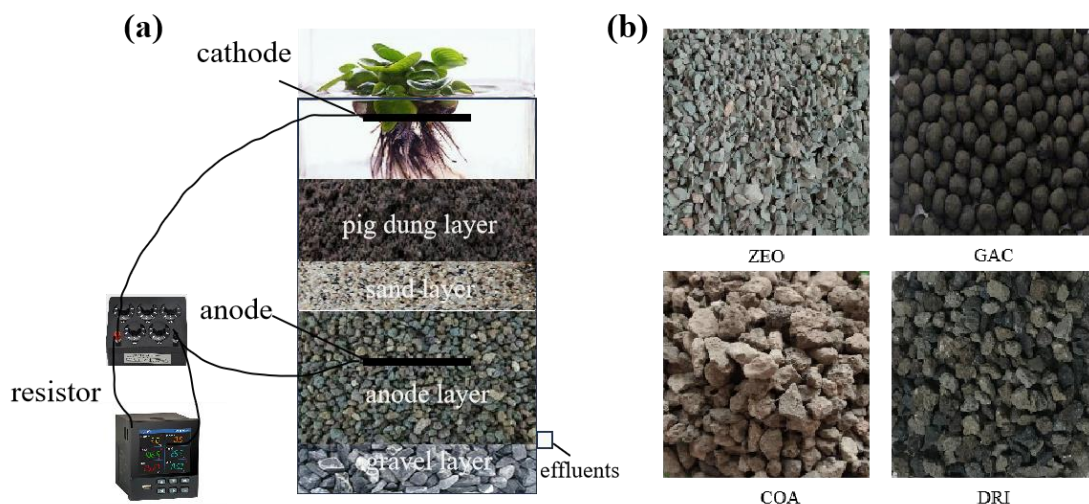


图 3-1 CW-MFC 系统示意图 (a)；阳极填料实物图 (b)

Fig.3- 1 CW-MFC system schematic (a); Anode filler physical diagram (b)

3.1.2. 系统的运行与采样

接种液采用芜湖市某城镇污水处理厂二沉池污泥静置后的上清液经培养而成：取 60 mL 污泥上清液于西林瓶中，同时称取 1 g $C_6H_{12}O_6$ 、0.15 g NH_4Cl 和 0.03 g KH_2PO_4 溶解于 10 mL 超纯水中，将该溶液混合后加入西林瓶中密封，放入恒温摇床中在 37°C 和 120 r/min 的条件下恒温震荡 2 d。CW-MFC 接种期间，每周两次通过连接到阳极的塑料管将接种液注入，每周更换一次营养液。在接种期间测量电压，待电压正式稳定后表明微生物正式挂膜成功。

猪粪取自芜湖市湾沚区某养猪厂。系统稳定后，从湿地上方加入猪粪，待高出表层基质 8 cm 时停止。实验过程中对系统输出电压进行实时监测，并对阳极液和污泥进行取样，测定阴、阳极 pH 和阳极 COD，猪粪中重金属浓度和稳定化指标，实验结束后采集植物样品和基质材料用于重金属测定。

3.2. 结果与分析

3.2.1. 填料对 CW-MFC 电极 pH 和 COD 的影响

图 3-2 显示了 CW-MFC 和 CW 系统阴、阳极 pH 在实验过程中的变化。随着实验进行，阴阳极 pH 均呈上升趋势，到实验结束时，所有系统阴极液的 pH 稳定在 7.17-7.78 之间（图 3-2a）。MFC 的阴极快速消耗质子，同时微生物消耗阳极有机物释放酸性物质导致了系统内 pH 值的变化^[73, 74]。研究表明，在碱性

条件下，电导率的提高可以加速质子的消耗，有利于电活性细菌产生的质子从阳极扩散到阴极^[75]。在弱碱性环境下，阳极上的氧化反应可以加速质子的消耗速度，从而刺激了产电细菌的活性，提高了其在与产甲烷细菌竞争中的优势，进而促进了厌氧微生物的生长。

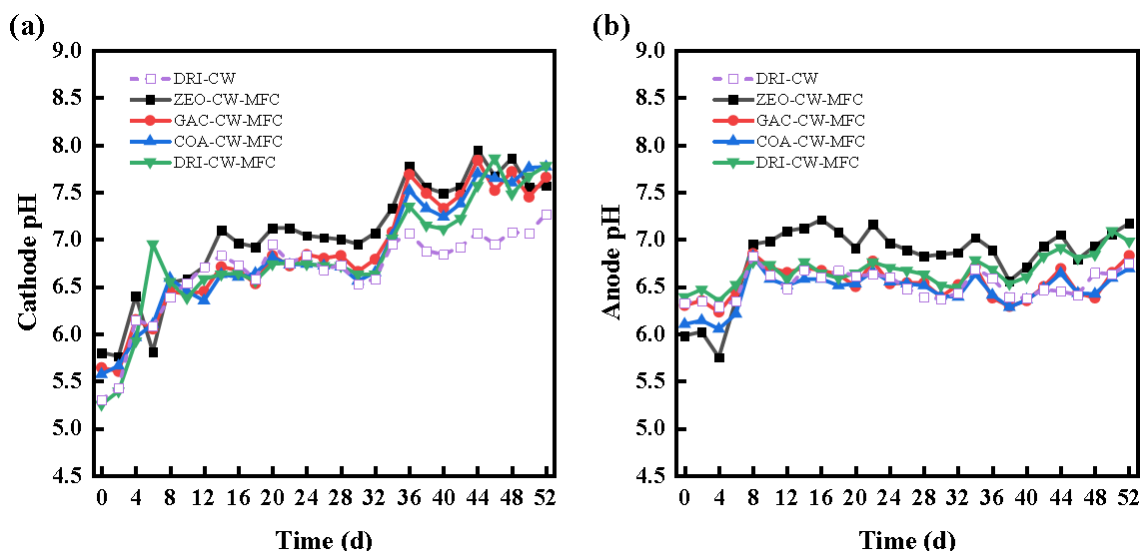


图 3-2 系统电极 pH 变化趋势（阴极 pH (a)；阳极 pH (b)）

Fig.3- 2 Trend of electrode pH variation in the system (Cathode pH (a);Anode pH (b))

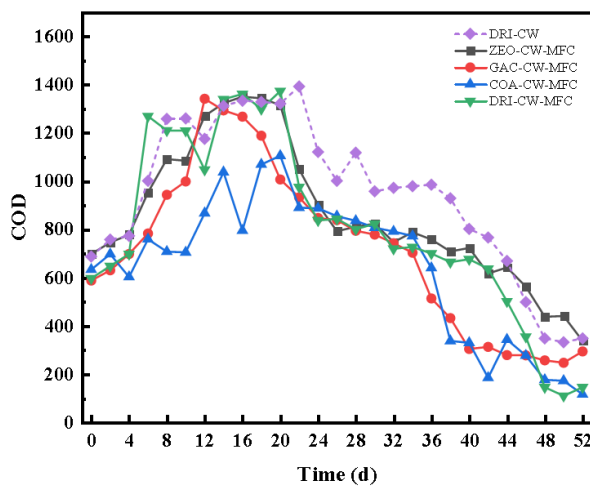


图 3-3 系统中的 COD 变化趋势

Fig.3- 3 Trend of COD variation in the system

根据图 3-3 所示，猪粪的添加有助于为 CW-MFC 系统提供丰富的碳源。实验初期（平均为 0-6 d）未经稳定化猪粪的加入，系统有机物的累积以及猪粪中重金属对微生物的抑制作用，COD 呈现出了先上升后下降的趋势。值得注意的

是，在 DRI-CW-MFC 系统中观察到了较高的 COD 去除率（达到 49%），这超过了其他系统。这可能是因为 DRI-CW-MFC 系统中产甲烷菌的活性更高，表明海绵铁对微生物具有促进作用。此外，与 CW 系统相比，CW-MFC 提高了系统对 COD 的去除率，说明 MFC 的引入促进了系统对有机物的分解。CW-MFC 中闭合回路的电流可以加速阳极电子的转移，有助于提高微生物群落的活性和多样性，促进有机物的厌氧分解。

3.2.2. 填料对 CW-MFC 产电性能的影响

（1）输出电压

CW-MFCs 电压监测如图 3-4a 所示。在稳定期（30 d）内，各系统输出电压均呈现明显周期性上升趋势，25-30d 达到最高，ZEO-CW-MFC、GAC-CW-MFC、COA-CW-MFC 和 DRI-CW-MFC 的电压分别达到 652.8、708.2、673.8 和 532.7 mV，表明阳极表面已成功附着产电菌，并形成了稳固的生物膜。在 30d 时，随着猪粪的加入，阳极产电菌的生长受到了抑制，CW-MFCs 系统输出电压出现明显的降低，在 5d 后趋于稳定。其中，DRI-CW-MFC 的最大电压为 337.4 mV，这得益于海绵铁中可以释放出 Fe^{2+} 以促进系统中的电子转移，从而增强 MFC 的性能，此外较高的发电性能有助于产电微生物的附着和生长^[76]。GAC-CW-MFC 在稳定期后期保持最高的输出电压，在进入实验期后低于 DRI-CW-MFC。此外 ZEO-CW-MFC 的不导电性和 COA-CW-MFC 的低比表面积可能是导致这两个系统电压一直较低的原因。从图 3-4b 可看出，由于内阻的极化，DRI-CW-MFC 功率密度先增加，然后随电流密度的增加而降低。

不同填料的 CW-MFC 系统的内阻和最大功率密度如图 3-5 所示，DRI-CW-MFC 内阻为 304.8 Ω ，最大功率密度为 1090.8 mW/m^2 ，拥有最佳的电化性能。ZEO-CW-MFC，GAC-CW-MFC 和 COA-CW-MFC 的内阻分别为 384.1、353.9、464.2 Ω ，最大功率密度分别为 102.9、196.3、63.4 mW/m^2 ，其电化性能相比海绵铁填料的系统均较差，表明基质对 CW-MFC 系统的电化性能产生了显著影响。

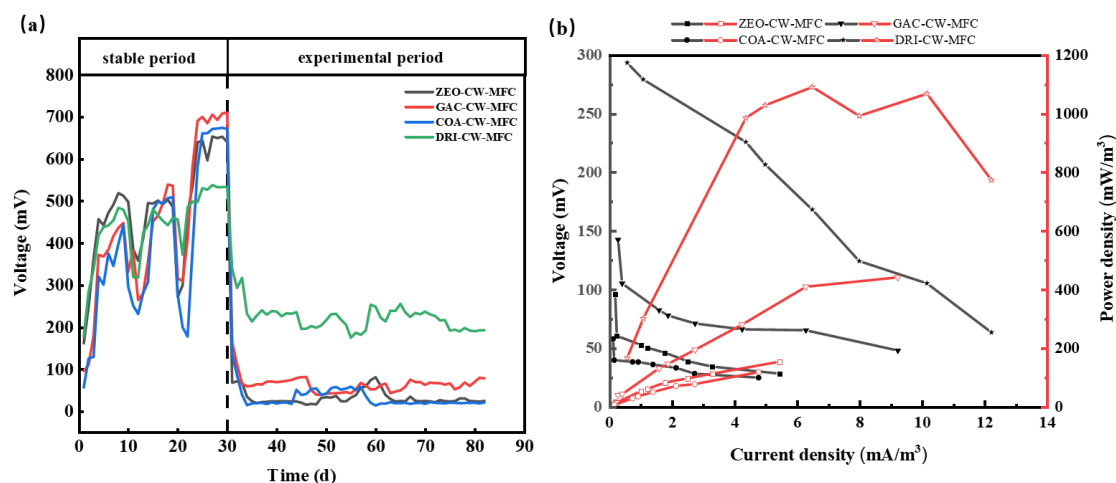


图 3-4 不同填料 CW-MFC 系统的输出电压 (a)，功率密度曲线和极化曲线 (b)

Fig.3- 4 The output voltage (a), power density curve and polarization curve (b) of CW-MFC system with different fillers were measured.

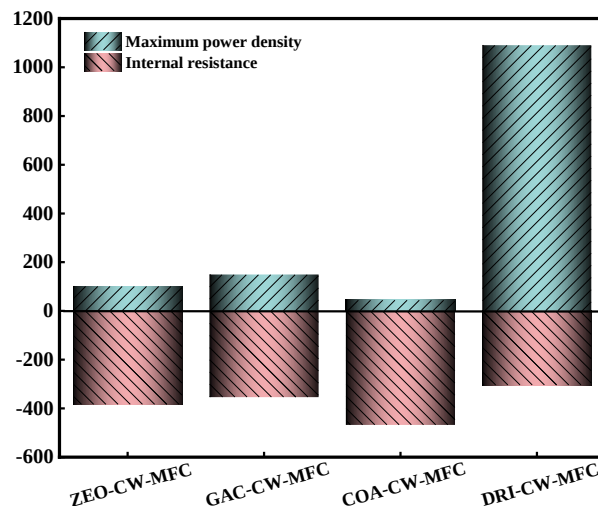


图 3-5 不同填料 CW-MFC 系统的最大功率密度和内阻

Fig.3- 5 Maximum power density and internal resistance of CW-MFC systems with different fillers

3.2.3. 填料对 CW-MFC 中猪粪稳定化的影响

猪粪稳定化是将猪粪中的有机物质分解为较为稳定的有机质，同时降低其中微生物数量和活性，以减少对环境的污染。其评价指标包括水溶性有机碳（DOC）、腐殖质（HS），胡富比等。这些指标可以综合评估猪粪的稳定化程度，为其资源化利用和环境保护提供科学依据。

(1) DOC 的变化

DOC 是微生物可以直接利用的小分子碳，可以反映微生物活性。图 3-6 可

以看出各系统中的 DOC 含量随实验总体呈上升再下降趋势, 在第 8-22d 达到最高, DRI-CW、ZEO-CW-MFC、GAC-CW-MFC、COA-CW-MFC 和 DRI-CW-MFC 的 DOM 含量分别为 10920.0、11860.0、11860.3、10682.1 和 10500.4 mg/kg, 其原因是实验前期 CW-MFC 系统中微生物分解有机质, 形成大量的易于微生物摄取的小分子有机物, 使 DOC 含量升高。易分解的物质被快速消耗后, 复杂的物质开始降解, DOC 含量也随之降低。实验结束时, 各系统 DOC 分别为 5970.5、6407.2、5004.7、6318.1 和 4902.6 mg/kg, 其中 DRI-CW-MFC 系统的 DOC 较原猪粪降低了 51.9%, 比 DRI-CW 系统的去除率高 11.5%, 说明 DRI-CW-MFC 有利于猪粪的稳定化。可能是由于海绵铁在猪粪处理过程中促进了有机废物的水解酸化^[77], 其次, 海绵铁还可以提供表面反应场所, 促进微生物的附着和生长, 加速猪粪中有机物的降解和稳定化过程。

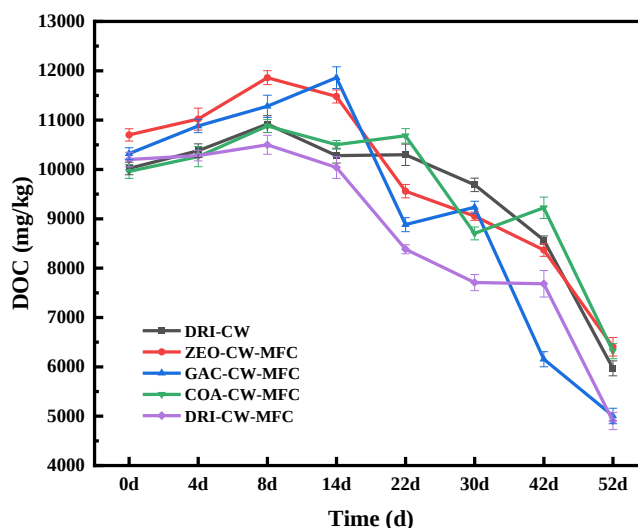


图 3-6 不同填料 CW-MFC 系统 DOC 的变化图

Fig.3- 6 Variation of Dissolved Organic Carbon (DOC) in CW-MFC systems with different fillers

(2) HS 组成及含量

HS 通常以胡敏酸 (HA) 和富里酸 (FA) 的变化为代表^[26]。实验中各系统 HS 含量总体呈下降趋势 (图 3-7a), 这与先前的研究一致^[78]。HS 的下降在实验前 8d 最为剧烈, 而此阶段 FA 也急速下降, 说明 FA 被用作微生物的能量物质, 导致 HS 急剧下降。14d 后, 细菌活性降低, 对 HS 的消耗减少, 系统中的 HS 下降速率减缓。实验结束时, DRI-CW、ZEO-CE-MFC、GAC-CW-MFC、COA-CW-MFC 和 DRI-CW-MFC 的 HS 含量分别为 825.1、827.3、807.3、

807.5、789.2 mg/kg, DRI-CW-MFC 系统的 HS 含量要低于其他系统, 这可能是由于 DRI-CW-MFC 系统中海绵铁的比表面积大, 为微生物提供更佳生长条件, 提高了系统中微生物群落丰度, 促进了 HA 的形成, 而 FA 被用作微生物的活动能源, 含量迅速下降, 故而 HS 含量总体下降。

相关研究表明, 有机碳被微生物代谢产生 FA, 然后聚合成稳定的 HA^[79]。HA 相对于 FA 分子量较高, 具有极强的氧化还原能力, 能够影响土壤肥力^[80]。图 3-7b 显示, HA 整体呈上升趋势, 实验 53d 时, 各组 HA 含量分别上升了 35.3%、30.3%、40.1%、27.8%和 42.6%, 由此说明海绵铁和活性炭作为基质均能增加 HA 含量, 提高猪粪稳定化程度, 其中海绵铁基质的效果最为显著。

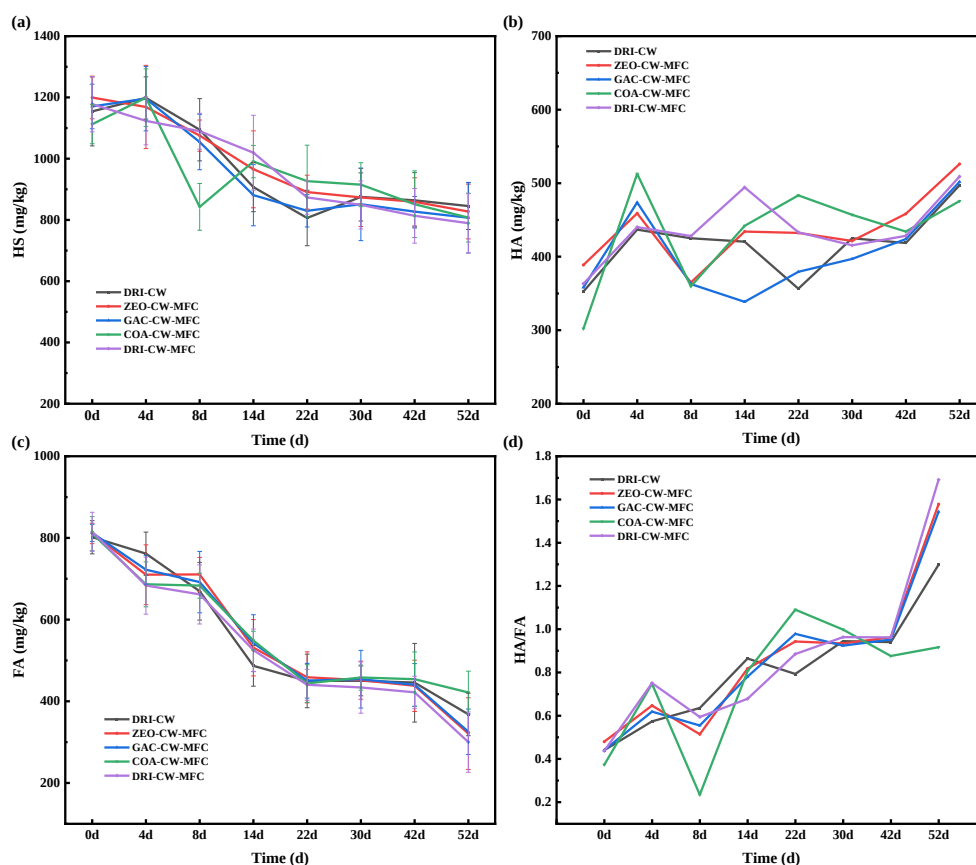


图 3-7 不同填料 CW-MFC 系统 HS (a)、HA (b)、FA (c)、HA/HF (d) 的变化趋势
Fig.3-7 Trends of HS(a), HA(b), FA(c) and HA/HF(d) in CW-MFC systems with different fillers

FA 是 HS 中相对流动、可用和未成熟的部分, 能够作为微生物能量来源。从图 3-7c 可看出, 与 HA 相反, FA 含量总体呈下降趋势。研究表明, FA 作为 HS 的一部分, 相对于 HA 分子量较小, 易于被微生物利用, 随着实验进行, 可用作微生物的能量物质或转化为更稳定的 HA^[81]。实验结束时, DRI-CW、

ZEO-CW-MFC、GAC-CW-MFC、COA-CW-MFC、DRI-CW-MFC FA 含量分别下降 54.1%、60.4%、60.0%、48.0%、63.2%。

胡富比 (HA/FA) 可以指示腐殖酸的聚合度, 胡富比的增加表明小分子 FA 逐渐转变为大分子 HA, HS 的复杂性增强^[82]。图 3-7d 为胡富比值变化情况, 随着实验进行, 胡富比值不断增加, 实验结束各组均达到最大值, 其中 DRI-CW-MFC 的胡富比值达到了 1.69, 说明系统中猪粪已经达到稳定。海绵铁虽然不能增加腐殖质的含量, 但显著增强了腐殖酸的聚合度, 促进 FA 向 HA 的分解和转化, 形成了更多的 HA, 加速了猪粪的腐殖化进程。

3.2.4. 填料对 CW-MFC 处理猪粪重金属的影响

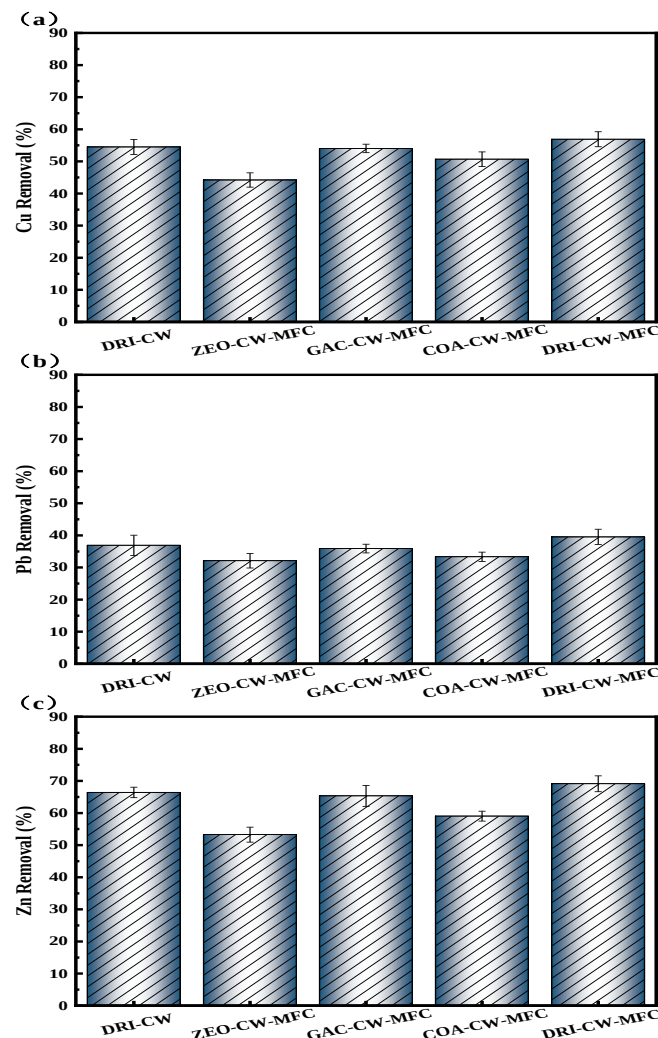


图 3-8 不同系统对重金属的去除率 (Cu (a)、Pb (b)、Zn (c))

Fig.3-8 Removal efficiency of heavy metals by different systems (Cu(a)、Pb(b)、Zn(c))

图 3-8 为不同填料的 CW-MFC 系统对重金属的去除率, 由图可知, GAC-

CW-MFC 系统对 Cu、Pb 和 Zn 的去除率分别为 54.0%、35.9%和 64.3%。可能是由于活性炭对重金属离子的吸附容量较大。而 DRI-CW-MFC 系统对 Cu, Pb 和 Zn 的去除率分别为 56.9%、39.5%和 69.1%，比 GAC-CW-MFC 系统的去除率分别高出 2.9%，3.6%和 4.8%，总体比较而言，DRI-CW-MFC 系统对重金属的去除效果是优于其他三个系统，这主要是由于海绵铁的高比表面积和 MFC 系统阴极还原作用的结果。此外，DRI-CW-MFC 系统对重金属的去除率均高于 CW 系统，说明 MFC 的加入可以促进 CW 对重金属的去除。

3.2.5. 猪粪重金属在 CW-MFC 电极中的富集

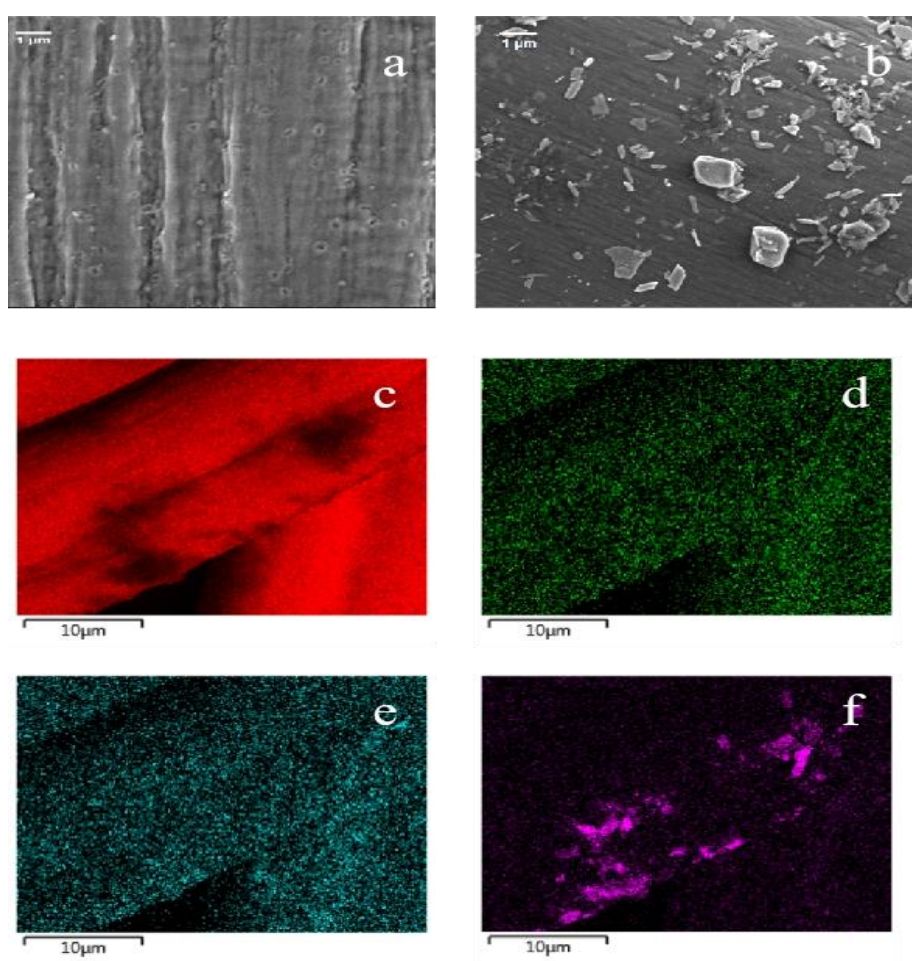


图 3-9 碳毡 SEM 图像 (a) 和实验结束后 DRI-CW-MFC 阴极的 SEM 图像 (b) ; C (c)、Cu (d)、Zn (e)、Pb (f) Mapping 图像

Fig.3- 9 SEM images of carbon felt (a) and SEM image of the DRI-CW-MFC cathode after the experiment (b); Mapping images of C (c), Cu (d), Zn (e), Pb (f)

DRI-CW-MFC 对重金属的去除效果高于其他系统，为此对 DRI-CW-MFC 的阴极进行了表征。结果如图 3-9 所示。从 SEM 图像（图 3-9(a-b)）可以看

出，与实验前的碳毡的相比，阴极表面不仅有生物膜附着，还存在大量晶体结构，推测可能是由于重金属盐在阴极表面富集沉淀所致。通过 Mapping 图像表明 C 是碳毡中的主要成分（图 3-9c）同时也进一步证明了 Cu、Zn 和 Pb 单质大量在碳毡纤维上沉淀分布（图 3-9(d-f)）。

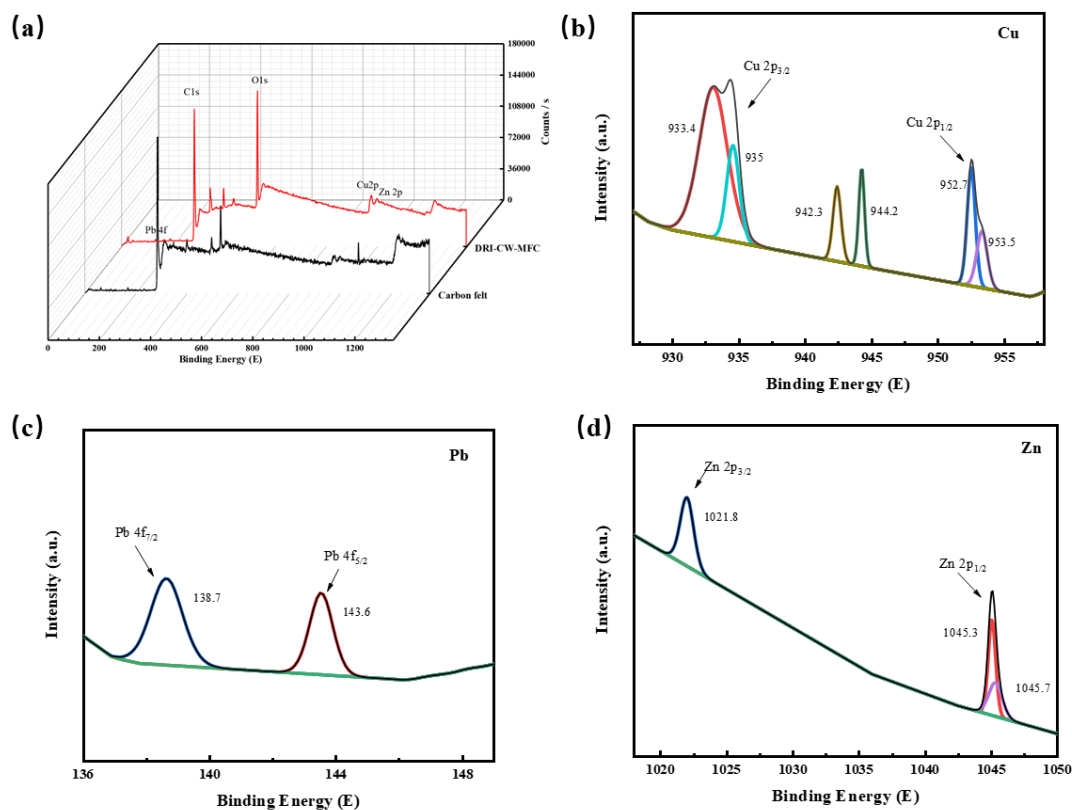


图 3-10 实验结束后 DRI-CW-MFC 阴极的 XPS 全谱图 (a) 和 Cu (b)，Pb (b)，Zn (b) 的精细谱

Fig.3- 10 XPS full spectrum (a) and fine spectra of Cu(b), Pb(b), Zn(b) of the DRI-CW-MFC cathode after the experiment

DRI-CW-MFC 阴极表面重金属的化学形态与原始碳毡的对比如图 3-10a 所示。在 285、398 和 531 eV 处检测到的主要峰值分别为 C 1s、N 1s 和 O 1s 峰，实验结束后阴极的 O 1s 峰强度增加，可能是因为阴极表面的氧化物增加，重金属可能与氧发生化学反应，在阴极表面形成氧化物或氧化物类结合物而在阴极上固定。在 DRI-CW-MFC 的阴极精细谱（图 3-10b）中可以看出，Cu 2p_{1/2} 和 Cu 2p_{3/2} 的结合能分别为 953 eV 和 935 eV，Cu 2p 的两个结合能的差异为 18eV，这也表明电极上的 Cu 具有+2 的价态^[83]，说明了 Cu 在电极上主要以 Cu，Cu₂O 和 CuO 存在。在 138.7 eV 和 143.6 eV 处可以检测到的 Pb 4f_{7/2} 和 Pb

$4f_{5/2}$ 的特征峰（图 3-10c），但响应不是很强，可能和电极对 Pb 的富集效果较差有关。如图 3-10d 所示，Zn（II） $2p_{3/2}$ 和 $2p_{1/2}$ 谱系的结合能分别为 1021.8 和 1045.5 eV，表明锌以 Zn（II）的形式存在。由于直接被电极吸附，部分 Zn（II）可能聚集在阴极上，在系统中，随着阴极附近的 pH 值升高，Zn 可能形成了 Zn（OH）从而进行去除^[84]。

3.2.6. CW-MFC 阳极微生物群落结构

（1）稀释性曲线及主成分（PCA）分析

适量收集各系统中阳极周围的填料，通过 Illumina MiSeq 高通量测序方法分析不同基质对 CW-MFC 处理猪粪中重金属的微生物群落结构影响。

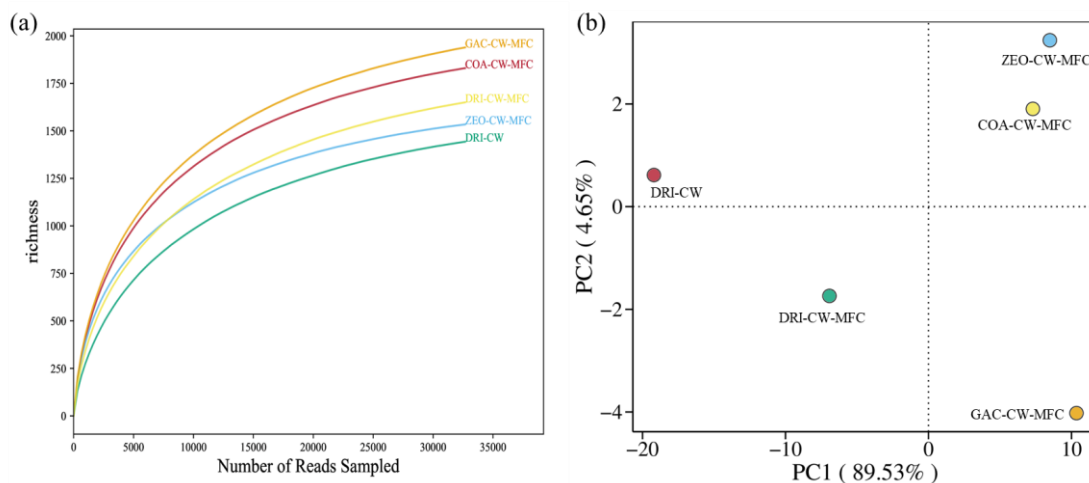


图 3- 11 基于不同微生物群落组成样品 OTUs 的稀释性曲线 (a) 及 PCA 分析 (b)

Fig.3- 11 The dilution curve of sample OTUs (a) and PCA analysis (b) are based on different microbial community compositions.

根据图 3-11a 可知，五个样品的稀释性曲线呈现出相似的趋势。随着分析样品序列数量的增加，曲线逐渐变得平缓并趋于稳定。表明测序数据量合理，能够充分反映出样本中绝大多数微生物信息，具有较高的数据分析可信度。在 PCA 分析中（图 3-11b），观察到样品 ZEO-CW-MFC 和 COA-CW-MFC 之间的距离较近，这意味着这两个样品有较高的微生物群落结构相似度。而样品 GAC-CW-MFC、DRI-CW-MFC 则与上述样品明显分离，说明这些样品在菌群结构上有显著的差异，表明不同基质类型显著影响了 CW-MFC 系统中阳极层的微生物群落结构组成。此外，样品 DRI-CW-MFC 与 DRI-CW 之间的距离也较

大，说明系统中 MFC 的引入对微生物的群落结构以及多样性具有较大影响。

(2) 微生物多样性指数

样品的 Observed species、Chao1 和 ACE 指数主要用来评估微生物群落的丰富度，Shannon 和 Simpson 指数则能够反映所测样品中微生物的多样性。其中，微生物多样性随着 Shannon 和 Simpson 指数的升高而变多^[85]。每个样品的微生物多样性指数如下表 3-1 所示。在 97%的相似水平上，CW-MFC 系统基质的 Alpha 指数均明显高于 CW 系统基质，说明 MFC 的引入可以增加系统中阳极层微生物的群落丰富度和多样性。相较于其他 CW-MFC 系统，GAC-CW-MFC 的 Alpha 多样性指数最高，说明该系统阳极层具有最大的微生物丰富度和多样性。但 GAC-CW-MFC 系统对猪粪中重金属 Cu、Zn、Pb 的去除率和产电性能均低于 DRI-CW-MFC 系统，说明 CW-MFC 系统去除猪粪中重金属除了受阳极层微生物影响，还会受到其他因素如植物富集、基质吸收、电极还原等的影响。这些内在的影响机制有待进一步研究。

表 3-1 样品的微生物 Alpha 多样性指数和序列信息

Table 3- 1 Alpha diversity indices and sequencing data of the microbial samples

样品	相关度=0.97				
	Observed species	Chao1	ACE	Shannon	Simpson
DRI-CW	1374	1557.02	1598.65	4.46	0.891
ZEO-CW-MFC	1470	1598.12	1633.19	5.86	0.991
GAC-CW-MFC	1818	1986	2035.37	6.12	0.993
COA-CW-MFC	1747	1923.68	1972.74	6.00	0.990
DRI-CW-MFC	1556	1717.15	1768.39	5.19	0.953

(3) 花瓣图

由图 3-12 的花瓣图可知，五个样品共检测到 1233 个菌属。其中，样品 DRI-CW、ZEO-CW-MFC、GAC-CW-MFC、COA-CW-MFC 和 DRI-CW-MFC 中分别检测到 665、656、774、702 和 675 个菌属，与微生物多样性结果一致。五个样品所共有的菌属为 560 个，说明不同 CW-MFC 系统中阳极层的微生物表现出较大的相似性。此外，样品 DRI-CW、ZEO-CW-MFC、GAC-CW-MFC、

COA-CW-MFC 和 DRI-CW-MFC 中独有的菌属分别为 105、96、214、142 和 115 个，不同的 CW-MFC 系统有特定的微生物群落结构组成。因此，上述结果表明 CW-MFC 系统阳极层微生物群落结构对不同基质类型的响应差异性。

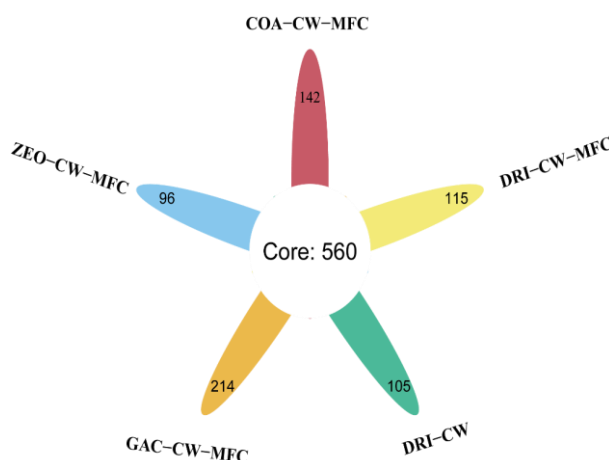


图 3-12 样品花瓣图

Fig.3-12 Sample petal diagram

(4) 不同分类学水平的微生物群落结构

五个样品的检测序列使用 RDP 分类器分类后发现，微生物群落结构和丰度在不同样品之间存在明显差异（图 3-13 和图 3-14）。在微生物分类门水平上（图 3-13a），五个样品的微生物群落结构呈现出相似的多样性，但丰度则各不相同。其中，厚壁菌门（*Firmicutes*）和拟杆菌门（*Bacteroidota*）为 5 个样品的优势菌，而在 DRI-CW 和 DRI-CW-MFC 系统中变形菌门（*Proteobacteria*）也占很大优势。据报道，厚壁菌（*Firmicutes*）、变形菌（*Proteobacteria*）、拟杆菌（*Bacteroidetes*）和酸杆菌（*Acidobacteria*）都是 CW-MFC 系统中主要的电化学活性细菌^[86, 87]。因此，推测 DRI-CW-MFC 的最佳产电性能主要是由于上述细菌良好的产电能力。此外，变形菌（*Proteobacteria*）是一种能在高污染水平环境中存活的重金属耐性细菌，对 Cu、Pb、As、Hg 和 Zn 等重金属具有较强的耐受性^[88]。有研究发现，厚壁菌门（*Firmicutes*）的存在可以促进 CW-MFC 系统中电子传递的速率，提高系统对重金属的去除效率^[89]。此外，酸杆菌（*Acidobacteria*）在一定条件下可能与其他微生物协同作用，参与废水中有机物的降解过程，进而影响 CW-MFC 系统的性能^[90]。

图 3-13b 显示了 5 个样品在微生物分类纲水平上的相对群落丰度。 γ -变形菌

(*Gammaproteobacteria*) 在样品 DRI-CW 和 DRI-CW-MFC 系统中占据优势地位, 分别占总序列的 35%和 23%。据报道, γ -变形菌 (*Gammaproteobacteria*) 可氧化系统中有机物并转换其为自己所用, 同时在电子传递过程中获取能量, 有利于系统长期运行^[91]。因此, 海绵铁基质对 γ -变形菌 (*Gammaproteobacteria*) 的生长具有促进作用, 进而促进产电性能的提升。在 CW-MFC 系统中拟杆菌 (*Bacteroidia*) 和梭状芽胞杆菌 (*Clostridia*) 为主要优势菌。拟杆菌 (*Bacteroidia*) 在废水处理过程中常为优势菌, 在催化阴极室中的氧化还原方面发挥了重要作用^[92]。研究发现, 梭状芽胞杆菌 (*Clostridia*) 可以提高电子传递速率, 从而显著提高系统的性能^[93]。

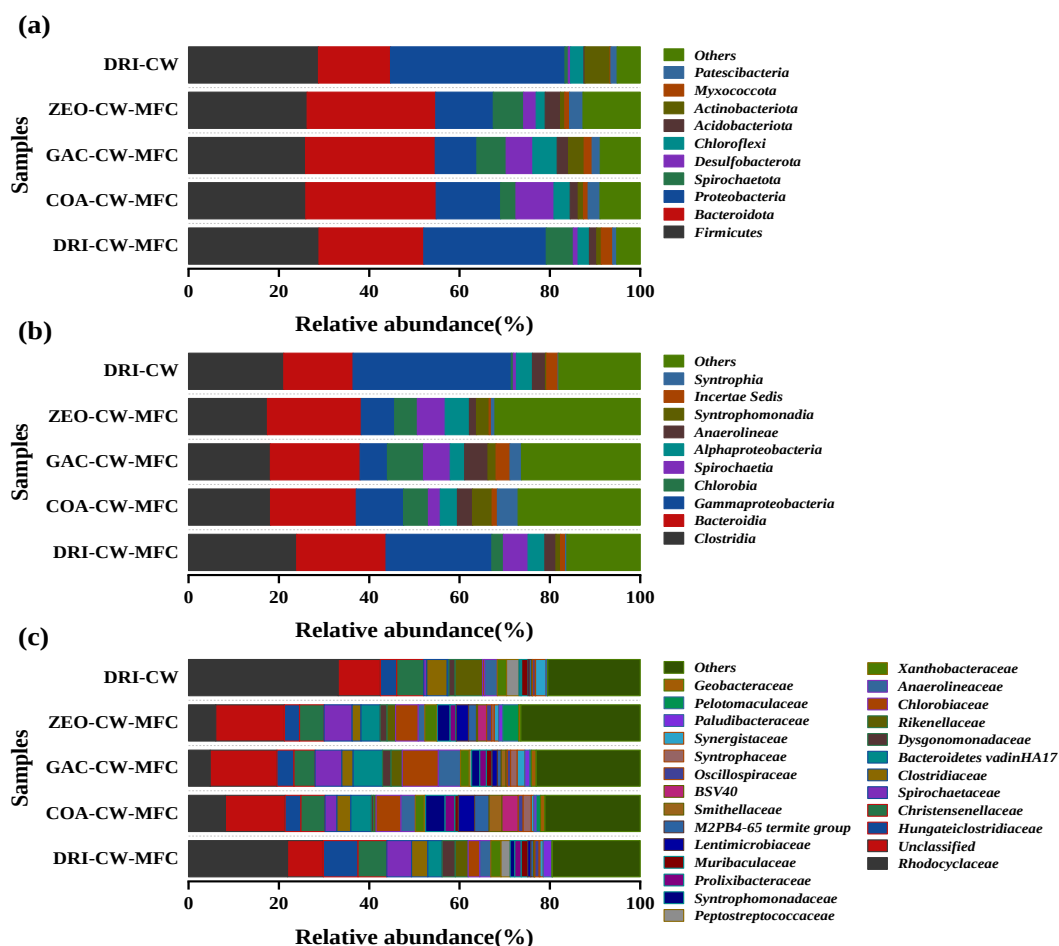


图 3- 13 5 个样品在不同分类学水平上的微生物群落结构: 门水平 (a)、纲水平 (b)、科水平 (c)

Fig.3- 13 The microbial community structures of the five samples at different taxonomic levels: phylum level (a); class level (b); family level (c).

在微生物分类科水平上 (图 3-13c), 五个样品中微生物群落结构存在显著

差异。在 DRI-CW 和 DRI-CW-MFC 系统中，红环菌（*Rhodocyclaceae*）分别占总有效序列较大比重（33%和 22%）。有研究表明，红环菌（*Rhodocyclaceae*）常在河流沉积物和尾矿中富集，对重金属有一定的耐受性和处理效果^[94]。Nazeer 等^[95]从 MFC 阳极中分离出 *Agrobacterium* 并认定其为外源电细菌，能促进 MFC 系统产生生物电。研究表明，厌氧性芽孢杆菌科（*Hungateiclostridiaceae*）是参与有机物分解的主要微生物群落，是厌氧化学异养生物的代表^[96]。

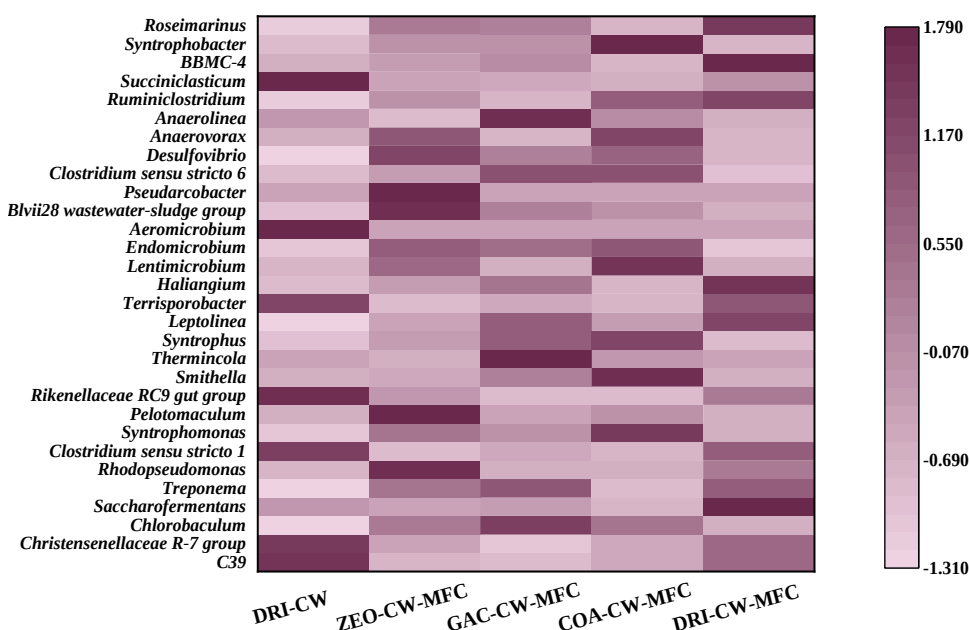


图 3- 14 五个样品中属的 Heatmap 图。每个方块的颜色强度代表一个样品中菌属的丰度。

Fig.3- 14 Heatmap of genera in five samples.The intensity of each square color represents the abundance of genera in a sample.

如图 3-14 所示，微生物群落在属分类水平上的组成上存在较大差异。在 DRI-CW-MFC 系统阳极层中，*Roseimarinus*、*Haliangium* 占优势，而在 DRI-CW 系统中占据比例较低。与其他 CW-MFC 相比，DRI-CW-MFC 中 *Ruminiclostridium*、*Saccharofermentans*、*Roseimarinus*、*Haliangium*、*BBMC-4* 所占比例较大。You 等^[97]发现芽孢杆菌门（*Haliangium*）在受 Cd 和 Pb 污染土壤微生物群落中占主导地位，对重金属和有机污染物具有良好的耐受性。Kang 等^[98]研究了不同预处理方式对小麦秸秆厌氧消化产气量及微生物群落的影响，在厌氧消化系统中发现该属 *Ruminiclostridium* 是主要的水解细菌，可以将有机物分解。因此，DRI-CW-MFC 系统在产电性能和对重金属去除效率方面优于其他

系统，这可能是由于上述各菌属之间协同作用导致。

上述从分类学门水平到属水平的结果表明，MFC 的加入对微生物群落丰度和多样性都有一定影响，而不同基质类型对 CW-MFC 系统阳极层中微生物群落结构会造成显著差异。其中，*Ruminiclostridium*、*Saccharofermentans*、*Roseimarinus*、*Haliangium*、*BBMC-4* 等菌属在 DRI-CW-MFC 系统中得到不同程度的富集，这些优势菌属之间通过协同作用来强化 CW-MFC 系统对猪粪中重金属的去除效率和生物发电性能。

3.3. 小结

以沸石、活性炭、煤渣和海绵铁为填料构建了 CW-MFCs，系统考察了填料种类对猪粪稳定化及重金属的去除效能影响：

（1）海绵铁比表面积相比活性炭较小，但 DRI-CW-MFC 对重金属处理效率要高于 GAC-CW-MFC。DRI-CW-MFC 系统对 Cu、Pb 和 Zn 的去除效率最高，分别为 56.9%，39.5%和 69.1%。通过 XPS 分析，可在阴极表面看到 Cu、Pb、Zb 不同程度的富集，重金属离子主要以二价的形式在阴极富集，少数重金属离子通过阴极还原以单质形式存在。

（2）DRI-CW-MFC 系统对猪粪的稳定化具有促进作用，DOC 降低了 51.9%，FA 下降 63.2%，HA 上升 42.6%，胡富比值达到了 1.69，说明经过 42d 的处理系统中猪粪达到稳定。

（3）DRI-CW-MFC 在产电性能优于其他 CW-MFC，输出电压最高可达 337.4 mV，最大功率密度为 1090.8 mW/m²，且内阻在在 4 个系统中最低，为 304.8 Ω。

（4）MFC 的引入和不同基质类型均显著影响了 CW-MFC 系统中阳极层的微生物群落结构组成及丰度。DRI-CW-MFC 系统对猪粪稳定化及重金属去除、生物产电方面性能最佳，推测阳极层显著富集的 *Ruminiclostridium*、*Saccharofermentans*、*Roseimarinus*、*Haliangium*、*BBMC-4* 等菌属之间的协同作用在强化 CW-MFC 系统处理猪粪中重金属方面发挥了重要作用。

第4章 微生物接种对猪粪在 CW-MFC 的稳定化及重金属处理效能的影响

微生物对 CW-MFC 的产电性能和污染物去除效果至关重要。上一章的研究发现,不同填料对 CW-MFC 系统微生物群落结构影响差异明显,在性能较优的系统中,微生物群落的组成和结构往往与系统的整体功能密切相关。通过对微生物群落的特征进行分析,包括菌种的种类、丰度等,可以预测系统的稳定性、处理效率以及环境适应性。如能从系统中筛选并纯化微生物,进而接种到 CW-MFC 系统中,将大大提高猪粪在 CW-MFC 的稳定化及重金属处理效能。

因此,本章基于对处理效能最优系统微生物的筛选纯化并进行接种,构建四个 CW-MFC 系统和四个 CW 系统作为对照,对比研究了不同微生物接种对猪粪稳定化及其重金属的去除效率和产电性能的影响,明确最佳的接种微生物。

4.1. 实验设计与采样运行

4.1.1. CW-MFC 系统的构建

采用容量为 10 L 的聚丙烯桶构建 CW-MFC 系统,由下而上依次是 3 cm 的砾石层(粒径为 2-4 mm)、8 cm 的填料层(粒径为 5-8 mm 的海绵铁)、3 cm 的细砂层(粒径为 0.1-1 mm)和 5 cm 猪粪层,出水口距底部 3 cm。阴极位于气液交界面,电极间距均为 15 cm,阳极和阴极通过单芯铜线和 1000 Ω 的外接电阻构成闭合回路。其他构建方式如前 3.1.1 所述。

4.1.2. 接种微生物

上一体系结束后,取处理效果最佳系统阳极液进行微生物分离及纯化,经鉴定取 *Halobacillus* sp.、*Bacillus marisflavi strain*、*Lysinibacillus fusiformis* 和 *Lysinibacillus macroides* 作为系统接种微生物(测序所得序列以登录号 SUB14365958 保藏在 NCBI GenBank 中),分别接种到 CW-MFC-1、CW-MFC-2、CW-MFC-3 和 CW-MFC-4 四个系统中。同时构建 4 个以四种接种微生物的 CW 系统作为对照,命名为 CW-1、CW-2、CW-3 和 CW-4。

4.1.3. 接种及系统运行采样

取放置于-80 °C冰箱保存的微生物，在无菌操作台加至已灭菌的 LB 培养基中，在 37 °C恒温培养箱培养 2d。CW-MFC 接种期间，每周两次通过连接到阳极的塑料管将接种液注入，每周更换一次营养液。在接种期间测量电压，待电压正式稳定后表明微生物正式挂膜成功。

猪粪取自芜湖市湾沚区某养猪厂，系统稳定后，从湿地上方加入猪粪，直到超出表层基质 8 cm 时停止。试验取样及检测和 3.1.2 所述。

4.2. 结果与分析

4.2.1. 微生物接种对 CW-MFC 的 pH 和 COD 的影响

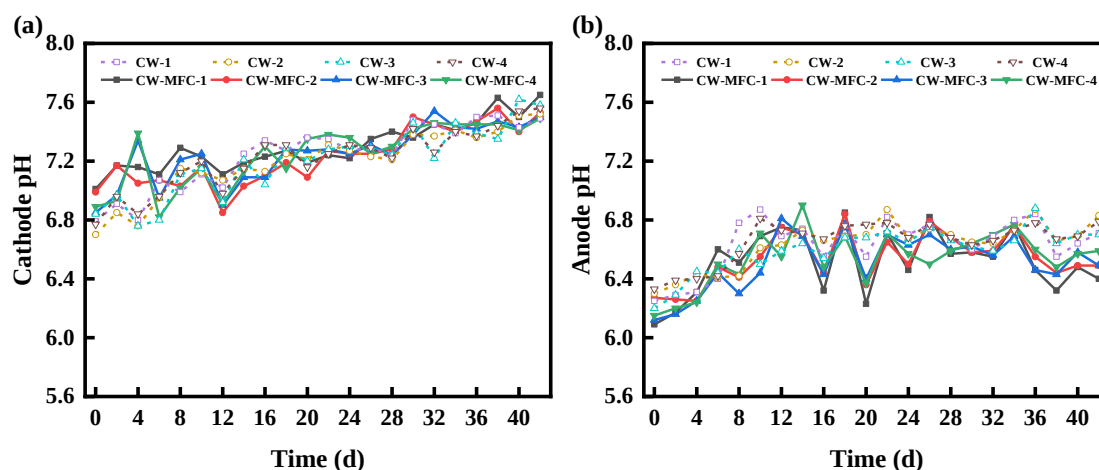


图 4-1 系统中的 pH 变化趋势（阴极 pH (a)；阳极 pH (b)）

Fig.4- 1 Trend of electrode pH variation in the system (Cathode pH (a);Anode pH (b))

图 4-1 显示了 CW-MFC 和 CW 系统阴、阳极 pH 变化趋势。实验结束时，所有系统阴极液和阳极液 pH 分别稳定在 7.49-7.65（图 4-1a）和 6.5-7.5（图 4-1b）之间，表明电极环境逐渐趋于稳定并多呈弱碱性到中性状态。研究表明，pH 为中性更有利于增强微生物活动和电子的产生^[99]。通过对比 CW-MFC 与 CW 的 pH 发现，CW 的 pH 要略高于 CW-MFC，可能是由于 CW-MFC 中的产酸菌与产电菌协同作用，通过降解有机物代谢出较多的酸类物质和质子^[100]，而 CW 中的产电菌并不活跃，因此 CW 装置整个内环境的 pH 都要高于 CW-MFC。

如图 4-2 所示，猪粪的加入使各系统 COD 均呈现先升高后下降的趋势，COD 最高可达 1158.6 mg/L，经过 42d 运行依然在 220 以上，说明猪粪可以为各

系统提供丰富的碳源。其中, CW-MFC-1 系统的 COD 浓度前后下降仅为 42.4%, 低于上一节 3.2.1 中 DRI-CW-MFC 系统中 COD 的变化。而加入其他菌种的 CW-MFC-2、CW-MFC-3 和 CW-MFC-4 系统中 COD 的前后下降分别达到 70.2, 66.5, 49.8%, 均高于未加入纯化微生物的系统, 这可能是由于在 CW-MFC-1 系统中优势菌为产电菌, 对碳源的分解能力略低。有研究发现系统中电化学活性菌数量最多的 COD 去除率并不是最高, 说明 CW-MFC 中电化学活性细菌的可能不会直接促进 COD 的去除, 系统产电性能的变化不会直接影响系统的去污能力^[101, 102]。

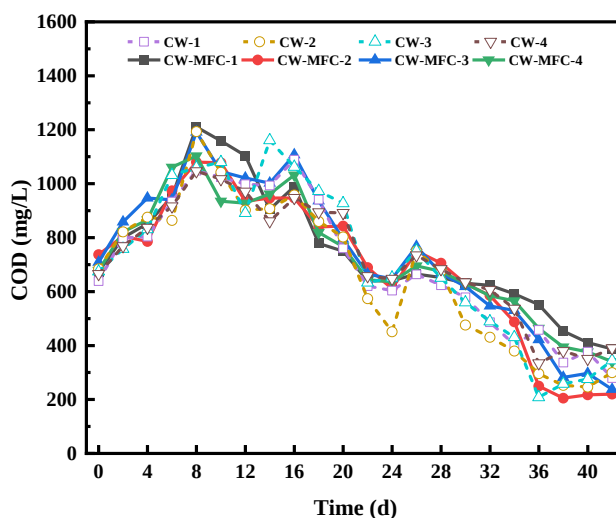


图 4-2 系统中的 COD 变化趋势

Fig.4- 2 Trend of COD variation in the system

4.2.2. 接种微生物对 CW-MFC 的产电性能的影响

(1) 输出电压

CW-MFCs 电压监测如图 4-3a 所示。在实验的稳定期 (1-30d) 中, 各系统的输出电压趋于稳定, 表明产电菌已成功在阳极形成稳定生物膜。随着猪粪的加入 (30d), CW-MFCs 系统输出电压出现明显的降低, 这可能是由于猪粪的加入破坏了装置中微生物的稳定生长环境, 间接影响了装置产电特性, 不利于电压的提高。其中 CW-MF-1 的最大电压为 366.9 mV, 且一直维持较高电压, 这可能是因为 *Halobacillus* sp. 系统中微生物对重金属抗性较强。*Halobacillus* sp. 作为接种微生物对系统的产电性能有所提高。CW-MFC-2 系统的输出电压最低, *Rossellomorea* 细菌在系统中活性受到抑制最大。从图 4-3b 可看

出, CW-MFC-1 具有较高的功率密度, 且远高于其他三个系统。

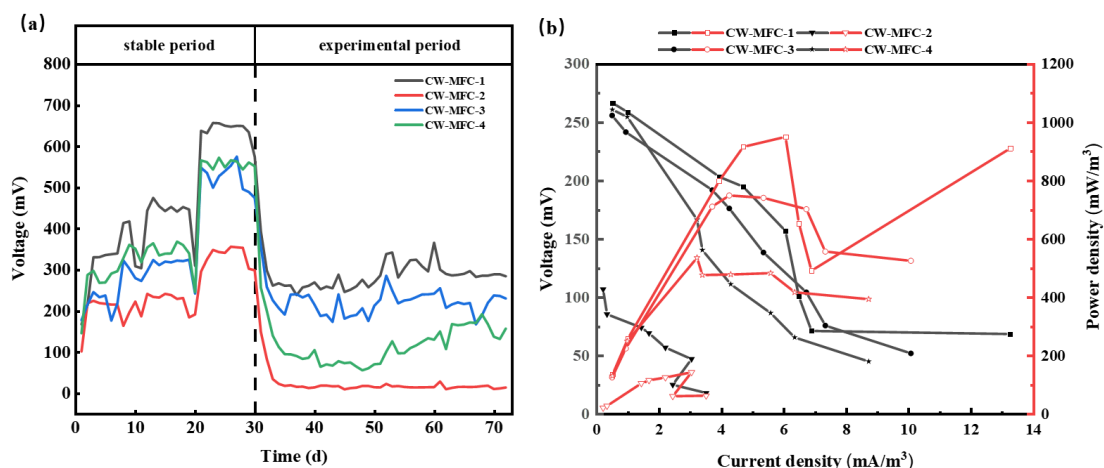


图 4-3 不同接种微生物 CW-MFC 系统的输出电压 (a), 功率密度曲线和极化曲线 (b)

Fig.4- 3 The output voltage (a), power density curve and polarization curve (b) of CW-MFC system inoculated with different microorganisms.

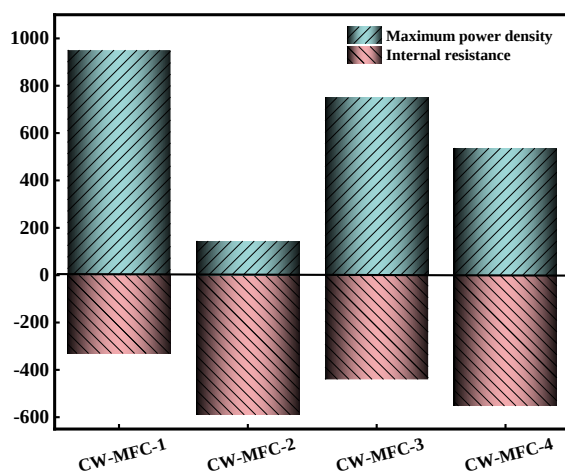


图 4-4 不同接种微生物 CW-MFC 系统的最大功率密度和内阻

Fig.4- 4 Maximum power density and internal resistance of CW-MFC systems inoculated with different microorganisms

不同接种微生物的 CW-MFC 系统的内阻和最大功率密度如图 4-4 所示, CW-MFC-1 内阻为 331.1Ω , 最大功率密度为 950.3 mW/m^2 , 拥有最佳的电化系统。CW-MFC-2、CW-MFC-3 和 CW-MFC-4 的内阻分别为 590.5 、 440.5 、 552.9Ω , 最大功率密度分别为 143.9 、 749.9 和 536.4 mW/m^2 , 微生物群落对 CW-MFC 系统的电化性能产生了显著影响。据报道, 内阻越大, 说明 CW-MFC 内部质子从阳极传递到阴极就越困难, 系统产电行也会由此下降, 上述结

果与各系统的输出电压表现一致，说明微生物对 CW-MFC 系统的产电性能存在影响。研究表明电活性微生物可以通过从新陈代谢中转移电子将有机废物转化为电能^[103]。

4.2.3. 接种微生物对 CW-MFC 中猪粪稳定化的影响

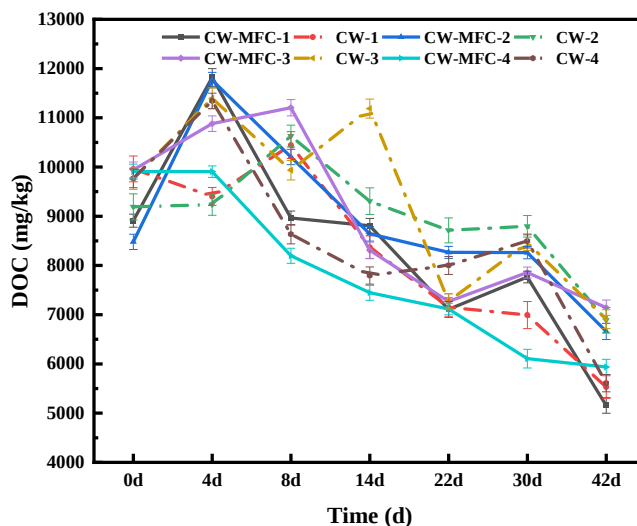


图 4-5 不同接种微生物 CW-MFC 系统 DOM 的变化图

Fig.4- 5 Variation of Dissolved Organic Matter (DOM) in CW-MFC systems inoculated with different microorganisms

图 4-5 可以看出各系统 DOC 的含量先大幅度增加，到第 4-8d 时 DOC 达到最高，CW-MFC-1、CW-MFC-2、CW-MFC-3 和 CW-MFC-4 分别为 11819.7、11765.8、11204.4 和 9907.8 mg/kg，其原因是实验前期 CW-MFC 系统中微生物分解有机质，形成大量的易于微生物摄取的小分子有机物，使 DOC 含量升高。后期随着硝化细菌在基质中生长繁殖，提高了硝化细菌活性。实验结束时，各 CW-MFC 系统中 DOC 的含量分别降低了 42.1%、21.4%、28.1%和 40.1%。

CW-MFC 系统的 HS 总量均呈现下降的趋势（图 4-6a），猪粪处理前，各系统中腐殖质含量较高，主要以 FA 形式存在，占 66%以上。实验结束时，CW-MFC-1、CW-MFC-2、CW-MFC-3 和 CW-MFC-4 的 HS 含量分别为 926.0、880.3、824.2 和 808.1 mg/kg，当接种微生物为 *Halobacillus* sp.时，CW-MFC-1 系统的 HS 含量要低于其他系统。图 4-6b 显示，HA 整体呈上升趋势，至实验结束，各组 HA 含量较初始分别上升了 29.9%、26.9%、5.7%、8.6%，其中 CW-MFC-1 和 CW-MFC-2 中 HS 的含量增加较多。FA 含量总体呈下降趋势（图 4-

6c). 研究表明, 实验结束时, CW-MFC-1、CW-MFC-2、CW-MFC-3 和 CW-MFC-4 中 FA 含量分别下降 59.3%、59.7%、58.8%和 58.8%。加入接种微生物的系统, 相比未进行接种的 DRI-CW-MFC 的 FA 下降率 (63.2%) 较低, 可能是投加微生物系统中对于有机物分解的菌类丰度低于污泥上清液中有机物降解菌。图 4-6d 为胡富比值变化情况, 随着实验进行, 胡富比值不断增加, 实验结束各组均达到最大值, CW-MFC-1、CW-MFC-2、CW-MFC-3、和 CW-MFC-4 的胡富比值分别了 2.0、2.0、1.7 和 1.5, 且在实验第 30 天时, CW-MFC-1, CW-MFC-2, CW-MFC-3 中胡富比已经 ≥ 1.6 , 系统中猪粪已经达到稳定。相比于未加入接种微生物的 DRI-CW-MFC, 加入接种微生物的 CW-MFC 系统显著增强了腐殖酸的聚合度, 加速了猪粪的腐殖化进程。

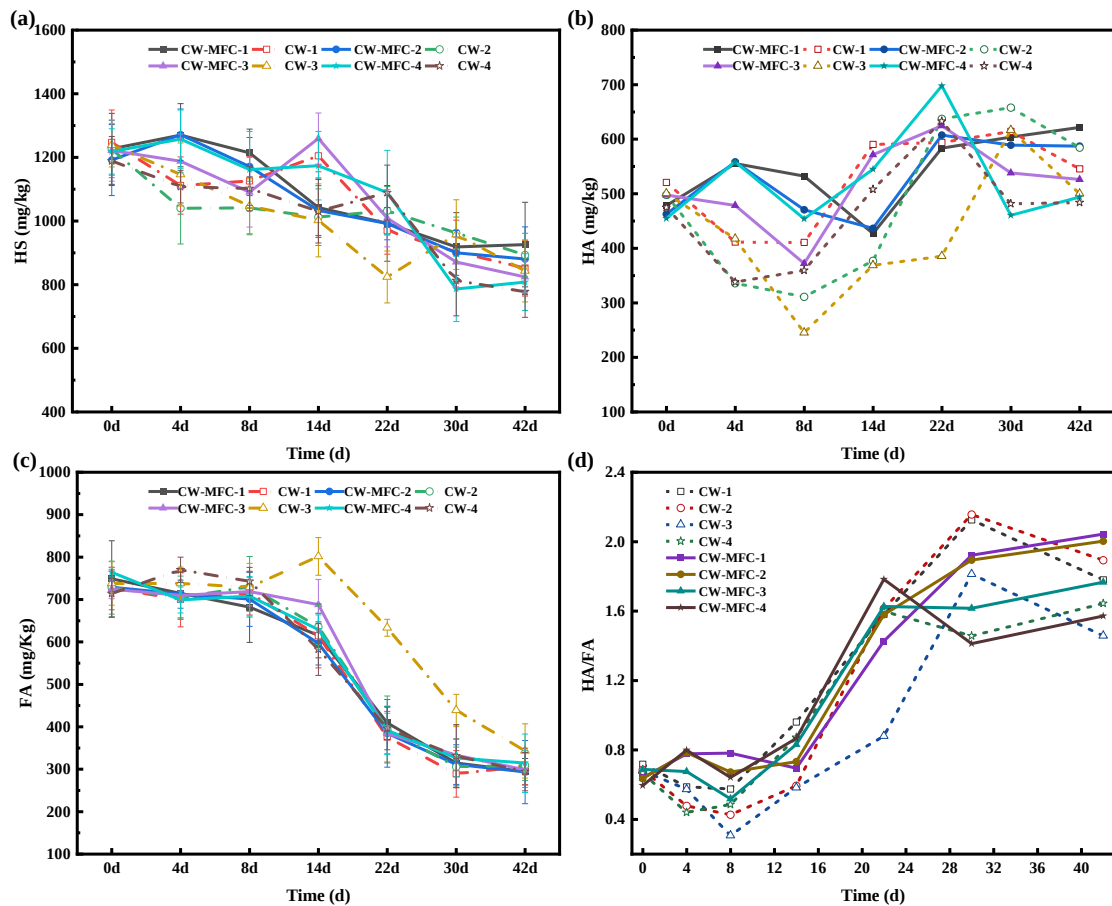


图 4-6 不同接种微生物 CW-MFC 系统 HS (a), HA (b), HF (c), HA/HF (d) 变化

Fig.4- 6 Changes in HS(a), HA(b), HF(c), and HA/HF(d) in CW-MFC systems with different inoculated microorganisms

4.2.4. 接种微生物对 CW-MFC 处理猪粪重金属的影响

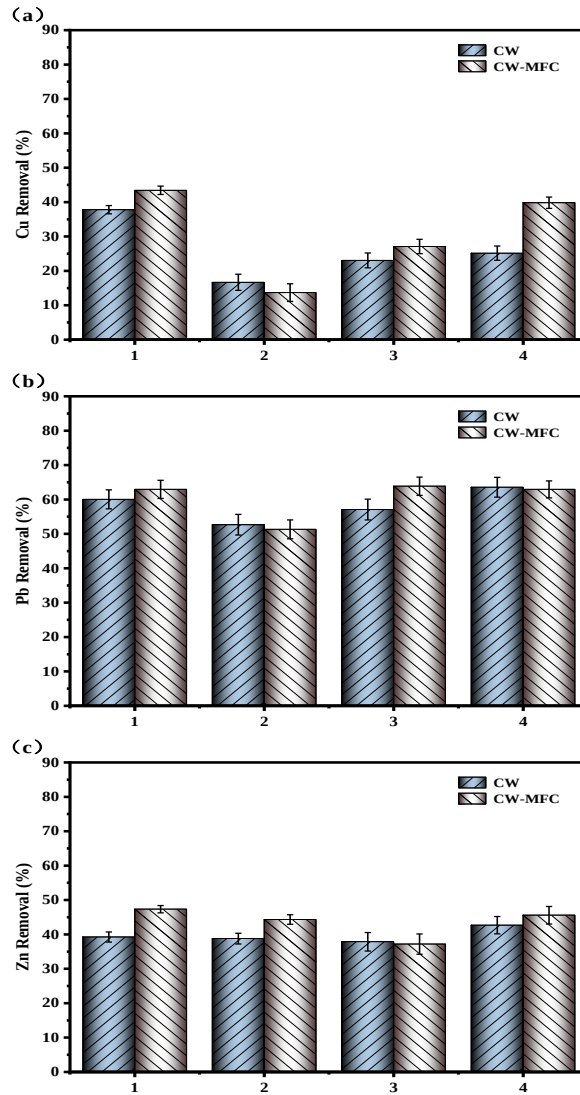


图 4-7 不同系统对重金属的去除率 (Cu (a) ; Pb (b) ; Zn (c))

Fig.4- 7 Removal efficiency of heavy metals by different systems (Cu(a); Pb(b); Zn(c))

不同微生物接种 CW-MFC 系统对重金属的去除如图 4-7 所示, 其中 CW-MFC-1 系统对 Cu、Pb 和 Zn 的去除率分别 43.4%、62.9%和 47.3%。可能是由于 *Halobacillus* sp.对重金属离子的具有较强抗性, 同时可以通过自身的吸附、转化作用去除重金属。而 CW-MFC-4 系统对 Cu, Zn, Pb 的去除率分别为 39.4%、62.9%和 45.6%, 低于 CW-MFC-1 系统的去除率, 说明 CW-MFC-1 中的接种微生物 *Halobacillus* sp.比 CW-MFC-4 接种 *Lysinibacillus macroides* 更适合 CW-MFC 系统, 且对重金属的耐受性更高, 有利于重金属的去除。与未微生物接种系统相比, CW-MFC-1 对 Pb 的去除率比 DRI-CW-MFC 中 Pb 的去除率高

23.4%，而 Cu 和 Zn 的去除则较之降低，说明 *Halobacillus* sp.对 Pb 具有更好的转化能力。各接种 CW-MFC 高于 CW-1 的去除率，说明 MFC 的加入使系统中微生物活性更高，有利于重金属的去除。

4.2.5. CW-MFC 阳极微生物群落结构

(1) 稀释性曲线及 PCA 分析

实验结束后，取适量各系统中阳极周围填料，通过 Illumina MiSeq 高通量测序方法，探究接种不同微生物对 CW-MFC 处理猪粪中重金属的微生物群落结构影响。

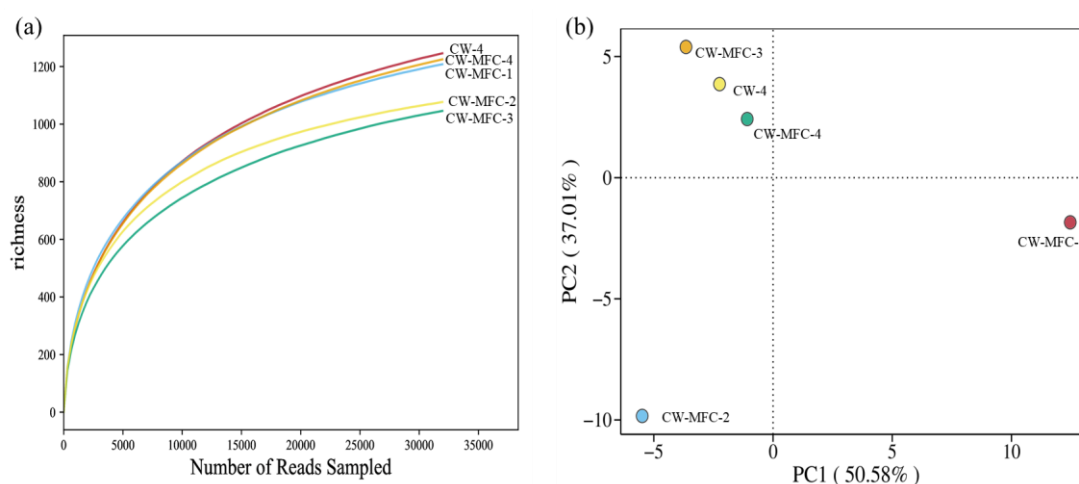


图 4-8 基于不同微生物群落组成样品 OTUs 的稀释性曲线 (a) 及 PCA 分析 (b)

Fig.4- 8 The dilution curve of sample OTUs (a) and PCA analysis (b) are based on different microbial community compositions.

稀释性曲线的图表展示了分析序列数量增加时测序数据量的合理性，并可用于比较不同样品之间的物种丰富度。如图 4-8a 所示，当曲线变得平缓且稳定时，表示数据量合理，数据分析结果可信度较高。通过 PCA 分析，可以观察到样品之间微生物群落的差异性。在图中显示距离较近的样品，如 CW-MFC-3, CW-MFC-4 和 CW-4，说明它们的菌群群落结构相似度较高（图 4-8b）。而与其他样品明显分离的样品，如 CW-MFC-1 和 CW-MFC-2，说明它们在菌群结构上与其他样品存在显著差异。因此，PCA 结果表明接种不同微生物会导致 CW-MFC 系统中呈现出多样的群落结构。

(2) 微生物多样性指数

如表 4-1 所示, 在 97% 的相似水平上, CW 系统基质的 Observed species、Chao1 和 ACE 指数均高于 CW-MFC 系统基质, 说明 MFC 的引入在一定程度上会抑制系统中阳极层微生物的群落丰富度。CW-MFC-4 的 Shannon 和 Simpson 指数最高, 说明该系统阳极层的微生物多样性最大。但 CW-MFC-4 系统对猪粪中重金属的去除率和产电性能均低于 CW-MFC-1 系统, 说明 CW-MFC 系统去除猪粪中重金属除了受阳极层微生物影响, 还会受到其他因素如植物富集、基质吸收、电极还原等的影响。这些内在的影响机制有待进一步研究。

表 4-1 样品的微生物 Alpha 多样性指数和序列信息

Table 4-1 Alpha diversity indices and sequencing data of the microbial samples

样品	相关度=0.97				
	Observed species	Chao1	ACE	Shannon	Simpson
CW-MFC-1	1190	1346.32	1368.18	5.23	0.970
CW-MFC-2	1058	1167.32	1183.97	5.28	0.984
CW-MFC-3	1028	1185.92	1212.76	5.15	0.983
CW-MFC-4	1173	1334.11	1352.27	5.40	0.989
CW-4	1201	1356.98	1393.49	5.30	0.985

(3) 花瓣图

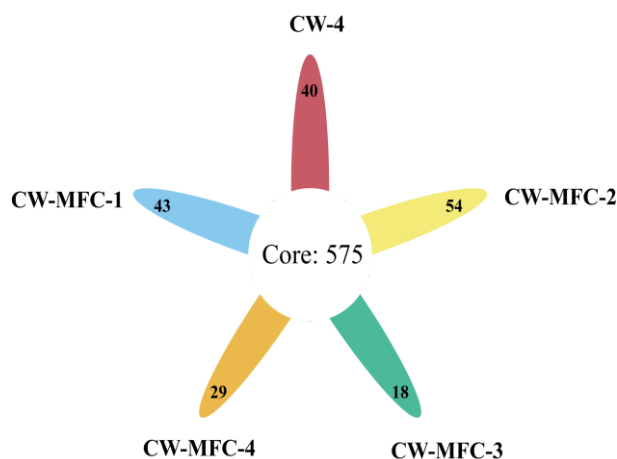


图 4-9 样品花瓣图

Fig.4-9 Sample petal diagram

五个样品在分类学属水平上共检测到 759 个菌属 (图 4-9), 其中, 样品 CW-4、CW-MFC-1、CW-MFC-2、CW-MFC-3 和 CW-MFC-4 中分别检测到 615、618、629、593 和 604 个菌属。五个样品所共有的菌属为 575 个, 说明不

同 CW-MFC 系统中阳极层的微生物表现出较大的相似性。此外, 样品 CW-4、CW-MFC-1、CW-MFC-2、CW-MFC-3 和 CW-MFC-4 中独有的菌属分别为 40、43、54、18 和 29 个, 说明不同 CW-MFC 系统具有其自身特定的微生物群落结构组成。以上结果表明, CW-MFC 系统的阳极层微生物群落对不同接种微生物的响应存在差异。

(4) 不同分类学水平的微生物群落结构

对五个样品的序列使用 RDP 分类器进行分类, 可以将它们划分到不同的分类学水平, 从而了解各个样品在各分类水平上物种组成的比例情况, 以反映样品群落结构在不同分类学水平上的分布情况。结果如下图 4-10 和图 4-11 所示。

图 4-10 表明样品之间的丰度和微生物群落结构具有明显的差异性。在微生物分类门的水平上, 5 个样本的微生物群落结构展现出相似的多样性, 但各自的丰度存在差异 (图 4-10a)。其中, 厚壁菌门 (*Firmicutes*) 和拟杆菌门 (*Bacteroidota*) 在样品中占比最大。据报道, 这些细菌都是 CW-MFC 中常见的电化学活性细菌 (EAB)^[104]。研究表明, 厚壁菌门 (*Firmicutes*) 在实验过程中对有机物 (氨基酸、碳水化合物和羧酸) 具有很高的降解能力^[105], 可以将重金属转化为稳定态, 并降低重金属生物有效性^[106]。与 CW-4 相比, CW-MFC-4 中厚壁菌门 (*Firmicutes*) 所占的比例更大, 表明 MFC 加入所产生的电场环境对厚壁菌门 (*Firmicutes*) 的生长具有促进作用^[107]。在四个 CW-MFC 系统中, CW-MFC-1 的厚壁菌门 (*Firmicutes*) 和拟杆菌门 (*Bacteroidota*) 所占比例可达 86%, 远高于其他系统, 推测这些 EAB 良好的产电及对重金属的去除能力使得 CW-MFC-1 在猪粪稳定化及猪粪中重金属去除方面拥有最佳的综合效能^[108]。

在微生物分类纲水平上 (图 4-10b), 梭状芽胞杆菌 (*Clostridia*) 在样品 CW-MFC-1 和 CW-MFC-4 中占据优势地位, 分别占总序列的 49% 和 35%。有研究表明, 在受重金属污染的湖泊沉积物中, 梭状芽胞杆菌 (*Clostridia*) 有较高的丰度, 对 Cd 和 As 具有较高的耐受性^[109]。此细菌在 CW-MFC-1 系统阳极层的丰度远高于其他系统, 大大提高了 CW-MFC-1 的产电性能及猪粪中重金属去除能力^[110]。样品 CW-MFC-2 和 CW-MFC-3 中相对丰度最大的为拟杆菌 (*Bacteroidia*), 分别占总序列的 42% 和 43%。研究表明, 拟杆菌

(*Bacteroidia*) 可以快速适应重金属强烈入侵的胁迫条件, 在重金属污染严重的情况下, 仍存在较高的丰度^[111]。 γ -变形菌 (*Gammaproteobacteria*) 是变形菌门 (*Proteobacteria*) 的一种, 在系统中也占据一定比例。据报道, γ -变形菌 (*Gammaproteobacteria*) 是一种典型收到 EAB 细菌, 在废水处理方面发挥着重要作用^[65]。

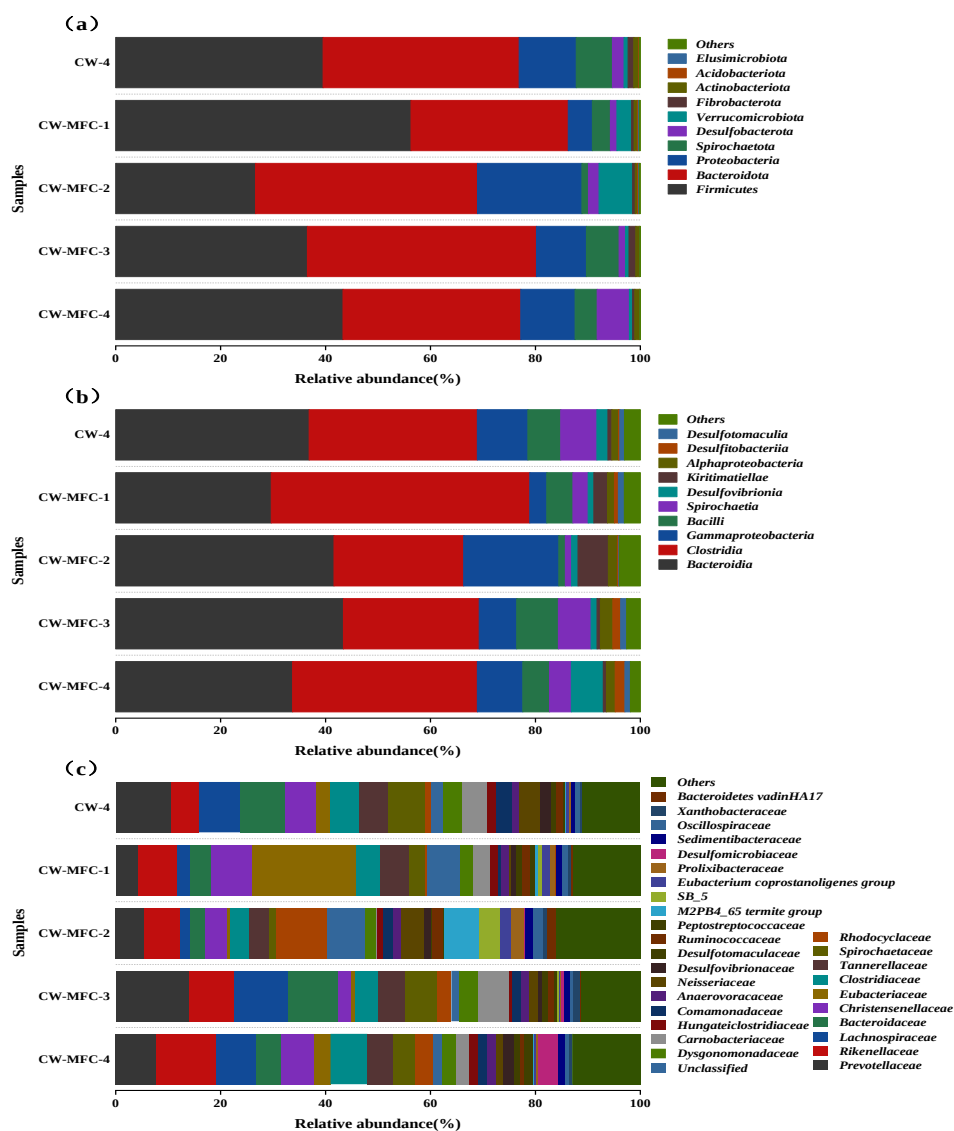


图 4-10 5 个样品在不同分类学水平上的微生物群落结构: 门水平 (a); 纲水平 (b); 科水平 (c)

Fig.4- 10 The microbial community structures of the five samples at different taxonomic levels: phylum level (a); class level (b); family level (c).

图 4-10c 显示了 5 个样品在微生物分类科水平上的相对群落丰度, 结果表明, 5 个样品中微生物群落结构存在显著差异。在样品 CW-MFC-1 中, 优杆菌

科 (*Eubacteriaceae*) 和 *Rikenellaceae* 是最主要的菌群类别, 据报道, 优杆菌科 (*Eubacteriaceae*) 对重金属具有一定的耐受性。*Rikenellaceae* 属于拟杆菌门 (*Firmicutes*), 它们将有机底物分解产生氢离子和电子^[112], 促进系统发电。

从图 4-11 的 Heatmap 图可以明显看出, 微生物群落组成在属分类水平上差异明显, 说明 MFC 的引入以及接种不同微生物对系统阳极层菌属组成影响较大。上述 Heatmap 图展现了丰度 top30 的菌属, 未找到所接种的微生物, 可能是因为在实验过程中对重金属不耐受出现消亡, 未竞争过其他耐受重金属的菌种, 但接种不同微生物对微生物群落组成、系统去除猪粪重金属及生物发电均造成不同的影响。与其他 CW-MFC 相比, CW-MFC-1 中 *Acetobacterium*、*Christensenellaceae R_7 group*、*Macellibacteroides* 等菌属所占比例较大。有研究表明, *Macellibacteroides* 是高氯酸盐还原细菌, 可以利用高氯酸盐或其他类似的化合物作为电子受体, 同时将某些重金属离子还原成其较少毒性的形式, 从而减少重金属的毒性和可溶性^[113]。因此, CW-MFC-1 系统在产电性能和对重金属去除效率方面优于其他系统, 这可能是由于上述各菌属之间协同作用导致。

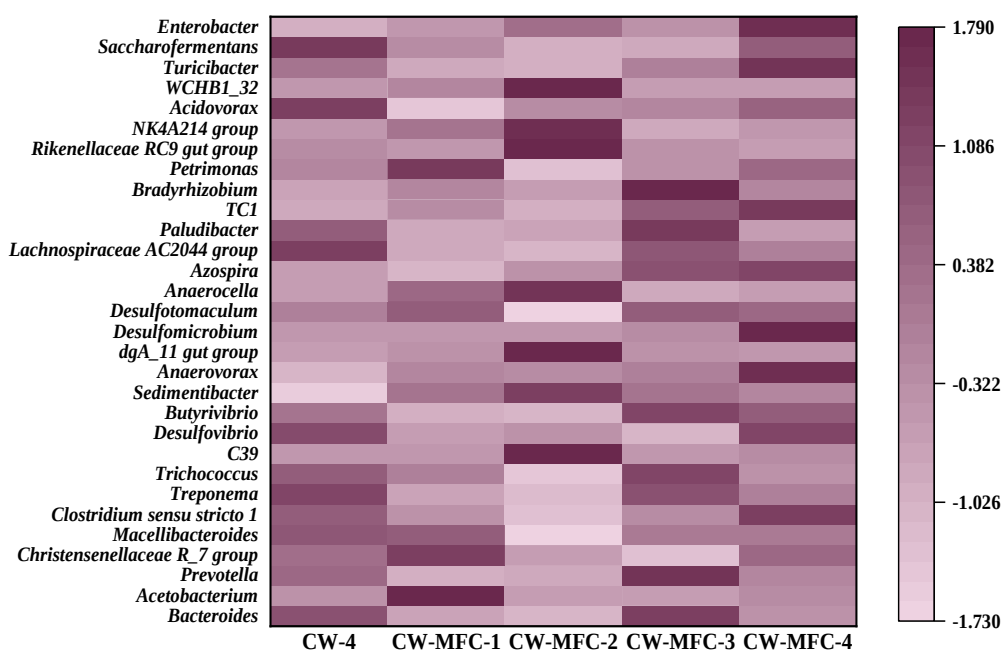


图 4- 11 5 个样品中属的 Heatmap 图。

Fig.4- 11 Heatmap of genera in five samples.

上述从分类学门水平到属水平的结果表明, MFC 的加入对微生物群落丰度和多样性都有一定影响, 而接种不同类型微生物对 CW-MFC 系统阳极层中微生

物群落结构会造成显著差异。CW-MFC-1 系统阳极层中 *Acetobacterium*、*Christensenellaceae R_7 group*、*Macellibacteroides* 等功能菌得到不同程度的富集，推测该系统优异的产电性能及猪粪重金属去除效能可能是以上菌属显著富集及协同作用的结果。

4.3. 小结

以海绵铁作为填料，分别以 *Halobacillus* sp.、*Bacillus marisflavi* strain、*Lysinibacillus fusiformis* 和 *Lysinibacillus macroides* 为接种微生物构建 CW-MFC 系统，考察微生物接种对系统猪粪稳定化及重金属去除效能：

(1) 以 *Halobacillus* sp.为接种微生物的 CW-MFC-1 在产电性能和对重金属的处理效果上均优于其他 CW-MFC 系统。输出电压最高能够达到 366.9 mV，最大功率密度为 950.3mW/m²，产电性能在 4 个 CW-MFC 系统中最高。

(2) 微生物接种对猪粪的稳定化具有促进作用，其中接种 *Halobacillus* sp. 的 CW-MFC-1 系统的 DOC 降低了 42.1%，FA 含量下降 59.3%，HA 含量上升了 29.9%，胡富比值达到了 2.0，系统中猪粪已经达到稳定，相较于其他系统对猪粪稳定化效果最佳，且比未加入微生物的 CW-MFC 系统稳定化程度更高。

(3) CW-MFC-1 系统对重金属也有不错的去除效果，其对 Cu、Zn 和 Pb 的去除率分别为 43.4%、62.9%和 47.3%。相较于未加入纯化微生物的 DRI-CW-MFC 系统，Pb 的去除率提高 23.4%，说明加入纯化微生物 *Halobacillus* sp.的 CW-MFC 系统对 Pb 具有更好的去除能力。

(4) 接种不同类型微生物对 CW-MFC 系统阳极层中微生物群落结构组成及丰度会造成显著差异。接种了 *Halobacillus* sp.的 CW-MFC-1 系统对猪粪稳定化及重金属去除、生物产电方面性能最佳，推测阳极层显著富集的 *Acetobacterium*、*Christensenellaceae R_7 group*、*Macellibacteroides* 等菌属之间的协同作用在强化 CW-MFC 系统处理猪粪中重金属方面发挥了重要作用。

第5章 猪粪重金属在 CW-MFC 中的迁移转化研究

重金属是影响猪粪资源化的重要因素，长期施用含有重金属的猪粪，会对土壤及水体带来重金属的富集，影响生态安全。因此，明确人工湿地微生物燃料电池对猪粪重金属的去除效果，并阐明重金属是如何被去除的具有重要意义，有助于 CW-MFC 对猪粪重金属处理应用，为 CW-MFC 系统优化构建提供借鉴。

基于此，本部分以海绵铁为基质构建 CW-MFC 系统，同时接种微生物（*Halobacillus* sp.），以期阐明在较优 CW-MFC 系统中猪粪重金属在植物、填料、电极中的分布规律，结合微生物群落结构分析，明确 CW-MFC 系统处理猪粪重金属的机理。

5.1. 实验设计与采样运行

5.1.1. CW-MFC 系统的构建

构建方式如 4.1.1 所述。

5.1.2. 接种微生物

接种微生物如 4.1.2 中 CW-MFC-1 所述。

5.1.3. 接种及系统运行采样

接种及系统运行取样如 4.1.3 所述。

5.2. 结果与分析

5.2.1. 植物对重金属的富集作用

表 5-1 展示了各系统中植物根部和地上部分（茎和叶）的干重以及对重金属的富集效果。CW-MFC-1 系统植物根部和茎部干重均高于 CW-1 系统，CW-MFC-1 中根部 BCF 最高，为 4835.2，其 Cu、Pb 和 Zn 含量分别为 525.1，145.2，348.6 mg/kg。地上部分对重金属的吸收明显较低，而大量重金属积聚在植物的根部，导致了实验中水葫芦根部的死亡和脱落。Ingole 等^[114]研究发现当重金属浓度低于 10 mg/L 时，使用水葫芦可以有效去除废水中的重金属，铅和

锌在较高浓度下比其他金属更有效地去除，但植物在高浓度金属下开始变色，这种过度吸收重金属会导致植物遭到破坏。因此，湿地植物必须选择高度积累并能承受各种有毒胁迫的植物才能取得好的效果^[115]。

表 5- 1 系统中植物的重金属富集和转运能力

Table 5- 1 The heavy metal enrichment and transport capacity of plants in the system

装置	干重 (g)			含量 (mg/kg)		BCF		TF
	根部	茎部		根部	茎部	根部	茎部	
CW-MFC-1	2.9	3.8	Cu	525.1	12.1	4835.2	111.4	0.0231
			Pb	145.2	127.2	1737.3	1521.8	0.8760
			Zn	348.6	97.4	451.6	126.1	0.2793
CW-1	1.5	2.3	Cu	107.6	2.3	991.6	21.2	0.0214
			Pb	152.8	123.6	1828.2	1478.9	0.8090
			Zn	363.7	127.7	471.2	165.5	0.3512

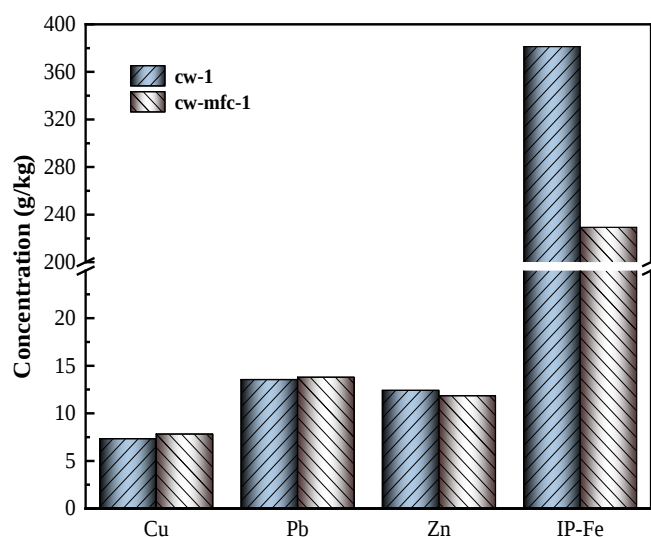


图 5- 1 根表铁膜含量图

Fig.5- 1 Iron plaque content diagram at the root surface

研究发现，水生植物可以通过根系释放氧气，来改变根际的环境。这种氧化还原环境的改变会导致底泥中的还原性物质，如 Fe^{2+} 和 Mn^{2+} 被氧化，并形成高价态的铁锰化合物。这些铁锰化合物会沉积在根系表面，形成一层被称为“铁膜”的根表铁锰氧化物胶膜。这一过程有助于维持水生植物生长的良好环境，对底泥中的有害物质也起到了一定的隔离作用^[116]。根表铁膜（IP）可以通过对底泥中阴、阳离子吸附或共沉淀等作用，从而影响植物对重金属的吸收和转运及重金属污染底泥的植物修复效果^[117, 118]。如图 5-1 所示，CW-MFC 系统

中 IP 含量远高于其他金属，可能是由于系统中的基质海绵铁中铁的主要存在形式为 FeO 和 Fe₃O₄，在系统运行过程中会释放一定量的 Fe³⁺/Fe²⁺，在一定程度上促进了 IP 的形成，并促进了水葫芦根和叶对 Pb、Cu 和 Zn 的吸收。

5.2.2. 重金属在系统中的分布

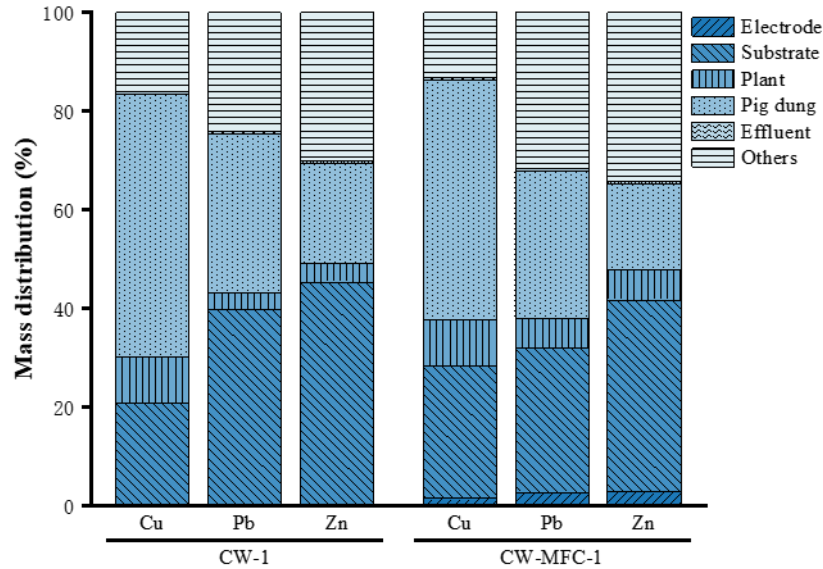


图 5-2 重金属（Cu、Pb 和 Zn）在系统中的质量分布（%）

Fig.5-2 Mass distribution (%) of heavy metals (Cu, Pb, and Zn) in the system

根据图 5-2，在 CW-MFC-1 系统基质中，Cu、Pb 和 Zn 的量分别占总量的 26.7%、29.2%和 38.8%，说明基质在 CW-MFC 处理重金属中发挥重要作用。植物同样对重金属的去除起着重要作用。CW-MFC-1 植物中 Cu、Pb 和 Zn 的量分别占总量的 9.5%、5.9%和 6.1%，较 CW 系统有所增加，说明 MFC 可以促进植物的生长，有利于其吸收重金属。相比之下，电极上重金属的富集量非常有限，Cu、Pb 和 Zn 的量分别占总量仅有 1.5%、2.7%和 2.9%。各系统中均有超过 13.1%的重金属没有明确去向，这可能是由于微生物在系统内发挥作用而将其去除。

5.2.3. 重金属的形态变化

重金属的不同化学形态，包括弱酸溶解态（可交换态）、可还原态、可氧化态、残渣态（稳定态），具有不同的生物可利用性，其对环境的影响也各不相同。CW-MFC-1 系统中 Cu、Pb 和 Zn 形态变化如图 5-3 所示。

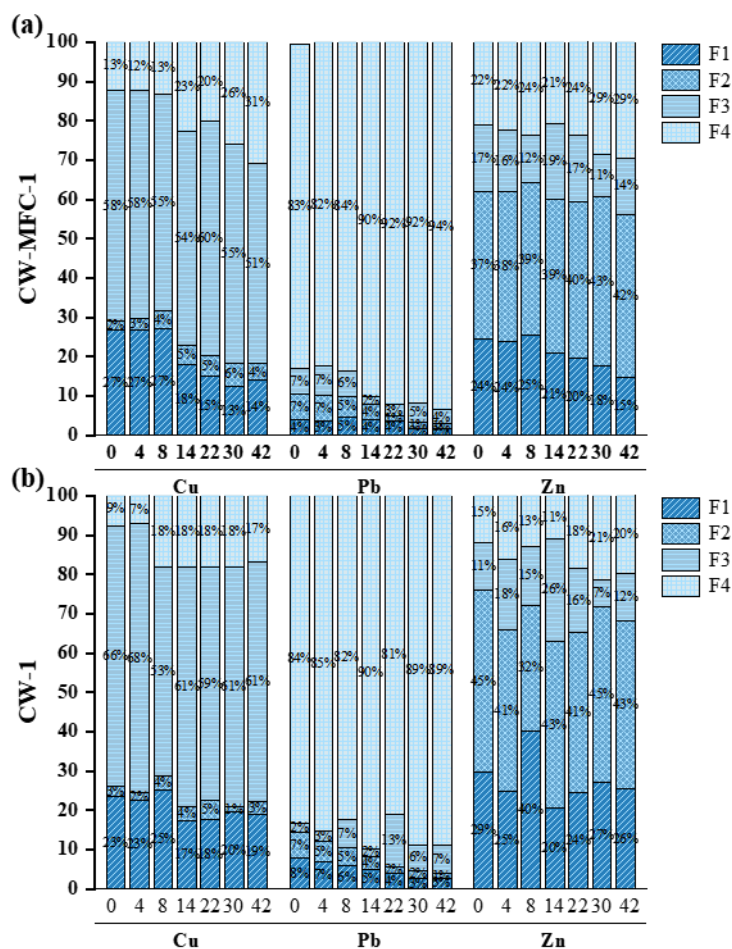


图 5-3 重金属形态变化

Fig.5-3 Changes in heavy metal speciation

由图 5-3 可知, 猪粪刚进入系统时, Cu 在 CW 中 F1、F2、F3 和 F4 的形态分布分别为 22%、3%、66%和 9%, 而在 CW-MFC 中则分别为 27%、2%、58%和 13%。Pb 在 CW 中的形态分布分别为 8%、7%、2%和 84%, 而在 CW-MFC 中分别为 4%、7%、7%和 83%。Zn 在 CW 中 F1、F2、F3 和 F4 的形态分布分别为 29%、45%、88%和 15%, 而在 CW-MFC 中则分别为 24%、37%、17%和 22%。可以观察到, 在 CW-MFC 中, Zn 的 F1 和 F4 形态分布减少, 而 F2 和 F3 形态分布增加。根据上图显示的结果可知, 猪粪中的 Cu 主要以可交换态和可氧化态形式存在, 而 Zn 则主要以可还原态和可氧化态为主, 而 Pb 则主要以残渣态形式存在。这表明猪粪中的 Cu 和 Zn 具有较高的植物有效性和迁移性。如果长期向农田施入这种具有较高生物有效性的猪粪, 可能会加剧农作物和粮食受重金属污染的风险, 甚至对人体健康构成威胁。

对比实验结束时的数据, 可以观察到在 CW-MFC-1 系统中, Cu 的 F1 从

27%下降到 14%，F4 从 13%增加到 31%。Pb 的 F1 从 4%下降到 2%，F4 从 83%增加到 94%。Zn 的 F1 从 24%下降到 15%，F4 从 22%增加到 29%。这些变化表明，在 CW-MFC-1 系统中，Cu、Pb 和 Zn 的水溶态（F1）和残渣态（F4）分布减少，而其他形态分布略微增加，说明这些重金属更为稳定。可能是因为 MFC 中的微生物群落具有一定的生物吸附和生物转化能力，可以将重金属离子转化为较为稳定的形态，降低其生物可利用性和毒性。而在 CW-1 系统中，Cu 的 F4 从 9%增加到 17%，Pb 的 F1 从 8%下降到 3%，F4 从 84%增加到 89%，Zn 的 F1 从 29%下降到 26%，F4 从 15%增加到 20%。人工湿地中填料对重金属有良好的物理化学吸附作用，能有效固定并富集重金属。

CW-MFC-1 系统相对于 CW-1 系统对重金属的转化和稳定性有更显著的影响，表明生物电化学系统可能有助于减少环境中重金属的生物有效性。这些变化表明，CW-MFC 系统中的微生物燃料电池可能通过其微生物群落的生物吸附和生物转化能力，将重金属离子转化为较为稳定的形态，降低其生物可利用性和毒性相，减轻其对环境和生态系统的潜在危害。

5.2.4. 重金属的价态分析

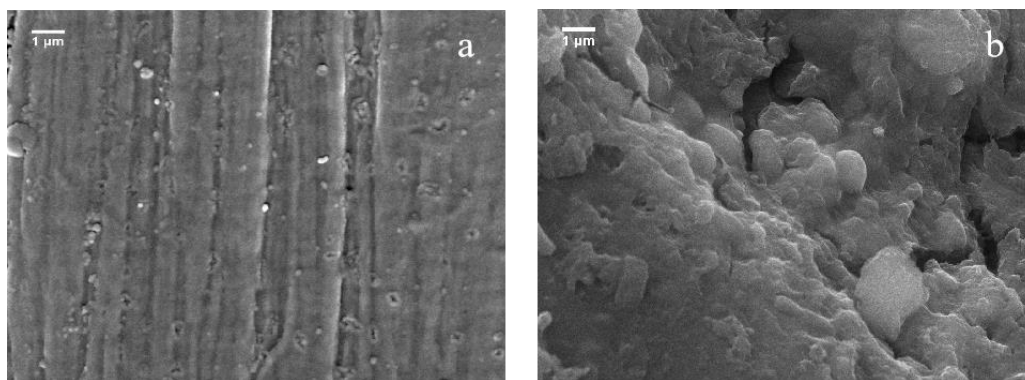


图 5-4 碳毡 SEM 图像 (a) CW-MFC-1 阴极的 SEM 图像 (b)

Fig.5-4 SEM image of carbon felt (a) SEM image of the cathode of CW-MFC-1(b)

以填料为海绵铁，接种 *Halobacillus* sp.菌的系统 CW-MFC-1 和原始碳毡的阴极进行了表征，结果如图 5-4 所示。SEM 图像显示，与未进行实验的碳毡相比，阴极表面有大量凸起的生物膜附着。

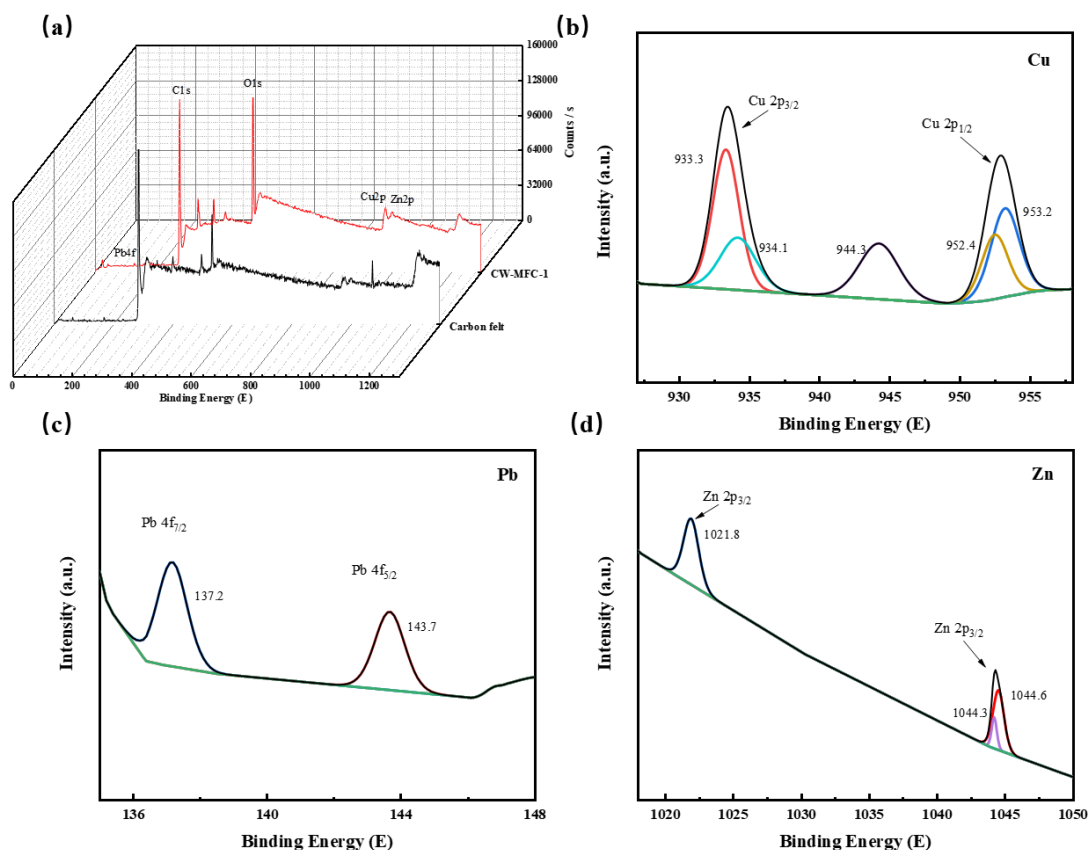


图 5-5 CW-MFC-1 阴极的 XPS 全谱图 (a) 和 Cu (b), Pb (c), Zn (d) 的精细谱图
Fig.5- 5 The XPS full spectrum of CW-MFC-1 cathode (a) and the fine spectrum of Cu (b), Pb (c), Zn (d).

CW-MFC-1 阴极表面重金属的化学形态转化如图 5-5a 所示, 在 285、398 和 531 eV 处检测到的主要峰值分别为 C 1s、N 1s 和 O 1s 峰, C1s 产生强峰除了电极本身含碳以外, 空气和水中的碳也会附着在电极上造成干扰。O 1s 产生强峰是因为电极上富含氧和氧化物。通过对比可以看出电极在经过实验之后, O 1s 的峰变大, 产生该现象的原因是阴极处于好氧环境, 使得电极表面含氧量高, 重金属可与氧化物发生化学反应, 形成氧化物或吸附到现有的氧化物表面而被固定。

在 933 eV 和 952 eV 处可以检测到比较明显的 Cu 的特征峰 (图 5-5b), 在 933.0 和 953.2 eV 之间出现卫星峰, 表明电极中有 Cu^{2+} 的存在, 证明了 Cu 主要以 Cu, Cu_2O 和 CuO 存在^[119]。在 137.2 eV 和 143.7 eV 处可以检测到微弱的 Pb 4f_{7/2}, Pb 4f_{5/2} 的特征峰 (图 5-5c), 可能是由于系统中 Pb 含量较低, 在阴极电极还原的 Pb 含量也较低。在 1021.8 eV 和 1045.5 eV 处可以检测 Zn 的特征峰 (图 5-5d), 证明了 Zn 主要以二价的形式与 O 进行结合。阴极上的 O 1s 峰的

增加，说明阴极上的重金属可能是通过与 O 发生反应而被固定。

5.2.5. CW-MFC 微生物群落结构

以海绵铁作为填料，投加了 *Halobacillus* sp.作为接种微生物的 CW-MFC-1 系统在猪粪稳定化及重金属去除、生物产电方面性能最佳。以系统中整个微生物群落作为对象进行研究，利用 Illumina MiSeq 高通量测序方法分析了系统中不同部位（基质（S）、阳极碳毡（E）和植物根系（P））的微生物群落结构，对每个样品随机抽取了 31958 个序列进行后续分析。

（1）稀释性曲线及 PCA 分析

三个样品的稀释性曲线显示出一致的趋势（图 5-6a），随着测序量的增加，曲线逐渐变得平缓，这表明数据质量高，可靠性强。通过 PCA 分析发现，三个样品之间相互分离且距离较远，这表明它们的微生物群落结构存在显著差异。即使在同一 CW-MFC 系统内，不同位置的微生物也对环境呈现出明显的结构响应差异。

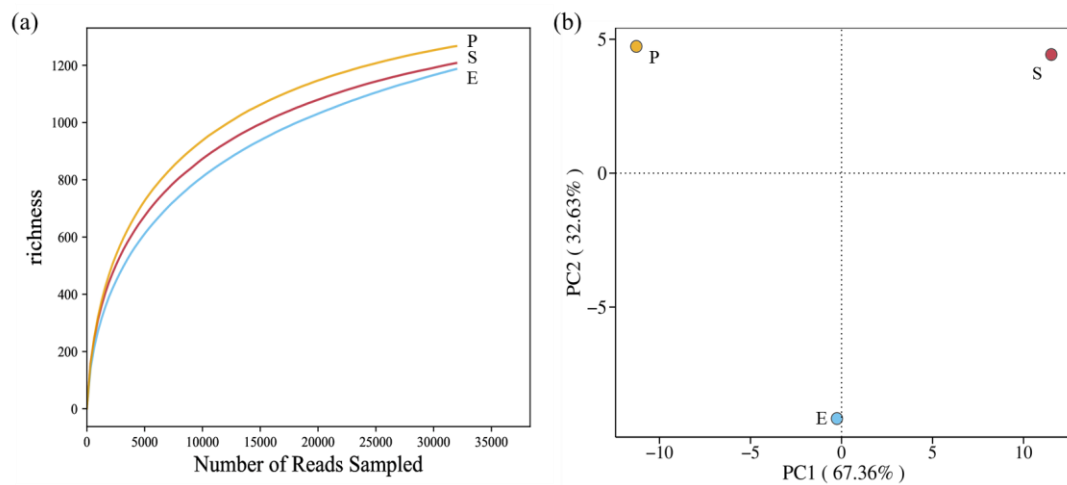


图 5-6 基于不同微生物群落组成样品 OTUs 的稀释性曲线（a）及 PCA 分析（b）

Fig.5- 6 The dilution curve of sample OTUs (a) and PCA analysis (b) are based on different microbial community compositions.

（2）微生物多样性指数

三个样品的微生物多样性指数如下表 5-2 所示。在 97%的相似水平上，CW-MFC-1 系统中样品 P 和样品 E 的 Chao1 和 ACE 指数高于样品 S，说明该系统植物根部和阳极微生物群落结构更丰富。此外，样品 P 和样品 S 的 Shannon

指数均高于样品 E，说明植物根部和基质微生物群落结构更具有多样性。

表 5-2 样品的微生物 Alpha 多样性指数和序列信息

Table 5- 2 Alpha diversity indices and sequencing data of the microbial samples

样品	相关度=0.97			
	Observed species	Chao1	ACE	Shannon
S	1119	1196.65	1222.80	5.21
E	1115	1324.23	1340.52	5.15
P	1227	1311.11	1343.95	5.27

(3) 花瓣图

由图 5-7 的花瓣图可知，三个样品在分类学属水平上共检测到 1195 个菌属。其中，P、E 和 S 样品中所检测到的菌属分别为 972、553 和 672 个，与微生物多样性结果一致。三个样品所共有的菌属为 501 个，说明同一 CW-MFC 系统内各部位的菌属具有较大的相似性。此外，样品 P、E 和 S 独有的菌属分别为 471、52 和 171 个，说明 CW-MFC 系统不同部位有其特定的微生物群落结构组成。因此，上述结果表明同一 CW-MFC 系统不同部位的微生物群落结构对猪粪重金属具有响应差异性。

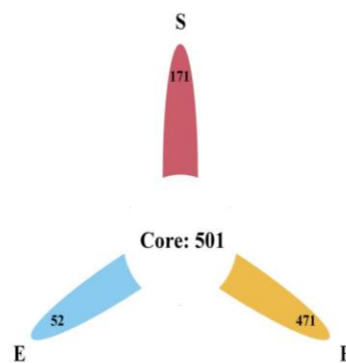


图 5-7 不同部位花瓣图

Fig.5- 7 Petal diagrams of different parts

(4) 不同分类学水平的微生物群落结构

图 5-8 和图 5-9 为不同部位的样品在不同分类学水平上的群落结构，显然，三个样品之间的微生物群落结构和丰度差异明显。在分类门水平上（图 5-

8a)，系统中不同位置样品的微生物群落结构具有相似多样性和也存在不同的丰度。其中，样品 P 的优势菌为变形菌门（*Proteobacteria*），样品 S 的优势菌为厚壁菌门（*Firmicutes*），样品 E 的优势菌主要是拟杆菌门（*Bacteroidota*）。据报道，CW-MFC 中的电化学活性细菌（EAB）主要为变形菌（*Proteobacteria*）、厚壁菌（*Firmicutes*）和、拟杆菌（*Bacteroidetes*）^[120]，这与各样品中的优势菌一致。变形菌门（*Proteobacteria*）是一种电化学活性细菌门^[121]，在降解和代谢中起着重要作用^[122]。此外，变形菌（*Proteobacteria*）往往发现于重金属污染的河水和沉积物等环境中，它可以利用各种形式的有机物获取碳、氮和能量^[123]。有报道说明拟杆菌（*Bacteroidetes*）是一种革兰氏阴性菌，外膜由脂多糖组成，可以抵抗重金属毒性^[124]，是工业废水中的优势菌^[125]。

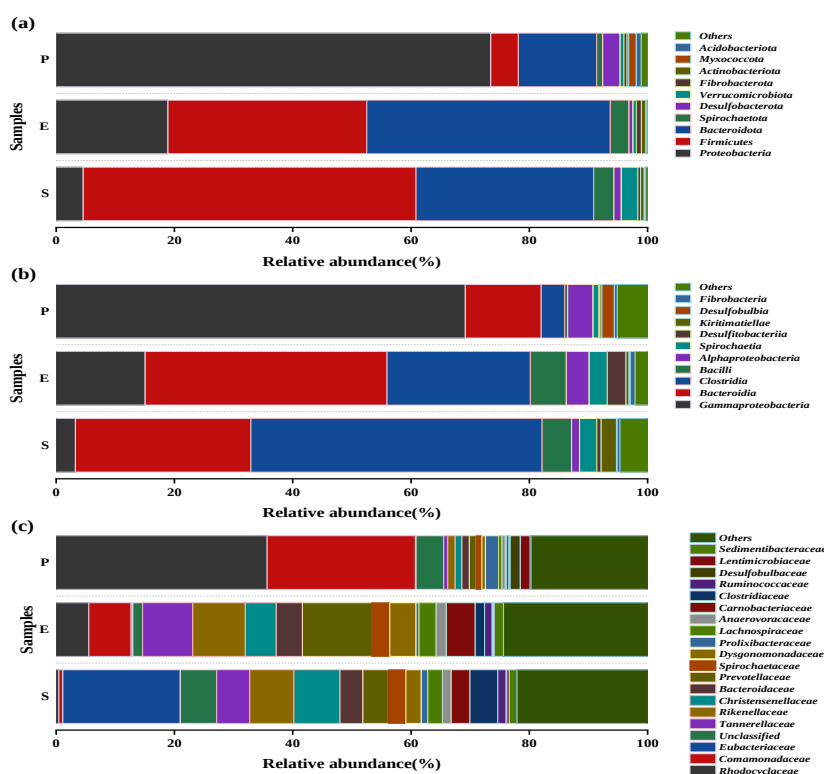


图 5-8 不同分类学水平上 3 个样品的微生物群落结构：门水平（a）；纲水平（b）；科水平（c）

Fig.5- 8 The microbial community structures of the three samples at different taxonomic levels: phylum level (a); class level (b); family level (c).

图 5-8b 显示了 3 个样品在微生物分类纲水平上的相对群落丰度。 γ -变形菌

(*Gammaproteobacteria*) 在样品 P 中占据优势地位, 占总序列的 69%, 但在其他部位的样品中所占比重显著下降。样品 E 中相对丰度最大的为拟杆菌 (*Bacteroidia*), 占总序列的 41%, 而样品 S 相对丰度最大的为梭状芽胞杆菌 (*Clostridia*), 在样品中所占比重为 49%。 γ -变形菌 (*Gammaproteobacteria*) 属于变形菌门 (*Proteobacteria*), 是一种典型的 EAB^[37, 65]。据报道, γ -变形菌 (*Gammaproteobacteria*) 和拟杆菌 (*Bacteroidia*) 作为主要的废水还原菌, 在催化阴极室中的氧化还原方面发挥了重要作用^[91]。梭状芽胞杆菌 (*Clostridia*) 是一种降解污染物的细菌, 常吸附在电极上^[126], 微电解环境增加了梭状芽胞杆菌 (*Clostridia*) 的相对丰度^[127]。

在微生物分类科水平上 (图 5-9c), 3 个样品中微生物群落结构存在显著差异。在样品 P 中, 红环菌科 (*Rhodocyclaceae*) 和丛毛单胞菌科 (*Comamonadaceae*) 分别占总有效序列的 36%和 25%, 具有较大比重。在样品 S 中, 优杆菌科 (*Eubacteriaceae*) 是最主要的菌群类别。样品 E 中, *Rikenellaceae* 和 *Prevotellaceae* 占比较大。红环菌 (*Rhodocyclaceae*) 在 NO_3^- -N 含量较高时相对丰度更高, 在有机碳供应充足的情况下进行异养反硝化^[61]。

从图 5-9 的 Heatmap 图可以明显看出, CW-MFC-1 系统不同部位的微生物群落在属分类水平上的组成差异很大。在样品 P 中, *Dechloromonas*、*Zoogloea*、*Sphaerotilus*、*Hydrogenophaga*、*Leptothrix*、*Pseudomonas*、*WCHB1_32*、*Paludibacter*、*Desulfobulbus*、*Acidovorax* 占明显优势。假单胞菌 (*Pseudomonas*) 可以产生绿脓杆菌素, 并将其作为媒介, 在自身和电极之间传递电子, 促进其他细菌物种之间的电子转移^[128]。植物对重金属的有一定的吸附效果, 但重金属在植物的分布率较低, 推测可能是上述优势菌属对重金属的转化作用。在样品 E 中, *Proteiniphilum*、*Anaerovorax*、*Bradyrhizobium*、*Prevotella*、*Butyrivibrio*、*Variovorax*、*Acetoanaerobium*、*TC1*、*Mesorhizobium* 占明显优势。Chen 等^[40]在 CW-MFC 处理含镍废水的系统中发现较高丰度的 *Anaerovorax*, 说明该细菌在重金属处理方面有一定效果。*Bradyrhizobium* 和 *Mesorhizobium* 都属于 *Rhizobiaceae* 科, 对高浓度的重金属具有抗性, 且具有良好的固氮能力, 可以改善植物生长, 使其能够用作生物肥料^[129, 130]。在样品 S 中, *Acetobacterium*、*Anaerocella*、*Christensenellaceae R_7 group*、*Clostridium*

sensu stricto 1、*Desulfovibrio* 占明显优势。脱氯单胞菌（*Dechloromonas*）、脱硫叶菌（*Desulfobulbus*）、狭义梭菌（*Clostridium_sensu_stricto_1*）和假单胞菌（*Pseudomonas*）均为典型的 EAB^[120, 131]。据报道，用科雷恩斯假单胞菌 AGB-1（*Pseudomonas koreensis* AGB-1）菌株接种植物芒草 A，增加了重金属的溶解性，以及它们在植物根际中的可用性^[132]。地杆菌（*Geobacter*）是参与电子形成的产电微生物，它是一种以有机物为电子供体的铁还原菌^[133]，可以参与重金属还原^[134]。

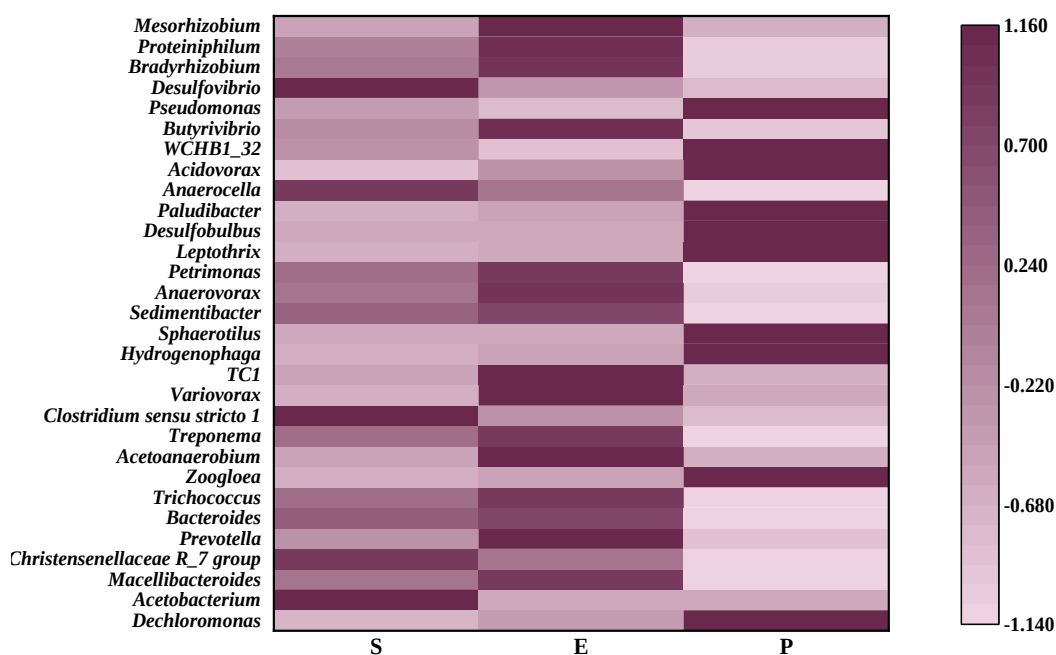


图 5-9 四个样品中属的 Heatmap 图。

Fig.5-9 Heatmap of genera in four samples.

上述从分类学门水平到属水平的结果表明，即使在一个 CW-MFC 系统里，不同部位的微生物群落结构也存在显著的响应差异性（图 5-9）。在基质为海绵铁，接种微生物为 *Halobacillus* sp.时，CW-MFC 系统猪粪中重金属的综合处理效能最佳，推测这主要是由于不同部位优势菌属如脱氯单胞菌（*Dechloromonas*）、假单胞菌（*Pseudomonas*）、脱硫叶菌（*Desulfobulbus*）、狭义梭菌（*Clostridium_sensu_stricto_1*）、*Proteiniphilum*、*Acidovorax* 的丰度增加及这些优势菌之间的协同作用所致。有研究表明，假单胞菌（*Pseudomonas*）表现出对从不同污染场所提取的重金属离子有显著的抵抗能力^[135]。*Acidovorax* 对重金属也表现出良好的抗性^[136]。因

此，CW-MFC 系统对猪粪中重金属的去除和微生物群落结构、基质以及植物之间存在一定的相互联系。

(5) 微生物群落功能预测

利用 PICRUSt2 基于 KEGG 数据库预测 CW-MFC-1 不同区域微生物群落的功能特征，3 个样品中微生物群落在 level3 水平丰度排名前 35 的代谢通路注释结果如图 5-11 所示。

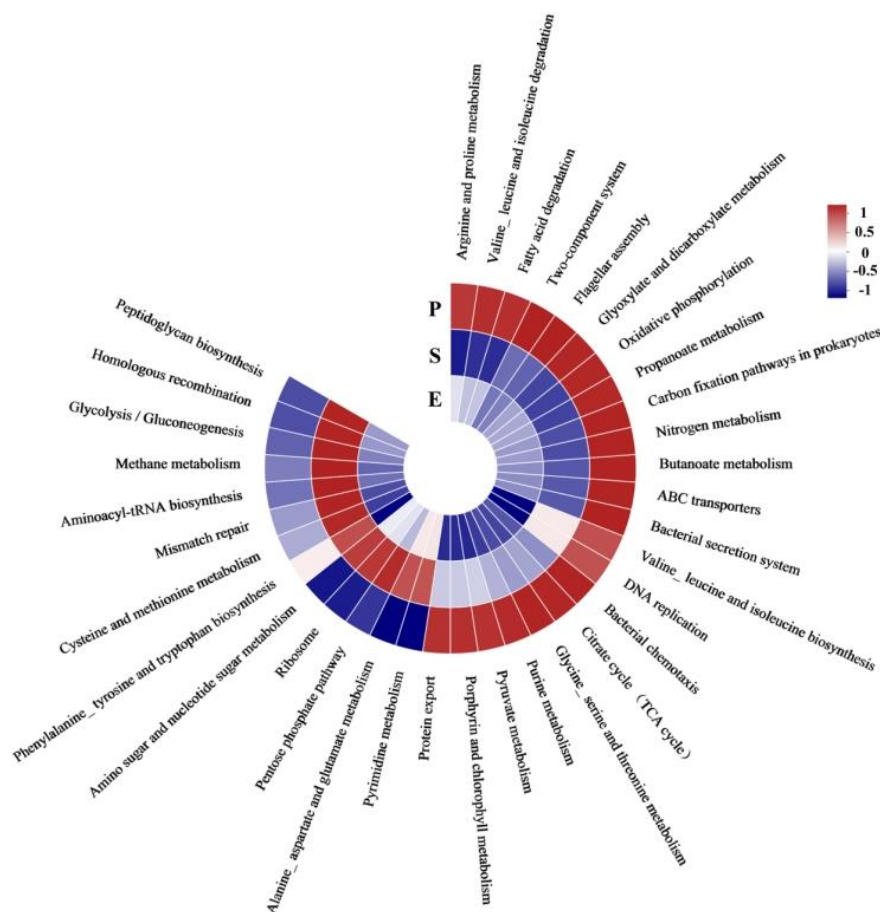


图 5-10 PICRUSt2 基于 KEGG 数据库预测的各样品微生物群落在 level3 水平丰度排名前 35 的代谢通路注释。每个方块的颜色强度代表一个样品中参与 KEGG 通路的功能基因的相对丰度。

Fig.5- 10 The top 35 metabolic pathways at level3 for microbial community of disparate sample predicted by PICRUSt2 based on KEGG database. The color intensity of each square represents the relative abundance of functional genes involved in KEGG pathways in disparate sample.

显然，CW-MFC-1 系统中不同部位的微生物群落基因功能在受到猪粪重金属胁迫时发生了显著变化。在样品 P 中，功能基因参与的包括 ABC 转运体系（ABC transporters）、双组分系统（Two-component system）、氧化磷酸化

(Oxidative phosphorylation)、糖酵解/糖异生 (Glycolysis/Gluconeogenesis)、TCA 循环 (TCA cycle)、细菌趋化性 (Bacterial chemotaxis) 等在内的通路占据主导地位。特别地, 与另外 2 个样品相比, 植物根系中参与双组分系统的基因表达水平平均增加了 2 倍多。ABC 转运体系可以保护细菌免受有毒异物的侵害, 并通过膜转运将细胞内污染物排放到细胞外^[137]。据报道, ABC 转运体系在调控三叶崖爬藤 (*Tetrastigma hemsleyanum*) 对重金属镉的胁迫响应中处于潜在的核心网络位置^[138], 表明该调控路径在本研究中水葫芦耐受猪粪重金属过程中发挥着关键作用。此外, 研究还发现 ABC 转运体系能够转运其他分子如萜类化合物来介导抗性反应, 这类物质属于植物次生代谢产物, 对重金属胁迫也起到一定植物保护作用^[139]。双组分系统是信号转导功能的基本刺激-反应偶联机制^[140], 使微生物能够调节自身细胞功能以适应猪粪重金属的污染。糖酵解、TCA 循环和氧化磷酸化过程有助于微生物在抵抗重金属胁迫过程中获得能量^[141], 因此上述代谢途径被认为在猪粪重金属处理过程中也发挥了关键作用。此外, 细菌趋化性的功能提升也被报道有助于增强微生物对重金属的抗性^[142]。除了上述通路, 基因参与的谷胱甘肽代谢 (glutathione metabolism)、苯丙烷生物合成 (phenylpropanoid biosynthesis) 等过程也被认为发挥了潜在功能。据报道, 参与谷胱甘肽代谢途径的谷胱甘肽 S 转移酶活性在暴露于铅的杨树幼苗根系中被激活^[143]。大量研究表明, 苯丙烷生物合成在重金属胁迫下被激活或上调, 产生包括黄酮、异黄酮、黄酮醇和花青素在内的与植物抵御环境胁迫有关的产物^[138, 144]。因此, 水葫芦根系微生物的功能基因在猪粪重金属胁迫下通过与跨膜运输、信号传导、能量代谢、糖代谢、细胞运动等有关的通路来调控水生植物的生长和发育。

在样品 S 中, 微生物群落基因参与的包括核糖体 (Ribosome)、ABC 转运体系、双组分系统、甲烷代谢 (Methane metabolism)、戊糖磷酸途径 (Pentose phosphate pathway) 等在内的通路占据主导地位, 这些功能分别与核苷酸代谢、能量代谢、糖代谢等有关。环境中许多微量金属污染物具有致癌作用, 核糖体合成的上调可能会导致重金属污染物诱导的恶性转化和致癌作用^[145], 因此在样品 S 中检测到的菌属显著少于样品 P。甲烷代谢对猪粪重金属的响应差异性比碳固定途径 (Carbon fixation pathways in prokaryotes) 更明显, 这一结果与

Tao 等考察在重金属 Pb 和稀土元素 La 的复合胁迫下黑土中微生物群落的碳循环功能潜力的变化结果一致^[146]。戊糖磷酸途径的激活有助于为生物合成过程提供能量、还原力和代谢中间体^[147]，进而有助于基质中微生物在抵抗重金属胁迫过程中获得能量。此外，微生物群落基因参与的苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸生物合成（Phenylalanine, tyrosine and tryptophan biosynthesis）、谷胱甘肽代谢等过程，通过调节抗氧化系统减轻重金属对植物和微生物的氧化损伤^[143, 148]。在样品 E 中，微生物群落基因主要参与对 ABC 转运体系、核糖体合成、双组分系统、氧化磷酸化等路径的调节，以承受猪粪重金属所带来的外部环境压力。

上述微生物群落功能预测结果表明，位于 CW-MFC-1 系统不同区域的微生物通过参与碳水化合物、谷胱甘肽等的代谢过程以及苯丙烷生物合成、跨膜运输、信号传导等过程来调节微生物细胞内运输、趋化和抗氧化系统。因此，在猪粪重金属的环境污染胁迫下，微生物的抗性和活性在修复过程中得到了提升，从而使得 CW-MFC-1 具有优越的综合性能。

5.2.6. 机理分析

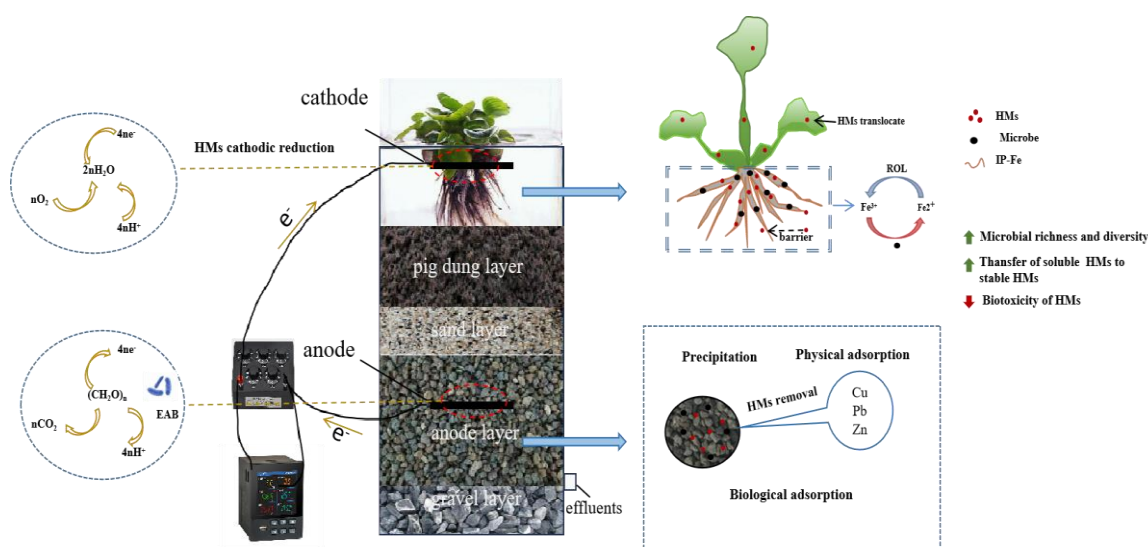


图 5-11 重金属去除机理图（HMs: 重金属；Microbe: 微生物；IP-Fe: 根表铁膜；ROL: 根部泌氧）

Fig.5- 11 Diagram of heavy metal removal mechanisms (HMs: Heavy Metals; Microbe: Microorganisms; IP-Fe: Iron Plaque on Roots; ROL: Root Oxygen Loss)

MFC 是一种结合了微生物学和电化学的技术，其去除重金属的因素有很多，包括有植物、电极、基质和微生物，如图 5-11 所示。

CW-MFC 结合了微生物学和电化学技术，利用植物、电极、基质和微生物

的协同作用去除猪粪中重金属（图 5-11）。在该系统中，植物去除重金属主要借助植物根系的吸附、离子交换、根际微生物的协助作用以及植物自身的生长过程^[66]。植物根系具有丰富的表面积和根毛结构，可以吸附重金属离子，并通过根际分泌物改变周围环境 pH 值和氧化还原状态，从而影响重金属的迁移和转化^[149]。湿地植物通过根系泌氧（ROL）过程氧化根际 Fe 诱导形成根表铁膜，它是植物接触污染物的第一道屏障，可以与 Cu、Pb、Zn 等重金属螯合提供反应基质，从而抑制植物对重金属元素的吸收和运输，降低重金属对植物的毒害作用^[150]。研究表明，根表铁膜对二价的金属态阳离子具有较强的吸附作用^[151]，且随着铁膜厚度的增加，湿地植物地上部分重金属含量也显著降低，减少重金属从根部向地上部转运，从而减少重金属对地上组织器官的毒害^[152]。此外，植物根际区域是微生物活动的主要场所，植物通过根际效应，从而增强根际微生物对重金属的转化和固定能力^[153]，根际微生物能够与植物共生并参与重金属的去除过程。植物的生长过程也可以通过根系吸收和转运重金属，进而去除猪粪中重金属。

电极在 CW-MFC 系统中去除重金属的机理主要涉及电化学反应和生物催化作用。阳极产生的电子通过外部回路流向阴极，与阴极处的重金属离子发生电化学反应，导致重金属离子被还原并沉积在电极表面，从而实现重金属的去除^[154]。Doherty 等^[155,156]考察电极间距和废水流动方向对 CW-MFC 性能的影响，结果发现将阴极放置在空气和水的交接处，阳极埋在装置 0.4 m 深度，当废水自装置底部向上流经阳极和阴极时，产生的最大功率密度为 0.276 W/m^3 ，氨去除率达到 75%。此外，利用微生物作为催化剂，将有机物质的化学能转换为电能，在这一过程中，微生物在阳极的代谢活动不仅产生电子，同时也能促进一些重金属离子的电化学反应或氧化^[157]。CW-MFC 系统中电极材料的选择也对重金属的去除有显著影响。一些特殊材料或改性后的电极可以提供更多的活性位点，增强电极对重金属离子的吸附和催化还原能力，从而提升重金属的去除效率。

填料在 CW-MFC 系统中不仅为微生物生长提供了场所，还直接参与了猪粪中重金属的吸附和固定。填料表面的多孔结构使其具有较高的比表面积，提供了足够的吸附位点，可以有效去除重金属^[158]。一些填料如改性生物炭、沸石等

因其表面富含官能团（如羧基、羟基等）而具有较强的化学吸附能力，可以通过与重金属离子进行交换去除^[159]。填料内部微孔和孔隙结构也为微生物提供了生长和生物吸附的场所，微生物可以通过形成生物膜与重金属发生相互作用，进一步促进猪粪重金属的去除^[160]。

微生物在 CW-MFC 系统中参与了猪粪重金属去除和电能产生的关键过程。微生物通过生物吸附、生物还原、螯合和生物转化等方式与重金属发生作用，将其从水体中去除或转化为稳定态。生物吸附常发生于微生物细胞壁上，其官能团如羧基和腺嘌呤等能与金属离子形成稳定络合物^[161]。一些特定微生物如 *Geobacter sulfurreducens*^[158]、*Pseudomonas aeruginosa*^[162]、*Clostridium butyricum*^[163]等能够将重金属离子当作电子受体，完成其代谢过程中的电子传递。同时，微生物还可以在电极表面形成生物膜，通过生物催化作用促进氧化还原反应，从而实现电子传递和电能产生。

CW-MFC-1 对猪粪重金属的高效去除主要涉及植物根系根表铁膜的吸附作用、电极的化学反应和电化学活性、填料表面的化学吸附、微生物介导的生物吸附、生物催化及生物转化固定作用。CW-MFC 系统中植物、填料、电极和微生物的相互作用，共同促进了猪粪重金属在该系统中的去除和转化，使其成为一种潜力巨大的环境治理技术。

5.3. 小结

以填料为海绵铁，接种 *Halobacillus* sp.菌的系统 CW-MFC-1 为研究对象，分析了系统中植物、填料、电极对猪粪重金属迁移转化的影响，以及接种对微生物群落结构的影响，明确了重金属去除机理：

（1）在 CW-MFC-1 系统中，Cu、Pb 和 Zn 在基质中的含量分别占总量的 26.7%、29.2%和 38.8%，在电极的含量分别占总量的 1.5%、2.7%和 2.9%，在植物中的含量分别占总量的 9.5%、5.9%和 6.1%，且植物对重金属的吸收主要集中在根部。XPS 分析显示，重金属可以通过与 O 的结合在阴极表面固定。

（2）CW-MFC-1 系统中 Cu、Pb 和 Zn 的残渣态分别增加了 18%、11%和 7%，说明 MFC 的加入对重金属的转化和稳定性有更显著的影响，CW-MFC 有助于减少环境中重金属的生物有效性，使重金属由易迁移形态转化为稳定形

态。

(3) 高通量测序结果显示, 植物根系的微生物群落丰富度和多样性最高, 推测可能是优势菌属对重金属的转化作用。同一 CW-MFC 系统不同部位的微生物群落结构呈现出显著的响应差异性。CW-MFC 系统对重金属去除可能是由于不同部位优势菌属如脱氯单胞菌 (*Dechloromonas*)、假单胞菌 (*Pseudomonas*)、脱硫叶菌 (*Desulfobulbus*)、狭义梭菌 (*Clostridium_sensu_stricto_1*)、*Proteiniphilum*、*Acidovorax* 的丰度增加及这些优势菌之间的协同作用所致。位于 CW-MFC 系统不同部位的微生物通过参与碳水化合物、谷胱甘肽等代谢过程以及苯丙烷生物合成、跨膜运输、信号传导等过程来调节微生物细胞内运输、趋化和抗氧化系统。CW-MFC 对猪粪重金属的高效去除主要涉及植物根系根表铁膜的吸附作用、电极的化学反应和电化学活性、填料表面的化学吸附、微生物介导的生物吸附、生物催化及生物转化固定作用。

第6章 结论与展望

6.1. 结论

本论文分别以不同填料和接种微生物构建 CW-MFC 系统，探究了填料类型对猪粪稳定化及其重金属的处理效果，明确了 CW-MFC 处理猪粪系统的产电性能，并阐明了重金属在 CW-MFC 系统中迁移转化规律。通过微生物接种和分析 CW-MFC 系统微生物群落结构及数量的变化，进一步阐明了系统产能及重金属的去除机理。主要研究内容及结果如下：

(1) 以海绵铁 (DRI) 为填料的 DRI-CW-MFC 对重金属 Cu、Pb 和 Zn 的处理效率最高，分别为 56.9%、39.5% 和 69.1%。DRI-CW-MFC 输出电压最高能够达到 337.4 mV，最大功率密度在 4 个 CW-MFC 系统中最高 (1090.8 mW/m²)。通过 XPS 分析，可在阴极表面看到 Cu、Pb、Zn 不同程度的富集。此外，DRI-CW-MFC 系统对猪粪的稳定化具有促进作用，DOC 降低了 51.9%，FA 含量下降 63.2%，HA 含量较初始上升 42.6%，胡富比值达到 1.69，说明该系统中猪粪已经达到稳定。DRI-CW-MFC 系统对猪粪稳定化及重金属去除、生物产电方面性能最佳，结合微生物群落分析，推测阳极层显著富集的 *Ruminiclostridium*、*Saccharofermentans*、*Roseimarinus*、*Haliangium*、*BBMC-4* 等菌属之间的协同作用在强化 CW-MFC 系统处理猪粪中重金属方面发挥了重要作用。

(2) 以 *Halobacillus* sp. 为接种微生物的 CW-MFC-1 输出电压最高可达 366.9 mV，最大功率密度为 950.3 mW/m²，产电性能在 4 个 CW-MFC 系统中最高。CW-MFC-1 对重金属的处理效果也强于其他 CW-MFC 系统，Cu、Pb 和 Zn 的去除率分别为 43.4%、62.9% 和 47.3%，相较于未加入纯化微生物的 DRI-CW-MFC 系统，Pb 的去除率提高 23.4%，说明加入纯化微生物 *Halobacillus* sp. 的 CW-MFC 系统对 Pb 具有更好的去除能力。此外，CW-MFC-1 系统 DOC 降低 42.1%，FA 含量下降 59.3%，HA 含量上升 29.9%，胡富比值达到了 2.0，相较于其他系统对猪粪稳定化具有促进作用，且比未加入微生物的 CW-MFC 系统稳定化程度更高。通过微生物群落分析，接种了 *Halobacillus* sp. 的 CW-MFC-1 系统对猪粪稳定化及重金属去除、生物产电方面性能最佳，推测阳极层显著富集

的 *Acetobacterium*、*Christensenellaceae R_7 group*、*Macellibacteroides* 等菌属之间的协同作用在强化 CW-MFC 系统处理猪粪中重金属方面发挥了重要作用。

(3) 在最佳填料及最适接种微生物投加下, 系统分析了猪粪重金属在 CW-MFC-1 填料、植物、电极、微生物间迁移转化的规律, 明确其去除机理。在 CW-MFC-1 系统中, Cu、Pb 和 Zn 在基质中的含量分别占总量的 26.7%、29.2%和 38.8%, 在电极的含量分别占总量的 1.5%、2.7%和 2.9%, 在植物中的含量分别占总量的 9.5%、5.9%和 6.1%, 且植物对重金属的吸附主要集中在根部。XPS 分析显示, 重金属会和 O 进行结合从而在阴极表面进行固定。与此同时, 残渣态 Cu、Pb 和 Zn 分别增加了 18%、11%和 7%, 说明 CW-MFC 系统有助于降低猪粪中重金属的生物有效性, 使重金属由易迁移形态转化为稳定形态。高通量测序结果表明, 同一 CW-MFC 系统内不同部位的微生物群落结构在响应上存在显著的差异。CW-MFC 系统对重金属去除可能是由于不同部位优势菌属如脱氯单胞菌 (*Dechloromonas*)、假单胞菌 (*Pseudomonas*)、脱硫叶菌 (*Desulfobulbus*)、狭义梭菌 (*Clostridium_sensu_stricto_1*)、*Proteiniphilum*、*Acidovorax* 的丰度增加及这些优势菌之间的协同作用所致。CW-MFC 系统中不同部位的微生物通过参与碳水化合物、谷胱甘肽等代谢过程以及苯丙烷生物合成、跨膜运输、信号传导等过程来调节微生物细胞内运输、趋化和抗氧化系统。此外, CW-MFC 对猪粪重金属的高效去除主要涉及植物根系根表铁膜的吸附作用、电极的化学反应和电化学活性、填料表面的化学吸附、微生物介导的生物吸附、生物催化及生物转化固定作用。

6.2. 创新点

(1) 构建 CW-MFC 来处理猪粪, 明确了不同填料、电极及微生物对猪粪稳定化及重金属的去除效能, 明确了猪粪重金属在 CW-MFC 中的去除机理。扩大了 CW-MFC 应用范围, 为猪粪的生态绿色处理提供了参考。

(2) 筛选纯化了微生物菌种, 并用于新的 CW-MFC 构建, 提高了系统对猪粪稳定化及重金属去除效能。进一步优化了微生物在 CW-MFC 系统中的功能和协同作用, 提高对重金属的降解效率和稳定性。

6.3. 不足及展望

本研究受实验周期影响，只探究了填料和接种微生物对 CW-MFC 处理猪粪中重金属及其稳定化效能影响。在一定程度上为 CW-MFC 处理猪粪提供了新思路，也为猪粪无害化处理提供一种成本低廉及生态环保无二次污染的新方法。但仍然存在不足之处：

（1）在不同填料的影响研究中，仅设置以活性炭为阳极层的 DRI-CW 作为 DRI-CW-MFC 系统对照，并没有设置其他填料构建的 CW 与对应填料构建的 CW-MFC 作对照。在未来的研究中将每个 CW-MFC 单独设置对照组以系统阐述 CW-MFC 在猪粪重金属处理上的优势。

（2）目前 CW-MFC 技术在处理猪粪中的重金属方面效率和稳定性还有待提高，需要进一步优化电极材料、微生物菌种以及操作条件，以提高处理效率和稳定性。

（3）本研究在微生物方面的机理研究不够深刻，对微生物在系统中的演化、更替缺乏研究，在后期的研究中可以把目光聚焦在微生物等微观程度上，进一步明确重金属去除机理。

综上所述，尽管 CW-MFC 技术在处理猪粪中的重金属方面具有潜力，但仍然需要进一步研究和改进，以克服存在的不足并实现更广泛的应用。

参考文献

- [1] Wang M, Liu R, Lu X, et al. Heavy Metal Contamination and Ecological Risk Assessment of Swine Manure Irrigated Vegetable Soils in Jiangxi Province, China.[J]. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 2018, 100(5): 634-640.
- [2] Du M, Xie A, Wei W, et al. Directional transformation and migration pathways of nitrogen during pig manure supercritical water gasification[J]. Bioresource Technology, 2023, 394: 130256.
- [3] Paz Pérez-Sangrador M, Cristina León-Cófreces M, Acitores-Benavente M, et al. Solids and nutrient removal from flushed swine manure using polyacrylamides[J]. Journal of Environmental Management, 2012, 93(1): 67-70.
- [4] Wu S, Tursenjan D, Sun Y. Impact of compost methods on humification and heavy metal passivation during chicken manure composting[J]. Journal of Environmental Management, 2022, 325: 116573.
- [5] Jensen J, Larsen M M, Bak J. National monitoring study in Denmark finds increased and critical levels of copper and zinc in arable soils fertilized with pig slurry[J]. Environmental Pollution, 2016, 214: 334-340.
- [6] Luo L, Ma Y, Zhang S, et al. An inventory of trace element inputs to agricultural soils in China.[J]. Journal of Environmental Management, 2009, 90(8): 2524-2530.
- [7] Li C, Lan W, Jin Z, et al. Risk of Heavy Metal Contamination in Vegetables Fertilized with Mushroom Residues and Swine Manure[J]. Sustainability, 2023, 15(14): 10984.
- [8] Xia C, Zhang X, Xia L. Heavy metal ion adsorption by permeable oyster shell bricks[J]. Construction and Building Materials, 2021, 275: 122128.
- [9] Gao X, Jiang L, Mao Y, et al. Progress, Challenges, and Perspectives of Bioleaching for Recovering Heavy Metals from Mine Tailings[J]. Adsorption Science & Technology, 2021, 2021: 9941979.
- [10] Dong Y, Lin H, Zhao Y, et al. Remediation of vanadium-contaminated soils by the combination of natural clay mineral and humic acid[J]. Journal of Cleaner Production, 2021, 279: 123874.
- [11] Zhang L, Chen Y, Ma C, et al. Improving heavy metals removal, dewaterability and pathogen removal of waste activated sludge using enhanced chemical leaching[J]. Journal of Cleaner Production, 2020, 271: 122512.
- [12] Chu C-Y, Ko T-H. Evaluation of Acid Leaching on the Removal of Heavy Metals and Soil Fertility in Contaminated Soil[J]. Journal of Chemistry, 2018, 2018: 5036581.
- [13] Chen S-Y, Cheng Y-K. Effects of sulfur dosage and inoculum size on pilot-scale thermophilic bioleaching of heavy metals from sewage sludge[J]. Chemosphere, 2019, 234: 346-355.
- [14] Wei X, Liu D, Liao L, et al. Bioleaching of heavy metals from pig manure with indigenous sulfur-oxidizing bacteria: effects of sulfur concentration[J]. Heliyon, 2018, 4(9): e00778.
- [15] Cheng P, Zhang S, Wang Q, et al. Contribution of Nano-Zero-Valent Iron and Arbuscular Mycorrhizal Fungi to Phytoremediation of Heavy Metal-Contaminated Soil[J]. Nanomaterials, 2021, 11(5): 1264.
- [16] Yang Y, Liu R, Zhou Y, et al. Screening and performance optimization of fungi

- for heavy metal adsorption in electrolytes[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2024, 15.
- [17] Alsharari S F, Tayel A A, Moussa S H. Soil emendation with nano-fungal chitosan for heavy metals biosorption[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, 118: 2265-2268.
- [18] Akram M B, Khan I, Rehman M U, et al. Mycoremediation of Heavy Metals Contaminated Soil by Using Indigenous Metallotolerant Fungi[J]. *Polish Journal of Chemical Technology*, 2023, 25(3): 1-13.
- [19] Dodangeh H, Rahimi G, Fallah M, et al. Investigation of heavy metal uptake by three types of ornamental plants as affected by application of organic and chemical fertilizers in contaminated soils[J]. *Environmental Earth Sciences*, 2018, 77(12): 473.
- [20] Wang Y, Lin H, Lin Z, et al. Application And Prospect Of Talc As Heavy Metal Passivation Agent[J]. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 2018, 392(3): 032029.
- [21] Chen, Baoliang, Zhou, et al. Transitional adsorption and partition of nonpolar and polar aromatic contaminants by biochars of pine needles with different pyrolytic temperatures.[J]. *Environmental Science & Technology*, 2008, 42(14): 5137-5143.
- [22] Ye S, Wang L, Liu T. Study of solidification and stabilization of heavy metals by passivators in heavy metal-contaminated soil[J]. *Open Chemistry*, 2022, 20(1): 1-9.
- [23] 郭忠云, 王立鹏, 周海东, 等. 生物炭对重金属钝化及抗性基因影响机制研究[J]. *中国环境科学*, 2024: 1-12.
- [24] Martínez Salgado M M, Ortega Blu R, Janssens M, et al. Grape pomace compost as a source of organic matter: Evolution of quality parameters to evaluate maturity and stability[J]. *Journal of Cleaner Production*, 2019, 216: 56-63.
- [25] Zhou Y, Xiao R, Klammsteiner T, et al. Recent trends and advances in composting and vermicomposting technologies: A review[J]. *Bioresource Technology*, 2022, 360: 127591.
- [26] Bai L, Deng Y, Li J, et al. Role of the proportion of cattle manure and biogas residue on the degradation of lignocellulose and humification during composting[J]. *Bioresource Technology*, 2020, 307: 122941.
- [27] Guo X, Liu H, Wu S. Humic substances developed during organic waste composting: Formation mechanisms, structural properties, and agronomic functions[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 662: 501-510.
- [28] Chen Z, Bao H, Wen Q, et al. Effects of H₃PO₄ modified biochar on heavy metal mobility and resistance genes removal during swine manure composting[J]. *Bioresource Technology*, 2022, 346: 126632.
- [29] 温沁雪, 曹永森, 陈志强. 猪粪堆肥过程中金霉素去除及重金属形态变化[J]. *环境科学*, 2017, 38: 4405-4411.
- [30] Wang J-F, Zhu C-Y, Weng B-S, et al. Regulation of heavy metals accumulated by *Acorus calamus* L. in constructed wetland through different nitrogen forms[J]. *Chemosphere*, 2021, 281: 130773.
- [31] Ebrahimi A, Sivakumar M, McLauchlan C. A taxonomy of design factors in constructed wetland-microbial fuel cell performance: A review[J]. *Journal of Environmental Management*, 2021, 291: 112723.
- [32] Payam Jalili, Amirhosein Ala, Parham Nazari, et al. A comprehensive review of

- microbial fuel cells considering materials, methods, structures, and microorganisms[J]. *Heliyon*, 2024, 10(3): e25439.
- [33] Xu H, Song H-L, Singh R P, et al. Simultaneous reduction of antibiotics leakage and methane emission from constructed wetland by integrating microbial fuel cell[J]. *Bioresource Technology*, 2020, 320: 124285.
- [34] Santoro C, Arbizzani C, Erable B, et al. Microbial fuel cells: From fundamentals to applications. A review[J]. *Journal of Power Sources*, 2017, 356: 225-244.
- [35] Gupta S, Patro A, Mittal Y, et al. The race between classical microbial fuel cells, sediment-microbial fuel cells, plant-microbial fuel cells, and constructed wetlands-microbial fuel cells: Applications and technology readiness level[J]. *Science of The Total Environment*, 2023, 879: 162757.
- [36] Zhong F, Yu C, Chen Y, et al. Nutrient Removal Process and Cathodic Microbial Community Composition in Integrated Vertical-Flow Constructed Wetland – Microbial Fuel Cells Filled With Different Substrates[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2020, 11.
- [37] Xu F, Cao F, Kong Q, et al. Electricity production and evolution of microbial community in the constructed wetland-microbial fuel cell[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2018, 339: 479-486.
- [38] Gupta S, Srivastava P, Patil S A, et al. A comprehensive review on emerging constructed wetland coupled microbial fuel cell technology: Potential applications and challenges[J]. *Bioresource Technology*, 2020, 320: 124376.
- [39] Yakar A, Türe C, Türker O C, et al. Impacts of various filtration media on wastewater treatment and bioelectric production in up-flow constructed wetland combined with microbial fuel cell (UCW-MFC)[J]. *Ecological Engineering*, 2018, 117: 120-132.
- [40] Cheng Z, Xu D, Zhang Q, et al. Enhanced nickel removal and synchronous bioelectricity generation based on substrate types in microbial fuel cell coupled with constructed wetland: performance and microbial response[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2023, 30(8): 19725-19736.
- [41] Jiang S, Xu J, Wang H, et al. Study of the effect of pyrite and alkali-modified rice husk substrates on enhancing nitrogen and phosphorus removals in constructed wetlands[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2022, 29(36): 54234-54249.
- [42] Dai M, Wu Y, Wang J, et al. Constructed wetland-microbial fuel cells enhanced with iron carbon fillers for ciprofloxacin wastewater treatment and power generation[J]. *Chemosphere*, 2022, 305: 135377.
- [43] Hou X, Chu L, Wang Y, et al. Microelectrolysis-integrated constructed wetland with sponge iron filler to simultaneously enhance nitrogen and phosphorus removal[J]. *Bioresource Technology*, 2023, 384: 129270.
- [44] Fu G, Wu J, Han J, et al. Effects of substrate type on denitrification efficiency and microbial community structure in constructed wetlands[J]. *Bioresource Technology*, 2020, 307: 123222.
- [45] Xiao J, Huang J, Huang M, et al. Application of basalt fiber in vertical flow constructed wetland for different pollution loads wastewater: Performance, substrate enzyme activity and microorganism community[J]. *Bioresource Technology*, 2020, 318: 124229.
- [46] Wang J, Song X, Wang Y, et al. Bioelectricity generation, contaminant removal and bacterial community distribution as affected by substrate material size and

- aquatic macrophyte in constructed wetland-microbial fuel cell[J]. *Bioresource Technology*, 2017, 245: 372-378.
- [47] Chawngthu L, Hnamte R, Lalfakzuala R. Isolation and Characterization of Rhizospheric Phosphate Solubilizing Bacteria from Wetland Paddy Field of Mizoram, India[J]. *Geomicrobiology Journal*, 2020, 37(4): 366-375.
- [48] Pelissari C, Guivernau M, Viñas M, et al. Effects of partially saturated conditions on the metabolically active microbiome and on nitrogen removal in vertical subsurface flow constructed wetlands[J]. *Water Research*, 2018, 141: 185-195.
- [49] Lv T, Carvalho P N, Zhang L, et al. Functionality of microbial communities in constructed wetlands used for pesticide remediation: Influence of system design and sampling strategy[J]. *Water Research*, 2017, 110: 241-251.
- [50] Ramond J-B, Welz P J, Cowan D A, et al. Microbial community structure stability, a key parameter in monitoring the development of constructed wetland mesocosms during start-up[J]. *Research in Microbiology*, 2012, 163(1): 28-35.
- [51] Man Y, Wang J, Tam N F, et al. Responses of rhizosphere and bulk substrate microbiome to wastewater-borne sulfonamides in constructed wetlands with different plant species[J]. *Science of The Total Environment*, 2020, 706: 135955.
- [52] Wang B, Zhu S, Li W, et al. Effects of chromium stress on the rhizosphere microbial community composition of *Cyperus alternifolius*[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2021, 218: 112253.
- [53] Dai M, Li F, Zhang J, et al. Treatment of formaldehyde-containing wastewater and power generation by constructed wetland-microbial fuel cells enhanced by formaldehyde-degrading bacteria[J]. *Journal of Water Process Engineering*, 2024, 59: 104984.
- [54] Armstrong J, Armstrong W. Rice and Phragmites: effects of organic acids on growth, root permeability, and radial oxygen loss to the rhizosphere[J]. *American Journal of Botany*, 2001, 88(8): 1359-1370.
- [55] Liu F, Sun L, Wan J, et al. Performance of different macrophytes in the decontamination of and electricity generation from swine wastewater via an integrated constructed wetland-microbial fuel cell process[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2020, 89: 252-263.
- [56] Yang Y, Zhao Y, Tang C, et al. Role of macrophyte species in constructed wetland-microbial fuel cell for simultaneous wastewater treatment and bioenergy generation[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2020, 392: 123708.
- [57] Yu B, Liu C, Wang S, et al. Applying constructed wetland-microbial electrochemical system to enhance NH_4^+ removal at low temperature[J]. *Science of The Total Environment*, 2020, 724: 138017.
- [58] Wang J, Song X, Wang Y, et al. Microbial community structure of different electrode materials in constructed wetland incorporating microbial fuel cell[J]. *Bioresource Technology*, 2016, 221: 697-702.
- [59] Srivastava P, Abbassi R, Kumar Yadav A, et al. Enhanced chromium(VI) treatment in electroactive constructed wetlands: Influence of conductive material[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2020, 387: 121722.
- [60] Liu S, Song H, Wei S, et al. Bio-cathode materials evaluation and configuration optimization for power output of vertical subsurface flow constructed wetland — Microbial fuel cell systems[J]. *Bioresource Technology*, 2014, 166: 575-583.
- [61] Liu Z, Yang R, Zhang D, et al. Insight into the effect of particulate organic

- matter on sludge granulation at the low organic load: Sludge characteristics, extracellular polymeric substances and microbial communities response[J]. *Bioresource Technology*, 2023, 388: 129791.
- [62] Iannaci A, Pepè Sciarria T, Mecheri B, et al. Power generation using a low-cost sulfated zirconium oxide based cathode in single chamber microbial fuel cells[J]. *Journal of Alloys and Compounds*, 2017, 693: 170-176.
- [63] Xie T, Jing Z, Hu J, et al. Degradation of nitrobenzene-containing wastewater by a microbial-fuel-cell-coupled constructed wetland[J]. *Ecological Engineering*, 2018, 112: 65-71.
- [64] Kataki S, Chatterjee S, Vairale M G, et al. Constructed wetland, an eco-technology for wastewater treatment: A review on types of wastewater treated and components of the technology (macrophyte, biofilm and substrate)[J]. *Journal of Environmental Management*, 2021, 283: 111986.
- [65] Xu F, Ouyang D, Rene E R, et al. Electricity production enhancement in a constructed wetland-microbial fuel cell system for treating saline wastewater[J]. *Bioresource Technology*, 2019, 288: 121462.
- [66] Mu C, Wang L, Wang L. Performance of lab-scale microbial fuel cell coupled with unplanted constructed wetland for hexavalent chromium removal and electricity production[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2020, 27(20): 25140-25148.
- [67] Wang Q, Lv R, Rene E R, et al. Characterization of microbial community and resistance gene (CzcA) shifts in up-flow constructed wetlands-microbial fuel cell treating Zn (II) contaminated wastewater[J]. *Bioresource Technology*, 2020, 302: 122867.
- [68] 刘婷婷, 徐大勇, 王璐, 等. 电极间距对 CW-MFC 处理污泥中 Zn 和 Ni 的效果及其产电性能的影响[J]. *化工进展*, 2021, 40(07): 4074-4082.
- [69] Wang L, Xu D, Zhang Q, et al. Simultaneous removal of heavy metals and bioelectricity generation in microbial fuel cell coupled with constructed wetland: an optimization study on substrate and plant types[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2022, 29(1): 768-778.
- [70] Taylor G J, Crowder A A. Use of the Dcb Technique for Extraction of Hydrous Iron Oxides from Roots of Wetland Plants[J]. *American Journal of Botany*, 1983, 70(8): 1254-1257.
- [71] Álvarez E A, Mochón M C, Sánchez J C J, et al. Heavy metal extractable forms in sludge from wastewater treatment plants[J]. *Chemosphere*, 2002, 47(7): 765-775.
- [72] Mu C, Wang L, Wang L. Removal of Cr(VI) and electricity production by constructed wetland combined with microbial fuel cell (CW-MFC): Influence of filler media[J]. *Journal of Cleaner Production*, 2021, 320: 128860.
- [73] Moradian J M, Fang Z, Yong Y-C. Recent advances on biomass-fueled microbial fuel cell[J]. *Bioresources and Bioprocessing*, 2021, 8(1): 14.
- [74] Mohd Azmi N, Mohd Sabri M N I, Tajarudin H A, et al. The Effect of Different Pretreatment of Chicken Manure for Electricity Generation in Membrane-Less Microbial Fuel Cell[J]. *Catalysts*, 2022, 12(8): 810.
- [75] Hamideh Ghayour Moradi, Mahmood Akhavan Mahdavi, Reza Gheshlaghi, et al. Electrochemical evaluation of the effect of anode to cathode surface area ratio on power generation in air-cathode microbial fuel cells[J]. *Journal of Applied Electrochemistry*, 2023, 53(12): 2433-2442.
- [76] Li C, Zhou K, He H, et al. Adding Zero-Valent Iron to Enhance Electricity

- Generation during MFC Start-Up[J]. International Journal of Environmental Research and Public Health, 2020, 17(3).
- [77] Wang Y, Wang D, Fang H. Comparison of enhancement of anaerobic digestion of waste activated sludge through adding nano-zero valent iron and zero valent iron[J]. RSC Advances, 2018, 8(48): 27181-27190.
- [78] Chen Y, Luo X, Li Y, et al. Effects of CaO₂ based Fenton - like reaction on heavy metals and microbial community during co-composting of straw and sediment[J]. Chemosphere, 2022, 301: 134563.
- [79] Gao X, Yang F, Yan Z, et al. Humification and maturation of kitchen waste during indoor composting by individual households[J]. Science of The Total Environment, 2022, 814: 152509.
- [80] Zhang W, Yu C, Wang X, et al. Additives improved saprotrophic fungi for formation of humic acids in chicken manure and corn stover mix composting[J]. Bioresource Technology, 2022, 346: 126626.
- [81] Zhao Y, Zhao Y, Zhang Z, et al. Effect of thermo-tolerant actinomycetes inoculation on cellulose degradation and the formation of humic substances during composting[J]. Waste Management, 2017, 68: 64-73.
- [82] Wu J, Zhao Y, Zhao W, et al. Effect of precursors combined with bacteria communities on the formation of humic substances during different materials composting[J]. Bioresource Technology, 2017, 226: 191-199.
- [83] Khan M A, Wahab Y, Muhammad R, et al. Catalyst-free fabrication of novel ZnO/CuO core-Shell nanowires heterojunction: Controlled growth, structural and optoelectronic properties[J]. Applied Surface Science, 2018, 435: 718-732.
- [84] Abourached C, Catal T, Liu H. Efficacy of single-chamber microbial fuel cells for removal of cadmium and zinc with simultaneous electricity production[J]. Water Research, 2014, 51: 228-233.
- [85] Fang Z, Cheng S, Wang H, et al. Feasibility study of simultaneous azo dye decolorization and bioelectricity generation by microbial fuel cell-coupled constructed wetland: substrate effects[J]. RSC Advances, 2017, 7(27): 16542-16552.
- [86] Luo J, Yang J, He H, et al. A new electrochemically active bacterium phylogenetically related to *Tolomonas osonensis* and power performance in MFCs[J]. Bioresource Technology, 2013, 139: 141-148.
- [87] Hassan H, Jin B, Donner E, et al. Microbial community and bioelectrochemical activities in MFC for degrading phenol and producing electricity: Microbial consortia could make differences[J]. Chemical Engineering Journal, 2018, 332: 647-657.
- [88] Li X, Meng D, Li J, et al. Response of soil microbial communities and microbial interactions to long-term heavy metal contamination[J]. Environmental Pollution, 2017, 231: 908-917.
- [89] Shi Y, Tang G, You S, et al. RETRACTED: Treatment mechanism of hexavalent chromium wastewater in constructed wetland-microbial fuel cell coupling system[J]. Frontiers in Environmental Science, 2022, 10.
- [90] Mei X, Lu B, Yan C, et al. The interplay of active energy harvesting and wastewater organic loading regulates fermentation products and microbiomes in microbial fuel cells[J]. Resources, Conservation and Recycling, 2022, 183: 106366.
- [91] Di L, Li Y, Nie L, et al. Influence of plant radial oxygen loss in constructed wetland combined with microbial fuel cell on nitrobenzene removal from

- aqueous solution[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2020, 394: 122542.
- [92] Liu X, Shi L, Gu J-D. Microbial electrocatalysis: Redox mediators responsible for extracellular electron transfer[J]. *Biotechnology Advances*, 2018, 36(7): 1815-1827.
- [93] Rivalland C, Radouani F, Gonzalez-Rizzo S, et al. Enrichment of Clostridia enhances Geobacter population and electron harvesting in a complex electroactive biofilm[J]. *Bioelectrochemistry*, 2022, 143: 107954.
- [94] Li Y, Guo L, Kolton M, et al. Chemolithotrophic Biological Nitrogen Fixation Fueled by Antimonite Oxidation May Be Widespread in Sb-Contaminated Habitats[J]. *Environmental Science & Technology*, 2023, 57(1): 231-243.
- [95] Nazeer Z, Fernando E Y. A novel growth and isolation medium for exoelectrogenic bacteria[J]. *Enzyme and Microbial Technology*, 2022, 155: 109995.
- [96] Krivonogov S, Maltsev A, Zelenina D, et al. Microbial Diversity and Authigenic Mineral Formation of Modern Bottom Sediments in the Littoral Zone of Lake Issyk-Kul, Kyrgyz Republic (Central Asia)[J]. *Biology*, 2023, 12(5): 642.
- [97] You A, Tang J, Shu J, et al. The impacts of soil properties and heavy metals on soil microbial communities in the artificial soils on railway rock-cut slopes[J]. *Journal of Soils and Sediments*, 2023, 23(4): 1820-1831.
- [98] Kang Y-R, Su Y, Wang J, et al. Effects of different pretreatment methods on biogas production and microbial community in anaerobic digestion of wheat straw[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2021, 28(37): 51772-51785.
- [99] Beretta G, Daghighi M, Espinoza Tofalos A, et al. Microbial Assisted Hexavalent Chromium Removal in Bioelectrochemical Systems[J]. *Water*, 2020, 12(2): 466.
- [100] Saeed T, Sun G. A review on nitrogen and organics removal mechanisms in subsurface flow constructed wetlands: Dependency on environmental parameters, operating conditions and supporting media[J]. *Journal of Environmental Management*, 2012, 112: 429-448.
- [101] Doherty L, Zhao Y, Zhao X, et al. Nutrient and organics removal from swine slurry with simultaneous electricity generation in an alum sludge-based constructed wetland incorporating microbial fuel cell technology[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2015, 266: 74-81.
- [102] Dordio A V, Carvalho A J P. Organic xenobiotics removal in constructed wetlands, with emphasis on the importance of the support matrix[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2013, 252-253: 272-292.
- [103] Jimenez Pacheco H G, Portocarrero Banda A A, Vilca Cayllahua E I, et al. New Electrogenic Microorganism Citrobacter sp. Isolated from Microbial Fuel Cell and Bacterial Characteristics Determination[J]. *Energies*, 2023, 16(7): 3047.
- [104] Zhang Q, Xie X, Liu Y, et al. Fructose as an additional co-metabolite promotes refractory dye degradation: Performance and mechanism[J]. *Bioresource Technology*, 2019, 280: 430-440.
- [105] Wu J, Qi H, Huang X, et al. How does manganese dioxide affect humus formation during bio-composting of chicken manure and corn straw?[J]. *Bioresource Technology*, 2018, 269: 169-178.
- [106] Li C, Li H, Yao T, et al. Effects of swine manure composting by microbial inoculation: Heavy metal fractions, humic substances, and bacterial community metabolism[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, 415: 125559.

- [107] Kong Q, Guo W, Sun R, et al. Enhancement of chromium removal and energy production simultaneously using iron scrap as anodic filling material with pyrite-based constructed wetland-microbial fuel cell[J]. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2021, 9(6): 106630.
- [108] Zhu C-Y, Wang J-F, Li Q-S, et al. Integration of CW-MFC and anaerobic granular sludge to explore the intensified ammonification-nitrification-denitrification processes for nitrogen removal[J]. *Chemosphere*, 2021, 278: 130428.
- [109] Custodio M, Espinoza C, Peñaloza R, et al. Microbial diversity in intensively farmed lake sediment contaminated by heavy metals and identification of microbial taxa bioindicators of environmental quality[J]. *Scientific Reports*, 2022, 12(1): 80.
- [110] Wang J, Song X, Li Q, et al. Bioenergy generation and degradation pathway of phenanthrene and anthracene in a constructed wetland-microbial fuel cell with an anode amended with nZVI[J]. *Water Research*, 2019, 150: 340-348.
- [111] Zhao X, Sun Y, Huang J, et al. Effects of soil heavy metal pollution on microbial activities and community diversity in different land use types in mining areas[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2020, 27(16): 20215-20226.
- [112] Xin L, Guo Z, Xiao X, et al. Feasibility of anaerobic digestion on the release of biogas and heavy metals from rice straw pretreated with sodium hydroxide[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2019, 26(19): 19434-19444.
- [113] Chen J, Gu M, Zhou Y, et al. Efficient nitrate and perchlorate removal from aqueous solution via a novel electro-dialysis ion-exchange membrane bioreactor[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2022, 430: 132952.
- [114] Ingole N W, Bhole A G. Removal of heavy metals from aqueous solution by water hyacinth (*Eichhornia crassipes*)[J]. *Journal of Water Supply: Research and Technology-Aqua*, 2003, 52(2): 119-128.
- [115] Marchand L, Mench M, Jacob D L, et al. Metal and metalloid removal in constructed wetlands, with emphasis on the importance of plants and standardized measurements: A review[J]. *Environmental Pollution*, 2010, 158(12): 3447-3461.
- [116] Hansel C M, Fendorf S, Sutton S, et al. Characterization of Fe Plaque and Associated Metals on the Roots of Mine-Waste Impacted Aquatic Plants[J]. *Environ. Sci. Tech.*, 2001, 35(19): 3863.
- [117] Cheng H, Wang M, Wong M H, et al. Does radial oxygen loss and iron plaque formation on roots alter Cd and Pb uptake and distribution in rice plant tissues?[J]. *Plant and Soil*, 2014, 375(1): 137-148.
- [118] Huang H, Zhu Y, Chen Z, et al. Arsenic mobilization and speciation during iron plaque decomposition in a paddy soil[J]. *Journal of Soils and Sediments*, 2012, 12(3): 402-410.
- [119] Zhang H, Tan H-R, Jaenicke S, et al. Highly efficient and robust Cu catalyst for non-oxidative dehydrogenation of ethanol to acetaldehyde and hydrogen[J]. *Journal of Catalysis*, 2020, 389: 19-28.
- [120] Wang X, Tian Y. Seasonal variations of pollutants removal and microbial activity in integrated constructed wetland-microbial fuel cell systems[J]. *Water Reuse*, 2021, 11(2): 312-328.
- [121] Liu T, Xu S, Lu S, et al. A review on removal of organophosphorus pesticides in constructed wetland: Performance, mechanism and influencing factors[J].

- Science of the Total Environment, 2018, 651: 2247-2268.
- [122] Huang W, Chen X, Wang K, et al. Comparison among the microbial communities in the lake, lake wetland, and estuary sediments of a plain river network[J]. MicrobiologyOpen, 2018, 8(2): e00644.
- [123] Liu C, Lu J, Liu J, et al. Effects of lead (Pb) in stormwater runoff on the microbial characteristics and organics removal in bioretention systems[J]. Chemosphere, 2020, 253: 126721.
- [124] Huang Z, Liu D, Zhao H, et al. Performance and microbial community of aerobic dynamic membrane bioreactor enhanced by Cd(II)-accumulating bacterium in Cd(II)-containing wastewater treatment[J]. Chemical Engineering Journal, 2017, 317: 368-375.
- [125] Liu C, Lin H, Dong Y, et al. Investigation on microbial community in remediation of lead-contaminated soil by *Trifolium repens*L.[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2018, 165: 52-60.
- [126] Lin C, Wu P, Liu Y, et al. Enhanced biogas production and biodegradation of phenanthrene in wastewater sludge treated anaerobic digestion reactors fitted with a bioelectrode system[J]. Chemical Engineering Journal, 2019, 365: 1-9.
- [127] Zhang Y, Li Y, Wang J, et al. Interactions of chlorpyrifos degradation and Cd removal in iron-carbon-based constructed wetlands for treating synthetic farmland wastewater[J]. Journal of Environmental Management, 2021, 299: 113559.
- [128] Yu J, Park Y, Kim B, et al. Power densities and microbial communities of brewery wastewater-fed microbial fuel cells according to the initial substrates[J]. Bioprocess and Biosystems Engineering, 2014, 38(1): 85-92.
- [129] Liu H, Cui Y, Zhou J, et al. Nickel mine soil is a potential source for soybean plant growth promoting and heavy metal tolerant rhizobia[J]. PeerJ, 2022, 10: e13215.
- [130] Suliasih null, Widawati S. The application of Klebsiella sp. and Rhizobium radiobacter as biofertilizer and Palm Oil Mills Effluent (POME) as organic fertilizer on growth of *Paraserianthes falcataria*[J]. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 2019, 308(1): 012057.
- [131] Taşkan B. Increased power generation from a new sandwich-type microbial fuel cell (ST-MFC) with a membrane-aerated cathode[J]. Biomass and Bioenergy, 2020, 142: 105781.
- [132] Babu A G, Shea P J, Sudhakar D, et al. Potential use of *Pseudomonas koreensis* AGB-1 in association with *Miscanthus sinensis* to remediate heavy metal(loid)-contaminated mining site soil[J]. Journal of Environmental Management, 2015, 151: 160-166.
- [133] Ge X, Cao X, Song X, et al. Bioenergy generation and simultaneous nitrate and phosphorus removal in a pyrite-based constructed wetland-microbial fuel cell[J]. Bioresource Technology, 2019, 296: 122350.
- [134] Prakash O, Gihring T M, Dalton D D, et al. *Geobacter daltonii* sp. nov., an Fe(III)- and uranium(VI)-reducing bacterium isolated from a shallow subsurface exposed to mixed heavy metal and hydrocarbon contamination[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2010, 60(3): 546-553.
- [135] Zhou B, Zhang T, Wang F. Microbial-Based Heavy Metal Bioremediation: Toxicity and Eco-Friendly Approaches to Heavy Metal Decontamination[J]. Applied Sciences, 2023, 13(14).

- [136] Wang F, Dong W, Zhao Z, et al. Heavy metal pollution in urban river sediment of different urban functional areas and its influence on microbial community structure[J]. *Science of The Total Environment*, 2021, 778: 146383.
- [137] Fernanda Moreira L, Juliana Zomer S, Marta Marques S. Modulation of the multixenobiotic resistance mechanism in *Danio rerio* hepatocyte culture (ZF-L) after exposure to glyphosate and Roundup®[J]. *Chemosphere*, 2019, 228: 159-165.
- [138] Huang Y, Cai S, Ying W, et al. Exogenous titanium dioxide nanoparticles alleviate cadmium toxicity by enhancing the antioxidative capacity of *Tetragonia hemsleyana*[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2024, 273: 116166.
- [139] Li Q, Huang W, Xiong C, et al. Transcriptome analysis reveals the role of nitric oxide in *Pleurotus eryngii* responses to Cd²⁺ stress[J]. *Chemosphere*, 2018, 201: 294-302.
- [140] Cao Q, Feng F, Wang H, et al. *Haemophilus parasuis* CpxRA two-component system confers bacterial tolerance to environmental stresses and macrolide resistance[J]. *Microbiological Research*, 2017, 206: 177-185.
- [141] Chen T, Shi Y, Peng C, et al. Transcriptome Analysis on Key Metabolic Pathways in *Rhodotorula mucilaginosa* Under Pb(II) Stress[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2022, 88(7): e02215-21.
- [142] Yang J, Jiang L, Guo Z, et al. The Cd immobilization mechanisms in paddy soil through ureolysis-based microbial induced carbonate precipitation: Emphasis on the coexisting cations and metatranscriptome analysis[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2024, 465: 133174.
- [143] Shen C-C, Chen M-X, Xiao T, et al. Global proteome response to Pb(II) toxicity in poplar using SWATH-MS-based quantitative proteomics investigation[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2021, 220: 112410.
- [144] Sharma A, Shahzad B, Rehman A, et al. Response of Phenylpropanoid Pathway and the Role of Polyphenols in Plants under Abiotic Stress[J]. *Molecules*, 2019, 24(13).
- [145] Zhao T, Sun D, Long K, et al. N⁶-methyladenosine upregulates ribosome biogenesis in environmental carcinogenesis[J]. *Science of the Total Environment*, 2023, 881: 163428.
- [146] Tao Y, Shen L, Han S, et al. Metagenomic study of carbon metabolism in black soil microbial communities under lead-lanthanum stress[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2022, 446: 130666.
- [147] Matayoshi C L, Jiménez Guaman O M, Estes M L, et al. Cadmium and copper-induced metabolic and proteomic changes in the root tip during early maize growth[J]. *Biometals*, 2023, 37(2): 405-419.
- [148] Ye M, Jiang Z, Wang Z, et al. Physiological and proteomic responses of *Chlamydomonas reinhardtii* to arsenate and lead mixtures[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2022, 242: 113856.
- [149] Rai P K. Heavy Metal Pollution in Aquatic Ecosystems and its Phytoremediation using Wetland Plants: An ecosustainable approach[J]. *International Journal of Phytoremediation*, 2008, 10(2): 133-160.
- [150] Minett D A, Cook P L M, Kessler A J, et al. Root effects on the spatial and temporal dynamics of oxygen in sand-based laboratory-scale constructed biofilters[J]. *Ecological Engineering*, 2013, 58: 414-422.
- [151] Trivedi P, Axe L. Modeling Cd and Zn Sorption to Hydrous Metal Oxides[J].

- Environmental Science & Technology, 2000, 34(11): 2215-2223.
- [152] 胡莹, 黄益宗, 黄艳超, 等. 不同生育期水稻根表铁膜的形成及其对水稻吸收和转运 Cd 的影响[J]. 农业环境科学学报, 2013, 32(3): 432-437.
- [153] Fang C, Achal V. The Potential of Microbial Fuel Cells for Remediation of Heavy Metals from Soil and Water—Review of Application[J]. Microorganisms, 2019, 7(12).
- [154] Liu S-H, Su Y-H, Chen C-C, et al. Simultaneous enhancement of copper removal and power production using a sediment microbial fuel cell with oxygen separation membranes[J]. Environmental Technology & Innovation, 2022, 26: 102369.
- [155] Doherty L, Zhao X, Zhao Y, et al. The effects of electrode spacing and flow direction on the performance of microbial fuel cell-constructed wetland[J]. Ecological Engineering, 2015, 79: 8-14.
- [156] Doherty L, Zhao Y, Zhao X, et al. A review of a recently emerged technology: Constructed wetland – Microbial fuel cells[J]. Water Research, 2015, 85: 38-45.
- [157] Ezziat L, Elabed A, Ibnsouda S, et al. Challenges of Microbial Fuel Cell Architecture on Heavy Metal Recovery and Removal From Wastewater[J]. Frontiers in Energy Research, 2019, 7.
- [158] Chen Z, Lu J, Gao S-H, et al. Silver nanoparticles stimulate the proliferation of sulfate reducing bacterium *Desulfovibrio vulgaris*[J]. Water Research, 2018, 129: 163-171.
- [159] Balmér P, Hellström D. Performance indicators for wastewater treatment plants[J]. Water Science and Technology, 2012, 65(7): 1304-1310.
- [160] Bohra M, Pavan T M, Fournée V, et al. Growth, structure and thermal stability of quasicrystalline Al–Pd–Mn–Ga thin films[J]. Applied Surface Science, 2020, 505: 144494.
- [161] González M, Gomez E, Comese R, et al. Influence of organic amendments on soil quality potential indicators in an urban horticultural system[J]. Bioresource Technology, 2010, 101(22): 8897-8901.
- [162] Lu Y, Feng K, Wu C, et al. Co-substrate-Assisted Dimethyl Sulfide Degradation and Electricity Generation in a Microbial Fuel Cell[J]. Energy & Fuels, 2021.
- [163] Muniandy S, Teh S J, Appaturi J N, et al. A reduced graphene oxide-titanium dioxide nanocomposite based electrochemical aptasensor for rapid and sensitive detection of *Salmonella enterica*[J]. Bioelectrochemistry, 2019, 127: 136-144.

攻读学位期间发表的论文及其他成果

论文：

[1] Tang X, Wang L, Zhang Q, Xu D, Tao Z. Performance optimization for Pb(II) - containing wastewater treatment in constructed wetland-microbial fuel cell triggered by biomass dosage and Pb(II) level[J]. ENVIRONMENTAL SCIENCE AND POLLUTION RESEARCH, 2024, 31(10): 15039-15049.

专利：

[1] 程展, 唐晓露, 张庆云, 洪亚军, 徐大勇. 一种含镍废水的处理系统. 中国专利: 202222456361.X (实用新型, 授权)

致 谢

总觉得来日方长，毕业遥遥可及，但山水相逢，终有一别。这篇毕业论文的完成，象征着我即将离开从本科到硕士求学 7 年的学府，从此步入社会。

毕业不易，首先感谢我的导师徐大勇教授以及张庆云老师，从研究生课题初选、方案设计、实施、直至论文的撰写、定稿，老师们都给予了我很大的帮助。还有洪冉老师，陶征楷老师等环境专业的老师们在研究生期间都给予了我很多帮助，诚心祝福老师们健康圆满，工作顺利、桃李满天下。

感谢父母，父母之爱子，则为之计深远，我深知养育不易，感谢你们路以来的支持，爱不挂口，常记于心。

感谢实验室的师兄师妹们，是你们让我的科研之路充满欢乐与收获。感谢我的同门和室友们，无论是学业上的困惑还是生活中的琐碎，都给予我无尽的支持与鼓励，也让本该枯燥的研究生涯多了些许光彩。烟火人间，各有遗憾，所念诸多，言有不尽。

最后感谢我自己，经历了无数次的自责与自卑，最终还是选择昂首前行。未来的故事还有很久很久，希望路的尽头你我都不会懊悔。这条路上，一重山有一重山的错落，我有我的平仄。

真好，我毕业了！！