



电活性微生物胞外聚合物的特征与应用

谢淑仪^{1,2}, 陈姗姗^{1,2*}, 栾天罡^{1,2}

1 广东工业大学生态环境与资源学院 广东省流域水环境治理与水生态修复重点实验室, 广东 广州 510006

2 化学与精细化工广东省实验室揭阳分中心, 广东 揭阳 515200

谢淑仪, 陈姗姗, 栾天罡. 电活性微生物胞外聚合物的特征与应用[J]. 微生物学报, 2023, 63(2): 540-552.

XIE Shuyi, CHEN Shanshan, LUAN Tiangang. Characteristics and applications of extracellular polymeric substances of electroactive microorganisms[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2023, 63(2): 540-552.

摘要: 电活性微生物是一类能够通过直接接触、导电菌毛或氧化还原介质与电极或者其他细胞进行胞外电子传递的微生物。而在这个过程中, 胞外聚合物(extracellular polymeric substances, EPS) 扮演着重要的角色。EPS 是微生物生长过程中通过细胞裂解、水解分泌的高分子聚合物的混合物, 主要由蛋白质、多糖和腐殖质等物质组成。来自电活性微生物的 EPS 的不同组成成分和特性会对 EPS 的电活性以及电活性微生物胞外电子传递产生一定的影响, 同时在环境应用方面发挥重要作用。因此, 为了更全面了解电活性微生物 EPS 的电活性及其对电活性微生物胞外电子传递的作用, 本文总体介绍了电活性微生物 EPS 的电活性的直接表征方法, 再从组成成分、化学性质、物理性质和空间分布 4 个方面综述了其对 EPS 电活性的影响及其在电子传递中的作用, 介绍了当前电活性微生物 EPS 在染料废水脱色、重金属吸附、有机污染物的生物转化和渗滤液管理等方面的环境应用, 并从表征方法、试验规模和互作机理研究等角度展望了未来的研究方向。

关键词: 胞外聚合物; 电活性微生物; 电活性; 表征; 环境应用

资助项目: 国家自然科学基金(41877052); 广东省珠江人才计划引进创新创业团队项目(2019ZT08L213)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (41877052) and the Guangdong Pearl River Talent Program and the Introduction of Innovation and Entrepreneurship Teams (2019ZT08L213).

*Corresponding author. Tel: +86-20-84500684, E-mail: chenss@gdut.edu.cn

Received: 2022-06-07; Accepted: 2022-07-26; Published online: 2022-08-03

Characteristics and applications of extracellular polymeric substances of electroactive microorganisms

XIE Shuyi^{1,2}, CHEN Shanshan^{1,2*}, LUAN Tiangang^{1,2}

1 Guangdong Provincial Key Laboratory of Water Quality Improvement and Ecological Restoration for Watersheds, School of Ecology, Environmental and Resources, Guangdong University of Technology, Guangzhou 510006, Guangdong, China

2 Jieyang Branch of Chemistry and Chemical Engineering Guangdong Laboratory (Rongjiang Laboratory), Jieyang 515200, Guangdong, China

Abstract: Electroactive microorganisms can exchange electrons in their extracellular environment with electrodes or other cells through direct contact, conductive pilli, or redox mediators, in which extracellular polymeric substances (EPS) play a crucial part. EPS are a mixture of cell secretions, cell lysates, and other substances attached on the surface of microbial cells to protect them from external environment, comprising proteins, polysaccharides, humics, among others. Thus, the composition and characteristics of EPS from electroactive microorganisms influence the electroactive properties of the EPS and the extracellular electron transfer of the microorganisms, allowing them to be applied in the environmental bioremediations. For a clear understanding of the electroactive properties of EPS from electroactive microorganisms and the influence on extracellular electron transfer of the microorganisms, we introduced the methods for characterizing the electroactive properties of the EPS and summarized the influence of the composition, chemical properties, physical properties, and spatial distribution of the substances on their electroactive properties. In addition, we described the applications of the EPS in decolorization of dye wastewater, adsorption of heavy metals, biotransformation of organic pollutants, leachate management, etc. Finally, the future research directions in the characterization method, the scale of experiments, and the interaction mechanisms were summed up.

Keywords: extracellular polymeric substance; electroactive microorganisms; electroactive properties; characterization; environmental applications

电活性微生物是一类能够通过直接接触、导电菌毛或氧化还原介质与电极或者其他细胞进行胞外电子传递(extracellular electron transfer, EET)的微生物^[1-2]。胞外电子传递是指电活性微生物在胞内代谢产生的电子通过电子传递链传递至胞外电子受体进行还原,或是细胞外电子供体将电子传递至细胞内进行代谢的过程,在生物地球化学循环、生态修复以及资源再生等领域发挥重要作用^[3-4],而电活性微

生物的胞外聚合物在其 EET 过程扮演着重要的角色^[5]。

胞外聚合物(extracellular polymeric substance, EPS)是微生物在生长过程中分泌的高分子聚合物的混合物,是细胞裂解、水解的产物^[6]。EPS包裹在微生物生物膜表面,使微生物不与外界环境直接接触,具有一定的生物吸附及可生物降解性,主要由蛋白质、多糖、腐殖质和 DNA 等物质组成,在保护细胞免受外部环境干扰、

生物除磷、生物膜黏附以及电活性菌的胞外电子传递方面发挥重要作用。

因此, 本文总体介绍了 EPS 电活性的直接表征方法, 然后分类介绍影响微生物 EPS 电活性的特性及这些特性对电子传递的作用, 总结各特性指标的代表征方法, 阐述电活性微生物 EPS 在环境中的应用, 并针对综述内容提出未来研究展望。

1 电活性微生物 EPS 电活性的直接表征方法

EPS 的电活性是指其能够与电子供体或受体传递电子的能力, 主要来源于其组分的氧化还原特性及导电性, 通常使用循环伏安法或电化学阻抗谱等方法来对其进行宏观表达。据报道, EPS 基质的很多组分都具有电化学活性, 但主要来源于其中可以作为胞外电子传递的电子供体或受体的难降解聚合物, 如蛋白质、还原糖、腐殖质^[7-8]等, 一般通过差分脉冲伏安法(differential pulse voltammetry, DPV)或循环伏安法(cyclic voltammetry, CV)对其进行检测^[7]。而

电子交换容量(electron exchange capacity, EEC)是评估其电活性的关键参数, 由电子供给能力(electron-donating capacity, EDC)和电子接受能力(electron-accepting capacity, EAC) 2 部分组成, EEC 的值越高, EPS 的电活性越强^[9], 可通过新型的介导电化学氧化/还原(mediated electrochemical oxidation/reduction, ME/FO)法来定量^[10], 其主要机理如图 1 所示。

在以往的研究中, Sedenho 等^[11]以 *Saccharomyces cerevisiae* 为主要研究对象, 探究其 EPS 对生物电的影响, 综合 SEM 与生物膜的 CV 测量结果得出, EPS 在固体表面的黏附和酿酒酵母的 EET 上发挥重要作用, EET 通过主要储存在 EPS 薄膜中的电化学活性物质(如黄素蛋白)发生。Li 等^[7]提取 *Shewanella oneidensis* MR-1 和 *Pseudomonas putida* 的 EPS 与牛心细胞色素 c 共同测定 DPV, 发现其在 0.415、0.395 和 0.385 V 处存在明显的细胞色素 c 氧化还原峰, 表明这 2 种电活性细菌的 EPS 都存在电化学活性物质, 其中细胞色素 c 可能是主要的电化学活性物质。Guo 等^[5]和 Yang 等^[12]的研究发现, 电活性微生物

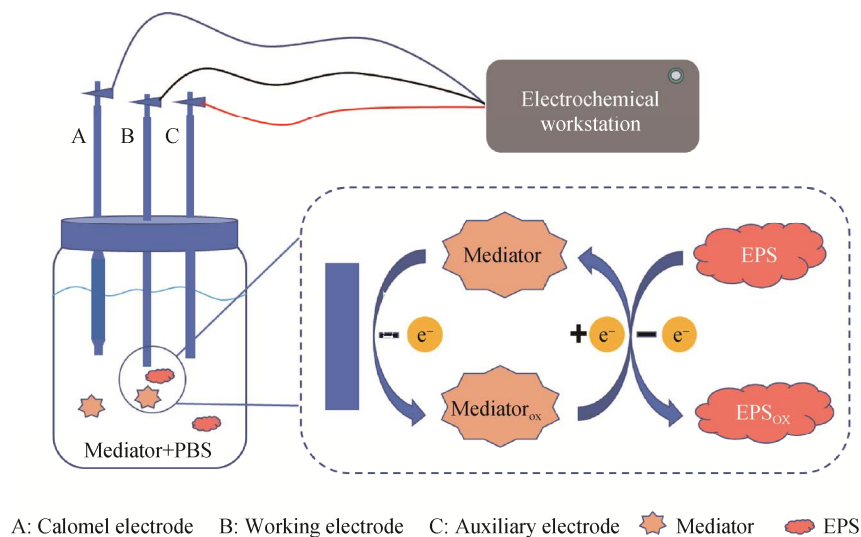


图 1 介导氧化法(MEO)机理图(根据文献[8,11]绘制)

Figure 1 Mechanism diagram of mediated oxidation method (adapted from reference [8,11]).

胞外聚合物 EPS 的电活性与生物膜的电子传递能力呈正相关, EPS 电活性越强, 越有助于生物膜胞外电子传递。Lin 等^[10]在实验中采用 MEO 法, 通过 EDC 值来量化来自 *Shewanella oneidensis* MR-1、*Escherichia coli* 以及活性污泥的 EPS 的电活性, 发现 *Shewanella oneidensis* MR-1 的 EDCs 值达到 $(4.63 \pm 0.15) \mu\text{mol}_e/\text{mg}_{\text{EPS}}$, 明显高于 *Escherichia coli* [$(3.54 \pm 0.21) \mu\text{mol}_e/\text{mg}_{\text{EPS}}$] 与污泥 [$(3.17 \pm 0.35) \mu\text{mol}_e/\text{mg}_{\text{EPS}}$], *Shewanella oneidensis* MR-1 的 EPS 具有最强的电活性。

2 电活性微生物 EPS 的组成成分及其对电活性的影响

微生物的 EPS 主要成分包括蛋白质、多糖、腐殖质、脂质以及 DNA 等。三维激发-发射矩阵荧光光谱技术(three-dimensional excitation-emission matrix fluorescence spectra, 3D-EEM)以及共聚焦激光扫描显微镜(confocal laser scanning microscopy, CLSM)原位图像可视化 EPS 中蛋白质、多糖和脂质等不同组分的分布^[13]。其中 3D-EEM 是一种快速、选择性好、灵敏度高且不破坏测定物质的理化性质的分析方法, 由于其荧光信息与物质的结构和分子官能团组成有很大关系, 可用于区分 EPS 混合物中的荧光化合物^[14]。蛋白质、多糖、腐殖质以及 DNA 等物质都具有荧光特性, 当这些组分的类型和浓度发生变化时, 可以通过 3D-EEM 检测的荧光位置和强度的变化进行判断^[15-16]。蛋白质含量的表征方法包括 Lowry 法、总氮含量法、二喹啉甲酸法(BCA 测定法)以及 Bradford 法, 蛋白质中的细胞色素 c 可采用紫外可见分光光度法进行定量。多糖的含量主要通过苯酚/蒽酮-硫酸法测定, 而核酸和 DNA 的含量可通过 DAPI 荧光法、UV 吸光度法和二苯胺法进行测定。表征方法的选择需考虑 EPS 前期提取方

法、所需精确度和灵敏度、EPS 中其他共存化合物的干扰, 以及测定时所用试剂的毒性等多种因素^[17]。例如, 当 EPS 的前期提取选用萃取效率较高的 EDTA 法时, EDTA 的残留会与 EPS 形成 EDTA-EPS 络合物, 即 EDTA 无法从膜分离中去除, 保留在 EPS 中, 干扰 Lowry 法中蛋白质的测定, 且 BCA 测定法受螯合剂和高浓度还原剂的影响, 必须确定蛋白中残留的 EDTA 浓度低于 1 mmol/L, 而 Bradford 法不受还原剂的影响, 因此用此法提取的 EPS 蛋白质含量通常用 Bradford 法检测。由于不同微生物胞外多糖、蛋白质和 DNA 等物质的电学和电化学性能存在显著差异, 从而改变了 EPS 基体在不同环境下的电化学性能, 因此, 对微生物 EPS 中多糖、蛋白质、腐殖质的组成和含量进行表征是判断其电活性重要手段^[18]。

电活性微生物的 EPS 具有半导体性^[18-19]及电活性^[7], 它可以作为微生物电子传递的介质, 帮助电活性微生物在胞外环境中传递电子。其电活性主要来源于其中可以参与胞外电子传递的氧化还原活性蛋白、腐殖质以及还原糖等^[3]。

对于部分电活性微生物如 *Shewanella oneidensis*、*Geobacter sulfurreducens* 等来说, 氧化还原活性蛋白质是 EPS 中主要的电活性成分, 氧化还原活性蛋白含量越高, EPS 的电活性越强, 电活性细菌的电活性越强^[7,12,20], 主要影响电活性微生物的直接电子传递过程^[21]。Yang 等^[20]通过对典型的以直接电子转移机制传递电子的地杆菌生物膜中 EPS 的组成成分进行表征发现, EPS 中所含的蛋白质含量与胞外电子传递功能之间存在良好的相关性, 蛋白质浓度与 EPS 电活性之间同样存在良好的正相关性。Hou 等^[22]通过调节阳极电压来调节生物电化学系统(bioelectrochemical system, BES)中混合培养的电活性生物膜(从厌氧污泥驯化)中 EPS

的数量和成分,发现在 0 V 条件下得到的电流最大,此时 EPS 蛋白质含量达到 35 mg/g VSS 左右,显著高于-0.2 V (16 mg/g VSS 左右)、0.2 V (26 mg/g VSS 左右)以及 0.4 V (24 mg/g VSS 左右)。Lin 等^[10]发现 *Shewanella oneidensis* MR-1 中的高蛋白含量(58.2%) (*Escherichia coli* 与活性污泥分别为 52.6%、42.6%)导致其电子供给能力和电活性在三者中最强。电活性微生物 EPS 中的细胞色素 c 是最主要的电活性成分,介导电活性微生物的直接胞外电子传递^[23],对 EPS 中总的电子传递能力的贡献率可达 80%^[24]。

EPS 中含有的醌基腐殖酸类物质可以作为电子穿梭介质^[25],通过影响电活性微生物的间接电子传递过程,进而影响微生物的电活性^[26]。Guo 等^[5]提取了生物电化学系统中电活性生物膜的 EPS,通过调节不同的阳极电位来改变 EPS 组成成分并评估其电活性,提出腐殖质含量与 EPS 电活性呈正相关,腐殖质组分在 EPS 中的分散赋予并决定了 EPS 电活性。Yan 等^[27]通过添加单壁碳纳米管来促进电活性产甲烷菌胞外聚合物中腐殖质聚集,结果实验组 EPS 中腐殖质含量比对照组高约 3 倍,其整体的电子传递系统活性远高于对照组,对胞外电子传递更加有利。

先前的研究表明,生物膜在电极上的电活性与生物膜厚度、总生物量、特别是细胞活性呈正相关^[28-29]。EPS 中胞外多糖有助于提高细胞的整体活性^[30],降低生物膜的电子转移阻力。Zhuang 等^[30-31]通过对比 *Geobacter sulfurreducens* PCA 野生株与其多糖生物合成过表达基因的突变株 GSU150 的生物膜 EPS 发现,GSU1501 胞外多糖分泌增加了 25.5%,促进了具有更高厚度和活力的生物膜的形成,过表达菌株生物膜内的细胞活性范围达到 80.1%–98.1%,而对照菌株细胞活性仅为 67.7%–92.5%,同时也促进了细胞色素 c 的含量,使电

活性生物膜的氧化还原能力增加 20.4%。

综上所述,对于部分电活性微生物如 *Shewanella oneidensis*、*Geobacter sulfurreducens* 来说, EPS 中蛋白质、腐殖质、多糖的含量与 EPS 的电活性呈正相关,因此对电活性微生物 EPS 中蛋白质、腐殖质以及多糖等组成成分的特征是判断其电活性的手段之一。

3 EPS 的化学性质及其对电活性的影响

电活性微生物 EPS 的化学性质主要包括分子结构以及官能团组成。EPS 的成分复杂,具有大量的芳香结构和饱和脂肪酸链,具有不同类型的官能团,还具有荧光特性。其中, EPS 中的醌类结构可以作为氧化还原活性介质,用于原位接受或输出电子,促进电活性微生物 EET^[32],主要通过核磁共振 H-NMR 对其进行表征。EPS 中蛋白质的氨基酸组成和二级结构能够显著促进疏水相互作用,从而促进 EPS 的高聚集性^[33],进而促进电活性微生物的 EET 过程^[34],主要通过圆二色谱仪来对其进行表征。EPS 中的官能团组成是影响 EPS 电活性重要影响因素,有研究发现, EPS 中存在酰胺 I、酰胺 II^[35]、羧基^[36]、羟基^[35]、疏基^[37]、醌基^[38]以及磷酸基^[36]等带负电荷官能团,这些官能团被认为是潜在的氧化还原取代基,帮助电活性细菌的 EET^[19,39],如图 2 所示。同时, EPS 中的官能团有利于重金属和有机污染物^[40]的吸附,在环境修复中发挥重要作用,对其的表征通常使用傅里叶变换红外光谱法(Fourier transform infrared spectroscopy, FTIR)。Xu 等^[24]运用光谱技术鉴定 Cu(II)还原过程中 *Shewanella oneidensis* MR-1 的 EPS 中的氧化还原活性官能团,发现含 O 和 N 基团(如酚和酰胺)是电子转移和外部金属还原的有效氧化还原活性基团。

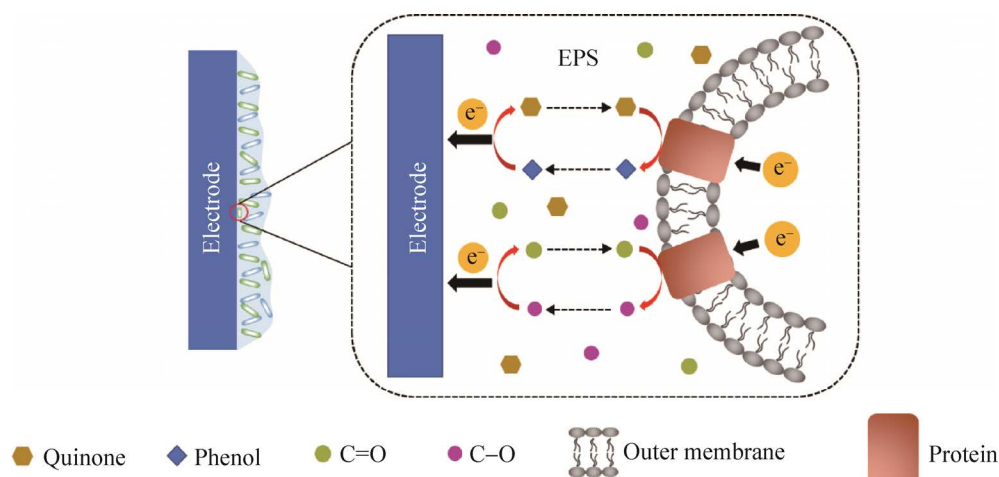


图 2 EPS 中官能团在 EET 中的作用(根据文献[28-29,39]绘制)

Figure 2 The role of functional groups of EPS in EET (adapted from reference [28-29,39]).

4 EPS 的物理性质及其对电活性的影响

微生物 EPS 的黏附性以及亲疏水性是 EPS 的重要的物理性质, 与化学性质不同, 黏附性和亲疏水性主要通过对其生存环境产生影响, 使微生物发生聚集, 形成具有更好导电性的致密的生物膜, 使细胞间 EPS 含量增多, 从而对 EPS 的电活性产生一定影响。粘附性是指电活性微生物 EPS 对胞外电子受体的附着能力, 是二者接触时发生相互结合的力, 蛋白质、多糖及其相互作用的结合维持了 EPS 的交联结构, 并调节 EPS 与载体表面的黏附, 可以通过带耗散的石英晶体微量天平(QCM-D 技术)对其进行表征^[42-43]。Xiao 等^[44]研究在环境压力为负的条件下微生物燃料电池(microbial fuel cells, MFCs)的电输出, 发现环境负压能够促进 EPS 对电极的黏附性, 从而加强细菌与电极的接触, 使微生物电子传递能力增强, 与正常环境相比, MFCs 最终的功率输出增加了 7 倍, 电压输出增加 20%。亲疏水性是指 EPS 通过分子间氢键与水形成短暂键结的能力, 能够影响微生物的聚集

过程, 进而影响微生物 EET。当微生物 EPS 处于疏水状态下时, 微生物容易发生聚集, 从而导致微生物间的 EPS 数量增多。其中的氧化还原蛋白含量增多, 即微生物间发生 EET 的介质含量增多, EPS 的电活性增强, 从而促进微生物间的电子传递过程^[34], 对其的表征通常为接触角检测。Jorand 等^[45]使用 XAD 树脂分离 EPS 中的亲水性组分和疏水性组分, 发现疏水部分主要为蛋白质, 而亲水部分主要由碳水化合物组成。Wang 等^[46]提出, EPS 主要通过疏水力与轻微的静电力介导微生物与电极间的黏附, 同时 EPS 的存在可以提高细胞的电子电位, 降低电子转移阻力, 从而促进电子转移。Ye 等^[47]通过添加硅油诱导 EPS 中主要呈疏水性的蛋白质含量增加, 从而使其表面疏水性提高 8 倍, 微生物电子传递系统活性由 $(182.7 \pm 25) \mu\text{mol-INT-Formazan}/(\text{g cell dry weight} \cdot \text{h})$ 提升至 $(283.5 \pm 32) \mu\text{mol-INT-Formazan}/(\text{g cell dry weight} \cdot \text{h})$ 。

5 EPS 的空间分布及其对电活性的影响

EPS 的空间分布是不均匀的, 在生物电化

学系统中,当生物膜与电极接触时, EPS 各组分空间分布的不同会对胞外电子转移效率产生影响。杨贵芹^[48]通过 CLSM 原位观察在不同阳极电位下染色后生物膜中 EPS 的空间分布,结果发现在 -0.2 V 电势下生长的里层生物膜(靠近电极)EPS 中主要的成分是蛋白和脂类,而糖类含量较少,蛋白质可与电极直接接触,从而使电子传递阻力减小,促进胞外电子传递,而在 0.6 V 和 0.4 V 条件下生长的内层 EPS 的主要成分是多糖,氧化还原活性蛋白主要位于生物膜内层,靠近电极的电子载体较少,从而增加了生物膜向电极转移电子的阻力,影响胞外电子传递,如图 3 所示。Li 等^[49]在通过纳米材料修饰 EABs 以促进 EET 的实验中,构建了梯度组装复合生物膜(gradient assembly of composite biofilm, GAC)与二次组装复合生物膜(secondary assembly of composite biofilm,

SAC) 2 种类型的生物膜,并通过 CLSM 对其 EPS 的组成和空间结构进行原位分析,结果发现 SAC 生物膜的内部层(58.87%)和中间层(72.05%)的蛋白质比例显著高于 GAC 生物膜(47.52%和 58.86%),而 SAC 的内部层和中间层的多糖比例低于 GAC。由于很多蛋白质具有氧化还原的活性,而过量的多糖累积在保护细胞的同时,也会对细胞外的电子传递产生一定影响,因此 SAC 的 EPS 介导的 EET 效率更高。

6 电活性微生物 EPS 的应用

吸附和降解是微生物去除污染物的 2 种主要模式,已有研究证明,细胞外聚合物在其中发挥重要作用。EPS 是一种潜在的生物絮凝剂,由于其可再生、可生物降解且天然环保,是一种具有经济价值的聚合物^[51]。电活性微生物 EPS 表面存在大量带负电荷的官能团,有助

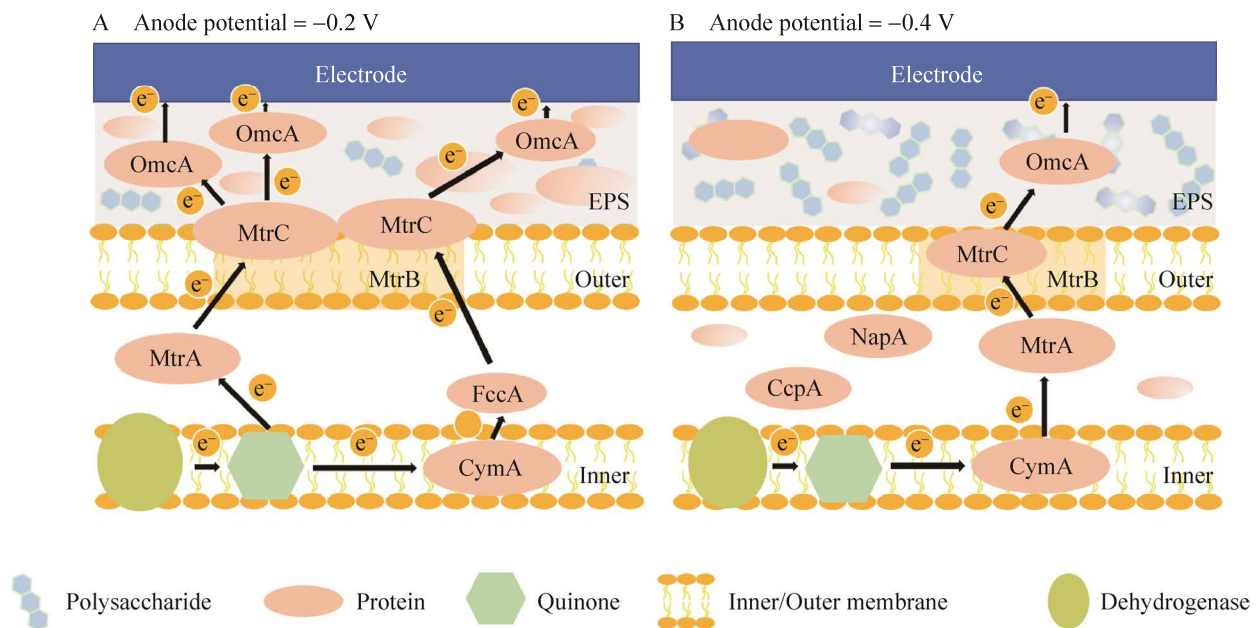


图 3 不同阳极电位下 *Shewanella oneidensis* EPS 组成成分的空间分布及其与 EET 的关系(根据文献 [18,46,48,50]绘制)

Figure 3 Spatial distribution of *Shewanella oneidensis* EPS components under different anode potentials and their relationship with EET (adapted from reference [18,46,48,50]). A: -0.2 V . B: 0.4 V .

于吸附重金属和有机污染物, 缓解重金属对微生物生存的毒性^[52], 在废水处理、生物修复、土壤侵蚀控制和促进甲烷生成^[53]方面具有较大的应用潜力。

6.1 电活性微生物 EPS 的吸附性应用

6.1.1 工业染料废水的脱色

纺织工业中染料和废水未经处理直接释放是导致水颜色变化、有机负荷增加的主要原因, 并可能通过食物链直接危害人体健康, 而生物吸附剂在染料废水处理方面有较好的应用前景。微生物 EPS 中的多糖和脂质通过在染料和细胞壁之间产生吸引力来作为生物吸附材料, 可用于吸附亚甲基蓝^[54]、甲苯胺蓝^[55]、结晶紫、孔雀石绿^[56]和 BB54^[55]等染料。Zhang 等^[57]将 *Proteus mirabilis* TJ-1 的 EPS 用作新型的生物吸附剂, 在间歇系统中的水溶液中去除染料 BB54, 在各种初始染料浓度(50–400 mg/L)下, 只需 5 分钟即可获得间歇吸附平衡, 对 BB54 的最大吸收量达到 2.005 g/g。Wang 等^[39]选用 *Bacillus* sp. CICC 23870 作为模型菌株, 提取其 EPS 与 Fe₃O₄ 制成 Fe₃O₄@EPS 复合材料, 评价其 EPS 对偶氮染料甲基橙(MO)生物还原的促进作用, 研究发现, 48 小时后, Fe₃O₄@EPS 复合材料表现出近 99%±0.2% 的最高降解效率。Janaki 等^[58]将从电活性菌 *Pseudomonas aeruginosa* G1 中提取的 EPS 与聚苯胺(Pn)一同制成复合材料, 以评价其处理活性染料的潜力, 结果发现由 4 种活性染料和过量辅助化学品组成的 Remazol 流出物在 60 分钟内被 Pn/EPS 复合材料完全脱色(溶液), 吸附动力学遵循伪一阶模型, 并遵循弗氏等温线模型。

6.1.2 渗滤液管理

垃圾渗滤液水质复杂, 含有多种有毒的有机物和无机物, 还含有难以生物降解的各种芳香族化合物, 使地下层水质日益恶化。EPS 可

辅助混凝-絮凝工艺处理旧的稳定渗滤液和去除新生成的渗滤液中的有机物, 与使用吸附剂和昂贵的膜相比, 这是一种更简单和经济的工艺^[52]。由 *Klebsiella pneumoniae* 产生的 EPS 作为生物絮凝剂对垃圾渗滤液中 COD 的去除率可达到 83%, 对氨氮、磷和硝酸盐-亚硝酸盐的去除率分别达到 75%、96%和 97%^[59]。

6.1.3 抗生素处理

抗生素是现代常用的处方药, 广泛用于治疗人类和动物疾病, 主要包括 β 内酰胺类(BLAs)、氟喹啉酮类(FQ)、四环素类(TCs)^[60]、大环内酯类(ML)和磺胺类(SA)等, 来自不同来源的抗生素最终都会流入污水处理厂, 给污水处理带来一定的困难。吸附和生物降解是目前处理含抗生素废水的有效处理措施^[61]。EPS 因其强大的生物吸附能力, 在抗生素的处理方面体现出一定的优势。有研究发现, 磺胺甲噁唑(SMZ)可有效地吸附在 EPS 上, EPS 吸附的磺胺甲噁唑(SMZ)在初始 2 h 内占总吸附量的 61.8%^[62], 有利于其在生物降解阶段被微生物去除和获取; 由 *Klebsiella* sp. J1 分泌的 EPS 对磺胺类抗生素磺胺甲噁唑(SMX)、磺胺甲噁唑(SM1)、磺胺甲噁唑(SM2)和磺胺嘧啶(SDZ)的生物吸附效率分别达到 70.0%、55.1%、51.8%和 46.7%, 符合 Langmuir、Freundlich 等温线模型^[63]; 在光照以及由 *Shewanella oneidensis* MR-1 产生的 EPS 介导的条件下, 对四环素的去除率达到 95.7%, 相比无 EPS 条件下增加了 89.1%^[64]; 在以蛋白胨为碳源, 溶液初始 pH 7 的条件下, 由 *Pseudomonas* sp. TC952 产生的 EPS 对四环素 TC 的去除率可达 72.8%^[65]。

6.2 电活性微生物 EPS 的电活性应用

6.2.1 工业废水、土壤中的重金属去除

EPS 通过官能团(羧基、胺基、羟基和磷酸基)为其他带电粒子或包括重金属的分子提供

结合位点, 然后通过静电相互作用与带正电荷的重金属结合, 形成络合物, 以便重金属可以在进入细胞之前被 EPS 吸收。An 等^[66]研究了 *Shewanella putrefaciens* CN32 不饱和生物膜对 Cr(VI) 的固定化, 发现其 EPS 是固定 Cr(VI) 的主要组分, 占总吸附 Cr(VI) 的 60% 以上, 其主要固定结合位点为蛋白质和多糖的羟基、羧基、磷基和氨基官能团。Huang 等^[67]研究了 *Shewanella putrefaciens* CN32 及其细胞外聚合物在 pH=7 条件下对针铁矿、赤铁矿中 As(III) 和 As(V) 的解吸影响, 发现当 EPS 浓度为 0.3 g/L 时, As(III) 和 As(V) 在溶液中的浓度将会降低 10%–45%。Cao 等^[68]通过比较 *Shewanella sp.* HRCR-1EPS 以及 EPS 最少含量下微生物对 U(VI) 的吸附与还原, 发现在 EPS 对 U(VI) 的固定化效果显著, EPS 中较高丰度的氧化还原蛋白(如 OMCs)有望通过还原机制驱动 EPS 固定 U(VI)。此外, 有研究发现在 *Escherichia coli* 和 *Shewanella oneidensis* MR-1 EPS 的氧化还原态介导下, 亚硒酸盐的去除效率由原本正常状态的 23.7%、33.4% 增加到 41.3%、54.7%, 并逐渐转化为硒纳米颗粒 SeNP, 而不含 EPS 的对照组中亚硒酸盐浓度未见减少, 结果说明 EPS 可以促进亚硒酸盐的转化, 使其毒性减弱, 其中的疏醇、醛基、酚基是主要的作用基团^[69]。

6.2.2 有机污染物的生物转化

当前只有少数研究报道了细胞外有机污染物的减少, 由于 EPS 中蛋白质和碳水化合物中羧基、羟基以及碳水化合物中磷酸基和巯基等官能团的存在, 使 EPS 与有机污染物之间以库仑力、范德华力或疏水相互作用形成络合物, 从而影响有机污染物的迁移或去除^[55,70]。在 Zhou 等^[41]的研究中提到, *Escherichia coli* 与 *Bacillus subtilis* EPS 中还原糖的半缩醛基团可作为主要电子供体, 其进一步产生还原电子转

移介质(对苯二酚和还原黄素)作为末端电子供体, 极大提高了对硝基芳烃化合物(NACs)的还原效率。Wang 等^[71]的实验证实, 由 *Shewanella sp.* XB (GU001720) 分泌的 EPS 中的氧化还原活性蛋白能通过细胞外电子转移显著促进黄酮介导的静息细胞对硝基苯的生物转化(转化率提高 63%), EPS 可作为硝基苯还原的生物催化剂。

7 展望

本文综述了电活性微生物胞外聚合物的电活性及其在胞外电子传递中的作用及其环境应用, 因其可再生、无毒、可生物降解和环保等特点, EPS 有望取代传统的生物絮凝剂, 成为新一代环境友好型生物絮凝材料, 用于吸附受污染土壤、水体中的重金属、抗生素和有毒有机物等污染物, 同时减少传统絮凝剂带来的二次污染问题。但目前关于 EPS 的研究仍然不够全面, 首先在提取方法上, 目前 EPS 提取方法不够统一且提取效率较低, 导致使用不同的提取方法提取的 EPS 提取量或组成成分差异很大, 无法在实验研究间进行很好地对比。其次在其作用机制上, EPS 在辅助电活性微生物胞外电子传递方面, 其与微生物间的相互作用机制尚不明了。当前 EPS 在环境中的应用主要集中在实验室层面, 尚未得到普遍的应用, 同时在其回收方面的研究较少。综上所述, 电活性微生物胞外聚合物值得研究的方向主要有:

(1) 目前 EPS 的提取方法种类较多, 导致 EPS 的量化不够规范, 需建立标准化的提取方法, 提高各研究的参考价值, 同时使不同组分 EPS 得到较好的分离。特别是对于电活性微生物 EPS, 在达到较高提取率的基础上, 需尽量提高对 EPS 中蛋白质、多糖和腐殖质等组分的提取率, 并避免对后续这些组分的定量产生影响, 以更准确地研究这些组分对电子传递过程

的影响。

(2) 在表征方法上, EPS 的各组成成分表征使用得较多的是比色法, 但是比色法容易受到 EPS 中存在的化合物或环境因素的干扰, 因此需要研究开发更加先进、准确的分析方法。

(3) EPS 的环境应用研究依然主要集中在实验室层面上, 对于它的大规模运用还有一定的距离, 因此可逐渐将小试转向中试, 通过在实际的环境条件下的实验来逐渐优化 EPS 的应用条件。

(4) EPS 作为一种有效的电化学活性物质, 它与电活性微生物共同作用促进污染物降解的机制尚不十分明确, 因此可通过共同作用下微生物表面的物理化学变化或代谢组学分析来探讨其机理。

(5) 在传统的生物电化学体系中, 通过添加外加催化剂来促进电活性微生物的 EET 经济成本较高, 可以考虑使用 EPS 作为介导材料来强化促进 EET。

(6) 当前关于电活性微生物 EPS 的应用主要集中在其吸附性能及电活性上, 而与电子传递过程相关的应用研究较少, 因此在未来的研究中, 可以通过外加 EPS 或改变微生物生存的环境条件(如阳极电位、光照)来调控 EPS 的含量或组成成分分布, 以促进电活性微生物的电子传递。

参考文献

- [1] THAPA BS, KIM T, PANDIT S, SONG YE, AFSHARIAN YP, RAHIMNEJAD M, KIM JR, OH SE. Overview of electroactive microorganisms and electron transfer mechanisms in microbial electrochemistry[J]. *Bioresource Technology*, 2022, 347: 126579.
- [2] PAQUETE CM, ROSENBAUM MA, BAÑERAS L, ROTARU AE, PUIG S. Let's chat: communication between electroactive microorganisms[J]. *Bioresource Technology*, 2022, 347: 126705.
- [3] 林霄涵, 杨帆, 赵峰. 微生物的胞外电子传递界面[J]. *环境化学*, 2021, 40(11): 3283-3296.
- [4] LIN XH, YANG F, ZHAO F. The interface of microbial extracellular electron transfer[J]. *Environmental Chemistry*, 2021, 40(11): 3283-3296 (in Chinese).
- [5] 马晨, 周顺桂, 庄莉, 武春媛. 微生物胞外呼吸电子传递机制研究进展[J]. *生态学报*, 2011, 31(7): 2008-2018.
- [6] MA C, ZHOU SG, ZHUANG L, WU CY. Electron transfer mechanism of extracellular respiration: a review[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2011, 31(7): 2008-2018 (in Chinese).
- [7] GUO JH, YANG GQ, ZHUANG Z, MAI QJ, ZHUANG L. Redox potential-induced regulation of extracellular polymeric substances in an electroactive mixed community biofilm[J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 797: 149207.
- [8] PAL A, PAUL AK. Microbial extracellular polymeric substances: central elements in heavy metal bioremediation[J]. *Indian Journal of Microbiology*, 2008, 48(1): 49-64.
- [9] LI SW, SHENG GP, CHENG YY, YU HQ. Redox properties of extracellular polymeric substances (EPS) from electroactive bacteria[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 39098.
- [10] FLEMMING HC, NEU TR, WOZNIAK DJ. The EPS matrix: the "house of biofilm cells"[J]. *Journal of Bacteriology*, 2007, 189(22): 7945-7947.
- [11] LU Q, CHANG M, YU Z, ZHOU SG. The effects of three commonly used extraction methods on the redox properties of extracellular polymeric substances from activated sludge[J]. *Environmental Technology*, 2015, 36(22): 2884-2891.
- [12] LIN ZQ, SHAO W, XU J, SHENG GP. Accurately quantifying the reductive capacity of microbial extracellular polymeric substance by mediated electrochemical oxidation method[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 673: 541-545.
- [13] SEDENHO GC, MODENEZ I, MENDES GR, CRESPILO FN. The role of extracellular polymeric substance matrix on *Saccharomyces cerevisiae* bioelectricity[J]. *Electrochimica Acta*, 2021, 393: 139080.
- [14] YANG GQ, HUANG LY, YU Z, LIU XM, CHEN SS, ZENG JX, ZHOU SG, ZHUANG L. Anode potentials regulate *Geobacter* biofilms: new insights from the composition and spatial structure of extracellular polymeric substances[J]. *Water Research*, 2019, 159: 294-301.
- [15] CASTRO L, ZHANG RY, MUÑOZ JA, GONZÁLEZ F, BLÁZQUEZ ML, Sand W, Ballester A. Characterization of exopolymeric substances (EPS) produced by *Aeromonas hydrophila* under reducing conditions[J].

- Biofouling, 2014, 30(4): 501-511.
- [14] SHENG GP, YU HQ. Characterization of extracellular polymeric substances of aerobic and anaerobic sludge using three-dimensional excitation and emission matrix fluorescence spectroscopy[J]. *Water Research*, 2006, 40(6): 1233-1239.
- [15] CARSTEEM EM, BRIDGEMAN J, BAKER A, REYNOLDS DM. Fluorescence spectroscopy for wastewater monitoring: a review[J]. *Water Research*, 2016, 95: 205-219.
- [16] XU RZ, CAO JS, FENG GY, LUO JY, FENG Q, NI BJ, FANG F. Fast identification of fluorescent components in three-dimensional excitation-emission matrix fluorescence spectra via deep learning[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2022, 430: 132893.
- [17] FELZ S, VERMEULEN P, van LOOSDRECHT MCM, LIN YM. Chemical characterization methods for the analysis of structural extracellular polymeric substances (EPS)[J]. *Water Research*, 2019, 157: 201-208.
- [18] XIAO Y, ZHAO F. Electrochemical roles of extracellular polymeric substances in biofilms[J]. *Current Opinion in Electrochemistry*, 2017, 4(1): 206-211.
- [19] TAN B, ZHOU SF, WANG Y, ZHANG BP, ZHOU LH, YUAN Y. Molecular insight into electron transfer properties of extracellular polymeric substances of electroactive bacteria by surface-enhanced Raman spectroscopy[J]. *Science China Technological Sciences*, 2019, 62(10): 1679-1687.
- [20] YANG GQ, LIN J, ZENG EY, ZHUANG L. Extraction and characterization of stratified extracellular polymeric substances in *Geobacter* biofilms[J]. *Bioresource Technology*, 2019, 276: 119-126.
- [21] PANKRATOVA G, HEDERSTEDT L, GORTON L. Extracellular electron transfer features of Gram-positive bacteria[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2019, 1076: 32-47.
- [22] HOU R, LUO C, ZHOU SF, WANG Y, YUAN Y, ZHOU SG. Anode potential-dependent protection of electroactive biofilms against metal ion shock via regulating extracellular polymeric substances[J]. *Water Research*, 2020, 178: 115845.
- [23] CAO B, SHI L, BROWN RN, XIONG YJ, FREDRICKSON JK, ROMINE MF, MARSHALL MJ, LIPTON MS, BEYENAL H. Extracellular polymeric substances from *Shewanella* sp. HRCR-1 biofilms: characterization by infrared spectroscopy and proteomics[J]. *Environmental Microbiology*, 2011, 13(4): 1018-1031.
- [24] XU H, HE EK, PEIJNENBURG WJGM, SONG L, ZHAO L, XU XY, CAO XD, QIU H. Contribution of pristine and reduced microbial extracellular polymeric substances of different sources to Cu(II) reduction[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, 415: 125616.
- [25] RODEN EE, KAPPLER A, BAUER I, JIANG J, PAUL A, STOESSER R, KONISHI H, XU HF. Extracellular electron transfer through microbial reduction of solid-phase humic substances[J]. *Nature Geoscience*, 2010, 3(6): 417-421.
- [26] 杨钰婷, 陈瑾, 陈姗姗, 周顺桂. 群感效应对电活性微生物胞外电子传递的影响[J]. *微生物学报*, 2020, 60(11): 2399-2411.
- YANG YT, CHEN J, CHEN SS, ZHOU SG. Advances in understanding the impact of quorum sensing on extracellular electron transfer of electroactive microorganisms[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2020, 60(11): 2399-2411 (in Chinese).
- [27] YAN WW, SUN FQ, LIU JB, ZHOU Y. Enhanced anaerobic phenol degradation by conductive materials via EPS and microbial community alteration[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2018, 352: 1-9.
- [28] GUO K, FREGUIA S, DENNIS PG, CHEN X, DONOSE BC, KELLER J, GOODING JJ, RABAEY K. Effects of surface charge and hydrophobicity on anodic biofilm formation, community composition, and current generation in bioelectrochemical systems[J]. *Environmental Science & Technology*, 2013, 47(13): 7563-7570.
- [29] DHAR BR, SIM J, RYU H, REN H, SANTO DOMINGO JW, CHAE J, LEE HS. Microbial activity influences electrical conductivity of biofilm anode[J]. *Water Research*, 2017, 127: 230-238.
- [30] ZHUANG Z, YANG GQ, MAI QJ, GUO JH, LIU X, ZHUANG L. Physiological potential of extracellular polysaccharide in promoting *Geobacter* biofilm formation and extracellular electron transfer[J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 741: 140365.
- [31] ZHUANG Z, YANG GQ, ZHUANG L. Exopolysaccharides matrix affects the process of extracellular electron transfer in electroactive biofilm[J]. *Science of the Total Environment*, 2022, 806: 150713.
- [32] LIU S, YI X, WU X, LI Q, WANG Y. Internalized carbon dots for enhanced extracellular electron transfer in the dark and light[J]. *Small: Weinheim an Der Bergstrasse, Germany*, 2020, 16(44): e2004194.
- [33] SHI YH, HUANG JH, ZENG GM, GU YL, CHEN YN, HU Y, TANG B, ZHOU JX, YANG Y, SHI LX. Exploiting extracellular polymeric substances (EPS) controlling strategies for performance enhancement of biological wastewater treatments: an overview[J]. *Chemosphere*, 2017, 180: 396-411.

- [34] LIAO YH, LI SJ, ZHU XF, DANG ZZ, TANG SY, JI GD. The promotion and inhibition effect of graphene oxide on the process of microbial denitrification at low temperature[J]. *Bioresource Technology*, 2021, 340: 125636.
- [35] SHEN L, LI ZF, WANG JJ, LIU AJ, LI ZH, YU RL, WU XL, LIU YD, LI JK, ZENG WM. Characterization of extracellular polysaccharide/protein contents during the adsorption of Cd(II) by *Synechocystis* sp. PCC6803[J]. *Environmental Science and Pollution Research International*, 2018, 25(21): 20713-20722.
- [36] FANG LC, YANG SS, HUANG QY, XUE AF, CAI P. Biosorption mechanisms of Cu(II) by extracellular polymeric substances from *Bacillus subtilis*[J]. *Chemical Geology*, 2014, 386: 143-151.
- [37] YU Q, FEIN JB. Sulfhydryl binding sites within bacterial extracellular polymeric substances[J]. *Environmental Science & Technology*, 2016, 50(11): 5498-5505.
- [38] KECK A, RAU J, REEMTSMA T, MATTES R, STOLZ A, KLEIN J. Identification of quinoid redox mediators that are formed during the degradation of naphthalene-2-sulfonate by *Sphingomonas xenophaga* BN₆[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2002, 68(9): 4341-4349.
- [39] WANG ZY, JU CJ, ZHANG R, HUA JQ, CHEN RP, LIU GX, YIN K, YU L. Acceleration of the bio-reduction of methyl orange by a magnetic and extracellular polymeric substance nanocomposite[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, 420: 126576.
- [40] WANG J, FU ZZ, LIU GF, GUO N, LU H, ZHAN YY. Mediators-assisted reductive biotransformation of tetrabromobisphenol-A by *Shewanella* sp. XB[J]. *Bioresource Technology*, 2013, 142: 192-197.
- [41] ZHOU XW, KANG FX, QU XL, FU HY, LIU J, ALVAREZ PJ, ZHU DQ. Probing extracellular reduction mechanisms of *Bacillus subtilis* and *Escherichia coli* with nitroaromatic compounds[J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 724: 138291.
- [42] LI ZW, LIN L, LIU X, WAN CL, LEE DJ. Understanding the role of extracellular polymeric substances in the rheological properties of aerobic granular sludge[J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 705: 135948.
- [43] LIAN ZY, YANG ZY, SONG WF, SUN MG, GAN Y, BAI XY. Effects of different exogenous cadmium compounds on the chemical composition and adsorption properties of two Gram-negative bacterial EPS[J]. *Science of the Total Environment*, 2022, 806: 150511.
- [44] XIAO Y, WU S, ZHANG F, WU YC, YANG ZH, ZHAO F. Promoting electrogenic ability of microbes with negative pressure[J]. *Journal of Power Sources*, 2013, 229: 79-83.
- [45] JORAND F, BOUÉ-BIGNE F, BLOCK JC, URBAIN V. Hydrophobic/Hydrophilic properties of activated sludge exopolymeric substances[J]. *Water Science and Technology*, 1998, 37(4/5): 307-315.
- [46] WANG J, TIAN BY, BAO YH, QIAN C, YANG YR, NIU TQ, XIN BP. Functional exploration of extracellular polymeric substances (EPS) in the bioleaching of obsolete electric vehicle LiNi_xCo_yMn_{1-x-y}O₂ Li-ion batteries[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2018, 354: 250-257.
- [47] YE JX, LIN TH, HU JT, POUDEL R, CHENG ZW, ZHANG SH, CHEN JM, CHEN DZ. Enhancing chlorobenzene biodegradation by *Delftia tsuruhatensis* using a water-silicone oil biphasic system[J]. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2019, 16(9): 1629.
- [48] 杨贵芹. *Geobacter soli* 胞外电子传递机制及其生物膜电活性研究[D]. 北京: 中国科学院大学博士学位论文, 2017.
- YANG GQ. Study on mechanism of extracellular electron transport and electroactivity of *Geobacter soli* biofilm[D]. Beijing: Doctoral Dissertation of University of Chinese Academy of Sciences, 2017 (in Chinese).
- [49] LI B, SUN JD, TANG C, ZHOU J, WU XY, JIA HH, WEI P, ZHANG YF, YONG XY. Coordinated response of Au-NPs/rGO modified electroactive biofilms under phenolic compounds shock: comprehensive analysis from architecture, composition, and activity[J]. *Water Research*, 2021, 189: 116589.
- [50] 杨永刚, 李道波, 许玫英. 微生物胞外长距离电子传递网络研究进展[J]. *微生物学报*, 2020, 60(9): 2072-2083.
- YANG YG, LI DB, XU MY. Research progress in microbial extracellular long-distance electron transport networks[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2020, 60(9): 2072-2083 (in Chinese).
- [51] KUMAR A, HSU LHH, KAVANAGH P, BARRIÈRE F, LENS PNL, LAPINSONNIÈRE L, LIENHARD VJH, SCHRÖDER U, Jiang XC, Leech D. The ins and outs of microorganism-electrode electron transfer reactions[J]. *Nature Reviews Chemistry*, 2017, 1: 24.
- [52] SIDDHARTH T, SRIDHAR P, VINILA V, TYAGI RD. Environmental applications of microbial extracellular polymeric substance (EPS): a review[J]. *Journal of Environmental Management*, 2021, 287: 112307.
- [53] HU AD, CHENG XY, WANG C, KANG L, CHEN P, HE QX, ZHANG GM, YE J, ZHOU SG. Extracellular polymeric substances trigger an increase in redox

- mediators for enhanced sludge methanogenesis[J]. *Environmental Research*, 2020, 191: 110197.
- [54] DING ZJ, BOURVEN I, GUIBAUD G, van HULLEBUSCH ED, PANICO A, PIROZZI F, ESPOSITO G. Role of extracellular polymeric substances (EPS) production in bioaggregation: application to wastewater treatment[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2015, 99(23): 9883-9905.
- [55] SHENG GP, ZHANG ML, YU HQ. Characterization of adsorption properties of extracellular polymeric substances (EPS) extracted from sludge[J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2008, 62(1): 83-90.
- [56] TAHIR U, YASMIN A. Role of bacterial extracellular polymeric substances (EPS) in uptake and accumulation of co-contaminants[J]. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 2019, 16(12): 8081-8092.
- [57] ZHANG ZQ, XIA SQ, WANG XJ, YANG AM, XU B, CHEN L, ZHU ZL, ZHAO JF, JAFFREZIC-RENAULT N, LEONARD D. A novel biosorbent for dye removal: extracellular polymeric substance (EPS) of *Proteus mirabilis* TJ-1[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2009, 163(1): 279-284.
- [58] JANAKI V, OH BT, VIJAYARAGHAVAN K, KIM JW, KIM SA, RAMASAMY AK, KAMALA-KANNAN S. Application of bacterial extracellular polysaccharides/polyaniline composite for the treatment of Remazol effluent[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2012, 88(3): 1002-1008.
- [59] NDAO A, DROGUI P, TYAGI RD. Enhancement of landfill leachate treatment using extracellular polymeric substances as bio-flocculants[J]. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 2022, 57(1): 62-70.
- [60] XU QY, HAN B, WANG HD, WANG QD, ZHANG WJ, WANG DS. Effect of extracellular polymer substances on the tetracycline removal during coagulation process[J]. *Bioresource Technology*, 2020, 309: 123316.
- [61] OBEROI AS, JIA YY, ZHANG HQ, KHANAL SK, LU H. Insights into the fate and removal of antibiotics in engineered biological treatment systems: a critical review[J]. *Environmental Science & Technology*, 2019, 53(13): 7234-7264.
- [62] XU J, SHENG GP, MA Y, WANG LF, YU HQ. Roles of extracellular polymeric substances (EPS) in the migration and removal of sulfamethazine in activated sludge system[J]. *Water Research*, 2013, 47(14): 5298-5306.
- [63] PI SS, LI A, CUI D, SU Z, FENG L, MA F, YANG JX. Biosorption behavior and mechanism of sulfonamide antibiotics in aqueous solution on extracellular polymeric substances extracted from *Klebsiella* sp. J1[J]. *Bioresource Technology*, 2019, 272: 346-350.
- [64] ZHOU SF, LIAO ZY, ZHANG BP, HOU R, WANG Y, ZHOU SG, ZHANG YF, REN ZJ, YUAN Y. Photochemical behavior of microbial extracellular polymeric substances in the aquatic environment[J]. *Environmental Science & Technology*, 2021, 55(22): 15090-15099.
- [65] TAN ZW, ABDOULAHY MH, YANG XY, ZHU YM, GONG BN, LI YT. Carbon source type can affect tetracycline removal by *Pseudomonas* sp. TC952 through regulation of extracellular polymeric substances composition and production[J]. *Science of the Total Environment*, 2022, 804: 149907.
- [66] AN H, TIAN T, WANG ZT, JIN RF, ZHOU JT. Role of extracellular polymeric substances in the immobilization of hexavalent chromium by *Shewanella putrefaciens* CN32 unsaturated biofilms[J]. *Science of the Total Environment*, 2022, 810: 151184.
- [67] HUANG JH, ELZINGA EJ, BRECHBUEHL Y, VOEGELIN A, KRETZSCHMAR R. Impacts of *Shewanella putrefaciens* strain CN-32 cells and extracellular polymeric substances on the sorption of As(V) and As(III) on Fe(III)-(hydr)oxides[J]. *Environmental Science & Technology*, 2011, 45(7): 2804-2810.
- [68] CAO B, AHMED B, KENNEDY DW, WANG ZM, SHI L, MARSHALL MJ, FREDRICKSON JK, ISERN NG, MAJORS PD, BEYENAL H. Contribution of extracellular polymeric substances from *Shewanella* sp. HRCR-1 biofilms to U(VI) immobilization[J]. *Environmental Science & Technology*, 2011, 45(13): 5483-5490.
- [69] ZHANG X, FAN WY, YAO MC, YANG CW, SHENG GP. Redox state of microbial extracellular polymeric substances regulates reduction of selenite to elemental selenium accompanying with enhancing microbial detoxification in aquatic environments[J]. *Water Research*, 2020, 172: 115538.
- [70] DONG DM, ZHANG LW, GUO ZY, HUA XY. The role of extracellular polymeric substances on the sorption of pentachlorophenol onto natural biofilms in different incubation times: a fluorescence study[J]. *Chemistry and Ecology*, 2017, 33(2): 131-142.
- [71] WANG J, LU H, ZHOU Y, SONG Y, LIU GF, FENG YJ. Enhanced biotransformation of nitrobenzene by the synergies of *Shewanella* species and mediator-functionalized polyurethane foam[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2013, 252/253: 227-232.