王鸿洋,尤 佳,晏再生,等.磁铁矿介导沉积物中菲的微生物降解机制 [J]. 中国环境科学, 2025,45(1):208-222.
Wang H Y, You J, Yan Z S, et al. Microbial mechanism of magnetite addition on the biodegradation of phenanthrene in sediments [J]. China Environmental Science, 2025,45(1):208-222.

磁铁矿介导沉积物中菲的微生物降解机制

王鸿洋[1,2,3],尤 佳[3,4],晏再生[2,3*],江和龙[2,3],叶华香[1*] (1.哈尔滨师范大学地理科学学院,黑龙江 哈尔滨 150025；2.中国科学院南京地理与湖泊研究所,湖泊与流域水安全重点实验室,江苏 南京 210008；3.中国科学院南京地理与湖泊研究所,湖泊与环境国家重点实验室,江苏 南京 210008；4.东南大学土木工程学院,江苏 南京 210096)

摘要：制备两种不同形态的磁铁矿(纳米 Fe_3O_4 和微米 Fe_3O_4),对不同形态磁铁矿介导下沉积物中 PAHs 的生物降解影响进行了探究. 在有氧条件下,纳米 Fe_3O_4 和微米 Fe_3O_4 未明显降低沉积物 PAHs 总含量. 为进一步探究在不同氧化还原条件下磁铁矿对 PAHs 的厌氧生物降解影响,以菲为目标污染物,通过富集和培养沉积物中的相关降解菌群落,在不同氧化还原条件下投加两种形态的磁铁矿进行培养实验,发现投加 Fe_3O_4 在一定程度上促进了菲的厌氧生物降解. 在没有外加电子受体的条件下微米 Fe_3O_4 能显著促进菲的降解,而在硫酸盐或硝酸盐处理组中纳米 Fe_3O_4 对菲降解的促进效果更显著,菲降解速率常数是对照组的 1.39 倍. 电子传递体系(ETS)活性结果表明,投加 Fe_3O_4 可以显著提高微生物呼吸活性.纳米 Fe_3O_4 处理组和微米 Fe_3O_4 处理组的 ETS 活性较对照组分别提高了 441.7%~511.2%和 113.8%~141.1%.微生物群落结构表明,投加 Fe_3O_4 增加了芳香化合物降解菌 *Hydrogenophaga* 及 *Ignavibacterium* 的丰度;相对于微米 Fe_3O_4,纳米 Fe_3O_4 提高了 PAHs 降解菌 *Achromobacter* 和 *Ensifer* 的丰度.另外,纳米 Fe_3O_4 可能通过释放更多的 Fe(Ⅱ)和 Fe(Ⅲ)来介导微生物间的电子转移. 这些结果有助于深入理解磁铁矿在有机污染物生物降解过程中的重要作用,为污染沉积物修复提供了一种潜在的应用方法.

关键词：磁铁矿；多环芳烃；生物降解；电子传递
中图分类号：X524 **文献标识码**：A **文章编号**：1000-6923(2025)01-0208-15

Microbial mechanism of magnetite addition on the biodegradation of phenanthrene in sediments. WANG Hong-yang[1,2,3], YOU Jia[3,4], YAN Zai-sheng[2,3*], JIANG He-long[2,3], YE Hua-xiang[1*] (1.School of Geographical Sciences, Harbin Normal University, Harbin 150025, China；2.Key Laboratory of Lake and Watershed Science for Water Security, Nanjing Institute of Geography and Limnology, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China；3.State Key Laboratory of Lake Science and Environment, Nanjing Institute of Geography and Limnology, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China；4.School of Civil Engineering, Southeast University, Nanjing 210096, China). *China Environmental Science*, 2025,45(1)：208~222

Abstract：In the surface environments, magnetite (Fe_3O_4) serves as an electron receptor and donor for microbial extracellular respiration, facilitating interspecies electron transfer as a means to promote the biodegradation of organic pollutants. It has gradually found application in the realm of water pollution remediation. The interplay between magnetite and the mineral-microbe interface assumes a profoundly pivotal role. However, the biodegradation mechanism of PAHs in sediments mediated by different morphologies of magnetite remains unclear. In this paper, two different morphologies of magnetite (micron Fe_3O_4 and nano Fe_3O_4) were prepared to investigate the effect of the magnetite on the biodegradation of PAHs in sediments. Under aerobic conditions, the addition of magnetite did not appreciably reduce the total content of PAHs and certain high-ring PAHs in the sediment. Nevertheless, the introduction of magnetite significantly diminished the levels of low-ring PAHs (naphthalene and phenanthrene) in the sediment. To further investigate the anaerobic biodegradation influence of magnetite on PAHs under varying redox conditions, with phenanthrene as the target pollutant, enrichment and cultivation experiments were conducted with the indigenous degrading microbial communities in the sediment. Two forms of magnetite were introduced under different redox conditions. The results revealed that the augmented treatment with magnetite or electron acceptors somewhat promoted anaerobic biodegradation. Under natural attenuation conditions, the independent addition of micron Fe_3O_4 significantly enhanced phenanthrene degradation, whereas the effect of nano Fe_3O_4 on phenanthrene degradation was more pronounced under sulfate and nitrate reducing conditions.The phenanthrene degradation rate constant under sulfate reducing condition was 1.39 times higher than that of the control treatment. Electron transfer system (ETS) activity demonstrated that the addition of Fe_3O_4 significantly enhances microbial respiration activity. Compared with the control, the ETS activity of the nano-Fe_3O_4 and the micro-Fe_3O_4 treatment increased by 441.7%~511.2% and

收稿日期：2024-06-21

* 责任作者, 副研究员, zshyan@ niglas.ac.cn; 副教授, yhx1119@hrbnu.edu.cn

113.8%~141.1%, respectively. The microbial community structure indicated that the addition of Fe_3O_4 increased the abundance of aromatic compound-degrading bacteria such as *Hydrogenophaga* and *Ignavibacterium*, and relative to micron Fe_3O_4, nano Fe_3O_4 augments the abundance of PAH-degrading bacteria, *Achromobacter* and *Ensifer*. Furthermore, nano Fe_3O_4 may mediate intermicrobial electron transfer by releasing more Fe(II) and Fe(III). These findings contribute to a deeper comprehension of the pivotal role of magnetite in the biodegradation of organic pollutants, offering a potential approach for the remediation of contaminated sediments.

Key words：magnetite；polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs)；biodegradation；electron transfer

多环芳烃(PAHs)是环境中广泛存在的一类持久性有机污染物,经地表径流、污水排放及大气颗粒迁移和沉降而进入湖泊、河流等水体中.由于 PAHs 具有较高的疏水性和固液分配系数,进入水体中的 PAHs 易于吸附在颗粒物上,极易聚集到沉积物中,因此沉积物被认为是其主要的环境归宿之一[1-4].而湖泊河口区是陆-湖相互作用的耦合带,是污染物产生物理、化学和生物作用最活跃的地带,其沉积物中 PAHs 来源复杂,不仅接纳河流径流的污染物,而且汇集了河口及近岸污水、船舶等多种来源的污染物,局部区域处于高度甚至重度污染水平.河口沉积物中潜在致癌性的高环 PAHs 的比例呈递增趋势[5-6],这些区域内 PAHs 污染会对水生态系统产生负面影响,甚至严重威胁到人类的身体健康[6-7].因此,有效地控制和修复入湖河口沉积物中 PAHs 污染,对改善湖泊水环境质量和湖泊生态系统显得尤为重要和紧迫[8].

生物降解在 PAHs 的迁移转化、自然分解甚至最终从环境中消失的过程中占有重要的地位,是沉积物中 PAHs 去除最主要的途径[1,9].微生物是有机污染水体沉积物原位修复的重要驱动者[10-11].与有氧条件下生物降解相比,微生物在厌氧条件下的呼吸类型和代谢机制更为复杂.铁氧化物、硝酸盐和硫酸盐是水体沉积物中微生物厌氧呼吸与代谢最常用的三类电子受体[1,9,12].硝酸盐和硫酸盐作为电子受体,常用作溶解态形式添加到污染沉积物中.已有研究表明投加硝酸盐或硫酸盐作为末端电子受体可以促进PAHs的厌氧生物降解(硝酸盐还原或硫酸盐还原),其在沉积物有机污染物的治理与修复中发挥重要作用[1,9,11].然而,硝酸盐和硫酸盐作为溶解态电子受体,易于受到沉积物孔隙水流的影响,随孔隙水流流失其作用效果会降低,且对水生态系统可能造成负面影响[13].铁氧化物的形态多样,最常使用的类型主要为无定型铁氧化物(FeOOH)[14]和磁铁矿(Fe_3O_4)[15].早先的研究表明异化铁还原菌 *Geobacter metallireducens*、*Shewanella oneidensis* 等能够将铁氧化物中的 Fe(III)作为终端电子受体进行胞外呼吸,并且微生物在铁呼吸的同时降解转化有机污染物[16].更为重要的是,具有混合价态的铁氧化物,如 Fe_3O_4,在微生物胞外呼吸中既可以作为电子受体又可以作为电子供体,对环境的氧化—还原电位起到重要的调节作用[17].研究发现,采用微米级 Fe_3O_4 和纳米级 Fe_3O_4 促进了微生物在甲烷化条件下菲的厌氧降解[18].相关研究发现[19]利用纳米 Fe_3O_4 处理受 PAHs 污染的土壤,纳米级 Fe_3O_4 提供的铁元素可以刺激某些细菌活性,从而促进 PAHs 的降解.然而,Shen 等[20]的研究却发现 Fe_3O_4 颗粒会抑制萘的生物降解.还有研究发现不同尺寸大小的 Fe_3O_4(亚微米级与纳米级)会影响污染物的去除效果[18].这些研究表明 Fe_3O_4 影响沉积物中 PAHs 的生物降解机理有待进一步阐明.此外,越来越多的研究发现受污染沉积物环境中存在着大量能以多种电子受体进行复合代谢功能的微生物,磁铁矿介导下对这些微生物降解有机污染物的影响尚不清楚.因此,本研究制备了两种不同形态的磁铁矿(微米 Fe_3O_4 和纳米 Fe_3O_4),在有氧和厌氧条件下研究其对沉积物中 PAHs 生物降解的影响,比较磁铁矿在不同氧化还原条件下对 PAHs 的降解行为和降解动力学,分析其电子传递体系活性差异并且探究磁铁矿存在条件下微生物驱动有机污染物降解转化的机制.研究对揭示磁铁矿介导下微生物驱动的污染物地球化学循环过程、机制及其环境调控机理具有重要意义,为受损区域水生态系统功能恢复和有效开展污染环境生物修复提供重要的理论支持.

1　材料与方法

1.1　沉积物的采集及保存

沉积物样品采自江苏省苏州市东山镇东太湖

入湖河道大水港(31.07114°N,120.4119°E).大水港是东太湖的入湖河道之一,是苏州东山镇船舶建造、船舶维修基地,水体常年受到机油、柴油等污染[5-6].将采集的大水港沉积物样品放入自封袋并立即运输至实验室.使用 2mm 筛网去除沉积物样品中的粗碎屑和砾石,采用这些沉积物样品进行生物降解试验.部分沉积物样品保存在 4 和−20℃冰箱待分析其它理化指标.

1.2 磁铁矿的制备与表征

研究使用的纳米 Fe_3O_4 根据以前研究报道[21-22]并加以改进制备而成,具体过程为:控制铁盐浓度为 0.5mol/L,NaOH 浓度为 0.25mol/L,控制物质的量之比为 Fe^{2+}:Fe^{3+}:OH^-=1:1:6[23].本研究中将 6.95g $FeSO_4·7H_2O$ 与 6.7625g $FeCl_3·6H_2O$ 溶于 100mL 无氧去离子水中,在 30℃条件下水浴并不断搅拌.快速向其中加入 600mL 0.25mol/L NaOH 溶液,搅拌 1h 后放置沉淀去除上清液.向剩余沉淀中加入除氧去离子水重复洗涤沉淀至中性后分散于装有去离子水的烧杯中,制备得到稳定的 Fe_3O_4 纳米溶液.经电感耦合等离子体发射光谱仪(ICP)测试溶液中 Fe 浓度为 6.2g/L.

研究使用的微米 Fe_3O_4 根据以前研究报道[15,24]并加以改进制备而成,具体过程为:控制物质的量之比为 Fe^{3+}:Fe^{2+}=1.75:1.将 1mol/L 的 NaOH 快速加入到有 11.606g $FeSO_4·7H_2O$ 与 19.763g $FeCl_3·6H_2O$ 的溶液中直至溶液 pH 值达到 11.0,搅拌速度 800~1000r/min.将烧杯置于 80℃的水浴锅反应 1.5h,将所得沉淀反复洗涤至中性后自然干燥.此条件下得到的 Fe_3O_4 产物纯度最高,粒径尺度最大[25].

通过透射电子显微镜(TEM)和 X 射线衍射仪(XRD)对纳米 Fe_3O_4 的表面形貌和微观晶相构成进行了表征;通过扫描电子显微镜(SEM)、激光粒度分析仪和 XRD 对制备的微米 Fe_3O_4 表面形貌、颗粒的大小和分布以及微观晶相进行了表征.

1.3 有氧条件下磁铁矿对沉积物中 PAHs 降解的影响

使用 150mL 反应器加入 40g 受 PAHs 污染的湿沉积物样品和 70mL 去离子水,分别添加 0.4g 微米 Fe_3O_4 固体或 47mL 纳米 Fe_3O_4 溶液混合均匀.试验设置不同处理组,分别为:(1)纳米 Fe_3O_4 处理组;(2)微米 Fe_3O_4 处理组;(3)对照组,即不添加 Fe_3O_4 的 PAHs 自然降解对照组.反应器放置在摇床中培养 26d,培养温度为 25℃,转速为 150r/min.试验结束后,测定不同处理条件下沉积物中残留 PAHs 浓度.

1.4 PAHs 降解菌的富集培养

为富集培养 PAHs 降解菌,选择菲作为目标污染物,进行了一系列培养转接实验.将 10g 新鲜的湿沉积物样品置于 200mL 灭菌蒸馏水中搅拌混合,放置于恒温振荡培养箱内(25℃,120r/min)培养 12h.将悬浊培养液静置 1h,移取 10mL 浓缩培养物至装有 200mL 液体培养基的锥形瓶.将培养基 pH 值调节至 7.2~7.4,采用 0.22μm 滤膜过滤灭菌的方式加入菲溶液,使培养液中菲的浓度约为 2mg/L,并向培养液中充入氮气 30min,形成厌氧环境.培养基的组分为[14](/L):K_2HPO_4 0.27g;KH_2PO_4 0.35g;NH_4Cl 1.07g;$CaCl_2•2H_2O$ 0.1g;$MgCl_2•6H_2O$ 0.1g;微量元素溶液 1mL.其中,微量元素溶液的组分为[20]:$CoCl_2•6H_2O$ 0.19g/L;$MnCl_2•4H_2O$ 0.07g/L;$ZnCl_2$ 0.07g/L;$NiCl_2•6H_2O$ 0.024g/L;$Na_2MoO_4·H_2O$ 0.024g/L;H_3BO_3 0.006g/L;$CuCl_2•2H_2O$ 0.003g/L;$FeCl_2•4H_2O$ 1.5g/L.

将锥形瓶置于恒温振荡培养箱内(25℃,200r/min)培养 5d.为了获得稳定的细菌群落,将 20mL 富集培养液重新转接到新的 200mL 厌氧培养基中,提高菲浓度至 4mg/L 左右,7d 后再次转接富集培养液至新的厌氧培养基中.共转接 3 次,每次添加菲浓度至 4mg/L.在菲基本降解后取悬浮菌液作为沉积物中菲降解菌的富集培养液.

1.5 磁铁矿在不同氧化还原条件下对 PAHs 的降解行为和降解动力学

所有培养均在 50mL 厌氧血清瓶中进行,磁铁矿在不同氧化还原条件下处理组设计如表 1 所示.其中,每个血清瓶添加 28mL 厌氧培养基,Fe_3O_4 以 20mmol/L(以 Fe 计)、外加电子受体(硫酸钠 Na_2SO_4、硝酸钠 $NaNO_3$)以 20mmol/L 的量投加[14].每个处理组设置 3 个平行.血清瓶用丁基橡胶塞密封前充氮气 5min,高压灭菌 30min.灭菌后待小瓶冷却至室温,使用无菌注射器接种 0.1mL 的菲储备液(1000mg/L)以及 2mL 沉积物富集培养液.在 28℃、200r/min 的条件下恒温培养,测定菲的初始浓度为(1120.71±40.57)μg/L.在第 36,60,108,180h 使用无菌注射器进行取样,测定各处理组中 PAHs 浓度.

表 1　磁铁矿在不同氧化还原条件下处理组设计

Table 1　Design of magnetite treatment groups under different redox conditions

处理组	培养条件及电子受体
T1	对照组,自然降解
T2	纳米 Fe_3O_4 处理组,Fe_3O_4
T3	微米 Fe_3O_4 处理组,Fe_3O_4
T4	硫酸盐处理组,SO_4^{2-}
T5	硝酸盐处理组,NO_3^-
T6	硫酸盐及纳米 Fe_3O_4 处理组,Fe_3O_4 与 SO_4^{2-}
T7	硝酸盐及纳米 Fe_3O_4 处理组,Fe_3O_4 与 NO_3^-
T8	硫酸盐及微米 Fe_3O_4 处理组,Fe_3O_4 与 SO_4^{2-}
T9	硝酸盐及微米 Fe_3O_4 处理组,Fe_3O_4 与 NO_3^-

1.6　分析项目与测定方法

沉积物中 PAHs 的提取按照如下方法[6]:对沉积物样品进行冷冻干燥、研磨过筛.采用二氯甲烷溶剂加速溶剂萃取法(ThermoFisher,Dionex ASE 350)萃取不同沉积物样品中的 PAHs.提取物通过硅胶柱净化,并通过乙腈洗脱获得 PAHs 浓缩液,并通过旋转蒸发并氮吹浓缩至 1mL.水相中的 PAHs 的提取按照 Yan 等[14]方法进行:将水样和乙腈以 1:1 比例混合,超声 50min,将水相中的 PAHs 萃取到乙腈相.PAHs 的分析采用 Agilent 1200 高效液相色谱仪(HPLC),以二极管阵列紫外检测器(DAD)串联荧光检测器(FLD)进行 PAHs 的定性和定量分析[26].具体方法如下[27]:色谱柱为 C18(4.6mm×150mm),流动相为乙腈和水以 60:40 体积比的溶液,进样量为 20μL,流速控制在 1mL/min,柱温度为 30℃.荧光检测器(FLD)激发波长 Ex=260nm,发射波长 Em=380nm,紫外检测器(DAD)检测波长为 238nm,参比波长为 360nm.通过 PAHs 标准品的色谱图保留时间,确定沉积物样品中 16 种优先控制 PAHs 单体的峰位置,进而通过峰面积利用标准曲线反算出 PAHs 的浓度.

PAHs 的中间代谢产物与 PAHs 样品提取方法一致.使用气相色谱-质谱联用仪(GC-MS)对 PAHs 代谢产物进行检测.样品通过 HP-5ms 弹性石英毛细色谱柱进行分离,柱温变化如下:(1)程序升温起始温度为 60°C,保持 2min.(2)以 20°C/min 的速度提温至 180°C.(3)维持在 180°C 13min.(4)以 10°C/min 的速度提温至 300°C.(5)维持在 300°C 30min.样品分析结束后,使用 NIST 20MS 光谱库进行检索匹配,并结合相关文献、相对保留时间等对代谢产物进行定性分析.

沉积物样品的其他理化指标按照如下方法测定[28].沉积物中的总有机碳(TOC)通过重铬酸盐氧化和硫酸亚铁溶液滴定测定,总氮(TN)和总磷(TP)含量的测定均采用过硫酸盐氧化法通过分光光度计测定.沉积物中 Fe(III)和 Fe(II)含量可通过 Ferrozine 法测定,其中 Fe(II)含量通过 HCl 提取后利用分光光度分析测得,Fe(III)含量通过盐酸羟胺还原 Fe(III)后测得的总铁的量与 Fe(II)含量的差值可得.沉积物间隙水中 NO_3^-和 SO_4^{2-}浓度通过离子色谱法(dionex ICs-2000)进行测定.

使用 INT 法[29]对 180h 的不同处理组中的富集培养液微生物 ETS 活性进行测定.将 3mL 培养液、2mL Tris-HCl 缓冲液和 1mL 0.2% INT 溶液(空白管则加入 1mL 纯水代替 INT 溶液)加入一个 10mL 离心管中.将离心管放入 37℃的水浴中振荡培养 4h.加入 1mL 37%甲醛以终止酶反应.以 4000r/min 离心 5min,将上清液轻轻弃去,加入 5mL 甲醇,混合搅拌均匀.继续在 37℃下暗处振荡萃取 10min,然后以 4000r/min 离心 5min.取上清液在 485nm 处测定上清液的吸光度,根据标准曲线由公式(1)计算 ETS 活性值.

$$U^T = \frac{A_{485}V}{K_T W_t} \tag{1}$$

式中:U^T 是 INT-ETS 活性,μg/(h·mL);A_{485} 是波长 485nm 处的上清液吸光度;V 是萃取剂体积,mL;K_T 为标准曲线斜率;W 为培养液体积,mL;t 为培养时间,h.

微生物群落测试分析方法如下[1].180h 时采集不同处理组的培养液后立即进行 DNA 提取.使用试剂盒(QIAGEN)提取样品的 DNA.使用 Nanodrop 2000 分光光度计(Nanodrop Technologies, Wilmington,USA)测量 DNA 纯度(260nm/280nm 和 260nm/230nm 的吸光度比)和浓度.将提取后的微生物样品送至广东美格基因生物科技有限公司进行 PCR 扩增和 Illumina 测序.选择 V4-V5 区域引物,引物序列为 515F(GTGCCAGCMGCCGCGGTAA)和 806R (CCGTCAATTCMTTTRAGTTT). 使用 Usearch 软件进行序列分析,以 97%的一致性将序列聚类成为 OTU,默认一个 OTU 可能代表一个物种,根据 OTU 注释确定微生物群落组成.

1.7　数据处理与分析

实验数据采用 Origin 2021 进行分析与制图.显

著性检验采用 IBM SPSS Statistics 24 进行统计学分析(单因素 ANOVA 检验,$p<0.05$ 表示有显著性意义,使用小写字母来显示数据之间的显著差异),若方差齐性则采用 LSD 方法进行多重比较检验,若方差不齐性,则采用 Dunett's T3 进行多重比较检验.

不同还原条件下 PAHs 的生物降解用一级动力学方程(2)描述.PAHs 化合物的半衰期 $t_{1/2}$ 由公式(3)计算.

$$C = C_0 e^{-kt} \quad (2)$$

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k} \quad (3)$$

式中:C_0 是 PAHs 的初始浓度;C 是 t 时刻的 PAHs 浓度;k 是一级反应速率常数.

2 结果与讨论

2.1 两种不同形态磁铁矿的制备与表征

对共沉淀法制备的两种形态的磁铁矿(图 1A)进行了表征以了解其表面形貌.纳米 Fe_3O_4 的 TEM 图像如图 1B,可以观察到该方法合成的纳米 Fe_3O_4 形状近似于球状,其粒子尺寸均匀且分散性良好,粒径约为 10~20nm.微米 Fe_3O_4 的 SEM 显微照片如图 1C 所示,可以看出微米 Fe_3O_4 呈粒状或块状.激光粒度仪测得的微米 Fe_3O_4 尺寸分布如图 1D,粒度累积分布中 50%所对应的直径为 26.337 μm.图 1E 为两种不同形态 Fe_3O_4 的 XRD 图谱,在衍射角 2θ=30.2°、35.4°、43.2°、57.2°和 62.7°处均出现了 5 个明显的衍射峰,与 Fe_3O_4 的 XRD 标准卡片(JCPDS no.19− 0629)一致,分别对应于(220)、(311)、(400)、(511)和(440)晶面.同时衍射峰较尖锐,表明合成的 Fe_3O_4 纯度高,晶体细小且晶化度较好.以上结果表明,制备成功纳米 Fe_3O_4 与微米 Fe_3O_4 具有不同尺寸大小和形态特征.

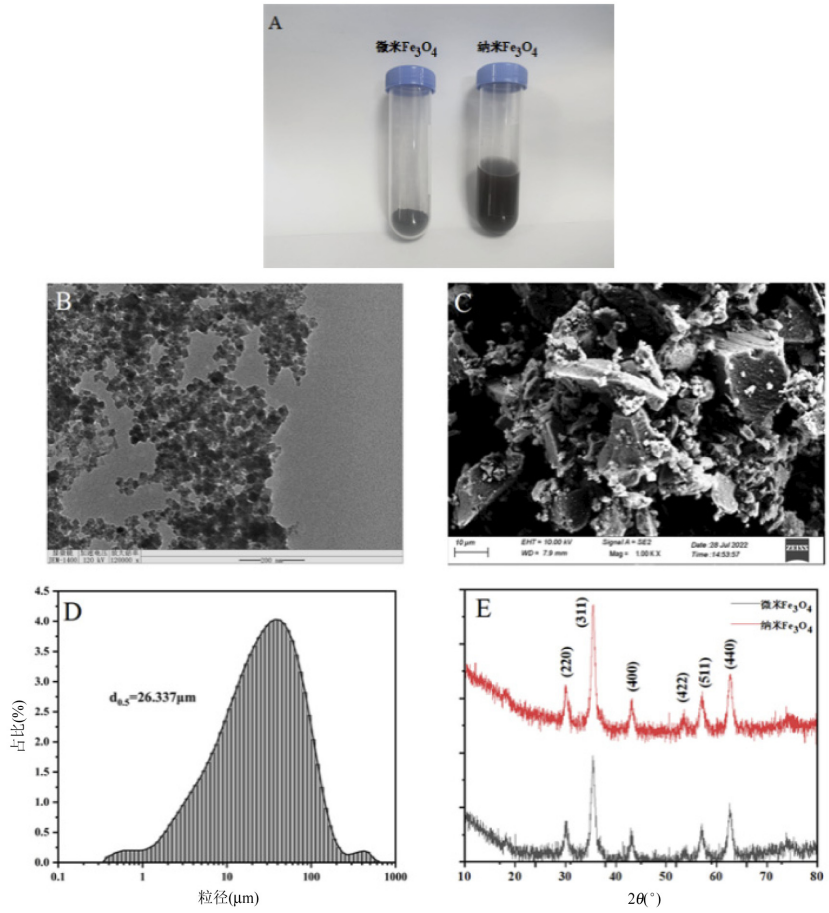

图 1 (A)制备的微米 Fe_3O_4 和纳米 Fe_3O_4;(B)纳米 Fe_3O_4 的 TEM 图;(C)微米 Fe_3O_4 的 SEM 图;(D)微米 Fe_3O_4 的粒径分布图;(E)微米 Fe_3O_4 和纳米 Fe_3O_4 的 XRD 图

Fig.1 (A) The image of micron Fe_3O_4 and nano Fe_3O_4;(B) TEM image of nano Fe_3O_4; (C) SEM image of micron Fe_3O_4; (D) Particle size distribution of micron Fe_3O_4; (E) XRD images of micron Fe_3O_4 and nano Fe_3O_4

2.2　有氧条件下磁铁矿对沉积物中PAHs降解的影响分析

首先测定初始大水港沉积物中电子受体(NO_3^-、Fe(III)、SO_4^{2-})、电子供体Fe(II),TOC、TN、TP及PAHs含量等地球化学参数.发现初始大水港沉积物中电子受体 SO_4^{2-}浓度((242.49±28.62) mg/L)显著高于 NO_3^-((0.56±0.20) mg/L)和 Fe(III)浓度((49.64± 11.96) μmol/g).电子供体Fe(II)浓度为(59.11±4.28) μmol/g.沉积物中 TOC、TN、TP的浓度分别为(2.05±0.04) %、(1.06±0.14) mg/g、(1.55±0.05) mg/g.尤为关注的是沉积物中总 PAHs浓度达到了(31.27±4.10) mg/kg.根据沉积物质量评价等级,大水港沉积物中PAHs污染为重度污染,其浓度已超过生态风险区间低值(4mg/kg),该区域内 PAHs 污染可能会对生物产生负面影响,威胁人类的身体健康[5-6].因此,在地表关键带中,强化磁铁矿—微生物的相互作用以促进有机污染物的微生物降解.

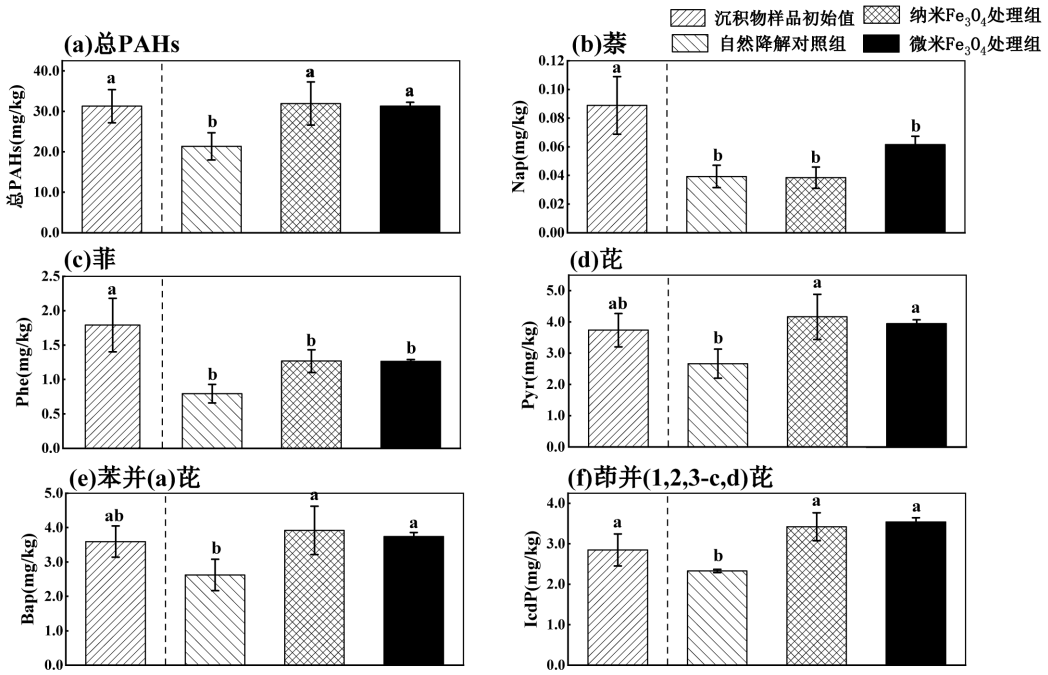

图 2　有氧条件下 PAHs 含量变化

Fig.2　PAHs content in sediments of each treatment group under aerobic conditions

有氧条件下磁铁矿对沉积物中 PAHs 降解的效果如图 2 所示.经过 26d 的有氧培养试验发现,自然降解条件下(对照组)沉积物中 PAHs 总量及部分 PAHs 单体含量(萘、菲、芘及茚并[1,2,3−c,d]芘)显著(P<0.05)低于初始沉积物.然而,与自然降解的对照组相比,有氧条件下磁铁矿添加对沉积物中高环PAHs(芘、苯并[α]芘、茚并[1,2,3−c,d]芘)的降解产生抑制作用,在有氧条件下,微生物可能优先利用 O_2作为电子受体降解PAHs.与初始值相比,磁铁矿处理组高环 PAHs 含量无显著性差异.

微生物降解 PAHs 受到电子受体浓度影响,Nieman 等[30]提出,沉积物中固有的电子受体在影响生物降解方面比投加的电子传递介质更为重要.

电子受体浓度过高或过低都会对降解产生抑制作用[31].此外,不同电子受体条件对特定微生物厌氧降解 PAHs 反应有不同的作用,因此有必要进一步探究在不同氧化还原条件下的磁铁矿对于 PAHs 的降解影响[32].

2.3　厌氧条件下磁铁矿对 PAHs 降解的影响分析

2.3.1　菲降解菌的富集　以菲作为目标化合物,开展 PAHs 降解菌富集培养.经过 26d 的选择性富集培养,从大水港沉积物中获得了一个能够降解菲的微生物群落.26d 过后,培养物变为红棕色如图 3 所示,这与 Zhang 等[33]观察到的现象一致,表明添加的菲被降解.测定不同培养瓶中富集培养液内菲降解率为 80%~95%.

2.3.2 不同处理组对菲的降解效果 经过 180h 的厌氧培养,各处理组中菲含量随时间变化如表 2 所示.在 180h 时,各处理组的菲降解率均达到了 90%以上.在 36h 时,微米 Fe_3O_4 组(T3)、硝酸盐组(T5)、硫酸盐及纳米 Fe_3O_4 处理组(T6)、硝酸盐及纳米 Fe_3O_4 处理组(T7)菲降解率显著高于对照组(T1).到 60h 时,微米 Fe_3O_4 组(T3)、硝酸盐组(T5)、硫酸盐及纳米 Fe_3O_4 处理组(T6)的菲降解率显著高于对照组(T1). 108h 时,微米 Fe_3O_4 组(T3)和硫酸盐及纳米 Fe_3O_4 处理组(T6)菲降解率显著高于对照组(T1);硝酸盐及微米 Fe_3O_4 处理组(T9)菲降解率显著低于对照组(T1).综合来看,微米 Fe_3O_4 组(T3)、硫酸盐及纳米 Fe_3O_4 处理组(T6)和硝酸盐组(T5)对菲有更显著的降解效果,而硝酸盐及微米 Fe_3O_4 处理组(T9)在降解后期有抑制菲降解的现象.

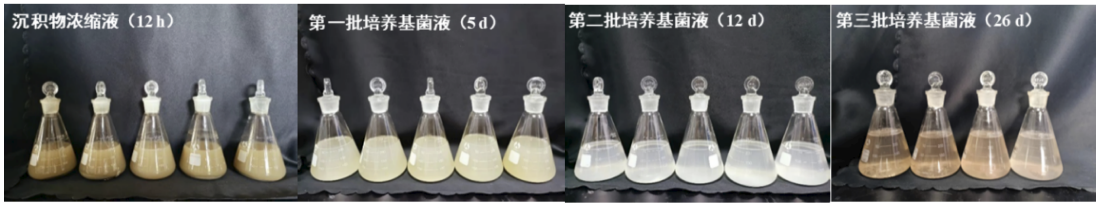

图 3 菲降解菌液体培养基的颜色随时间的变化

Fig.3 The color changes of phenanthrene-degrading bacteria liquid medium with time

表 2 不同处理条件下菲浓度(μg/L)随时间变化

Table 2 Variation of phenanthrene concentration (μg/L) with time under different treatment conditions

处理组	0h	36h	60h	108h	180h
T1(对照组)		683.43±10.09a	289.77±23. 66a	103.21±12.75bcd	33.92±16.26d
T2(纳米 Fe_3O_4 处理组)		508.63±56.39ab	237.84±26. 00abc	89.02±6.01cde	41.49±3.56cd
T3(微米 Fe_3O_4 处理组)		438.63±118.46b	175.51±25. 06d	73.27±9.84e	39.71±1.68d
T4(硫酸盐处理组)		575.49±34.66ab	279.72±19.25a	98.87±8.53bcd	41.17±2.85cd
T5(硝酸盐处理组)	1120.71±40.57	431.15±19.03b	207.73±6.88cd	108.55±3.65bc	57.01±11.13bc
T6(硫酸盐及纳米 Fe_3O_4 处理组)		432.86±104.63b	215.03±45.37bcd	78.53±9.62e	22.90±0.99d
T7(硝酸盐及纳米 Fe_3O_4 处理组)		503.14±107.27b	241.47±39.26abc	116.46±12.81b	65.59±2.64ab
T8(硫酸盐及微米 Fe_3O_4 处理组)		503.14±107.28ab	289.96±23.55a	84.93±4.32de	40.00±8.06cd
T9(硝酸盐及微米 Fe_3O_4 处理组)		503.14±107.29ab	272.33±18.09ab	158.46±3.38a	78.57±10.14a

2.3.3 菲的降解动力学 采用一级反应动力学方程拟合不同处理条件下菲的浓度随时间的变化,比较其降解速率常数及半衰期,如表 3 所示.各处理组的降解速率常数均高于自然降解对照组(T1),其中微米 Fe_3O_4 处理组(T3)和硫酸盐及纳米 Fe_3O_4 处理组(T6)表现出明显更高的降解速率常数,分别为 $(0.0276\pm0.0020)h^{-1}$ 和 $(0.0266\pm0.0017)h^{-1}$,半衰期分别为 25.0958 和 26.0876h.微米 Fe_3O_4 处理组菲降解速率常数是对照组(T1)降解速率常数的 1.45 倍;硫酸盐及纳米 Fe_3O_4 处理组菲降解速率常数是对照组降解速率常数的 1.39 倍;硝酸盐处理组(T5)菲降解速率常数是对照组降解速率常数的 1.38 倍.可见,与对照组相比,添加 Fe_3O_4、硫酸盐及硝酸盐电子受体在一定程度上均促进了菲的厌氧生物降解,而磁铁矿 Fe_3O_4 在不同氧化还原条件下对于菲的降解表现出的作用不同.可见,磁铁矿介导下对这些微生物降解有机污染物的机制需要进一步阐明.

表 3 不同处理条件下菲的降解速率常数 k 及半衰期 $t_{1/2}$

Table 3 Degradation rate k and half-life $t_{1/2}$ of phenanthrene under different treatment conditions

处理组	降解速率常数 $k(h^{-1})$	半衰期 $t_{1/2}$/(h)	R^2
T1	0.0191 ±0.0016	36.3857	0.9749
T2	0.0236 ±0.0012	29.3582	0.9882
T3	0.0276 ±0.0020	25.0958	0.9741
T4	0.0211 ±0.0009	32.8817	0.9895
T5	0.0262 ±0.0011	26.4459	0.9903
T6	0.0266 ±0.0017	26.0876	0.9797
T7	0.0231 ±0.0016	30.0454	0.9724
T8	0.0208 ±0.0013	33.4047	0.9797
T9	0.0202 ±0.0011	34.3142	0.9830

2.3.4 不同处理条件下微生物电子传递体系(ETS)活性特征 微生物降解 PAHs 的过程中,生物细胞内的脱氢酶(DHA)可以催化有机物氧化脱氢反应,将

电子从有机物中释放出来,并通过电子传递体系(ETS)逐步传递到最终电子受体,从而实现有机污染物的氧化[34].因此,ETS 活性通过检测微生物电子传递速率来间接指示微生物的呼吸活性,进而从生物学角度反映微生物降解有机物的能力[35,36].通过 INT-ETS 法测定 180h 各处理组培养液菌种的微生物 ETS 活性如图 4 所示.Fe_3O_4 的存在对 ETS 活性有显著影响.初始菌落富集液(T0)与对照组(T1),硫酸盐还原处理组(T4)和硝酸盐还原处理组(T5)的 ETS 活性无显著差异,未添加 Fe_3O_4 的处理组与初始菌落的微生物活性无明显变化.而添加了纳米 Fe_3O_4 的处理组(T2、T6 和 T7)和添加了微米 Fe_3O_4 处理组(T3、T8 和 T9)的 ETS 活性较对照组分别提高了 441.7%~511.2%和 113.8%~141.1%.这可以从一定程度上解释投加 Fe_3O_4 是通过提高了微生物呼吸活性,触发了更快的电子转移速率,从而提高了对菲的降解能力.

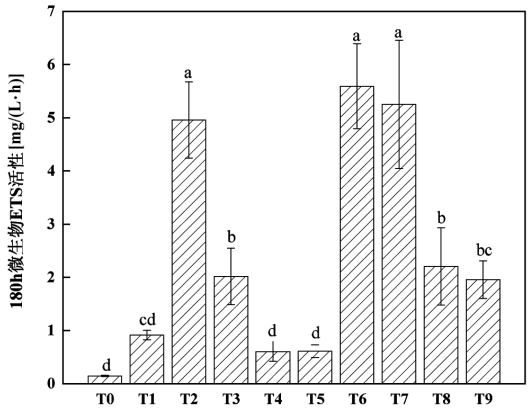

图 4　不同处理条件下各处理组的 ETS 活性

Fig.4　ETS activity under different treatment conditions

其他处理组高,研究表明微生物群落在初始阶段表现出更高的复杂性,这样在应对环境变化方面具有更大的活力[37].经过 180h 的培养,各处理组群落多样性较 T0 有所降低,可能是培养过程中不同处理条件对微生物群落进行了筛选,出现了更能适应培养条件的优势菌种.

表 4　各样品序列数及 OTU 数

Table 4　Number of sample sequences and OTU numbers

样品数	OTUs 数	序列数
T0	60566	367
T1	71121	306
T2	65769	313
T3	66240	294
T4	70175	273
T5	64211	276
T6	65796	284
T7	73607	264
T8	62843	251
T9	64623	332

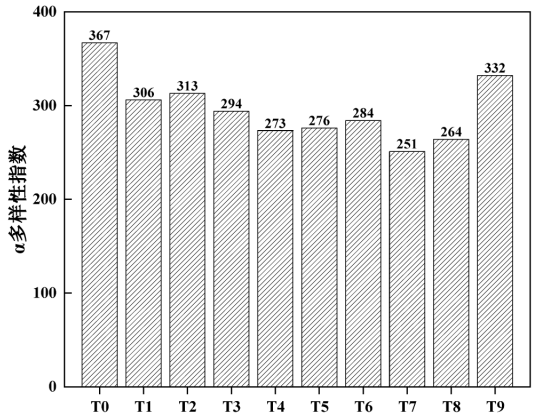

图 5　不同处理条件下 α 多样性指数

Fig.5　α diversity index under different treatment conditions

2.4　厌氧条件下不同处理组微生物群落响应与组成特征

2.4.1　样本测序质量评估与测序结果　样品经过滤和质控后共获得 871348 条有效序列数,其中优质序列数共有 829464 条,占比为 95.19%.各处理组中的 OTUs 种类数和序列总数如表 4 所示.

2.4.2　微生物群落丰富度及多样性分析　为了进一步准确评估修复试验中不同处理组沉积物中微生物丰富度的差异,使用单样本的多样性(α 多样性)计算微生物群落丰度.α 多样性指数统计图如图 5 所示.由图发现初始菌落富集液(T0)中群落多样性较

2.4.3　微生物群落结构组成分析　门水平和属水平的群落结构组成如图 6 所示.由图 6(a)发现各处理组变形菌门(Proteobacteria)占据主导地位,相对丰度达到了 70.63%~98.26%.研究表明,大多数 PAHs 降解菌被分类到 Proteobacteria 门中[38].由图 6(b)发现各处理组在厌氧培养的过程中微生物群落结构与初始菌落富集液 T0 均出现明显差异.T0 中以 *Pseudoxanthomonas*(22.41%)、*Taibaiella*(18.53%)及 *Achromobacter*(14.30%)菌属为主.T1、T2、T3、T4、T6 和 T8 中 *Pseudomonas* 相对丰度分别为 58.81%、

49.82%、66.39%、79.65%、61.8%、78.0%;*Cupriavidus* 的相对丰度分别为 20.95%、12.44%、12.23%、5.62%、9.96%、6.49%.而 T5、T7 和 T9 中 Burkholderiaceae 科和 *Propionivibrio* 属相对丰度较高,占比分别达到了 38.95%~55.98%和 18.51%~24.91%.各处理组不同群落组成与结构的原因可能是试验前用于富集培养菌液的初始沉积物孔隙水中 SO_4^{2-}含量比较高((242.49±28.62) mg/L),初始微生物群落适应了富含 SO_4^{2-}的环境,因此试验时添加了 SO_4^{2-}的处理组(T4、T6 和 T8)和没有外加电子受体的其他处理组(T1、T2 和 T3)群落组成和结构接近.而添加了硝酸盐的处理组(T5、T7 和 T9)中,硝酸盐强化了与氮循环相关细菌的丰度和活性,引起了微生物群落结构的显著变化[37,39-40].

T1、T2、T3、T4、T6 和 T8 中微生物占据主导地位的 *Pseudomonas* 属于 Gammaproteobacteria 纲.Gammaproteobacteria 已被报道具有降解 PAHs 的能力和对 PAHs 毒性的更好抗性[41].许多研究表明 *Pseudomonas* 是受污染土壤和沉积物中的具有竞争优势的 PAHs 降解细菌[42-44].*Pseudomonas* 对环境变化的高度适应性和快速繁殖速度使其在 PAHs 的选择性富集中占主导地位[44-45].Tibor Benedek[44]发现 *Pseudomonas* 在初始的微生物样品中的丰度非常低(0.3%),但富集培养后的其相对丰度高于 60%,这与本文的试验发现相符.这种现象可能是因为试验前菌落富集液中菲含量已经基本降解,但相关菌种降解 PAHs 的能力仍然存在,试验时菲的存在触发了微生物群落中隐藏的 PAHs 降解能力[44].另外,许多研究表明 *Pseudomonas* 对菲的降解发挥重要的作用[42,46].有研究表明 *Pseudomonas* 在厌氧条件下可以产生多种生物表面活性剂,提高对 PAHs 的生物利用度,从而能够去除 PAHs 和降低 PAHs 对细菌的毒性[42].

添加了硝酸盐的处理组(T5、T7 和 T9)中占据主导地位的是 Burkholderiaceae 科.研究表明 Burkholderiaceae 科的细菌在反硝化过程中发挥重要作用[47,48],可降解芳香族化合物[49-50].T5、T7 和 T9 中另一优势菌 *Propionivibrio* 是反硝化除磷菌群[51],是一种专门用于降解氢芳烃化合物的发酵细菌.硝酸盐还原条件下微米 Fe_3O_4 处理组(T7)中优势菌 *Ensifer* 是固氮根瘤菌的一种.*Ensifer* 出现的原因是用于菌落富集的初始沉积物采样地附近有沉水植物生长区域.一些研究表明根瘤菌对有机污染物具有抗性[52]并可以利用 PAHs 作为碳和能源.Anna Muratova 等[53-54]发现了其对菲的生物降解作用.此外,Anaerolineaceae 科、*Longilinea* 属菌群可以参与菲的厌氧生物降解.

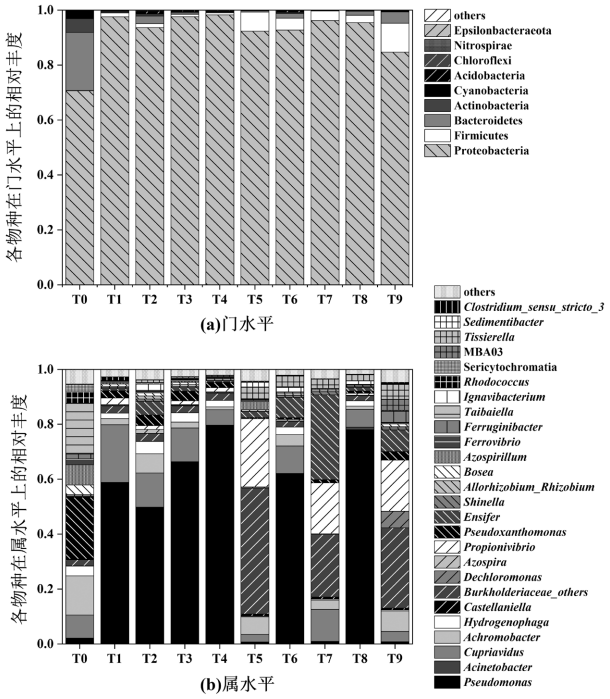

图 6 不同处理条件下各组的微生物群落结构组成

Fig.6 Composition of microbial community structure in each group under different treatment conditions

2.4.4 微生物群落结构差异分析 PCoA 分析(Principal Component Analysis)通过一系列的特征值和特征向量排序,可以基于任意距离尺度来评价样本之间的相似度.基于 Bray Curtis 距离进行 PCoA 分析,并选取贡献率最大的主坐标组合进行作图如 7 所示.结果显示,除了 T0 组(初始菌落富集培养液),T7、T9(硝酸盐及纳米或微米 Fe_3O_4 处理组)及 T5(硝酸盐处理组)与 T1(对照组)和其他处理组的微生物组成差异较大.再次说明了硝酸盐的刺激增强了反硝化细菌的丰度和活性,引起微生物群落结构的变化[39].为进一步观察组间群落组成差异,将丰度前 25 的微生物丰度进行组间对比,绘制各物种在不同处理组中的相对丰度热图如图 8,Z 值越大表示物种在该处理组的丰度较其他处理组越高.

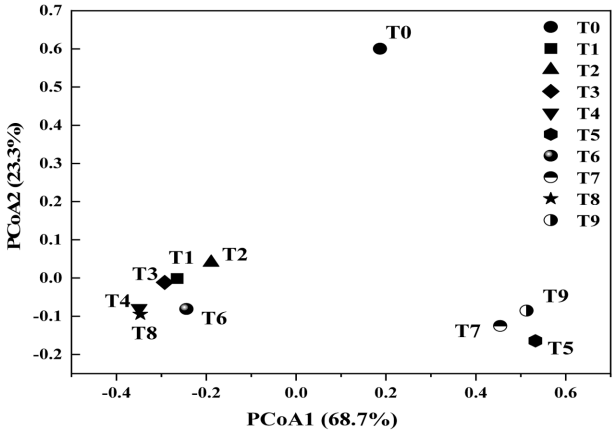

图 7　基于 Bray Curtis 距离的 PCoA 分析

Fig.7　Analysis based on Bray Curtis distance

相较于对照组(T1),添加了 Fe_3O_4 的 T2 和 T3 处理组中,*Hydrogenophaga* 及 *Ignavibacterium* 的丰度有所增加.研究发现[55]*Hydrogenophaga* 属具有 PAHs 的降解能力.Yan 等[56]发现 *Hydrogenophaga* 菌种在好氧和厌氧条件下均能降解高环 PAHs. *Ignavibacterium* 属细菌能够代谢氮元素和芳香化合物[15].纳米 Fe_3O_4 处理组(T2)中 *Achromobacter* 丰度比 T1 和微米 Fe_3O_4 处理组(T3)高,硫酸盐及纳米 Fe_3O_4 处理组(T6)中 *Achromobacter* 丰度比硫酸盐还原条件下微米 Fe_3O_4 处理组(T8)高.*Achromobacter* 通常存在于海洋和受污染的沉积物中,也与 PAHs 的降解有关[57].对比发现,单独投加纳米 Fe_3O_4(T2)中的 *Ensifer* 丰度高于单独投加微米 Fe_3O_4(T3),在硫酸盐还原条件和硝酸盐还原条件纳米 Fe_3O_4 中的 *Ensifer* 丰度均高于单独投加微米 Fe_3O_4,说明纳米 Fe_3O_4 能增加某些 PAHs 降解菌的丰度.

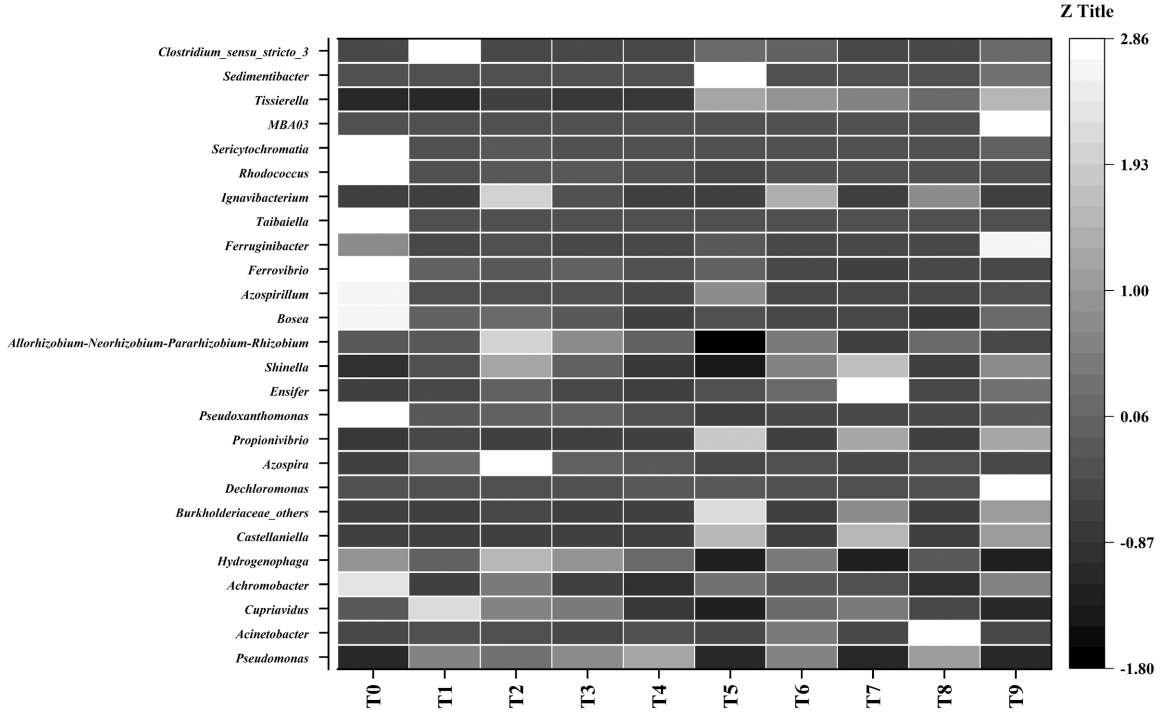

图 8　属水平上各物种在不同处理组的相对丰度热图

Fig.8　Heat map of relative abundance of each species in different treatment groups at the genus level

值得注意的是,在有电子受体的条件下投加 Fe_3O_4(T6~T9)处理组中,*Tissierella* 的丰度明显高于未投加或单独投加 Fe_3O_4 的处理组(T1~T3). *Tissierella* 属于 Firmicutes 门下的 Clostridia.Chang 等[58]表明 Clostridia 纲的菌种是菲的降解者.另外,Firmicutes 门中具有许多电活性微生物,说明在有电子受体的条件下添加 Fe_3O_4 可能会促进电活性微生物的丰度,从而提高了微生物 ETS 活性,促进有机物氧化释放的电子向电子受体的转移.

2.5　不同氧化还原条件下磁铁矿对菲的降解机理分析

在厌氧条件下微生物可以利用 NO_3^-、SO_4^{2-}、Fe(III)等无机盐离子或化合物作为电子受体进行呼吸作用,将 PAHs 氧化为低分子量物质[59].在没有其他电子受体存在的条件下,研究发现微生物能够在产甲烷条件下进行 PAHs 的厌氧降解[60-61].在厌氧条

件下微生物会优先利用 NO_3^-作为电子受体,硝酸盐还原条件下 PAHs 生物降解速率大于硫酸盐还原条件[37].这与本研究得到的结果一致(硝酸盐处理组菲降解速率 0.02621h^{-1}>硫酸盐处理组 0.02108h^{-1}).研究表明在以硝酸盐为唯一电子受体条件下,二环和三环 PAHs 的降解比在硫酸盐还原条件下更为显著[62].激活多种参与碳、氮、硫循环的功能微生物,促进多种有机污染物的降解转化有关[12].

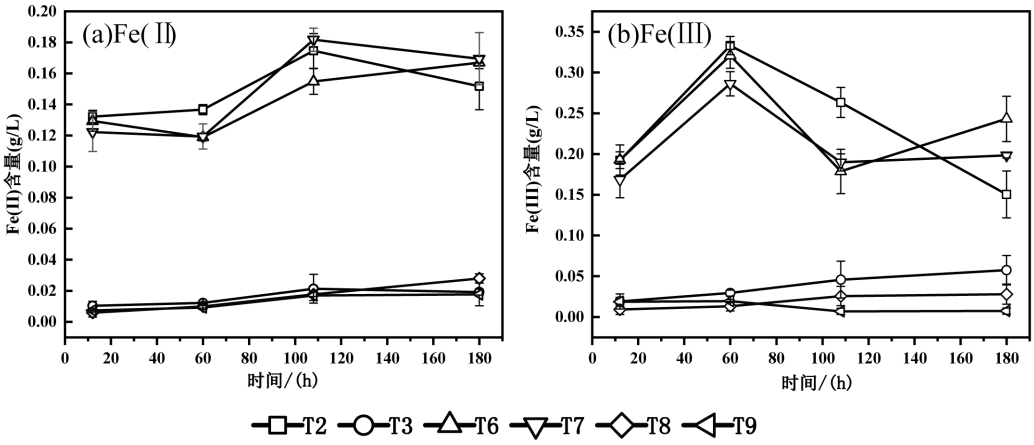

图 9 厌氧条件下含 Fe_3O_4 处理组生物可利用性 Fe(II)及 Fe(III)浓度随时间的变化

Fig.9 Changes of bioavailable Fe(II) and Fe(III) concentrations with time in Fe_3O_4–containing treatment groups under anaerobic conditions

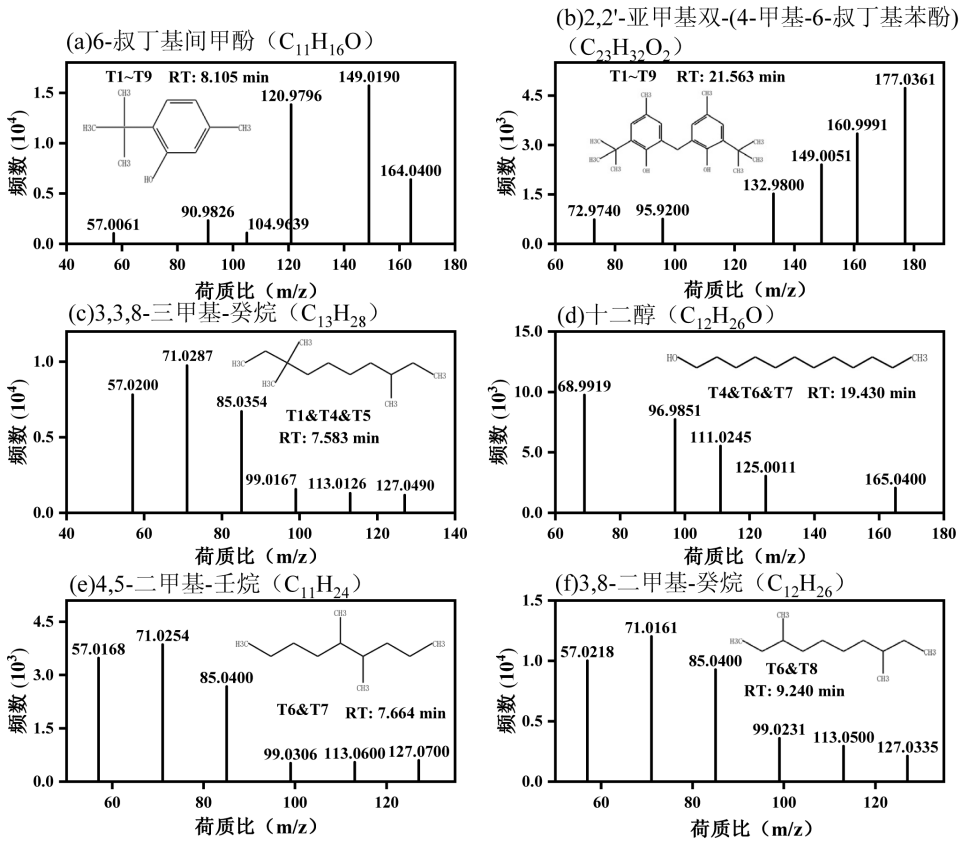

图 10 厌氧条件下菲的主要代谢产物的质谱分析

Fig.10 Mass spectrum of major detected metabolites under anaerobic conditions

本研究单独投加两种不同形态的 Fe_3O_4 处理组中,微米 Fe_3O_4 处理组(T3)菲降解速率(0.02762h^{-1})高于纳米 Fe_3O_4 处理组(T2)菲降解速率(0.02361h^{-1}),这可能是由于微米 Fe_3O_4 的表面更

便于 PAHs 降解相关的菌株能够以生物膜的形式附着繁殖[20].然而,在硫酸盐还原条件或硝酸盐还原条件下投加两种不同形态的 Fe_3O_4 处理组中,纳米 Fe_3O_4(T6、T7)相对于微米 Fe_3O_4(T8、T9)降解菲的效果更好,特别是硫酸盐及纳米 Fe_3O_4 处理组(T6),菲降解速率常数可以达到 0.02657h^{-1}.这可能与磁铁矿介导了微生物间的电子转移有关.有研究发现 Fe(II)/Fe(III)间的氧化还原转化过程可以协助微生物间的胞外电子传递[63-64].添加了 Fe_3O_4 的各处理组的生物可利用性 Fe(II)及 Fe(III)浓度变化情况如图 9 所示.在整个培养期间,含有纳米 Fe_3O_4 处理组(T2、T6、T7)的生物可利用性 Fe(II)及 Fe(III)浓度显著高于含有微米 Fe_3O_4 处理组(T3、T8、T9).Fe_3O_4 作为微生物胞外呼吸的终端电子供体、电子储存介质或种间电子传递介质促进微生物的硝酸盐还原或硫酸盐还原过程[65].而且纳米 Fe_3O_4 可能促进了 Fe(II)/Fe(III)间的氧化还原循环,介导了微生物的电子传递过程.在有电子受体(NO_3^-、SO_4^{2-})的条件下,不同种类的微生物相互协作形成了一个复杂的种间电子转移网络[66-67],硫酸盐或硝酸盐还原菌与 PAHs 降解菌的协同作用能够分解代谢菲[68].而磁铁矿富集了 PAHs 降解菌,并显著提高了微生物 ETS 活性(图 3).Fe_3O_4 可能作为导电矿物的存在介导了体系中的电子传递,增强了微生物电子转移网络传递电子的效率,从而提高了微生物对 PAHs 的降解效率.

此外,通过 GC-MS 测定 180h 各处理组的菲代谢产物如图 10 所示.各组主要的代谢产物均为 6-叔丁基间甲酚(图 10(a))和 2,2'-亚甲基双-(4-甲基-6-叔丁基苯酚)(图 10(b)).这与以前研究提出的菲厌氧降解途径主要是羧基化或甲基化途径相吻合[68].研究还发现在硫酸盐还原条件下纳米 Fe_3O_4 处理组(T6)降解菲所产生的中间产物相对于其他处理组更简单、毒性更小且分解更完全.由于微生物群落的组成影响 PAHs 的降解速率以及最终产物的特性[69],还需要更多的研究来阐明磁铁矿介导下 PAHs 代谢的不同机制.

3　结论

3.1　采用共沉淀法成功制备了纳米 Fe_3O_4 和微米 Fe_3O_4.纳米 Fe_3O_4 形状近似于球状,其粒子尺寸均匀且分散性良好,粒径约为 10~20nm;微米 Fe_3O_4 呈粒状或块状,中值粒径为 26.337μm.

3.2　有氧条件下自然降解显著降低了大水港沉积物的 PAHs,而纳米 Fe_3O_4 和微米 Fe_3O_4 处理组未明显降低沉积物中的 PAHs.说明有氧条件下沉积物原有的电子受体在影响生物降解方面比投加的电子传递介质更为重要.厌氧在没有电子受体条件下微米 Fe_3O_4 能显著促进菲的降解.而在硫酸盐或硝酸盐处理组中,纳米 Fe_3O_4 对菲降解的促进效果更显著.不同氧化还原条件下菲的降解动力学结果表明,菲的生物降解符合一级反应动力学模型,降解速率常数为 0.01905~0.02762h^{-1}.

3.3　厌氧培养试验 ETS 活性结果表明,Fe_3O_4 能够显著提高微生物传递系统活性.纳米 Fe_3O_4 处理组和微米 Fe_3O_4 处理组的 ETS 活性较对照组分别提高了 441.7%~511.2%和 113.8%~141.1%.

3.4　厌氧培养试验微生物群落结构分析表明,添加了硝酸盐的处理组(T5、T7 和 T9)明显改变了微生物群落结构,其优势菌为 Burkholderiaceae 科和 *Propionivibrio* 属.其他处理组中的优势属为 *Pseudomonas* 和 *Cupriavidus*.投加 Fe_3O_4 会增加芳香化合物降解菌 *Hydrogenophaga* 及 *Ignavibacterium* 的丰度;相对于微米 Fe_3O_4,纳米 Fe_3O_4 提高了 PAHs 降解菌 *Achromobacter* 和 *Ensifer* 的丰度.在有电子受体的条件下,投加 Fe_3O_4 增加了 Clostridia 纲 *Tissierella* 的丰度.微生物可利用铁测定结果表明,纳米磁铁矿可能促进了 Fe(II)/Fe(III)间的氧化还原循环,介导了微生物的电子传递过程.

参考文献:

[1] Yan Z, Song N, Wang C, et al. Functional potential and assembly of microbes from sediments in a lake bay and adjoining river ecosystem for polycyclic aromatic hydrocarbon biodegradation [J]. Environmental Microbiology, 2021,23(2):628-640.DOI:10.1111/ 1462-2920.15104.

[2] Zhao Z, Zhang L, Wu J. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and organochlorine pesticides (OCPs) in sediments from lakes along the middle-lower reaches of the Yangtze River and the Huaihe River of China [J]. Limnology and Oceanography, 2016,61(1):47-60.DOI: 10.1002/lno.10197.

[3] 李　伟,王华伟,孟祥宇,等.表面活性剂淋溶-化学氧化处理焦化场地高环多环芳烃污染土壤 [J]. 中国环境科学, 2023,43(12):6474-6481.
Li W, Wang H W, Meng X Y, et al. Surfactant-enhanced washing-chemical oxidation treatment of soil contaminated with high-molecular-weight and polycyclic aromatic hydrocarbons at a coking

plant site [J]. China Environmental Science, 2023,43(12):6474-6481(in Chinese with English abstract). DOI:10.19674/ 2023.0815.

[4] 金 苗,吴敬禄,占水娥,等.乌兹别克斯坦阿姆河流域水体中多环芳烃的分布、来源及风险评估 [J]. 湖泊科学, 2022,34(3):855-867.
Jin M, Wu J L, Zhan S E, et al. Distribution, sources and risk assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in waters of Amu Darya Basin Uzbekistan [J]. Journal of Lake Sciences, 2022, 34(3):855-867.DOI:10.18307/2022.0312.

[5] Yan Z, Hao Z, Wu H, et al. Co-occurrence patterns of the microbial community in polycyclic aromatic hydrocarbon-contaminated riverine sediments [J]. Journal of Hazardous Materials, 2019,367:99-108.DOI: 10.1016/j.jhazmat.2018.12.071.

[6] Yan H, Yan Z, Wang L, et al. Toward understanding submersed macrophyte Vallisneria natans-microbe partnerships to improve remediation potential for PAH-contaminated sediment [J]. Journal of Hazardous Materials, 2022,425: 127767.DOI:10.1016/j.jhazmat.2021.127767.

[7] 陶 澍,骆永明,朱利中,等.典型微量有机污染物的区域环境过程 [J]. 环境科学学报, 2006,(1):168-171.
Tao S, Luo Y M, Zhu L Z, et al. Regional environmental processes of typical trace organic pollutants [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2006,(1):168-171(in Chinese).DOI:10.13671/j.hjkxxb.2006.01.028.

[8] 万宏滨,周 娟,罗 端,等.长江中游湖泊表层沉积物多环芳烃的分布来源特征及其生态风险评价 [J]. 湖泊科学, 2020,32(6):1632-1645.
Wan H B, Zhou J, Luo D, et al. Distribution, source characteristics and ecological risk assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons in surface sediments of lakes along the middle reaches of the Yangtze River [J]. Journal of Lake Sciences, 2020,32(6):1632-1645(in Chinese with English abstract). DOI:10.18307/2022.0606.

[9] Xu M, He Z, Zhang Q, et al. Responses of aromatic-degrading microbial communities to elevated nitrate in sediments [J]. Environmental Science & Technology, 2015,49(20):12422-12431. DOI:10.1021/acs.est.5b03442.

[10] 吴庆龙,江和龙.中国湖泊微生物组研究 [J]. 中国科学院院刊, 2017,32(3):273-279.
Wu QL, Jiang HL. China Lake Microbiome Project [J]. Bulletin of Chinese Academy of Sciences, 2017,32(3):273-279.DOI10.16418/ j.issn.1000-3045.2017.03.008.

[11] 许玫英,虞志强,杨永刚,等.微生物厌氧呼吸与有机污染水体沉积物修复 [J]. 微生物学杂志, 2017,37(2):1-11.
Xu MY, Yu ZQ, Yang YG, et al. Microbial anaerobic respiration and remediation of aquatic sediments contaminated by refractory organic pollutants [J]. Journal of Microbiology, 2017,37(2):1-11.DOI:10. 3969/j.issn.1005-7021.2017.02.001.

[12] Xu M, Zhang Q, Xia C, et al. Elevated nitrate enriches microbial functional genes for potential bioremediation of complexly contaminated sediments [J]. The ISME Journal, 2014,8(9):1932-1944. DOI:10.1038/ismej.2014.229.

[13] Zhang T, Gannon S M, Nevin K P, et al. Stimulating the anaerobic degradation of aromatic hydrocarbons in contaminated sediments by providing an electrode as the electron acceptor [J]. Environmental Microbiology, 2010,12(4):1011-1020.DOI:10.1111/j.1462-2920.2009. 02145.x.

[14] Yan Z, Song N, Cai H, et al. Enhanced degradation of phenanthrene and pyrene in freshwater sediments by combined employment of sediment microbial fuel cell and amorphous ferric hydroxide [J]. Journal of Hazardous Materials, 2012,199-200:217-225.DOI:10. 1016/j.jhazmat.2011.10.087.

[15] Hao Z, Wang Q, Yan Z, et al. Novel magnetic loofah sponge biochar enhancing microbial responses for the remediation of polycyclic aromatic hydrocarbons-contaminated sediment [J]. Journal of Hazardous Materials, 2021,401:123859-123859.DOI:10.1016/j. jhazmat, 2020.123859.

[16] Lovley D R, Holmes D E. Electromicrobiology: the ecophysiology of phylogenetically diverse electroactive microorganisms [J]. Nature Reviews Microbiology, 2022,20(1):5-19.DOI:10.1038/s41579-021-00597-6.

[17] 刘 娟,李晓旭,刘 枫,等.铁氧化物—微生物界面电子传递的分子机制研究进展 [J]. 矿物岩石地球化学通报, 2018,38(1):39-47.
Liu J, Li XX, Liu F, et al. Research advantages on molecular mechanisms of interfacial electron transfer between iron oxide and microbe [J]. Bulletin of Mineralogy, Petrology and Geochemistry, 2018,38(1):39-47.DOI:10.19658/j.issn.1007-2802.2018.37.015.

[18] 王 竞,孙煜姣,马 姝,等.亚微米磁铁矿强化反硝化降解苯酚和喹啉 [J]. 科学通报, 2020,65(27):2914-2921.
Wang J, Sun Y J, Ma S, et al. Submicron magnetite enhanced simultaneous denitrification and degradation of phenol and quinoline [J]. Chinese Science Bulletin, 2020,65(27):2914-2921.DOI:10.1360/ TB-2020-0752.

[19] Baragaño D, Alonso J, Gallego JR, et al. Magnetite nanoparticles for the remediation of soils co-contaminated with As and PAHs [J]. Chemical Engineering Journal, 2020,399:125809.DOI:10.1016/j.cej. 2020.125809.

[20] Shen X, Dong W, Wan Y, et al. Influencing mechanisms of siderite and magnetite, on naphthalene biodegradation: Insights from degradability and mineral surface structure [J]. Journal of Environmental Management, 2021,299:113648.DOI:10.1016/j.jenvman, 2021.113648.

[21] Zhou Y-L, Yang Y, Chen M, et al. To improve the performance of sediment microbial fuel cell through amending colloidal iron oxyhydroxide into freshwater sediments [J]. Bioresource Technology, 2014,159:232-239.DOI:10.1016/j.biortech.2014.02.082.

[22] 李美兰,豆小喻,何 娇,等.羧基化磁性 Fe_3O_4 复合材料的制备及其对水体中 Pb^{2+}的吸附研究 [J]. 中国塑料, 2021,35(10):37-44.
Li M L, Dou X Y, He J, et al. Synthesis of carboxylated magnetic Fe_3O_4 composites and their adsorption behavior to Pb^{2+} [J]. China Plastics, 2021,35(10):37-44.

[23] 秦润华,姜 炜,刘宏英,等.纳米磁性四氧化三铁的制备及表征 [J]. 材料导报, 2003,17:66-68.
Qin R H, Jiang W, Liu H Y, et al. Preparation and characterization of nanometer magnetite [J]. Materials Report, 2003,17:66-68.

[24] Beate A, Edon L. Magnetic Nanoparticles: Properties, Synthesis and Applications [N]. New York: Nova Science, 2012:249-271.

[25] 谌 岩,裴宝全.影响液相法制备纳米粒子因素的研究 [J]. 物理测试, 2001,5:3-31.
Chen Y, Pei BQ. Studies on the effect factors on preparation magnetite nanoparticles [J]. Physics Examination and Testing, 2001,5:3-31. DOI:10.13228/j.boyuan.issn1001-0777.2001.05.002.

[26] 张　雨,晏再生,吴慧芳,等.沉水植物苦草(*Vallisneria natans*)对多环芳烃污染沉积物的修复作用 [J]. 湖泊科学, 2018,30(4):1012−1018.
Zhang Y, Yan Z S, Wu H F, et al. Remedial function of submersed macrophyte Vallisneria natans to PAHs−contaminated sediments [J]. Journal of Lake Sciences, 2018,30(4):1012−1018(in Chinese with English abstract).DOI:10.18307/2018.0414.

[27] 郝　征.磁性炭基复合体对多环芳烃污染沉积物的修复作用及机制 [D]. 南京:中国科学院南京地理与湖泊研究所, 2019.
Hao Z. Remediation effect and mechanism of magnetic carbonaceous composites on polycyclic aromatic hydrocarbons−contaminated sediment [D]. Nanjing: Nanjing Institute of Geography and Limnology, Chinese Academy of Sciences, 2019(in Chinese with English abstract).

[28] Song N, Yan Z, Xu H, et al. Development of a sediment microbial fuel cell−based biosensor for simultaneous online monitoring of dissolved oxygen concentrations along various depths in lake water [J]. Science of The Total Environment, 2019,673:272−280.DOI:10.1016/j.scitotenv.2019.04.032.

[29] 金幼平,杨雪英,陈　罡,等.活性污泥 INT－脱氢酶活性检测方法的改进 [J]. 中国给水排水, 2016,32(22):153−156.
Jin Y P, Yang X Y, Chen G, et al. Improvement of INT−dehydrogenase activity detection method of activated sludge [J]. China Water & Wastewater, 2016,32(22):153−156.DOI:10.19853/j.zgjsps.1000−4602.2016.22.035.

[30] Nieman J K C, Sims R C, Mclean J E, et al. Fate of pyrene in contaminated soil amended with alternate electron acceptors [J]. Chemosphere, 2001,44(5):1265−1271.DOI:10.1016/S0045−6535(00)00304−0.

[31] 侯晓鹏,李春华,叶　春,等.不同电子受体作用下微生物降解多环芳烃研究进展 [J]. 环境工程技术学报, 2016,6(1):78−84.
Hou X P, Li C H, Ye C, et al. Research progress of biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons with amendment of different electron acceptors [J]. Journal of Environmental Engineering Technology, 2016,6(1):78−84. DOI:10.3969/j.issn.1674−991X.2016.01.012.

[32] Dou J, Liu X, Ding A. Anaerobic degradation of naphthalene by the mixed bacteria under nitrate reducing conditions [J]. Journal of Hazardous Materials, 2009,165(1−3):325−331.DOI:10.1016/j.jhazmat.2008.10.002.

[33] Zhang L, Qiu X, Huang L, et al. Microbial degradation of multiple PAHs by a microbial consortium and its application on contaminated wastewater [J]. Journal of Hazardous Materials, 2021,419:126524. DOI:10.1016/j.jhazmat.2021.126524.

[34] 袁　磊,毕学军.铁盐对活性污泥微生物 DHA 与 ETS 活性的影响研究 [J]. 环境工程, 2010,28(6):97−99.
Yuan L, Bi X J. Effect of ferric salt on Microbial DHA and ETS activity in activated sludge [J]. Environmental Engineering, 2010, 28(6):97−99.DOI:10.13205/j.hjgc.2010.06.004.

[35] 尹　军,吴相会,王晓玲,等.用 TTC−ETS 和 INT−ETS 表征微生物活性 [J]. 中国给水排水, 2008,24(7):8−11.
Yin J, Wu X H, Wang X L, et al. Application of TTC−ETS and INT−ETS activities to characterizing microbial activity of sludge in MUCT process [J]. China Water & Wastewater, 2008,24(7):8−11.

[36] 赵　颖,王　飞.白洋淀湿地芦苇根际土壤微生物电子传递体系(ETS)活性的研究 [J]. 安全与环境学报, 2016,16(4):363−357.
Zhao Y, Wang F. On the electronic transmission system (ETS) activity of reed rhizosphere soil in Baiyangdian Wetland [J]. Journal of Safety and Environment, 2016,16(4):363−357.DOI:10.13637/j.issn.1009−6094.2016.04.072.

[37] Yang X, Li E, Liu F, *et al*. Interactions of PAH−degradation and nitrate−/sulfate−reducing assemblages in anaerobic sediment microbial community [J]. Journal of Hazardous Materials, 2020,388:122068. DOI:10.1016/j.jhazmat.2020.122068.

[38] Yi X, Jing D, Wan J, et al. Temporal and spatial variations of contaminant removal, enzyme activities, and microbial community structure in a pilot horizontal subsurface flow constructed wetland purifying industrial runoff [J]. Environmental Science and Pollution Research, 2016,23(9):8565−8576.DOI:10.1007/s11356−016−6083−9.

[39] Xu M, He Z, Zhang Q, et al. Responses of aromatic−degrading microbial communities to elevated nitrate in sediment [J]. Environmental Science & Technology, 2015,49(20):12422−12431. DOI: 10.1021/acs.est.5b03442.

[40] Zhou Z, Yao Y, Wang M, et al. Co−effects of pyrene and nitrate on the activity and abundance of soil denitrifiers under anaerobic conditio [J]. Archives of Microbiology, 2017,199(8):1091−1101.DOI:10.1007/s00203−017−1380−3.

[41] Niepceron M, Martin−Laurent F, Crampon M, et al. Gamma Proteobacteria as a potential bioindicator of a multiple contamination by polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in agricultural soils [J]. Environmental Pollution, 2013,180:199−205.DOI:/10.1016/j.envpol.2013.05.040.

[42] Niepceron M, Florence P K, Chloe M, et al. Both *Cycloclasticus* spp. and *Pseudomonas* spp. as PAH−degrading bacteria in the Seine estuary (France) [J]. Federation of European Microbiological Societies, 2010,71:137–147. DOI:10.1111/j.1574−6941.2009.00788.x

[43] Rabodonirina S, Rasolomampianina R, Krier F, et al. Degradation of fluorene and phenanthrene in PAHs−contaminated soil using Pseudomonas and Bacillus strains isolated from oil spill sites [J]. Journal of Environmental Management, 2019,232:1−7.DOI:10.1016/j.jenvman.2018.11.005.

[44] Tibor B, Flóra S, István S. Aerobic and oxygen−limited naphthalene−amended enrichments induced the dominance of Pseudomonas spp [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2020,104:6023–6043. DOI:10.1007/s00253−020−10668−y.

[45] Janbandhu A, Fulekar M H. Biodegradation of phenanthrene using adapted microbial consortium isolated from petrochemical contaminated environment [J]. Journal of Hazardous Materials, 2011, 187(1−3):333−340.DOI:10.1007/s12088−012−0265−z.

[46] Zhang S Y, Wang Q F, Xie S G. Molecular characterization of phenanthrene−degrading methanogenic communities in leachate−contaminated aquifer sediment [J]. International Journal of Environmental Science and Technology, 2012,9(4):705−712.DOI:10.1007/s13762−012−0098−7.

[47] 宁燕宁.植物落叶浸出液为电子供体的反硝化工艺 [D]. 上海:上海师范大学, 2022.
Ning Y N. Denitrification process using plant deciduous extract as electron donor [D]. Shanghai: Shanghai Normal University, 2022 (in

Chinese with English abstract).

[48] Chen Y, Zhao Z, Peng Y, et al. Performance of a full-scale modified anaerobic/anoxic/oxic process: High-throughput sequence analysis of its microbial structures and their community functions [J]. Bioresource Technology, 2016,220:225-232.DOI:10.1016/j.biortech.2016.07.095.

[49] 夏俊涛.污水处理系统中芳香族有机对耐药基因的影响机理及应对策略研究 [D]. 南京:南京大学, 2020.
Xia J T. A study on the mechanisms and the coping strategies of the influence of aromatic compounds on bacterial antibiotic resistance genes in wastewater treatment systems [D]. Nanjing: Nanjing University, 2020 (in Chinese with English abstract).

[50] 陈 星.长江口滨岸 PAHs 赋存特征和微生物降解作用研究 [D]. 青岛:山东师范大学, 2019.
Chen X. Study on the occurrence characteristics and bio-degradation of PAHs in the Yangtze River Estuary [D]. Qingdao: Shandong Normal University, 2019 (in Chinese with English abstract).

[51] Tsuneda S, Miyauchi R, Ohno T, et al. Characterization of denitrifying polyphosphate-accumulating organisms in activated sludge based on nitrite reductase gene [J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2005,99(4):403-407.DOI:10.1263/jbb.99.403.

[52] Andreoni V, Cavalca L, Rao M A, et al. Bacterial communities and enzyme activities of PAHs polluted soil [J]. Chemosphere, 2004,57(5):401-412.DOI:10.1016/j.chemosphere.2004.06.013.

[53] Muratova A, Pozdnyakova N, Makarov O, et al. Degradation of phenanthrene by the rhizobacterium Ensifermeliloti [J]. Biodegradation, 2014,25(6):787-795.DOI:10.1007/s10532-014-9699-9.

[54] Muratova A, Dubrovskaya E, Golubev S, *et al.* The coupling of the plant and microbial catabolisms of phenanthrene in the rhizosphere of Medicago sativa [J]. Journal of Plant Physiology, 2015,188:1-8.DOI: 10.1016/j.jplph.2015.07.0140176-1617.

[55] 孟建宇,李 衡,唐 凯,等.两株氢噬胞菌的萘降解特性分析 [J]. 化工环保, 2017,37(3):300-303.
Meng J Y, Li H, Tang K, et al. Analysis on naphthalene degradation characteristics of two *Hydrogenophaga* sp [J]. Strains. Environmental Protection of Chemical Industry, 2017,37(3):300-303(in Chinese with English abstract). DOI:10.3969/j.issn.1006-1878.2017.03.008.

[56] Yan Z, Zhang Y, Wu H, et al. *Hydrogenophaga sp*. PYR1 for anaerobic pyrene and benzo[a]pyrene biodegradation [J]. RSC Advances, 2017,7,46690–46698.DOI:10.1039/c7ra09274a.

[57] Acer Ö, Johnston G P, Lineman D, et al. Evaluating degradation of polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) potential by indigenous bacteria isolated from highly contaminated riverbank sediments [J]. Environmental Earth Sciences, 2021,80(23).DOI: 10.1007/s12665-021-10070-5.

[58] Chang W, Um Y, Hoffman B, et al. Molecular characterization of polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH)-degrading methanogenic communities [J]. Biotechnology Progress, 2005,21(3):682-688.

[59] 吕 莹,胡学武,陈素素,等.多环芳烃污染土壤的微生物修复技术研究进展 [J]. 化工进展, 2022,41(6):3249-3261.
Lv Y, Hu X W, Chen S S, et al. Advances in microbial remediation of soils polluted by polycyclic aromatic hydrocarbons [J]. Chemical Industry and Engineering Progress. 2022,41(6):3249-3261.DOI:10.16085/j.issn.1000-6613.2021-1482.

[60] Ye Q, Zhang Z, Huang Y, et al. Enhancing electron transfer by magnetite during phenanthrene anaerobic methanogenic degradation [J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2018,129:109-116.DOI:10.1016/j.ibiod.2018.01.012.

[61] Chang W, Um Y, Holoman T R P. Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) degradation coupled to methanogenesis [J]. Biotechnology Letters, 2006,28(6):425-430.DOI:10.1007/s10529-005-6073-3.

[62] Lu X-Y, Li B, Zhang T, et al. Enhanced anoxic bioremediation of PAHs-contaminated sediment [J]. Bioresource Technology, 2012,104: 51-58.DOI:10.1016/j.biortech.2011.10.011.

[63] 朱剑锋,王艳琼,王红武.铁氧化物促进微生物直接种间电子传递的机理及其研究现状 [J]. 环境化学, 2022,41(6):1856-1868.
Zhu J F, Wang Y Q, Wang H W. A review on enhancement of direct interspecies electron transfer induced by iron oxides and its mechanism [J]. Environmental Chemistry, 2022,41(6):1856-1868.

[64] Han T, Chen X, Wang K, et al. Electron transfer by ion conductance in a soil bioelectric fiel [J]. Sustainable Energy Technologies and Assessments, 2023,55:102902.DOI:10.1016/j.seta.2022.102902.

[65] 李诗阳.铁氧化物强化厌氧生物处理过程中胞外电子传递及其调控 [D]. 大连:大连理工大学, 2019.
Li S Y. Enhancement and regulation of extracellular electron transferin anaerobic biological treatment by lron oxides [D]. Dalian: Dalian University of Technology, 2019 (in Chinese with English abstract).

[66] 王 莹,刘同旭,李芳柏.微生物—矿物间半导体介导电子传递机制研究进展 [J]. 地球科学进展, 2016,31(4):347-356.
Wang Y, Liu T X, Li F B. Advances in the semiconductor-mediated electron transfer mechanism at microbe-mineral interface [J]. Advances in Earth Science, 2016,31(4):347-356.DOI:10.11867/j.issn.1001-8166.2016.04.0347.

[67] 彭子淇,罗宇同,陆阳阳,等.我国主要河口沉积物中多环芳烃细菌降解及生物修复强化方式的研究进展 [J]. 微生物学报, 2022,62(6): 2311-2327.
Peng Z Q, Luo Y T, Lu Y Y, et al. Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments of main estuaries in China by bacteria and the methods to enhance the degradation [J]. Acta Microbiologica Sinica, 2022,62(6):2311–2327.DOI:10.13343/j.cnki.wsxb.20220272.

[68] 孙 娇,张作涛,郭海礁,等.多环芳烃厌氧生物降解研究进展 [J]. 微生物学报, 2020,60(12):2844-2861.
Sun J, Zhang Z T, Guo H J, et al. Progresses in anaerobic microbial degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons [J]. Acta Microbiologica Sinica, 2020,60(12):2844-2861.DOI:10.13343/j.cnki.wsxb.20200276.

[69] Sun S, Wang H, Yan K, et al. Metabolic interactions in a bacterial co-culture accelerate phenanthrene degradation [J]. Journal of Hazardous Materials. 2021,403:123825.DOI:10.1016/j.jhazmat. 2020. 123825.

作者简介：王鸿洋(1999-),男,河南驻马店人,硕士研究生,主要从事湖泊沉积物污染物降解研究.发表论文 3 篇.email:1694168064@qq.com