

黄芷若,郭镗妮,赵 涛,等.铜绿假单胞菌螯铁蛋白催化降解石油烃的机理 [J]. 中国环境科学, 2025,45(4):2298-2304.

Huang Z R, Guo D N, Zhao T, et al. The catalytic degradation mechanism of petroleum hydrocarbons by Ferripyochelin produced from the extracellular fluid of *Pseudomonas aeruginosa* NY3 [J]. China Environmental Science, 2025,45(4):2298-2304.

铜绿假单胞菌螯铁蛋白催化降解石油烃的机理

黄芷若¹,郭镗妮¹,赵 涛¹,聂红云^{1,2*},聂麦茜^{1,2},王 磊^{1,2},赵碧洁¹ (1.西安建筑科技大学环境与市政工程学院,陕西 西安 710055; 2.陕西省膜分离重点实验室,陕西 西安 710055)

摘要: 探讨了铜绿假单胞菌 *Pseudomonas aeruginosa* NY3 分泌的螯铁蛋白(Pyochelin,PCH)与铁形成复合物(Ferripyochelin,FerriPCH)催化降解石油烃的作用机理.结果表明,菌株 NY3 分泌的 2 种 PCH 为手性对映体.当纯化后的 PCH 与 Fe³⁺ 螯合时,可降解石油烃中的烷烃和多环芳烃等污染物.当 PCH 与 Fe³⁺ 的比例为 2:1 ~ 1:1 时,对十六烷,蒽和菲有一定的降解效果,且生物利用度低的芳香烃降解效率显著高于烷烃.研究发现,Fe³⁺ 与 PCH 螯合会产生·OH 和·O₂⁻ 自由基,这些具有强氧化性能的自由基可将石油烃逐步降解为二氧化碳和水.

关键词: 螯铁蛋白; FerriPCH; 催化降解; 石油烃; 自由基

中图分类号: X172 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-6923(2025)04-2298-07

The catalytic degradation mechanism of petroleum hydrocarbons by Ferripyochelin produced from the extracellular fluid of *Pseudomonas aeruginosa* NY3. HUANG Zhi-ruo¹, GUO Di-ni¹, ZHAO Tao¹, NIE Hong-yun^{1,2*}, NIE Mai-qian^{1,2}, WANG Lei^{1,2}, ZHAO Bi-jie¹ (1.School of Environmental and Municipal Engineering, Xi'an University of Architecture and Technology, Xi'an 710055, China; 2.Key Laboratory of Membrane Separation, Xi'an 710055, China). *China Environmental Science*, 2025,45(4): 2298-2304

Abstract: The catalytic degradation mechanism of petroleum hydrocarbons by Ferripyochelin (FerriPCH), formed by the combination of pyochelin (PCH) from the extracellular fluid of *P. aeruginosa* NY3 and Ferri, was investigated. The results showed that two chiral PCHs were produced by strain NY3. The purified PCH could degrade both alkanes and polycyclic aromatic compounds of petroleum hydrocarbon after combining with Ferri. A certain ratio of hexadecane, anthracene, as well as phenanthrene could be degraded by FerriPCH which formed by PCH and Ferri in the ratio from 2:1 to 1:1. In addition, degradation efficiency of aromatic hydrocarbons with low bio-availability was significantly higher than that of alkanes. Further studies showed that strongly oxidizing free radicals of ·OH and ·O₂⁻ produced after the binding of Ferri and PCH degraded petroleum hydrocarbons into carbon dioxide and water step by step.

Key words: pyochelin; FerriPCH; catalytic degradation; petroleum hydrocarbons; free radicals

在石油开采、储存、运输和加工过程中产生的石油烃,已成为土壤、水和大气环境的主要有机污染物之一^[1].由于其成分对低级和高级生物均具有的致癌性、致畸性、诱变性和免疫毒性,石油污染处理技术已成为全球关注的焦点问题^[2].从环境可持续发展来看,生物修复相较于物理和化学处理技术更前景^[3].尽管生物法具有环保、低成本的优势,但其受环境因素、石油污染物的毒性以及较长修复周期等因素的制约^[4-5].由于环境因素可通过优化特定处理工艺来满足,因此提高微生物对石油烃,特别是难降解组分,如多环芳烃的降解效率已成为研究热点^[6,8].

近几十年里,生物体系中的自由基降解在处理难降解有机污染物(ROPs)中逐渐被更多学者认可^[9,12].在自由基降解途径中,通过胞外活性化合物

催化产生 H₂O₂、O₂⁻ 和·OH^[13]等活性氧(ROS),这些具有氧化还原活性的 ROS 进一步将母体污染物转化为低毒性的、可生物降解的中间产物^[9],从而提高 ROPs 的总生物降解效率.因此,揭示自由基降解的机制对提高 ROPs 的生物利用度至关重要.目前,已报道了多种能形成 ROS 的胞外活性化合物.其中,由铜绿假单胞菌和伯克氏菌分泌的螯铁蛋白(Pyochelin,PCH)^[14-15]是胞外活性化合物之一.当 PCH 与铁离子结合时,会在细胞外液中形成具有 ROS 生成能力的 FerriPCH.已有研究探讨了

收稿日期: 2024-09-11

基金项目: 陕西省教育厅重点实验室项目(23JS040);陕西省秦岭生态安全重点实验室开放基金(QLES202501);陕西省科技创新团队计划(2024RS-CXTD-51)

* 责任作者, 讲师, nie0212@126.com

FerriPCH 对四溴双酚 A 等阻燃剂的降解作用^[11,13].铜绿假单胞菌和伯克氏菌作为分泌 PCH 的主要菌株,在石油烃污染场地的修复中得到广泛的应用^[3,16],但 FerriPCH 对烷烃,多环芳烃等石油烃的降解机制尚不清楚.

本文研究了 FerriPCH 对石油烃中十六烷和多环芳烃(蒽和菲)的降解机制.PCH 是由铜绿假单胞菌分泌的铁载体,通过从细胞外液中提取并采用 UV-Vis 光谱法和 LC-MS 进行表征;并测定 FerriPCH 对十六烷,蒽和菲的降解效率.同时,通过鉴定代谢产物以及自由基降解过程中产生的自由基以揭示其降解机理.

1 材料与方 法

1.1 菌种来源

铜绿假单胞菌 NY3 分离于陕西石油污染土壤^[17],并对其做 16rRNA 鉴定,结果提交 NCBI 数据库,登录号为 GU377209.

1.2 培养基

牛肉膏培养基:根据参考文献^[18]制备.组成为 NaCl 5g/L,蛋白胨 10g/L,牛肉膏 3g/L,调 pH 值至 7.8,121℃ 灭菌 30min,备用.

M9 培养基:采用 M9 培养基制备 PCH^[19].组成为 Na₂HPO₄ 64.0g,KH₂PO₄ 15.0g,NaCl 2.5g,NH₄Cl 5.0g,丁二酸钠 20mmol/L,调 pH 值至 7.8,121℃ 灭菌 30min,备用.

1.3 PCH 的提取纯化

将单菌落 NY3 菌株接种于牛肉膏培养基中,于 31℃,150r/min 恒温摇床中震荡培养.培养好的种子液以 10%的接种量(OD_{600nm}=1.60±0.08)接种到 M9 培养基中,并添加 20mmol/L 琥珀酸钠作为唯一碳源,于 31℃,150r/min 好氧培养 3d,10000r/min 离心 15min 去除菌体,得到无菌胞外液,用 6mol/L 的盐酸调 pH 值至 2.5.采用文献^[19]报道的方法提取上清液中的 PCH.100mL 乙酸乙酯液萃取上清液 3 次后,用旋转蒸发仪去除溶剂.乙酸乙酯挥发后的残留物溶于 1mL 甲醇/水(1:2,体积比)中,保留在固相萃取柱中(Supelclean™ ENVI™-18).分别用 5mL 甲醇/水(1:20,体积比)和 5mL 甲醇/水(1:1,体积比)经行清洗,然后用 10mL 2%甲酸洗脱.洗脱液在氮气气流下浓缩,即得到纯化的 PCH.

1.4 PCH 的表征

用紫外-可见分光光度计测量 PCH 的吸收光谱.将纯化的 PCH 溶解在超纯水中制备样品,以超纯水作为空白对照.扫描范围设置为 200~800nm.

用高效液相-离子阱-飞行时间质谱(Shimadzu Corporation. Kyoto,Japan)检测提取到的 PCH^[20].流动相体系由含有 0.1%甲酸(体积分数)的超纯水(溶剂 A)和高效液相色谱级乙腈(溶剂 B)组成.洗脱程序以 20% B 开始,稳定 1min,在 20min 内从 20% B 到 95% B 进行线性梯度洗脱.溶剂 B 的浓度上升至 95%后,保持 5min,随后返回到 20% B 的初始流动相条件.其中最佳进样量为 20μL,流速设定为 0.2mL/min.PCH 在 C18 色谱柱(Shimpack XR-ODS,2.2μm 总孔,2.0mm i.d×75mm;日本岛津公司)上实现分离.

1.5 FerriPCH 降解石油烃

选十六烷,蒽和菲为石油烃的典型代表.分别制备 20mL 的降解体系,并加入 PCH,FeCl₃,石油烃和 Tris-HCl 缓冲液(50mmol/L,pH=8.0).PCH 和 FeCl₃ 浓度变化范围为 0~400μmol/L,十六烷,蒽和菲的浓度分别为 1.16g/L,25mg/L 和 25mg/L.当探究 PCH 浓度对 FerriPCH 降解体系影响时,Fe³⁺浓度设定为 100μmol/L;当考察 Fe³⁺浓度对 FerriPCH 降解体系影响时,PCH 浓度为 100μmol/L;探究 H₂O₂ 对 FerriPCH 降解石油烃的影响时,H₂O₂,Fe³⁺的浓度均为 100μmol/L.所有降解体系在 31℃,151r/min 条件下好氧培养.

十六烷的测定^[10]:用 5mL 正己烷萃取降解体系中十六烷 3 次后,在配备有 HP-5 毛细管柱(5% phenyl Methyl Si-loxane,30m×320mm×0.25mm)和火焰电离检测器(FID)气相色谱分析仪上(安捷伦 6890N,CA)进行定量分析.通过十六烷的初始浓度和终浓度计算十六烷的降解效率.

蒽和菲的提取和测定根据参考文献稍作修改^[21]:降解体系中的蒽和菲用 5mL 环己烷萃取 3 次后,合并有机相并蒸发有机溶剂.将固体溶解在 5mL 色谱级甲醇中,用液相色谱(Thermo,U3000)对降解体系中残留的蒽和菲进行定量分析.进样量为 20μL,流速为 1.0mL/min,检测器波长为 254nm.通过十六烷的初始浓度和最终浓度计算蒽和菲的降解效率.

1.6 石油烃降解过程中中间体的提取与鉴定

中间产物的提取和鉴定如下^[22]:降解体系在

10000r/min 条件下离心 10min 后收集上清液.对于酸性中间产物,上清液用 6mol/L HCl 调节 pH 值至 2~3,并用 10mL 乙酸乙酯萃取 3 次.对于碱性中间产物,用 10mmol/L NaOH 溶液对酸性馏分中的乙酸乙酯萃取 3 次.随后,用 6mol/L HCl 将氢氧化钠相酸化至 pH 值 2~3,用 10mL 乙酸乙酯萃取 3 次.最后,将乙酸乙酯相干燥,浓缩后,用 DB-5 色谱柱(安捷伦,7000B)进行气相色谱-质谱分析.程序设置为:氦气为流动相,流速 1.0mL/min,进样口温度为 280℃,进样量为 1 μ L,源离子温度为 230℃,升温程序:160℃保持 1min,然后以 20℃/min 升温至 260℃,保持 6min.

1.7 电子顺磁共振(EPR)测量

待检测溶液体系总体积为 50 μ L,其中 DMPO, PCH 和 FeCl₃ 的浓度分别为 200,100 和 100 μ mol/L,最后用 Tris-HCl 缓冲液(50mmol/L,pH=8.0)调整至所需体积.EPR 测量使用 Bruker 169EMXmicro 光谱仪(Bruker BioSpin,Billerica,MA,USA)^[10].EMXmicro 光谱仪参数如下:微波功率 20mW,调制频率 100kHz,调制幅度 1.0G,时间常数 0.327 或 0.655s,放大倍数 5.0 $\times 10^5$.

1.8 统计分析

除气相色谱-质谱联用仪测量外,本工作中所有实验均至少重复 3 次,用 Origin 2022 软件对实验数据进行标准差分析.

H₂O₂ 对 FerriPCH 降解十六烷,蒎和菲的显著性分析:利用 SPSS 软件(IBM SPSS Statistics 27)对加

H₂O₂ 体系和对照组做独立样本 *T* 检验,分析两者的显著性, $P < 0.05$ 说明具有显著性.(用 * 表示相关性强弱,***: $P < 0.001$; **: $P < 0.01$; *: $0.01 < P < 0.05$).

2 结果与讨论

2.1 铜绿假单胞菌 NY3 菌株分泌的 PCH 提取与表征

PCH 是铜绿假单胞菌分泌的一种铁载体.在 M9 培养基中发酵培养后,NY3 菌株可分泌 64~70mg/L 的 PCH.采用 1.3 的方法对其提取纯化,可获得 50% 以上的 PCH 粗品,其色谱纯度约为 49.3%.采用紫外-可见光谱法,液相色谱-质谱法对 PCH 进行表征,结果如图 1 所示.从图 1a 可以看出,纯化得到的 PCH 在 216, 253, 288, 327 和 360nm 处分别有 5 个吸收峰.其中,在 216, 253 和 327nm 处的峰与 *P.cepacia* 和 *P.aeruginosa* PAO1^[23] 的螯铁蛋白紫外吸收峰相同.LC-MS(图 1b-d)结果显示,液相色谱谱图(图 1b)中出现的两个吸收峰,其分子量均为 324(图 1c),二级质谱(图 1d)中出现的 m/z 281, m/z 247, m/z 224, m/z 190, m/z 172 和 m/z 186 的碎片离子应为[M+H-COO],[M+H-OH-S-CH=CH-CH=CH],[M+H-COOH-S-N-CH₃-CH-H],[M+H-COOH-N-S-S-OH-CH]和[M+H-C₆H₄-OH-C-S-N-CH₂-CH-H]的离子碎片.这与铜绿假单胞菌 ATCC15692^[24]产生的 PCH 质谱图相同.该结果表明 NY3 菌株产生的 PCH 由两个分子量相同的手性对映体组成.

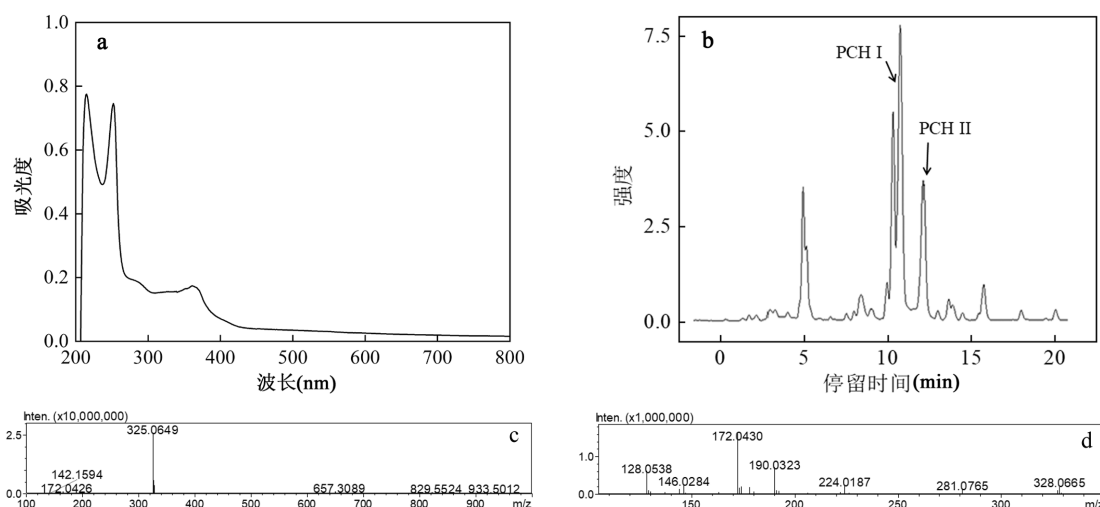


图 1 铜绿假单胞菌 NY3 分泌的 PCH 表征

Fig.1 Characterization of PCH by *P. aeruginosa* NY3

(a)PCH 紫外-可见吸收光谱图;(b)PCH 液相色谱图;(c)PCH 正离子一级质谱图;(d)PCH 正离子二级质谱图

2.2 FerriPCH 对十六烷的降解

由图 2a 可知,当 PCH 浓度为 0, Fe^{3+} 浓度为 $100\mu\text{mol/L}$ 时,十六烷几乎不降解;随着 PCH 浓度增加,十六烷降解率逐步增加,当 PCH 浓度为 50 和 100 时,十六烷降解率最高.由图 2b 可知,当 Fe^{3+} 浓度为 0, PCH 浓度为 $100\mu\text{mol/L}$ 时,十六烷几乎不降解;随着体系中 Fe^{3+} 浓度增加,十六烷降解率显著增加.以上结果表明 Fe^{3+} 和 PCH 单独存在均不能降解十六烷,但当 Fe^{3+} 与 PCH 螯合形成 FerriPCH 后可引起十六烷降解,且当 PCH 与 Fe^{3+} 的浓度比为 2:1 至 1:1 之间时,十六烷的降解效率较高,这与之前所报道 PCH: Fe^{3+} 复合物的最优化学计量配比一致^[24].但总体的降解率不高,约为 13.8% 左右.由前人研究结果可知,虽然 H_2O_2 不能引起有机污染物的降解^[25-26],但与 Fe^{3+} 结合可迅速降解有机污染物.因此在 FerriPCH 体系中加入 H_2O_2 ,其对十六烷降解率的影响如图 2c 所示.与 FerriPCH 体系相比,加入过氧化氢对十六烷降解率无显著促进;但 H_2O_2 加入后,十六烷的降解效率在更宽的 PCH 浓度范围内保持在相对较高的水平.综上可知,PCH 与 Fe^{3+} 螯合能引起十六烷降解,但降解率低;过氧化氢的加入并未提高十六烷降解率.

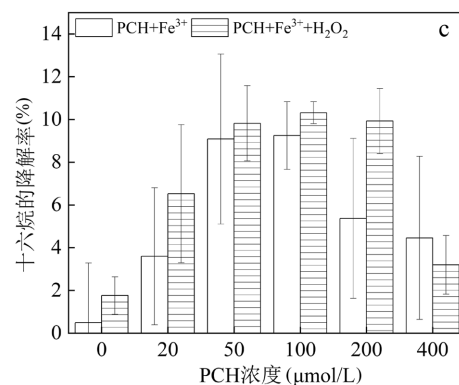
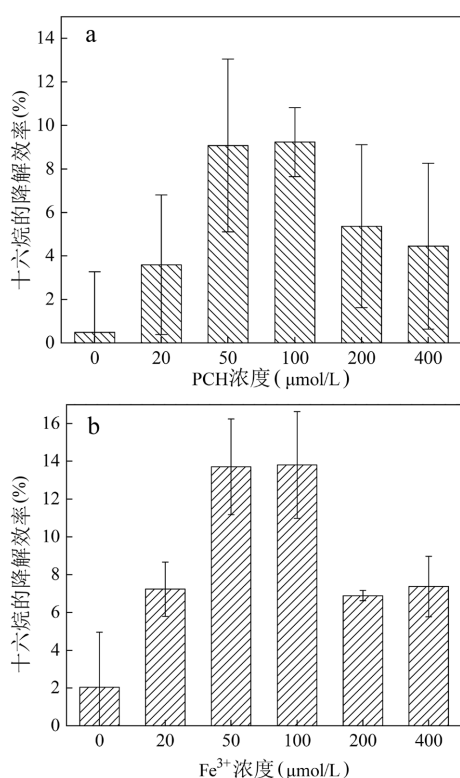


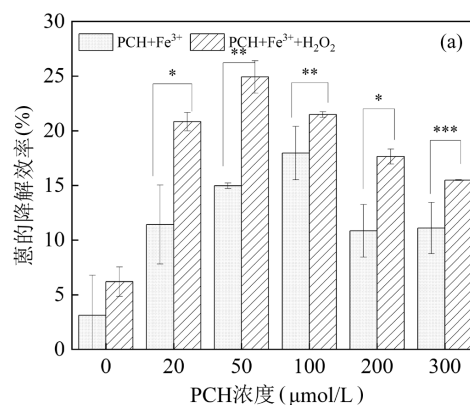
图 2 FerriPCH 对十六烷降解效率的影响

Fig.2 Effect of FerriPCH on the degradation efficiency of hexadecane

(a)PCH 质量浓度对十六烷降解效率的影响;(b) Fe^{3+} 质量浓度对十六烷降解效率的影响;(c) H_2O_2 浓度对 FerriPCH 降解十六烷效率的影响

2.3 FerriPCH 对蒽和菲的降解

保持实验条件与十六烷降解体系一致,考察了 FerriPCH 对蒽和菲等芳烃的降解.由图 3 可知,在 FerriPCH 体系中加入 H_2O_2 时,蒽和菲的降解效率得到提高,随着 PCH 浓度的增加,当 Fe^{3+} 与 PCH 的比例在 2:1 至 1:1 范围内时, FerriPCH 对蒽和菲的降解效果最佳.最优条件下,蒽的降解率可达 25% 左右,菲的降解率可达 50% 左右.相较于十六烷降解体系,降解效率分别提升 11.76% 和 41.14%.这与 Cao 等^[27]在 Fe/Mn-SOM 复合物体系中降解烷烃和芳香烃的结论一致.究其原因,可能源于烷烃和芳香烃分子结构的根本差异.芳香烃中交替的 C=C 双键增强了与活性氧自由基的反应活性,且 C=C 键断裂所需能量比长链烷烃中 C-C 键低^[28],从而致使生物利用度低的芳香烃反而更易被 FerriPCH 催化降解.此现象利于微生物对芳香烃的高效降解,进而提高石油烃的总降解率.



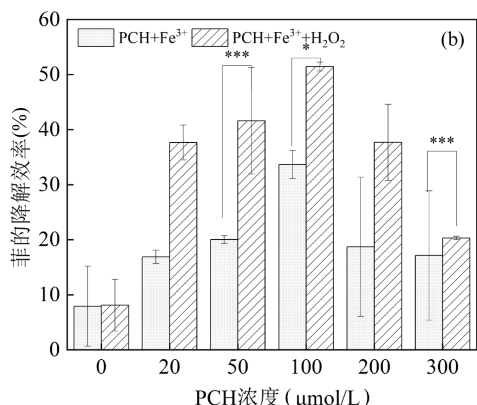


图3 FerriPCH对蒽和菲降解效率的影响

Fig.3 Effect of FerriPCH on the degradation efficiency of anthracene and phenanthrene

(a)PCH质量浓度对蒽降解效率的影响;(b)PCH质量浓度对菲降解效率的影响

***: $P < 0.001$, **: $0.001 < P < 0.01$, *: $0.01 < P < 0.05$

2.4 FerriPCH降解石油烃的途径

采用气相色谱-质谱法确定了FerriPCH催化下自由基降解过程中产生的中间产物.中间产物通过将其质谱特征峰与NIST库数据库的标准谱图或与已发表的质谱图比较进行鉴定,结果列于表1.如表1所示,十六烷降解体系的中间产物包括棕榈酸,己二酸,2-甲基-3-羟基己烷,6-羟基己酸,2-甲基-3-羟基戊烷,4,5-二羟基-2-戊烯和正丁醇.菲降解的中间产物包括1-羟基-2-(3-羟基-1-丙烯)-1,2,3,4-四氢萘,1,2-二羟基-3,4-二氢萘,1,2-二羟基萘和琥珀酸.蒽

降解的中间产物包括9,10-蒽醌,3,4-二羟基-2,3-二氢萘,2-羧甲基-1,2-二羟基萘,2-羧甲基-3-羟基-1,2-二氢萘.烷烃和芳香烃的降解途径涉及活性氧的介导自由基反应^[29]:经氧化,开环或裂解,生成包括醇类,羧酸等中间产物,这些中间产物最终被彻底氧化成CO₂和H₂O.上述结果表明,在FerriPCH催化作用下,十六烷,蒽和菲等逐步降解为碳原子数减少的中间产物,进而被矿化.不同石油烃的降解途径如图4所示.

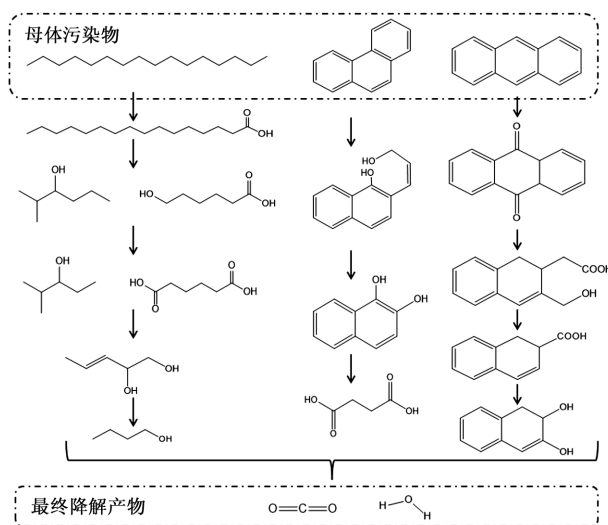


图4 FerriPCH降解石油烃的途径

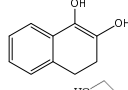
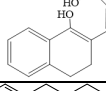
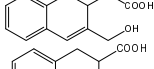
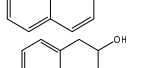
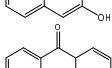
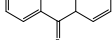
Fig.4 Degradation pathway of petroleum hydrocarbons by FerriPCH

表1 FerriPCH降解石油烃过程中产生的中间产物

Table 1 Intermediates produced in the degradation of petroleum hydrocarbons by FerriPCH

| 序号 | 石油烃 | 主要离子(m/z) | 结构式 | 名称 |
|----|-----|-------------------------------------|-----|--------------|
| 1 | | 146,131,103,89,75,73,61,59,45 | | 正丁醇 |
| 2 | | 174,159,143,128,114,100,86,73,56,45 | | 4,5-二羟基-2-戊烯 |
| 3 | | 174,159,144,130,86,73,58,45 | | 2-甲基-3-羟基己烷 |
| 4 | 十六烷 | 204,189,174,130,100,86,75,59,45 | | 6-羟基己酸 |
| 5 | | 188,173,158,144,102,73,59,45 | | 2-甲基-3-羟基己烷 |
| 6 | | 290,275,188,170,147,131,98,73 | | 己二酸 |
| 7 | | 328,313,201,132,117,73,55 | | 棕榈酸 |
| 8 | 菲 | 247,172,147,129,75,73,55,45 | | 琥珀酸 |
| 9 | | 234,203,189,147,144,129,103,73 | | 1,2-二羟基萘 |

续表 1

| 序号 | 石油烃 | 主要离子(m/z) | 结构式 | 名称 |
|----|-----|---------------------------------|--|-----------------------------|
| 10 | | 306,216,176,147,128,102,73 |  | 1,2-二羟基-3,4-二氢萘 |
| 11 | | 331,275,227,172,147,129,111,73 |  | 1-羟基-2-(3-羟基-1-丙烯基)-3,4-二氢萘 |
| 12 | | 227,191,143,129,111,98,75,55,41 |  | 2-羧甲基-3-羟甲基-1,2-二氢萘 |
| 13 | | 246,216,147,103,73,55 |  | 2-羧基-1,2-二氢萘 |
| 14 | 蒽 | 306,216,176,147,128,102,73 |  | 2,3-二羟基-1,2-二氢萘 |
| 15 | | 208,180,152,126,76,50 |  | 9,10-蒽醌 |

2.5 FerriPCH 降解石油烃类的机理

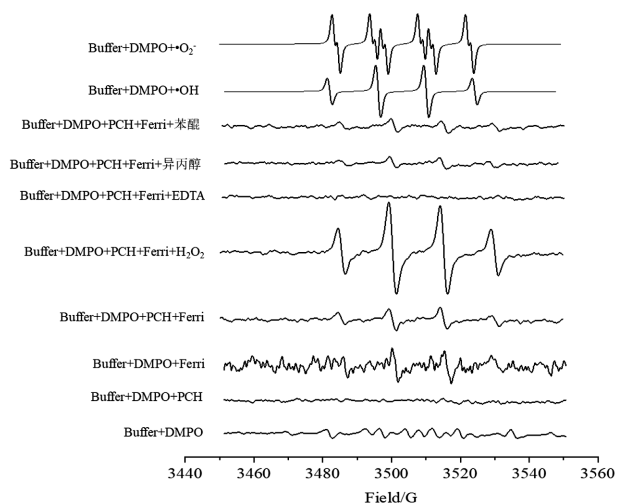


图 5 缓冲液体系中的自由基信号

Fig.5 Radical signals in the Buffer system

用电子顺磁共振(EPR)检测石油烃降解过程中产生的活性自由基.EPR 谱如图 5 所示.在 Tris-HCl 缓冲液中仅加入 DMPO,PCH 和 DMPO,或加入 Fe^{3+} 和 DMPO,均未检测到明显信号.说明 PCH 和 Fe^{3+} 单独存在的情况下都不会产生自由基.当 Fe^{3+} 加入到 PCH 和 DMPO 的体系中时,观察到特征性的 DMPO- \bullet OH ($a_N=a_H=14.9G$)信号,证实了 Fe^{3+} 与 PCH 螯合过程中 \bullet OH 的产生.为进一步验证 Fe^{3+} 在反应中的作用,向体系中加入 100mmol/L 乙二胺四乙酸二钠作为 Fe^{3+} 的捕获剂,结果无信号产生,表明 Fe^{3+} 是促进 \bullet OH 自由基生成的必要条件.异丙醇和苯醌是 \bullet OH 和超氧阴离子自由基($\bullet O_2^-$)高效捕获剂.当在 Fe^{3+} ,PCH 和 DMPO 的 Tris-HCl 体系中分别加入

异丙醇和苯醌时,信号均未完全消失,表明 Fe^{3+} 和 PCH 的螯合过程中不仅产生了 \bullet OH,而且产生了 $\bullet O_2^-$.在其体系中加入 H_2O_2 ,能极大的促进体系中 \bullet OH 自由基的浓度.据了解,这是首次在 Fe^{3+} 与 PCH 体系中检测到 $\bullet O_2^-$ 存在^[30].根据石油烃的降解效率可知,加入过氧化氢有效提升 FerriPCH 体系中强氧化性 \bullet OH 的浓度.基于密度泛函理论,多环芳烃因其亲电反应指数高,更易受到 \bullet OH 等自由基的攻击^[27],因此,蒽和菲的降解效率高于十六烷.

3 结论

3.1 铜绿假单胞菌 NY3 菌株分泌的 PCH 主要由两种手性对映体组成.当 PCH 与 Fe^{3+} 以物质的量浓度为 2:1~1:1 形成 FerriPCH 复合物时,对石油烃的降解效率最高.

3.2 相较于十六烷,FerriPCH 复合物对难以生物降解的蒽和菲的降解效率更高.在 FerriPCH 的催化降解作用下,十六烷,蒽和菲等石油烃类物质逐步降解,形成一系列碳原子数减少的中间产物,最终转化为二氧化碳和水.

3.3 降解机理的研究表明,当 PCH 和 Fe^{3+} 螯合形成 FerriPCH 复合物时,生成 \bullet OH 和 $\bullet O_2^-$ 等自由基.加入 H_2O_2 ,可显著促进体系中 \bullet OH 的浓度.

参考文献:

- [1] Ou Y W, Wu M L, Yu Y, et al. Low dose phosphorus supplementation is conducive to remediation of heavily petroleum-contaminated soil-From the perspective of hydrocarbon removal and ecotoxicity risk control [J]. The Science of the Total Environment, 2024,929:172478.
- [2] Wang S Q, Li C C, Zhang L S, et al. Assessing the ecological impacts of

- polycyclic aromatic hydrocarbons petroleum pollutants using a network toxicity model [J]. *Environmental Research*, 2024,245:117901.
- [3] Sunita V, Vivek N U. Bioaugmentation of *Pseudomonas aeruginosa* NCIM 5514—a novel oily waste degrader for treatment of petroleum hydrocarbons [J]. *Bioresource Technology*, 2021,391:24240.
- [4] Mallick S K, Chakraborty K. Treatment of petroleum wastewater contaminated with hydrocarbons and inorganics by anoxic-aerobic sequential moving bed reactors [J]. *Journal of Environmental Management*, 2021,288:112430.
- [5] Zhen L S, Hu T, Lv R, et al. Succession of microbial communities and synergetic effects during bioremediation of petroleum hydrocarbon-contaminated soil enhanced by chemical oxidation [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021,410:124869.
- [6] Kong L L, Gao Y Y, Zhou Q X, et al. Biochar accelerates PAHs biodegradation in petroleum-polluted soil by biostimulation strategy [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2018,343:276–284.
- [7] Wassenaar P N H, Verbruggen E M J. Persistence, bioaccumulation and toxicity-assessment of petroleum UVCBs: A case study on alkylated three-ring PAHs [J]. *Chemosphere*, 2021,276:130113.
- [8] Han X K, Wang F W, Zhang D J, et al. Nitrate-assisted biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in the water-level-fluctuation zone of the three Gorges Reservoir, China: Insights from in situ microbial interaction analyses and a microcosmic experiment [J]. *Environmental Pollution*, 2021,268(PB):115693.
- [9] Nie H Y, Nie M Q, Diwu Z J, et al. Homogeneously catalytic oxidation of phenanthrene by the reaction of extracellular secretions of pyocyanin and Nicotinamide Adenine Dinucleotide [J]. *Environmental Research*, 2020,191:110159.
- [10] Nie H Y, Nie M Q, Wang L, et al. Evidences of extracellular abiotic degradation of hexadecane through free radical mechanism induced by the secreted phenazine compounds of *P.aeruginosa* NY3 [J]. *Water Research*, 2018,139:434–441.
- [11] Gu C, Wang J, Guo M F, et al. Extracellular degradation of tetrabromobisphenol A via biogenic reactive oxygen species by a marine *Pseudoalteromonas* sp [J]. *Water Research*, 2018,142:354–362.
- [12] Nie H Y, Nie M Q, Wang L, et al. Promotion effect of extracellular abiotic degradation of hexadecane by co-existence of oxalic acid in the culture medium of *Pseudomonas aeruginosa* NY3 [J]. *Environmental Technology & Innovation*, 2021,22:101415.
- [13] Huang W T, Yin H, Yu Y Y, et al. Co-metabolic degradation of tetrabromobisphenol A by *Pseudomonas aeruginosa* and its auto-poisoning effect caused during degradation process [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2020,202:110919.
- [14] Katerina S, Kristyna D, Petra K, et al. Prevalence of bacteriocins and their co-association with virulence factors within *Pseudomonas aeruginosa* catheter isolates [J]. *International Journal of Medical Microbiology*, 2020,310(8):151454.
- [15] Kuan S O, Yuen L C, Sui M L. The role of reactive oxygen species in the antimicrobial activity of pyochelin [J]. *Journal of Advanced Research*, 2017,8(4):393–398.
- [16] Raj M, Davinia S, Indu S T. *Burkholderia*: An Untapped but Promising Bacterial Genus for the Conversion of Aromatic Compounds [J]. *Trends in Biotechnology*, 2020,38(9):963–975.
- [17] Nie H Y, Nie M Q, Diwu Z J, et al. Biological treatment of high salinity and low pH produced water in oilfield with immobilized cells of *P. aeruginosa* NY3 in a pilot-scale [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2020,381:121232.
- [18] Nie H Y, Nie M Q, Xiao T, et al. Hexadecane degradation of *Pseudomonas aeruginosa* NY3 promoted by glutaric acid [J]. *Science of the Total Environment*, 2017,575:1423–1428.
- [19] Jack G G, Ashmita P, Kayla S, et al. A systematic analysis of mosquito-microbiome biosynthetic gene clusters reveals antimalarial siderophores that reduce mosquito reproduction capacity [J]. *Cell Chemical Biology*, 2020,27(7):817–826.
- [20] Hayen H, Volmer D A. Different iron-chelating properties of pyochelin diastereoisomers revealed by LC/MS [J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2006,385(3):606–611.
- [21] Kim D Y, Lee B E, Shin H S. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in smoking cessation aids by using high-performance liquid chromatography [J]. *Analytical Biochemistry*, 2021,617:114119.
- [22] Nie H Y, Nie M Q, Yang Y Z, et al. Characterization of Phenol Metabolization by *P-stutzeri* N2 [J]. *Polycyclic Aromatic Compounds*, 2016,36(5):587–600.
- [23] Pamela A S. Production and utilization of pyochelin by clinical isolates of *Pseudomonas cepacia* [J]. *Journal of Clinical Microbiology*, 1986, 23(3):560–562.
- [24] Youard Z A, Wenner N, Reimann C. Iron acquisition with the natural siderophore enantiomers pyochelin and enantio-pyochelin in *Pseudomonas* species [J]. *BioMetals*, 2011,24(3):513–522.
- [25] Chen Y F, Vu H C, J. Miller C, et al. Comparative experimental and computational studies of hydroxyl and sulfate radical-mediated degradation of simple and complex organic substrates [J]. *Environmental Science & Technology*, 2022,56(12).
- [26] Yao S J, Ma J Q, Ma D, et al. Comprehensive evaluation and Mechanistic comparison of Cr-Catalyzed homogeneous Fenton-Like reactions for coexisting organics degradation [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2024,502:157918.
- [27] Cao Z Z, Xu J L, Dai J N, et al. Direct oxidation of adsorbed petroleum hydrocarbons by activating persulfate with Fe/Mn-SOM complex performed in-situ for heavily contaminated soil remediation [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2024,496:154049.
- [28] Bokam R, Indumathi M N, Suresh K G. Investigating the degradation of nC₁₂ to nC₂₃alkanes and PAHs in petroleum-contaminated water by electrochemical advanced oxidation process using an inexpensive Ti/Sb-SnO₂/PbO₂ anode [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2021,404:12568.
- [29] Zhang T, Chen Y, Wang T, et al. Efficient removal of petroleum hydrocarbons from soil by percarbonate with catechin-promoted Fe(III)/Fe(II) redox cycling: Activation of ferrous and roles of ·OH and ·CO₃ [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2023,448:130875.
- [30] Sun G X, Zhong J J. Mechanism of augmentation of organotin decomposition by ferripyochelin: Formation of hydroxyl radical and organotin-pyochelin-iron ternary complex [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2006,72:7264.

作者简介: 黄芷若(2000-),女,湖北宜昌人,西安建筑科技大学硕士研究生,主要研究方向为难降解有机污染物的微生物处理技术。2391964534@qq.com.