

研究报告

全氟辛烷磺酰胺降解菌的分离、鉴定和降解特性

张靓^{1,2}, 霍旻^{*2}, 曹殿坤^{1,2}, 张莹^{1,2}, 霍明昕^{1,2}

1 东北师范大学环境学院, 吉林 长春 130117

2 东北师范大学吉林省城市污水处理与水质保障科技创新中心, 吉林 长春 130117

张靓, 霍旻, 曹殿坤, 张莹, 霍明昕. 全氟辛烷磺酰胺降解菌的分离、鉴定和降解特性[J]. 微生物学通报, 2023, 50(4): 1432-1449.

ZHANG Liang, HUO Yang, CAO Diankun, ZHANG Ying, HUO Mingxin. Isolation, identification, and degradation characteristics of perfluorooctane sulfonamide-degrading bacterium[J]. Microbiology China, 2023, 50(4): 1432-1449.

摘要:【背景】全氟烷基和多氟烷基物质(per-and poly-fluoroalkyl substances, PFAS)是一类具有高表面活性、热稳定性、化学稳定性和疏水疏油性的难降解有机污染物。其长距离迁移性、极高的环境持久性和生物蓄积性给生态环境和生物体带来了严重的危害。【目的】从吉林石化公司污水处理厂水样中筛选获得以全氟辛烷磺酰胺(perfluorooctane sulfonamide, PFOSA)为唯一碳源生长的降解菌, 并分析其降解特性及机理。【方法】以 PFOSA 为唯一碳源, 通过富集、筛选、分离和纯化, 从污水中筛选出 PFOSA 好氧降解菌, 通过形态学观察、16S rRNA 基因和全基因组测序分析对菌株进行鉴定, 并采用三重四级杆液质联用仪分别对 PFOSA 的降解率和降解产物进行分析。【结果】筛选得到一株 PFOSA 好氧降解细菌 C11, 经形态学观察、16S rRNA 基因序列分析和全基因组测序分析, 初步鉴定该菌为羧九酮丛毛单胞菌(*Comamonas testosteroni*)。经单因素优化试验发现, 在培养温度为 30 °C、初始 pH 值为 7.0、PFOSA 初始浓度为 30 mg/L 的降解条件下, 菌株 C11 对 PFOSA 的降解率可达 64.6%, PFOSA 的降解产物为全氟辛烷磺酸(perfluorooctane sulfonate, PFOS)、全氟辛酸(perfluorooctanoic acid, PFOA)、全氟庚酸(perfluorodecanoic acid, PFHpA)和全氟己酸(perfluorohexanoic acid, PFHxA), 基于降解产物的初步推定, 在菌株 C11 的作用下对降解途径进行推测: 首先 PFOSA 脱去氨基转化为 PFOS, PFOS 脱去磺酸基团氧化成 PFOA, 最后 C-F 键发生断裂转化为 PFHpA 和 PFHxA。【结论】菌株 C11 对 PFOSA 具有很好的降解能力, 为进一步解析 PFOSA 生物降解机理和探索 PFAS 污染环境的生物修复路径提供了理论支持。

关键词: 全氟辛烷磺酰胺; 羧九酮丛毛单胞菌; 降解途径

资助项目: 国家自然科学基金(52270197); 吉林省科技发展计划(20220508121RC, 20220101182JC)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (52270197) and the Science and Technology Development Program of Jilin Province (20220508121RC, 20220101182JC).

*Corresponding author. E-mail: huo0814@outlook.com

Received: 2022-11-23; Accepted: 2023-02-08

Isolation, identification, and degradation characteristics of perfluorooctane sulfonamide-degrading bacterium

ZHANG Liang^{1,2}, HUO Yang^{*2}, CAO Diankun^{1,2}, ZHANG Ying^{1,2}, HUO Mingxin^{1,2}

1 School of Environment, Northeast Normal University, Changchun 130117, Jilin, China

2 Science and Technology Innovation Center for Municipal Wastewater Treatment and Water Quality Protection, Jilin Province, Northeast Normal University, Changchun 130117, Jilin, China

Abstract: [Background] Per- and poly-fluoroalkyl substances (PFAS), a class of organic pollutants with high surface activity, thermal stability, chemical stability, hydrophobicity, and lipophobicity, are difficult to be degraded. Due to the long-distance migration, strong environmental persistence, and bioaccumulation, PFAS has brought serious harm to the environment and organisms. [Objective] To isolate an efficient perfluorooctane sulfonamide (PFOSA)-degrading bacterium from a sewage treatment plant and analyze the degradation characteristics and mechanism. [Methods] An aerobic PFOSA-degrading bacterium was screened out from wastewater by enrichment, isolation, and purification with PFOSA as the sole carbon source. The strain was identified by morphological observation and 16S rRNA gene and whole-genome sequencing. The degradation rate and degradation products of PFOSA were analyzed by a triple quadrupole mass spectrometer. [Results] An aerobic PFOSA-degrading bacterium C11 was isolated and identified as *Comamonas testosteroni*. The single factor experiments for degradation condition optimization showed that the degradation rate of PFOSA by strain C11 reached 64.6% under the optimal conditions of 30 °C, pH 7.0, and PFOSA concentration of 30 mg/L. The degradation products of PFOSA were perfluorooctane sulfonate (PFOS), perfluorooctanoic acid (PFOA), perfluorodecanoic acid (PFHpA), and perfluorohexanoic acid (PFHxA). According to the degradation products, we preliminarily hypothesized the degradation pathway of strain C11. Specifically, PFOS generated from the deamination of PFOSA was desulfonated and oxidized to PFOA, which was then converted into PFHpA and PFHxA after the cleavage of C–F bond. [Conclusion] Strain C11 has a strong ability of degrading PFOSA, which provides theoretical support for deciphering the biodegradation mechanism of PFOSA and exploring the bioremediation path of PFAS-contaminated environment.

Keywords: perfluorooctane sulfonamide; *Comamonas testosteroni*; degradation pathway

全氟烷基和多氟烷基物质(per- and poly-fluoroalkyl substances, PFAS)是人工合成的持久性有机污染物, 具有独特的物理化学性质, 如高表面活性、较强的热稳定性、化学稳定性和疏水疏油性。这些特性有助于 PFAS 的广泛使用, 包括表面活性剂、消防泡沫、农药和航空

航天等工业及民用消费领域^[1]。其中全氟辛烷磺酸(perfluorooctane sulfonate, PFOS)是最具代表性的 PFAS, 最早由美国 3M 公司于 1949 年进行生产, 因在表面涂层领域疏水疏油方面具有卓越的表现而被广泛使用^[2]。但因其环境中表现出长距离迁移性、极高的环境持久性和

在生物体内发生的生物蓄积性^[3],在大气^[4]、水体^[5]、土壤^[6]以及动植物和人体内被广泛检测到^[7-8]。有研究发现 PFOS 可以通过其前体物质的二次转化进入环境,通过吸入、消化和皮肤接触进入生物体,对生物体造成发育毒性、神经毒性和免疫毒性等^[9],因此,PFOS 及其相关物质受到了国内外的重点关注。2009 年,《关于持久性有机污染物的斯德哥尔摩公约》正式将 PFOS 列为持久性有机污染物^[10]。

据报道,在 1970–2002 年,PFOS 前体物质的最大排放量为 6 800–45 250 t,要远高于 PFOS 的排放量^[2]。最广泛检测出的前体物质有两大类,分别是全氟辛烷磺酰氨基乙醇类物质(perfluorooctane sulfonamidoethanol, FOSE)和全氟辛烷磺酰胺类物质(perfluorooctane sulfonamides, FOSA)^[12]。在大西洋和东格陵兰岛附近海水中 FOSA 的浓度高于 PFOS^[11-12]。其中全氟辛烷磺酰胺(perfluorooctane sulfonamide, PFOSA)是一种典型中性的 PFOS 前体物质,也是降解高分子量前体物质的重要中间体^[13-14]。有研究表明 PFOSA 的细胞毒性要远远超过 PFOS,且具有较强的致死和致畸作用,因此把 PFOSA 称为发育神经毒素^[15-16]。

目前,PFOS 前体物质(perfluorooctane sulfonic acid precursors, PreFOS)的去除方法有物理化学方法和生物降解方法两种^[17-20]。物理化学方法虽然具有一定的去除效果,但其条件苛刻、能耗高、操作复杂、二次污染严重,在实际应用中往往受到限制。生物降解方法作为一种节约成本、环境友好的去除环境中有机物的修复技术,在实际污染应用中具有潜在的环境保护作用,引起了人们的广泛关注。随着对 PreFOS 生物降解研究的深入^[21],研究人员从受 PFAS 污染的环境中筛选出 PFOSA 降解菌,如降解率为 14.6%的生丝微菌属(*Hyphomicrobium*)^[22]

和降解率为 27%的不动杆菌属(*Acinetobacter*)^[23]。但报道的菌株或是对高浓度 PFOSA 降解能力有限,或是只能降解低浓度的 PFOSA,与高效去除 PFOSA 的要求还有一定的差距,并且目前可用于 PFOSA 好氧降解的微生物资源也十分有限,因此需要从环境中分离出更多高效降解菌株。

本研究从吉林石化公司污水处理厂污水样品中分离出 PFOSA 的高效降解菌株 C11,通过形态学观察、16S rRNA 基因序列比对和全基因组序列分析对菌株进行了鉴定,同时研究了菌株对 PFOSA 的降解能力以及在不同培养条件下(温度、pH、初始 PFOSA 浓度)对 PFOSA 的降解效果及生长性能,以确定最佳降解条件,并对基因组和降解途径进行了初步分析,研究结果可为 PFOSA 高效生物降解提供菌种资源,为菌株 C11 应用于 PFAS 污染环境的净化提供基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌种来源

菌种从吉林石化公司污水处理厂曝气池污水样品中分离筛选获得。该污水处理厂主要处理生活污水和工业废水,日处理量为 24 万 t,污水生物处理单元采用 A/O 处理工艺。

1.1.2 主要试剂和仪器

PFOSA (纯度 97%), Dr. Ehrenstorfer GmbH 公司;胰蛋白胨、酵母提取物,北京奥博星生物技术有限公司;番红染液,广州臻萃质检技术服务有限公司;草酸铵结晶紫染液和卢戈碘液,广检(广州)检测科技有限公司;2.5%戊二醛,上海易恩化学技术有限公司;FeSO₄和 1×PBS,福州文莱生物科技有限公司;甲酸,天津永晟精细化工有限公司;乙酸铵,天津市

光复精细化工研究所; 丙酮, 天津市顶福化工总厂。

电子天平、pH 计, 梅特勒-托利多仪器有限公司; 氮吹仪, 杭州瑞诚仪器有限公司; 全自动数控固相萃取仪, 天津恒奥科技发展有限公司; 总有机碳(total organic carbon, TOC)分析仪, Shimadzu; 连续波长酶标仪, 伯腾仪器有限公司; 三重四级杆液质联用系统, 安捷伦科技有限公司; 超低温扫描电镜, 卡尔-蔡司公司。

1.1.3 培养基

液体富集培养基: LB 培养基参考文献[24]配制。

固体培养基: 向液体培养基中加入 20 g/L 的琼脂粉, 121 °C 灭菌 20 min, 冷却至 55 °C 左右, 在酒精灯火焰附近倒平板, 冷却凝固后待用。

无机盐培养基(g/L): NaHPO₄ 4.26, KH₂PO₄ 2.65, MgSO₄·7H₂O 0.20, NH₄Cl 1.50, FeSO₄ 0.01, pH 值调至 7.0–7.2, 然后再加入 0.02 的 CaCl₂。

PFOSA 碳源加入培养基的方法: 将 0.01 g 固体 PFOSA 标准品溶于 10 mL 甲醇中, 配制浓度为 1 g/L 的 PFOSA, 待甲醇完全挥发, 过 0.22 μm 有机膜除菌, 在酒精灯旁加入到灭菌后的培养基中, 使 PFOSA 的浓度达到实验设计浓度, 并调节培养基 pH 值为 7.0–7.2。试验操作中的全部器材经 121 °C 灭菌 20 min 后使用。以上操作步骤均在无菌超净工作台进行操作。

1.2 方法

1.2.1 PFOSA 降解菌株的分离纯化

取吉林石化公司污水处理厂污水样品 100 mL, 静置 30 min 后取 5 mL 上清液接种于装有 50 mL LB 培养基的 100 mL 锥形瓶中, 30 °C、150 r/min 振荡避光培养 48 h 后取 5 mL 培养液加到装有以 PFOSA 为唯一碳源的无机盐培养基中,

PFOSA 的初始浓度为 0.005 g/L, 同样在 30 °C、150 r/min 条件下振荡避光培养 72 h 后, 将 5 mL 的富集培养液转移到新鲜的无机盐培养基中继续培养, 重复上述操作, 传代培养 5 次, 同时 PFOSA 浓度逐渐增加至 0.02 g/L。取 1 mL 最终富集培养液用生理盐水梯度稀释, 然后取 1 mL 稀释为 10⁻³、10⁻⁴、10⁻⁵、10⁻⁶、10⁻⁷、10⁻⁸ 的培养液, 分别涂布于含 PFOSA 浓度为 0.01 g/L 的琼脂平板上, 置于恒温培养箱中 30 °C 条件下培养 7 d, 对生长良好的不同形态单菌落进行划线培养, 3 d 后再挑菌落至新鲜琼脂平板继续培养, 直至平板上出现单一菌落。纯化后的菌株培养至对数生长期(*OD*₆₀₀=0.8), 保存在 25% 的甘油中, 于 -80 °C 冰箱中保存待用。

1.2.2 PFOSA 降解菌株种子液的制备

将单个菌株接种于装有 50 mL LB 培养基的 100 mL 锥形瓶中, 在 30 °C、150 r/min 条件下振荡避光培养至对数增长期(*OD*₆₀₀=0.8), 8 000 r/min 离心 5 min, 去除上清液, 收集菌体。用适量的 1×PBS 冲洗菌体, 8 000 r/min 离心 5 min, 去除上清液。重复上述操作 3 次。最后加入适量的 1×PBS 将菌体重悬成 *OD*₆₀₀ 为 1.0 左右的菌悬液作为种子液, 用于后续菌株降解试验。

1.2.3 菌体形态的观察

革兰氏染色: 将分离纯化后的 PFOSA 降解菌接种在 LB 固体培养基上划线培养, 置于 30 °C 培养箱中培养 24 h, 观察菌株生长的菌落形态, 挑取单菌落进行革兰氏染色。首先在洁净的载玻片上加一小滴生理盐水, 挑取单菌落与生理盐水混匀, 使其在载玻片上薄而均匀, 涂片自然风干。然后使用草酸铵结晶紫染液初染 1 min, 卢戈碘液媒染 1 min, 95% 乙醇溶液脱色 30 s, 番红染液复染 1 min, 水洗后自然风干, 待上机观察。

扫描电镜:将分离纯化后的 PFOSA 降解菌接种在 LB 培养基, 30 °C、150 r/min 条件下振荡避光培养至对数期($OD_{600}=0.8$)。取 2 mL 菌液, 用 1×PBS 漂洗样品 2–3 次, 每次漂洗 15 min, 5 000 r/min 离心 3 min, 去除上清液; 菌体沉淀加入 1 mL 的 2.5%戊二醛溶液重悬, 在 4 °C 固定过夜; 继续用 1×PBS 漂洗样品 2–3 次, 每次漂洗 15 min, 5 000 r/min 离心 3 min, 去除上清液; 再用梯度浓度为 10%、30%、50%、70%、90%和 100%的乙醇溶液进行脱水处理; 再加入丙酮转换 100%乙醇 3 次; 最后加入新鲜的丙酮, 自然风干, 待上机观察细胞表面形态。

1.2.4 PFOSA 降解菌 16S rRNA 基因序列测定

细菌基因组 DNA 的提取参照 Tiangen DP303-02 试剂盒说明书。菌株的 16S rRNA 基因 PCR 扩增引物采用通用引物 27F (5'-AGAGT TTGATCCTGGCTCAG-3')和 1492R (5'-CTACG GCTACCTTGTTACGA-3')。PCR 反应体系 (50 μ L): 基因组 DNA (20 ng/ μ L) 1 μ L, 上、下游引物 (10 mmol/L) 各 1.5 μ L, *Taq* 聚合酶 (5 U/ μ L) 1 μ L, 10×buffer (含 2.5 mmol/L Mg^{2+}) 5 μ L, dNTPs (10 mmol/L) 1 μ L, ddH₂O 补足 39 μ L。PCR 反应条件: 95 °C 5 min; 95 °C 30 s, 58 °C 30 s, 72 °C 1.5 min, 35 个循环; 72 °C 7 min。

委托上海派森诺生物科技股份有限公司对菌株进行 PCR 产物测序。将测序结果在 NCBI 网站上利用 BLAST 在数据库中搜索相似性较高的基因序列, 再进行多序列比对, 利用 MEGA 7.0 软件采用邻接法构建系统发育树。

1.2.5 PFOSA 降解菌全基因组测序

将冻存菌株 C11 取出立即放入水浴锅中快速复苏并轻微晃动, 在无菌条件下将菌株转接到 LB 培养基中, 30 °C、150 r/min 避光培养 24 h, 将培养液制备成菌悬液, 取 200 μ L 菌悬液涂布在 LB 固体培养基上, 30 °C 培养 24 h,

选取单一菌落继续接种至 LB 液体培养基中, 直至 OD_{600} 为 0.5 时收集适量菌液于离心管中。4 °C、8 000 r/min 条件下离心 5 min 收集菌体, 加入 1×PBS 缓冲液进行洗涤, 重复操作 2 次后, 采用液氮对沉淀菌体进行速冻处理, 送至上海派森诺生物科技股份有限公司进行全基因组测序。

1.2.6 PFOSA 降解菌降解特性及降解条件优化

在 100 mL 锥形瓶中加入 50 mL 无机盐培养基, 再加入适量的 1 g/L 的 PFOSA 甲醇溶液使 PFOSA 的最终浓度在后续添加菌液后为 0.02 g/L, 设置温度 30 °C、摇床转速为 150 r/min、pH 7.0, 定期取样测定菌株的生长情况、总有机碳浓度和剩余 PFOSA 的浓度, 以 PFOSA 去除率和 TOC 作为考察目标。

$PFOSA \text{ 去除率}(\%) = (\text{未接种菌的培养基中 PFOSA 含量} - \text{接种菌的培养基中 PFOSA 含量}) / \text{未接种菌的培养基中 PFOSA 含量} \times 100$ 。

采用单因素试验, 在不同 pH 值 (5.0、6.0、7.0、8.0、9.0), 不同温度 (20、25、30、35、40 °C) 和不同 PFOSA 初始浓度 (10、20、30、40、50 mg/L) 的条件下, 150 r/min 振荡避光培养, 分别在接种后的 1、3、5、7、9、11、13 和 14 d 取样, 测定菌株的 OD_{600} 和 PFOSA 的剩余浓度, 确定其最佳的 PFOSA 降解条件。

1.3 仪器测试及数据分析

1.3.1 细菌细胞浓度的测定

取 200 μ L 的培养液接种至 96 孔板, 通过酶标仪在 600 nm 处读取的吸光度用来监测微生物的生长情况。

1.3.2 菌株 C11 降解 PFOSA 动力学及其生长动力学分析

1) 菌株 C11 降解 PFOSA 动力学

研究了不同 pH、不同温度和不同 PFOSA 初始浓度对菌株 C11 降解特性的影响。采用

一级动力学模型对 PFOSA 降解数据进行拟合, 评估 pH、温度和 PFOSA 初始浓度对降解动力学的影响。

$$\ln C_t = \ln C_0 - kt \quad (1.1)$$

式中: t 是时间(d); k 是一阶常数(d^{-1}); C_0 是 PFOSA 初始浓度(mg/L); C_t 是时间 t 时的 PFOSA 浓度(mg/L)。

2) 菌株 C11 生长动力学

细菌的生长可以用 Logistic 方程进行描述, 以了解菌株 C11 生长和培养时间之间的关系。

$$C_t = a / (1 + b \times e^{-kt}) \quad (1.2)$$

式中: t 是时间(d); C_t 是时间 t 时的菌株 C11 的 OD_{600} ; a 是菌株 C11 在培养过程中的最大 OD_{600} ; b 是一个与 y 轴的截距相关的参数; k 是菌株 C11 的生长速率常数(d^{-1})。

1.3.3 培养液中 PFOSA 浓度测定及降解产物分析

取培养 1、3、5、7、9、11、13 和 14 d 的 1 mL 降解液稀释至 10 mL, 过 PWAX-SPE 柱进行净化。用 4 mL 0.1% 氨水甲醇溶液、4 mL 甲醇、4 mL 纯水对固相萃取柱依次进行活化, 再将样品通过活化后的固相萃取柱, 流速控制在 1 滴/s, 用 4 mL 的 25 mmol/L 乙酸铵水溶液进行淋洗, 起到去除杂质的作用。将 SPE 柱用氮吹仪干燥后, 用 4 mL 甲醇和 4 mL 0.1% 氨水甲醇溶液对目标污染物进行洗脱, 将洗脱液收集并用氮气吹至成粉末, 用 10 mL 甲醇定容, 然后通过 0.22 μ m 有机滤膜, 取 1 mL 转移到棕色进样瓶中, 4 $^{\circ}$ C 保存, 等待上机。

采用三重四级杆液质联用仪进行定量、定性分析。分析条件为: 色谱柱为 Agilent Poroshell 120 EC-C18 (3.0 mm \times 150 mm, 2.7 μ m), 流动相为甲醇(A)和 2.5 mmol/L 乙酸铵水溶液+0.1%甲酸(B), 梯度洗脱条件为 0–0.8 min, 10%–80% A;

0.8–9.8 min, 80%–100% A; 9.8–13.0 min, 100%–10% A; 13.0–16.0 min, 10% A。柱温为 50 $^{\circ}$ C, 进样量为 10 μ L, 流速为 0.4 mL/min。离子源在负电喷雾电离下工作, 负离子扫描模式。

1.3.4 总有机碳(TOC)的测定

采用 TOC 分析仪对滤液进行 TOC 测定。取 200 μ L 培养液, 8 000 r/min 高速离心 5 min, 将上清液通过 0.22 μ m 滤膜过滤后进行稀释上机测定。

1.3.5 PFOSA 降解菌全基因组数据分析

利用第二代测序技术, 基于 Illumina NovaSeq 测序平台, 同时利用第三代单分子测序技术, 基于 PacBio Sequel 测序平台分别进行测序。本研究中建库与测序部分由派森诺生物科技有限公司完成。将拼装完成后的菌株基因组序列使用 GO、COG 和 KEGG 数据库对蛋白编码基因序列进行功能注释, 并结合已报道的微生物降解 PFOSA 的信息, 探寻可能参与 PFOSA 降解的相关基因。

2 结果与分析

2.1 PFOSA 降解菌的分离筛选与鉴定

2.1.1 菌株的形态学特征

取吉林石化公司污水处理厂污水样品, 以 PFOSA 为唯一碳源对其进行驯化和富集, 筛选出一株对 PFOSA 具有一定降解能力的菌株, 编号为 C11。形态学观察结果显示(图 1A), 菌株 C11 为革兰氏阴性菌, 杆状, 无鞭毛, 长 2 μ m, 在 LB 培养基中菌落外观呈凸起, 有光泽, 圆形, 白色, 不透明, 边缘规则, 而在以 PFOSA 为唯一碳源的无机盐培养基中菌落体积偏小, 直径约为 4 mm, 呈凸起, 有光泽, 圆形, 乳白色, 不透明, 边缘规则。菌株 C11 的扫描电镜图如图 1B 所示。

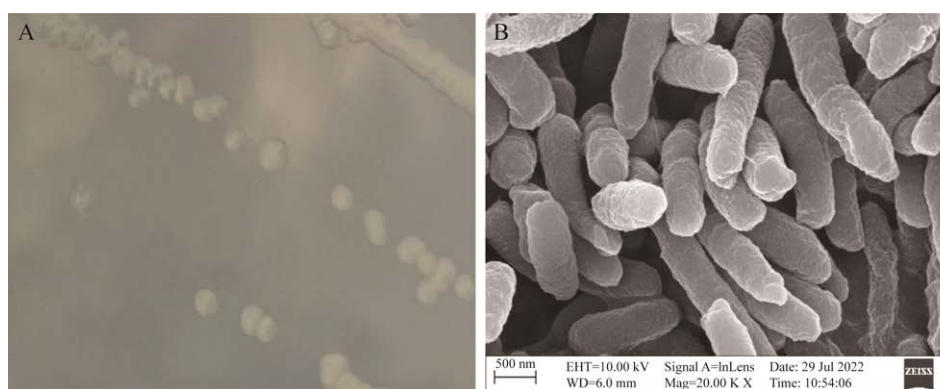


图 1 菌株 C11 的形态学观察 A: 生长形态. B: 扫描电子显微镜图

Figure 1 Morphological observation of strain C11. A: Growth morphology. B: Scanning electron microscope image.

2.1.2 菌株 C11 的 16S rRNA 基因鉴定

将菌株 C11 的 16S rRNA 基因序列提交到 GenBank, 进行 BLAST 同源性比较分析, 选择公共数据库中相似性最高的序列进行多序列比对, 构建系统发育树如图 2 所示。由系统

发育树得知, 菌株 C11 与菌株 *Comamonas testosteroni* 序列相似性达到 99.73%。根据菌落形态初步鉴定菌株 C11 为丛毛单胞菌属, 将其命名为 *Comamonas testosteroni* C11 (登录号为 OQ446409)。

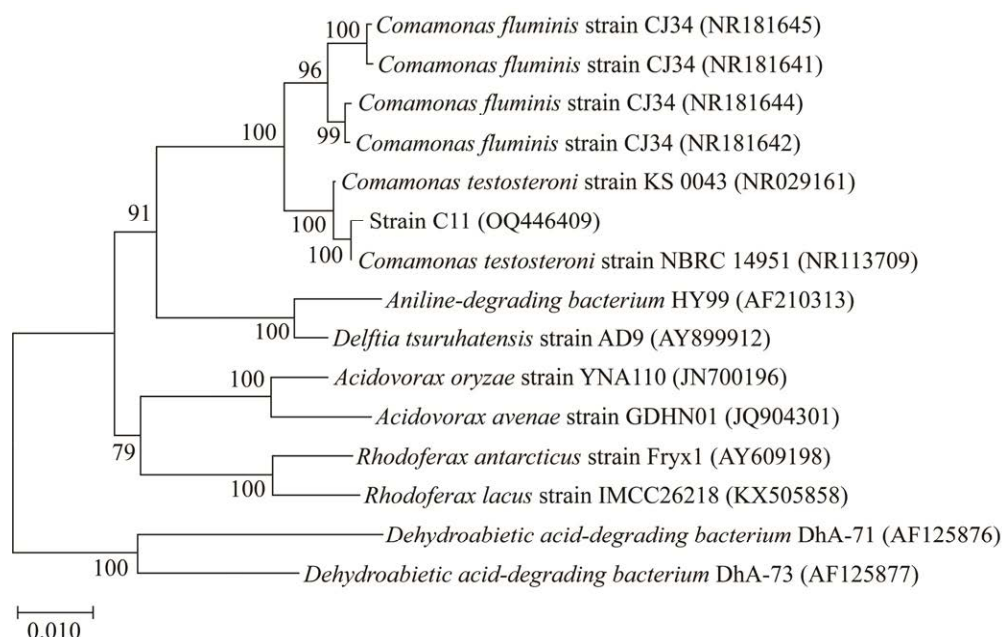


图 2 *Comamonas* sp. C11 与相关菌株基于 16S rRNA 基因序列构建的系统发育树 括号中序号是菌株的登录号; 分支点上的数字是 bootstrap 支持率; 标尺刻度 0.010 是序列差异的分支长度

Figure 2 The phylogenetic tree based on 16S rRNA gene sequences of *Comamonas* sp. C11 and other related strains. The numbers in parentheses are accession numbers of strains; The numbers in each branch points are percentages supported by bootstrap; Bar=0.010 is nucleotide divergence.

2.1.3 菌株 C11 的全基因组测序结果分析

从全基因组测序结果中发现, 菌株 C11 的基因组含有 1 个环状染色体、5 个环状质粒和 1 个线性质粒, 环状染色体序列长度为 5 764 913 bp, GC 含量为 61.30%。将测序结果上传至 GenBank 并获得登录号为 PRJNA860803。预测出细菌全基因组的蛋白编码基因数量为 5 320 个, 非编码基因数量为 158 个。

1) COG 注释分析

通过 Diamond 软件进行编码基因与 COG 数据库对比分析, 结果如图 3 所示。在 5 320 个蛋白编码基因中共有 4 634 个蛋白质被注释, 注释比例达到 87.11%, 其中有 1 257 个基因注释结果较差、功能未知, 说明可以对这些未知功能基因进一步探索和挖掘其功能。在已知编码功能的基因中, 371 个基因与转录有关, 327 个基因与无机离子转运与代谢有关, 325 个基因与氨基酸的转运和代谢有关, 比较多的基因富集类还包括能源生产和转换和复制、重组和修复。

这些基因可能与菌株 C11 降解 PFOSA 的功能密切相关。

2) GO 注释分析

菌株 C11 在 GO 数据库比对分析的基因共有 3 290 个, 占总编码基因的 61.8%, GO 注释的功能分类如图 4 所示。参与生物过程类别的基因有 9 895 个, 其中参与生物过程和细胞氮化合物代谢过程的基因分别为 3 559 个和 1 300 个; 在细胞组分类别, 分别有 1 236、1 075、714、511 和 482 个基因与细胞体、细胞组分、胞内物质、细胞膜和细胞质相关。具有分子功能类别的基因有 7 950 个, 其中分子功能占比最大, 有 3 413 个基因, 然后依次是参与离子整合过程、氧化还原酶和 DNA 整合, 基因数量分别是 1 147、682 和 637 个。

3) KEGG 注释分析

菌株 C11 基因组 KEGG 注释的生物通路分类统计如图 5 所示。对菌株 C11 的蛋白编码基因进行 KEGG 注释分析, 最多的是与信号传导

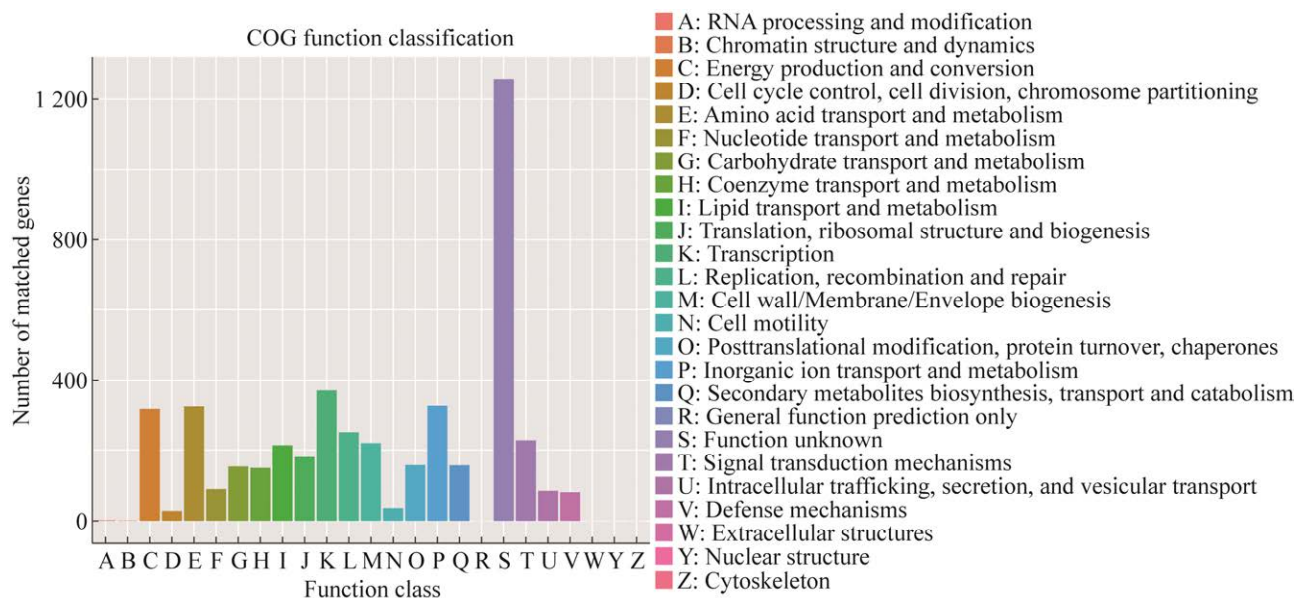


图 3 菌株 C11 的 COG 数据库功能基因分类

Figure 3 COG database functional gene classification of bacterium C11.

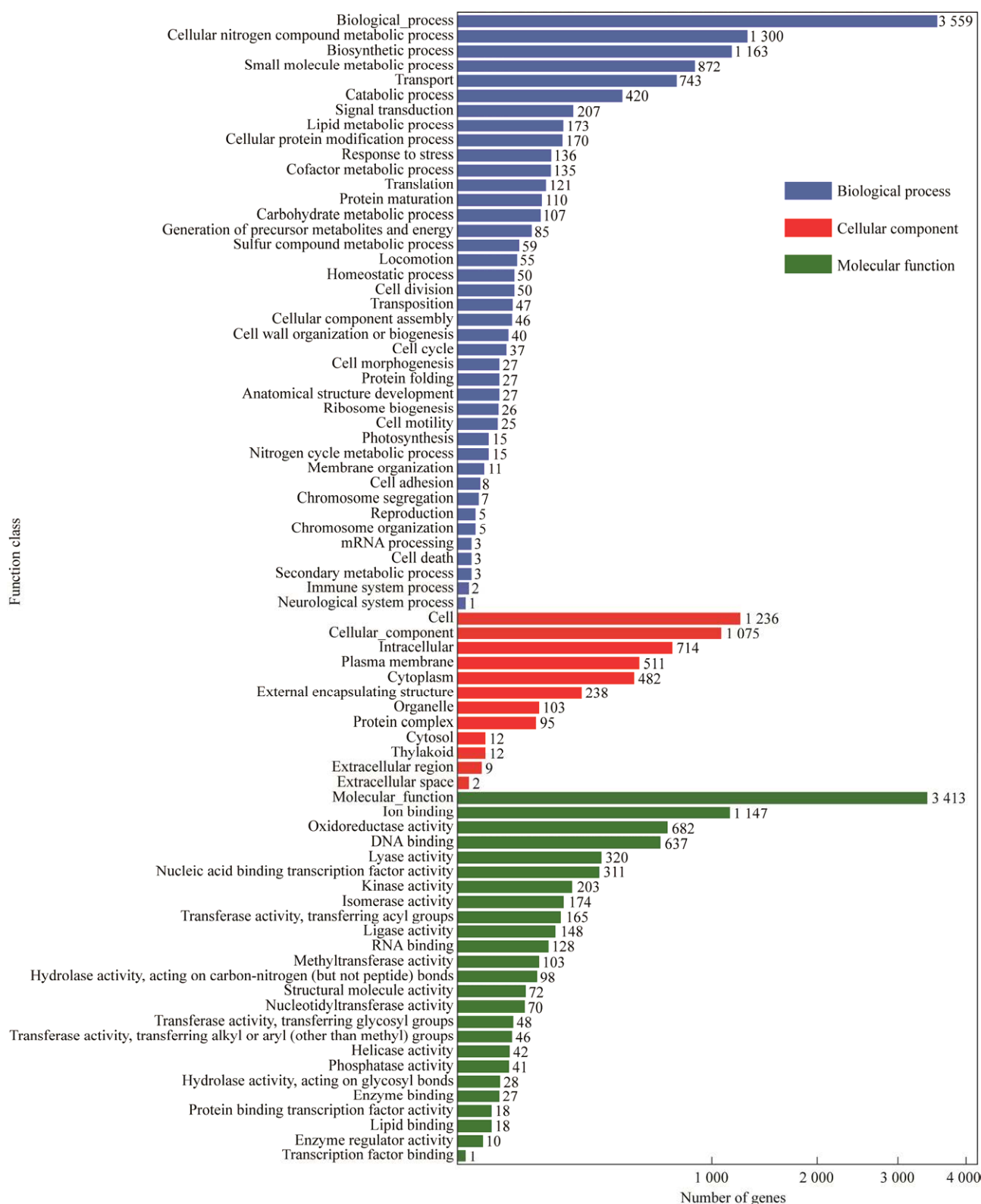


图 4 菌株 C11 的 GO 功能分类图

Figure 4 GO functional classification of bacterium C11.

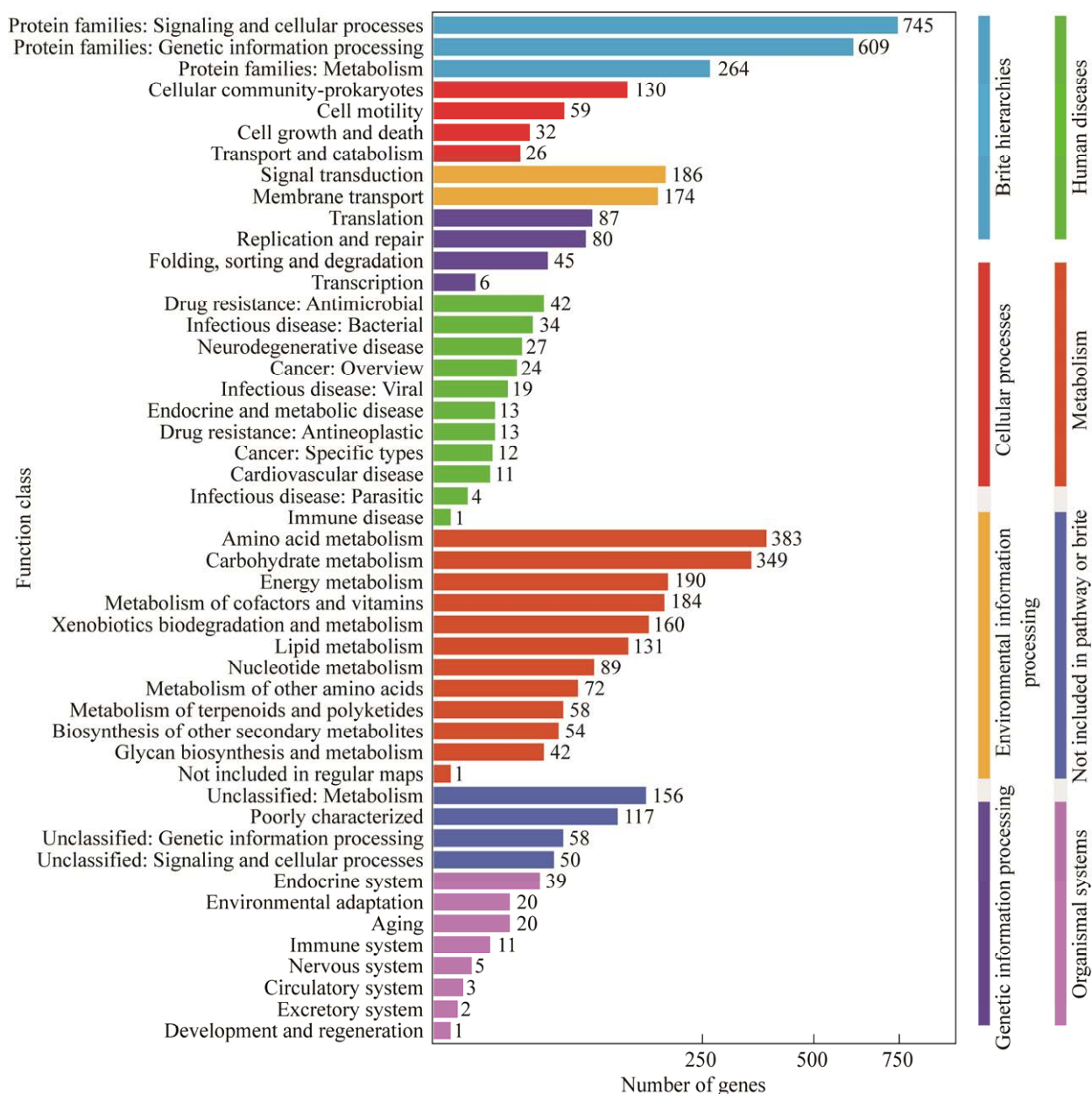


图 5 菌株 C11 的 KEGG 功能分类图

Figure 5 KEGG functional classification of bacterium C11.

和细胞代谢有关的蛋白质组群和与遗传信息处理相关蛋白质组群, 分别为 745 个和 609 个。新陈代谢通路相关的基因达到 1 713 个, 在全部注释基因中占比最高, 其中 160 个基因参与异型生物物质的降解代谢, 在其所属的 A 级通路中占比为 9.34%, 表明菌株 C11 具有降解异生物物质的能力。

2.2 菌株 C11 的生长及降解特性

2.2.1 培养基初始 pH 对菌株 C11 降解 PFOSA 的影响

培养基的初始 pH 对菌株 C11 生长情况的影响如图 6A 所示, 菌株 C11 在试验所设置的 pH 范围内均能较好地生长。对 PFOSA 降解效果的影响如图 6B 所示, 对 PFOSA 降解过程采用

一级反应动力学方程式进行拟合, R^2 均为 0.91 以上。pH 6.0–8.0 范围内, 菌株 C11 对 PFOSA 的降解效果随着菌株 OD_{600} 的增大而增加; pH 值为 7.0 时菌株 C11 降解率最高, 降解率为 55.5%。在酸性、碱性条件下 PFOSA 降解效果较差可能是因为酸性、碱性条件下降解酶的活性较中性条件下的活性低, 降解能力受到抑制所导致。由于 PFOSA 的降解过程中会产生酸性产物, pH 值会降低, 推测中性和偏碱性的环境有利于菌

株 C11 降解 PFOSA, 这也与试验中 pH 值为 7.0 和 8.0 条件下降解效果较好相呼应。因此, 采用 pH 7.0 为后续试验最佳 pH。

2.2.2 培养温度对菌株 C11 降解 PFOSA 的影响

培养温度对菌株 C11 生长的影响如图 7A 所示, 菌株可生长温度范围为 20–35 °C, 从结果中可以看出, 最适生长温度为 30 °C, 温度过高或过低都会影响菌株的生长。温度对 PFOSA 降解效果的影响如图 7B 所示, 在 20–30 °C

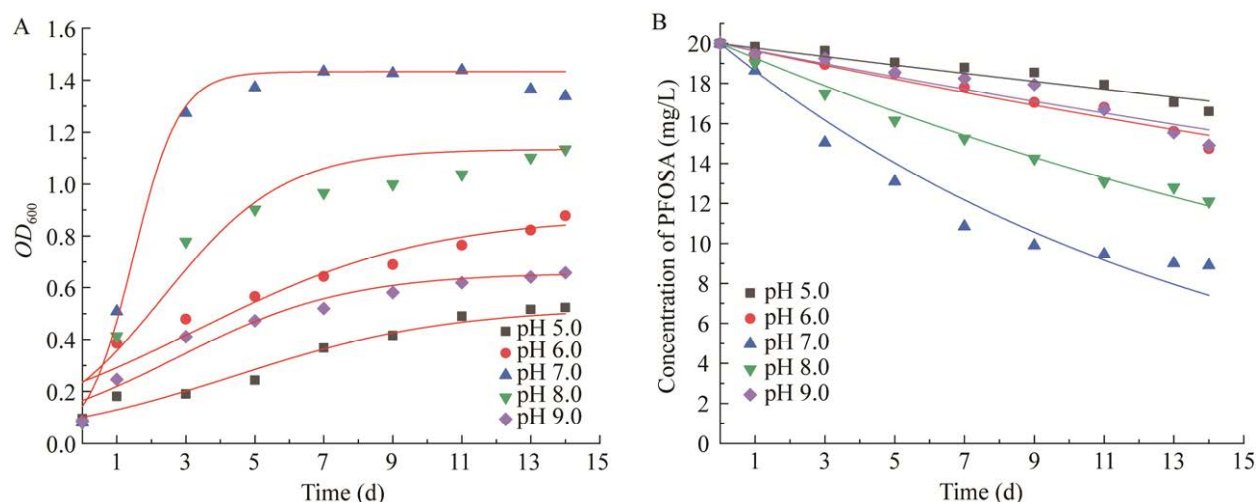


图 6 pH 对菌株 C11 生长(A)和 PFOSA 降解效率(B)的影响

Figure 6 Effect of pH on the growth (A) and PFOSA degradation rate (B) of strain C11.

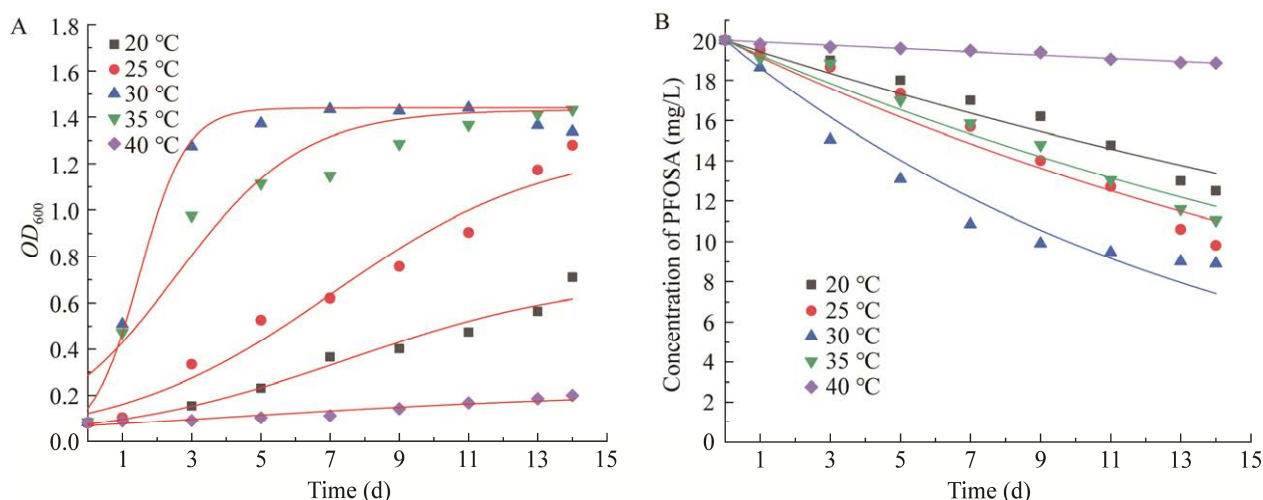


图 7 温度对菌株 C11 生长(A)和 PFOSA 降解效率(B)的影响

Figure 7 Effect of culture temperature on the growth (A) and PFOSA degradation rate (B) of strain C11.

范围内, 菌株 C11 对 PFOSA 的降解率随着菌株 OD_{600} 的增大而增加; 培养温度为 30 °C 时菌株对 PFOSA 的降解率最高, 降解率为 55.5%; 40 °C 时由于菌体生长困难, 不能实现对 PFOSA 的降解。因此, 采用培养温度为 30 °C 为后续试验最佳温度。

2.2.3 初始 PFOSA 浓度对菌株 C11 降解 PFOSA 的影响

菌株 C11 在 PFOSA 初始浓度为 10、20、30、40 和 50 mg/L 的无机盐培养基中的生长情况如图 8A 所示, 随着 PFOSA 初始浓度的升高, 其毒性对菌体生长的抑制作用增强。菌株 C11 对 PFOSA 的降解效果如图 8B 所示, 降解过程采用一级反应动力学方程进行拟合, R^2 均为 0.9 以上, 在初始浓度为 10–30 mg/L 范围内, PFOSA 的降解率随着培养基中 PFOSA 初始浓度的增加而增加, 当 PFOSA 初始浓度为 30 mg/L 时降解效果最佳, 降解率为 64.6%; 当 PFOSA 浓度过大即 30–50 mg/L 时, 菌株 C11 对其降解效率随着 PFOSA 初始浓度的增加而下降, 当 PFOSA 初始浓度为 40 mg/L 时降

解率为 49.0%; 当 PFOSA 初始浓度为 50 mg/L 时降解率仅为 36.9%, 这可能是由于高浓度 PFOSA 对细胞生长有抑制作用, 从而影响了 PFOSA 的降解。

2.2.4 菌株 C11 对 PFOSA 的降解及矿化

采用优化后的条件, 即使用 PFOSA 初始浓度为 30 mg/L 的无机盐培养基、pH 7.0、培养温度为 30 °C, 定期测定菌液浓度、培养基中 TOC 和 PFOSA 浓度, 并计算 TOC 去除率和降解率, 如图 9 所示。菌株接种 3 d 后达到对数生长期, 在 5 d 后逐渐进入稳定期, 菌株 C11 对 PFOSA 的降解伴随着菌株生长的整个过程, 至 14 d 时可降解 64.6% 的 PFOSA 和 46.3% 的 TOC。

2.3 菌株 C11 降解 PFOSA 的降解产物测定

为深入了解菌株 C11 对 PFOSA 的微生物降解机制, 采用三重四级杆液质联用仪检测菌株 C11 在含有 PFOSA 的无机盐培养基中培养 12 h、1 d 和 14 d 的中间降解产物。电喷雾离子源 (electron spray ionization, ESI) 检测结果显示, 在阴离子模式中, 对培养 12 h 的样品中检测到 1 个片段, 质核比为 499.0 m/z ; 培养 1 d 的

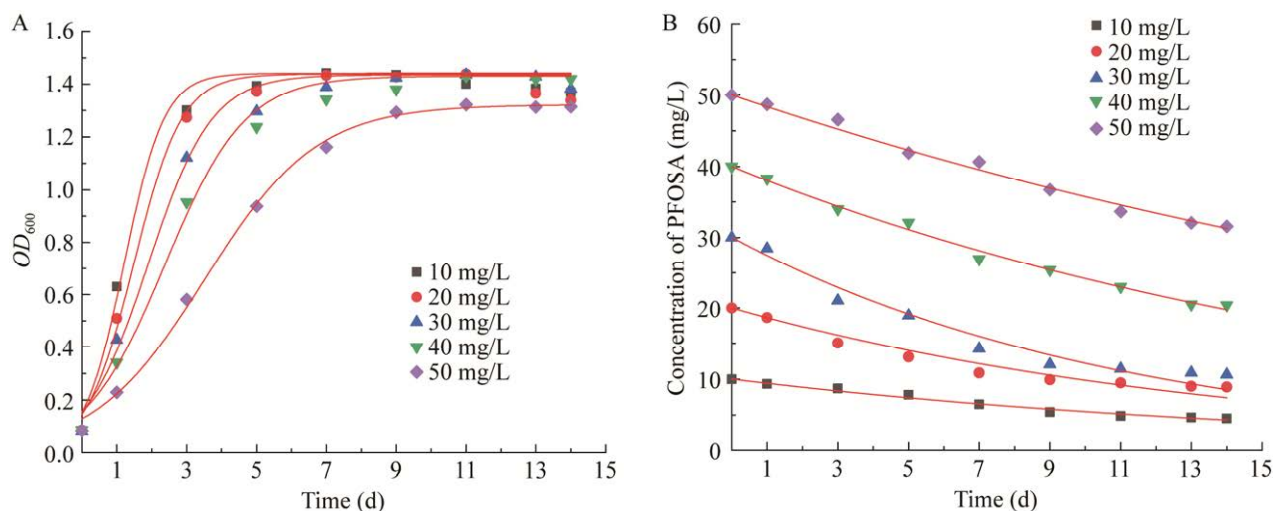


图 8 初始浓度对菌株 C11 生长(A)和 PFOSA 降解效率(B)的影响

Figure 8 Effect of initial PFOSA concentration on the growth (A) and PFOSA degradation rate (B) of strain C11.

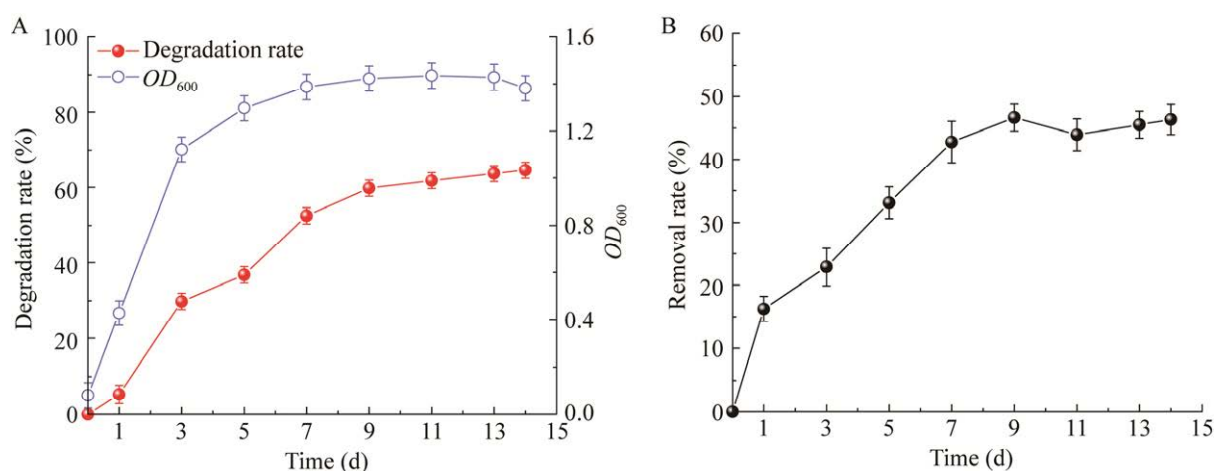


图9 最佳培养体系下菌株 C11 生长、PFOSA 降解情况(A)和 TOC 去除率(B)

Figure 9 Growth, PFOSA degradation (A) and TOC removal rate (B) by strain C11 under optimal culture conditions.

样品中检测到了 2 个片段, 质核比为 499 m/z 和 412.2 m/z ; 培养 14 d 的降解产物共检测到了 4 个片段, 质核比为 499.0、412.2、362.3 和 312.7 m/z 。根据一级和二级质谱的结果及其 PFOSA 自身的结构特征, 初步判定物质 A 是全氟辛烷磺酸(perfluorooctane sulfonate, PFOS), 物质 B 是全氟辛酸(perfluorooctanoic acid, PFOA), 物质 C 是全氟庚酸(perfluorodecanoic acid, PFHpA), 物质 D 是全氟己酸(perfluorohexanoic acid, PFHxA)。

3 讨论与结论

本研究通过采集吉林石化公司污水处理厂污水样品进行富集培养, 以 PFOSA 为唯一碳源进行筛选, 成功分离出一株革兰氏阴性细菌 C11, 并对其进行形态学观察和 16S rRNA 基因分析鉴定, 结果显示菌株 C11 的 16S rRNA 基因序列与 NCBI 数据库中睾丸酮丛毛单胞菌(*Comamonas testosteroni*) strain NBRC 14951 (NR113709.1) 的序列相似度高达 99.73%。目前有研究表明睾丸酮丛毛单胞菌能够以类固醇为

唯一碳源和能源进行生长, 并且能完全降解这类底物^[25]。近年来, 研究发现该菌存在于受多环芳烃污染的环境中, 能够对多环芳烃污染物进行降解^[26], 并对其他芳香烃类有机物(如苯胺、喹啉)起到良好的去除作用^[27-28]。不仅如此, 该菌对重金属铈也有一定的氧化降解作用^[29]。本研究首次证实该菌属可高效降解 PFOSA, 进一步表明其对多种难降解污染物有生物转化能力。

本研究分别设置了以培养温度、培养基初始 pH 和 PFOSA 初始浓度为变量的培养试验。菌株 C11 在未优化其降解条件的情况下, 培养 14 d 可降解 55.5% 的 PFOSA。通过单因素试验进行优化, 从菌株 C11 生长动力学和降解动力学拟合曲线中发现在培养温度为 30 °C、pH 值为 7.0、初始 PFOSA 浓度为 30 mg/L 的培养条件下, 菌株 C11 的降解率高达 64.6%。从试验结果可以看出, 菌株对 PFOSA 的降解效果与多个因素有关。培养温度是影响微生物生存的重要物理因素, 主要通过影响微生物自身的生长、繁殖、代谢进而影响微生物降解 PFOSA 的速

度。菌株 C11 可以在 20–35 °C 之间存活, 对 PFOSA 的降解率为 44.75%–55.5%, 可见该菌株对环境温度有良好的适应性。其次 pH 也是影响微生物降解效率的因素之一, 与微生物的生命活动和物质代谢有着密切的关系。pH 会引起微生物体表面的电荷变化, 改变营养物质在细胞膜上的转运, 从而影响微生物的生长^[30]; pH 也会引起微生物酶的活性发生变化^[31], 从而影响细菌对 PFOSA 的降解效率。在试验中观察到菌株 C11 可以在 pH 5.0–9.0 之间存活, 对 PFOSA 的降解率为 17.0%–55.5%, 可见该菌株对 pH 有良好的适应性。在另一变量 PFOSA 初始浓度的试验中发现, 在 10–50 mg/L PFOSA 浓度范围内, 菌株 C11 均能较好地生长。随着 PFOSA 浓度增大到 50 mg/L, 菌株 C11 的生长受到了一定程度的抑制, 但其对 PFOSA 降解率在 14 d 时仍然达到了 36.9%, 表明该菌株对较高浓度 PFOSA 具有良好的耐受性。赵淑艳等^[22]研究了生丝微菌属对 PFOSA 的降解, 在 30 °C、pH 7.0–7.2、160 r/min 条件下培养 48 h 后, PFOSA 的降解率仅有 14.6%。Hao 等^[23]发现, 不动杆菌属在 30 °C、pH 7.0、180 r/min 条件下培养, PFOSA 的降解率为 27%。相较而言, 本研究筛选出的菌株 C11 具有良好的适应性, 同时对 PFOSA 具有更高的降解能力。本研究在优化后的最适降解条件下测定体系内的 OD_{600} 、PFOSA 去除率和总有机碳去除率, TOC 可以在一定程度上反映在生物降解体系中细菌对有机物的矿化效率, 反映细菌生长情况、PFOSA 去除效率和矿化之间的关系。

截至目前, PFOSA 生物降解的分子机制研究尚不充分。本研究对菌株 C11 进行了全基因组测序分析, 初步定位了 5 种可能参与了 PFOSA 生物降解的酶, 分别为牛磺酸双加氧酶 (EC 1.14.11.17)、烷磺酸单加氧酶 (EC 1.14.14.5)、

2-卤代酸脱卤酶 (EC 3.8.1.2) 和谷氨酸脱氢酶 (EC 1.4.1.3、EC 1.4.1.4)。其中, 烷磺酸盐单加氧酶具有切割多种烷磺酸盐碳-硫键的能力^[32–33], 因此可能参与了 PFOSA 的脱硫过程。已有研究表明红球菌 RHA 1 在降解 6:2 氟调磺酸 (6:2 fluorotelomer sulfonic acid, 6:2 FTSA) 的过程中, 烷磺酸单加氧酶出现了高水平表达^[34]。细菌脱卤酶能够通过水的亲核取代催化碳卤键的裂解, 已在多项研究中被认为参与含氟化合物的脱氟过程^[35–36]。

在已报道的 PFOSA 微生物降解途径中发现, PFOSA 主要是通过脱氨基、脱磺酸基团和 C–F 键的断裂完成降解。Murakami 等^[38]研究了土壤渗滤液中 PFOSA 的生物降解, 证实了小部分 PFOSA 可以被降解为 PFOS, 并进一步证实水体中的 PFOSA 同样可以被生物降解为 PFOS。Zhao 等^[39]发现在大豆和南瓜体内, PFOSA 可被依次降解为 PFOS、全氟己基磺酸 (perfluorohexane sulfonate, PFHxS) 和全氟丁基磺酸 (perfluorobutane sulfonate, PFBS)。Kwon 等^[40]发现铜绿假单胞菌 HJ4 可降解 67% 的 PFOS, 并检测到 PFBS 和 PFHxS 等一系列代谢产物。Wang 等^[41]研究了与 PFOS 结构相似的 6:2 氟代酮磺酸盐 (6:2 fluorotelomer sulfonate, 6:2 FTS) 并探究其降解途径, 6:2 FTS 经过氧化和脱硫磺转化为 6:2 氟调聚不饱和羧酸 (6:2 fluorotelomer unsaturated carboxylic acid, 6:2 FTUCA), 继续脱羧脱氢等反应生成 5:2s 氟调醇 (5:2s fluorotelomer alcohols, 5:2s FTOH), 最终转化为 PFHxA 和全氟戊酸 (perfluoropentanoic acid, PFPeA)。栗强发^[42]采用维生素 B12 和柠檬酸钛(III)构建的生物分子降解有机物的仿生系统进行推测, 该途径的核心步骤可能是脱去磺酸基团使 PFOS 朝 PFOA 方向进行转化, 最终降解为 PFHxA 和 PFPeA^[43]。本研究利用三重四级杆液质联用仪进行定性, 共

检测出 3 种降解产物(PFOA、PFHpA 和 PFHxA)。基于降解产物的初步推定, 在菌株 C11 的作用下, 对菌株 C11 降解 PFOSA 的途径进行推测: 首先 PFOSA 脱去氨基转化为 PFOS, PFOS 脱去磺基团氧化成 PFOA, 最后 C-F 键发生断裂转化为 PFHpA 和 PFHxA, 如图 10 所示。

综上所述, 本研究从吉林石化公司污水处理厂污水样品中筛选分离得到一株 PFOSA 高

效降解菌株 C11, 经形态学观察、16S rRNA 基因和全基因组序列分析鉴定该菌株为睾丸酮丛毛单胞菌。本研究通过单因素优化试验确定了菌株 C11 对 PFOSA 的最佳降解条件, 菌株 C11 在 PFOSA 初始浓度为 30 mg/L、培养温度为 30 °C 和 pH 7.0 时, 降解率高达 64.6%。利用三重四级杆液质联用仪对其降解产物进行测定, 对 PFOSA 的降解途径进行推测: 首先 PFOSA

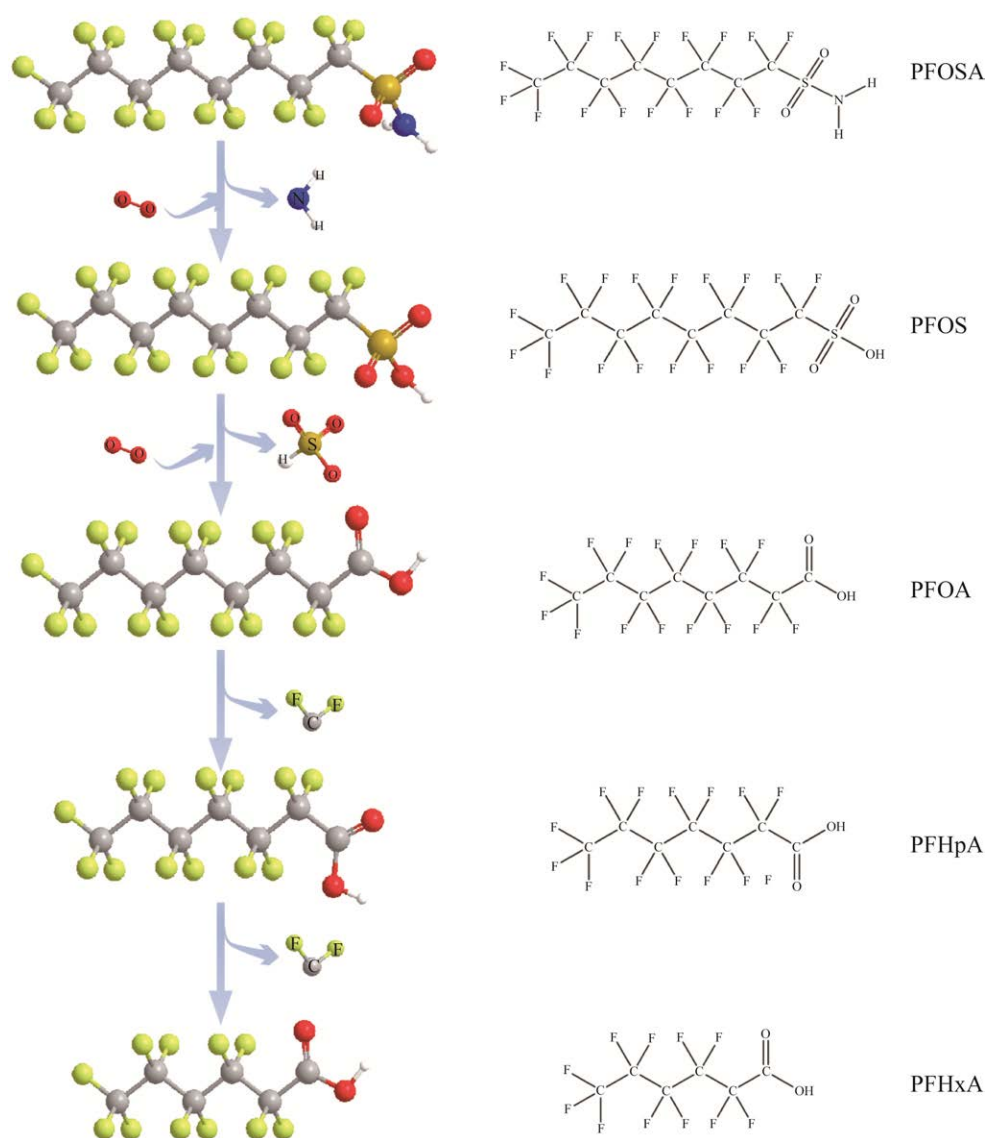


图 10 菌株 C11 对 PFOSA 的微生物降解途径

Figure 10 Proposed pathways of PFOSA biodegradation by strain C11.

脱去氨基转化为 PFOS, PFOS 脱去磺酸基团氧化成 PFOA, 最后 C-F 键发生断裂转化为 PFHpA 和 PFHxA。本研究从菌株降解条件优化和降解途径 2 个层面系统探索了新分离菌株 C11 对 PFOSA 的降解特性及降解机理。结果表明了菌株 C11 有着高效的 PFOSA 降解能力和较强的环境适应能力, 具有进一步开发为用于 PFAS 污染修复的微生物菌剂的潜力, 研究结果为菌株 C11 的下一步研究提供了理论基础, 为生态系统中 PFAS 污染的微生物修复提供了理论依据和可利用的微生物资源。

REFERENCES

- [1] MAHONEY H, XIE Y, BRINKMANN M, GIESY JP. Next generation per- and poly-fluoroalkyl substances: status and trends, aquatic toxicity, and risk assessment[J]. *Eco-Environment & Health*, 2022, 1(2): 117-131.
- [2] PAUL AG, JONES KC, SWEETMAN AJ. A first global production, emission, and environmental inventory for perfluorooctane sulfonate[J]. *Environmental Science & Technology*, 2009, 43(2): 386-392.
- [3] HOUDE M, MARTIN JW, LETCHER RJ, SOLOMON KR, MUIR DCG. Biological monitoring of polyfluoroalkyl substances: a review[J]. *Environmental Science & Technology*, 2006, 40(11): 3463-3473.
- [4] SHOEIB M, HARNER T, WILFORD BH, JONES KC, ZHU JP. Perfluorinated sulfonamides in indoor and outdoor air and indoor dust: occurrence, partitioning, and human exposure[J]. *Environmental Science & Technology*, 2005, 39(17): 6599-6606.
- [5] HEYDEBRECK F, TANG JH, XIE ZY, EBINGHAUS R. Alternative and legacy perfluoroalkyl substances: differences between European and Chinese river/estuary systems[J]. *Environmental Science & Technology*, 2015, 49(14): 8386-8395.
- [6] SEPULVADO JG, BLAINE AC, HUNDAL LS, HIGGINS CP. Occurrence and fate of perfluorochemicals in soil following the land application of municipal biosolids[J]. *Environmental Science & Technology*, 2011, 45(19): 8106-8112.
- [7] GIESY JP, KANNAN K. Global distribution of perfluorooctane sulfonate in wildlife[J]. *Environmental Science & Technology*, 2001, 35(7): 1339-1342.
- [8] HANSEN KJ, CLEMEN LA, ELLEFSON ME, JOHNSON HO. Compound-specific, quantitative characterization of organic fluorochemicals in biological matrices[J]. *Environmental Science & Technology*, 2001, 35(4): 766-770.
- [9] LAU C, ANITOLE K, HODES C, LAI D, PFAHLES-HUTCHENS A, SEED J. Perfluoroalkyl acids: a review of monitoring and toxicological findings[J]. *Toxicological Sciences*, 2007, 99(2): 366-394.
- [10] WANG T, WANG YW, LIAO CY, CAI YQ, JIANG GB. Perspectives on the inclusion of perfluorooctane sulfonate into the Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants[J]. *Environmental Science & Technology*, 2009, 43(14): 5171-5175.
- [11] AHRENS L, BUNDSCHUH M. Fate and effects of poly- and perfluoroalkyl substances in the aquatic environment: a review[J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2014, 33(9): 1921-1929.
- [12] AHRENS L, BARBER JL, XIE ZY, EBINGHAUS R. Longitudinal and latitudinal distribution of perfluoroalkyl compounds in the surface water of the Atlantic Ocean[J]. *Environmental Science & Technology*, 2009, 43(9): 3122-3127.
- [13] AVENDAÑO S M, LIU J. Production of PFOS from aerobic soil biotransformation of two perfluoroalkyl sulfonamide derivatives[J]. *Chemosphere*, 2015, 119: 1084-1090.
- [14] FU ZQ, WANG Y, WANG ZY, XIE HB, CHEN JW. Transformation pathways of isomeric perfluorooctane sulfonate precursors catalyzed by the active species of P450 enzymes: in silico investigation[J]. *Chemical Research in Toxicology*, 2015, 28(3): 482-489.
- [15] SLOTKIN TA, MACKILLOP EA, MELNICK RL, THAYER KA, SEIDLER FJ. Developmental neurotoxicity of perfluorinated chemicals modeled *in vitro*[J]. *Environmental Health Perspectives*, 2008, 116(6): 716-722.
- [16] DASGUPTA S, REDDAM A, LIU Z, LIU J, VOLZ DC. High-content screening in zebrafish identifies perfluorooctane sulfonamide as a potent developmental toxicant[J]. *Environmental Pollution*, 2020, 256: 113550.
- [17] ZHU Y, HU D, WAN MX, JIANG L, WEI Y. Conducting and superhydrophobic rambutan-like hollow spheres of polyaniline[J]. *Advanced Materials*, 2007, 19(16): 2092-2096.

- [18] LEUNG SCE, SHUKLA P, CHEN DC, EFTEKHARI E, AN HJ, ZARE F, GHASEMI N, ZHANG DK, NGUYEN NT, LI Q. Emerging technologies for PFOS/PFOA degradation and removal: a review[J]. *The Science of the Total Environment*, 2022, 827: 153669.
- [19] LASSALLE J, GAO RL, RODI R, KOWALD C, FENG MB, SHARMA VK, HOELEN T, BIRETA P, HOUTZ EF, STAACK D, PILLAI SD. Degradation of PFOS and PFOA in soil and groundwater samples by high dose electron beam technology[J]. *Radiation Physics and Chemistry*, 2021, 189: 109705.
- [20] DENG Y, LIANG Z, LU X, CHEN D, LI Z, WANG F. The degradation mechanisms of perfluorooctanoic acid (PFOA) and perfluorooctane sulfonic acid (PFOS) by different chemical methods: a critical review[J]. *Chemosphere*, 2021, 283: 131168.
- [21] 周绍宏, 王淦淦, 张利兰. 环境中全氟辛基磺酸前体物好氧生物降解进展[J]. *中国环境科学*, 2019, 39(9): 3967-3975.
- ZHOU SH, WANG GG, ZHANG LL. Aerobic biodegradation of perfluorooctane sulfonate precursors in different environment media[J]. *China Environmental Science*, 2019, 39(9): 3967-3975 (in Chinese).
- [22] 赵淑艳, 周涛, 王博慧, 梁田坤, 柳丽芬. PFOS 前体物质(PreFOSs)降解菌的分离鉴定及其降解特性[J]. *环境科学*, 2018, 39(7): 3321-3328.
- ZHAO SY, ZHOU T, WANG BH, LIANG TK, LIU LF. Isolation, identification, and biodegradation behaviors of a perfluorooctane sulfonic acid precursor (PreFOSs) degrading bacterium from contaminated soil[J]. *Environmental Science*, 2018, 39(7): 3321-3328 (in Chinese).
- [23] HAO J, WANG PH, KANG YF, HE HT, LUO HH, KIM S, NIU LL, JIANG HZ, MA KS. Degradation of perfluorooctane sulfonamide by *Acinetobacter* sp. M and its extracellular enzymes[J]. *Chemistry, an Asian Journal*, 2019, 14(16): 2780-2784.
- [24] 陈雪娇, 金丹凤, 丁海涛, 赵宇华. 十溴二苯醚降解菌的分离鉴定及其降解特性的初步研究[J]. *浙江大学学报(农业与生命科学版)*, 2010, 36(5): 521-527.
- CHEN XJ, JIN DF, DING HT, ZHAO YH. Isolation, Isolation and identification of decabromodiphenyl ether degrading bacteria and preliminary study on its degradation characteristics[J]. *Journal of Zhejiang University (Agriculture and Life Sciences Edition)*, 2010, 36(5): 521-527 (in Chinese).
- [25] 方盼. 高效工程菌对水体中类固醇污染物的降解研究[D]. 福州: 福建农林大学硕士学位论文, 2011.
- FANG P. Study on the degradation of steroid compounds by engineering bacteria[D]. Fuzhou: Master's Thesis of Fujian Agriculture and Forestry University, 2011 (in Chinese).
- [26] 李鑫, 赫法贵, 郑瑞, 崔继哲. 睾丸酮丛毛单胞菌 3 α -HSD/CR 对萘和菲的降解[C]//2017 第七届泛环渤海生物化学与分子生物学会学术交流会议论文集. 长春, 2017: 33.
- LI X, HAO FG, ZHENG R, CUI JZ. Degradation of naphthalene and phenanthrene by *Comamonas testosteroni* 3 α -HSD/CR[C]//2017 Seventh Pan-Bohai-Sea Biochemistry and Molecular Biology Society Academic Exchange Conference Proceedings. Changchun, 2017: 33 (in Chinese).
- [27] 崔明超, 吴颖娟, 陈繁忠. 3-甲基喹啉的微生物降解[J]. *江苏环境科技*, 2005, 18(2): 7-8.
- CUI MC, WU YJ, CHEN FZ. Biodegradation of 3-methylquinoline[J]. *Jiangsu Environmental Science and Technology*, 2005, 18(2): 7-8 (in Chinese).
- [28] 崔明超. 睾丸酮丛毛单胞菌降解喹啉的影响因素分析[J]. *广州大学学报(自然科学版)*, 2005, 4(5): 403-406.
- CUI MC. Study on the influencing factors during biodegradation of quinoline by *Comamonas testosteroni*[J]. *Journal of Guangzhou University (Natural Science Edition)*, 2005, 4(5): 403-406 (in Chinese).
- [29] AN LJ, LUO X, WU MH, FENG LL, SHI KX, WANG GJ, ROSEN BP, LI MS. *Comamonas testosteroni* antA encodes an antimonite-translocating P-type ATPase[J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 754: 142393.
- [30] YU YY, YIN H, PENG H, LU GN, DANG Z. Proteomic mechanism of decabromodiphenyl ether (BDE-209) biodegradation by *Microbacterium* Y2 and its potential in remediation of BDE-209 contaminated water-sediment system[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2020, 387: 121708.
- [31] CARVALHO JD, ORLANDA JFF. Heat stability and effect of pH on enzyme activity of polyphenol oxidase in buriti (*Mauritia flexuosa* Linnaeus f.) fruit extract[J]. *Food Chemistry*, 2017, 233: 159-163.
- [32] van HAMME JD, BOTTOS EM, BILBEY NJ, BREWER SE. Genomic and proteomic characterization of *Gordonia* sp. NB4-1Y in relation to 6:2 fluorotelomer sulfonate biodegradation[J]. *Microbiology (Reading, England)*, 2013, 159(Pt 8): 1618-1628.
- [33] van der PLOEG JR, EICHHORN E, LEISINGER T.

- Sulfonate-sulfur metabolism and its regulation in *Escherichia coli*[J]. Archives of Microbiology, 2001, 176(1): 1-8.
- [34] YANG SH, SHI Y, STRYNAR M, CHU KH. Desulfonation and defluorination of 6: 2 fluorotelomer sulfonic acid (6:2 FTSA) by *Rhodococcus jostii* RHA1: carbon and sulfur sources, enzymes, and pathways[J]. Journal of hazardous materials, 2022, 423: 127052.
- [35] SALLIS PJ, ARMFIELD SJ, BULL AT, HARDMAN DJ. Isolation and characterization of a haloalkane halidohydrolase from *Rhodococcus erythropolis* Y2[J]. Journal of General Microbiology, 1990, 136(1): 115-120.
- [36] SMITH JM, HARRISON K, COLBY J. Purification and characterization of D-2-haloacid dehalogenase from *Pseudomonas putida* strain AJ1/23[J]. Journal of General Microbiology, 1990, 136(5): 881-886.
- [37] van der PLOEG J, van HALL G, JANSSEN DB. Characterization of the haloacid dehalogenase from *Xanthobacter autotrophicus* GJ10 and sequencing of the *dhlB* gene[J]. Journal of Bacteriology, 1991, 173(24): 7925-7933.
- [38] MURAKAMI M, SATO N, ANEGAWA A, NAKADA N, HARADA A, KOMATSU T, TAKADA H, TANAKA H, ONO Y, FURUMAI H. Multiple evaluations of the removal of pollutants in road runoff by soil infiltration[J]. Water Research, 2008, 42(10-11): 2745-2755.
- [39] ZHAO S, LIANG T, ZHOU T, LI D, WANG B, ZHAN J, LIU L. Biotransformation and responses of antioxidant enzymes in hydroponically cultured soybean and pumpkin exposed to perfluorooctane sulfonamide (FOSA)[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2018, 161: 669-675.
- [40] KWON BG, LIM HJ, NA SH, CHOI BI, SHIN DS, CHUNG SY. Biodegradation of perfluorooctanesulfonate (PFOS) as an emerging contaminant[J]. Chemosphere, 2014, 109: 221-225.
- [41] WANG N, LIU JX, BUCK RC, KORZENIOWSKI SH, WOLSTENHOLME BW, FOLSOM PW, SULECKI LM. 6:2 fluorotelomer sulfonate aerobic biotransformation in activated sludge of waste water treatment plants[J]. Chemosphere, 2011, 82(6): 853-858.
- [42] 栗强发. 维生素 B12 催化还原降解全氟辛磺酸[D]. 泉州: 华侨大学硕士学位论文, 2018.
- SU QF. Reductive degradation of perfluorooctane sulfonate catalyzed by vitamin B12[D]. Quanzhou: Master's Thesis of Huaqiao University, 2018 (in Chinese).
- [43] YI LB, CHAI LY, XIE Y, PENG QJ, PENG QZ. Isolation, identification, and degradation performance of a PFOA-degrading strain[J]. Genetics and Molecular Research, 2016, 15(2): 235-246.