

全氟丁烷磺酸对其耐受菌胞外聚合物特征的影响

余果, 孙丽娜, 唐蕊, 韩悦

引用本文:

余果, 孙丽娜, 唐蕊, 韩悦. 全氟丁烷磺酸对其耐受菌胞外聚合物特征的影响[J]. 农业环境科学学报, 2023, 42(5): 1032–1041.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11654/jaes.2022-0947>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

苯并[a]芘对毛霉EPS特征的影响

唐蕊, 邵红, 贾春云, 张作金, 陈祥

农业环境科学学报. 2019, 38(4): 765–772 <https://doi.org/10.11654/jaes.2018-0852>

镉耐性固定细菌的筛选及其对不同品种小麦镉吸收的阻控效应

孙乐妮, 郭迎雪, 侯雪婷, 庄杰, 杨章泽, 陈兆进, 田伟

农业环境科学学报. 2020, 39(9): 1878–1887 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0291>

叶面喷施两种典型纳米材料对苋菜积累多环芳烃的影响

袁彬彬, 周东美, 马晓玥, 方国东, 高娟

农业环境科学学报. 2020, 39(9): 1908–1915 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0160>

满江红对含卡马西平与吉非罗齐的生活污水的净化效果

李胜曙, 崔二苹, 郑凌云, 李松旌, 陶甄, 胡超, 赵志娟, 樊向阳

农业环境科学学报. 2023, 42(4): 921–930 <https://doi.org/10.11654/jaes.2022-1039>

一株代尔福特菌的分离及其对Cd吸附机制研究

石阳阳, 徐敏, 万勤, 谢黛敏, 肖笑, 伍钧

农业环境科学学报. 2022, 41(11): 2497–2505 <https://doi.org/10.11654/jaes.2022-0428>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

余果, 孙丽娜, 唐蕊, 等. 全氟丁烷磺酸对其耐受菌胞外聚合物特征的影响[J]. 农业环境科学学报, 2023, 42(5): 1032–1041.

YU G, SUN L N, TANG R, et al. Effects of perfluorobutanesulfonic acid on the extracellular polymeric substances of PFBS-resistant strains [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2023, 42(5): 1032–1041.

全氟丁烷磺酸对其耐受菌胞外聚合物特征的影响

余果, 孙丽娜*, 唐蕊, 韩悦

(沈阳大学环境学院区域污染环境生态修复重点实验室, 沈阳 110044)

摘要:为确定在全氟丁烷磺酸(PFBS)胁迫下两种耐受菌胞外聚合物(EPS)的组分变化特征,从阜新某氟化工污水处理厂污泥中分离出两种PFBS耐受菌株,通过生长量(OD_{600})和代谢活性(ETSA)测定、16S rDNA序列系统发育树分析、总有机碳测定、PFBS去除率测定、三维荧光光谱和红外光谱分析,研究了 $100\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ PFBS胁迫下两菌株的生长量与代谢活性, EPS产量、组成特征、官能团的变化及其对PFBS的去除作用。结果表明:这两种耐受菌被鉴定为*Pseudomonas* (假单胞菌属)和*Serratia* (沙雷氏菌属),它们能在 $100\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ PFBS胁迫下正常生长,且对PFBS均有去除效果,去除率分别为33.18%和19.95%,在 $100\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ PFBS胁迫下,两种耐受菌的EPS产量、蛋白质含量、多糖含量均降低,而蛋白质/多糖比值增加, EPS的蛋白峰(色氨酸和酪氨酸)、腐植酸和富里酸强度均降低, C—O、O—H和N—H等官能团峰强度降低。研究表明 $100\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ PFBS对两种耐受菌株的EPS组分有抑制作用。

关键词:全氟丁烷磺酸; 胞外聚合物; 三维荧光光谱; 红外光谱; 高效液相色谱-质谱联用

中图分类号: X172; X505 文献标志码: A 文章编号: 1672-2043(2023)05-1032-10 doi:10.11654/jaes.2022-0947

Effects of perfluorobutanesulfonic acid on the extracellular polymeric substances of PFBS-resistant strains

YU Guo, SUN Lina*, TANG Rui, HAN Yue

(Key Laboratory of Regional Environment and Eco-Remediation, Shenyang University, Shenyang 110044, China)

Abstract: To determine the characterization of the component changes in extracellular polymers (EPS) of two tolerant strains under perfluorobutane sulfonic acid (PFBS) stress, two PFBS-tolerant strains were isolated from fluorochemical wastewater treatment plant sludge in Fuxin. Through growth optical density (OD_{600}) and electron transport system activity (ETSA) determination, tree analysis, total organic carbon determination, PFBS removal rate determination, three-dimensional fluorescence spectroscopy and infrared spectroscopy analysis, we studied their growth and metabolic activity, EPS production, compositional characteristics, changes in functional groups and removal of PFBS under $100\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ PFBS stress. The study showed that two identified strains, *Pseudomonas* sp. and *Serratia* sp., were able to grow under $100\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ PFBS stress, and were effective in removing PFBS, with the removal rates of 33.18% and 19.95% respectively. When the PFBS concentration is $100\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, EPS concentration, protein content, and polysaccharide content of the two strains decreased, and the protein/polysaccharide ratio increased. The protein peaks (tryptophan and tyrosine) and humic acid and fulvic acid intensity of EPS decreased, and the intensity of functional groups such as C—O, O—H and N—H decreased. The above results indicate that $100\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ PFBS inhibited the EPS components of the two resistant strains.

Keywords: perfluorobutanesulfonic acid; extracellular polymeric substances; three-dimensional fluorescence spectrum; infrared spectroscopy; high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

收稿日期: 2022-09-25 录用日期: 2023-01-02

作者简介: 余果 (1997—), 女, 江西鹰潭人, 硕士研究生, 研究方向为污染土壤生态修复。E-mail: 857196948@qq.com

*通信作者: 孙丽娜 E-mail: sln629@163.com

基金项目: 国家重点基础研究发展计划(973计划) 项目(2014CB441106)

Project supported: The National Key Basic Research and Development Plan(973 Plan) Project(2014CB441106)

全氟化合物(Perfluorinated compounds, PFCs)是指烷基链上的氢原子全部被氟原子取代的一类人工合成的新型持久性有机污染物,由全氟磺酸类(Perfluoroalkyl sulfonic acids, PFSA)和全氟羧酸类(Perfluoroalkyl carboxylic acids, PFCA)的离子型全氟化合物(Perfluoroalkyl acids, PFAs)和非离子型全氟化合物(Non-ionic PFCs)组成^[1]。长期以来,长链全氟化合物(含有7个以上全氟烷基碳的PFCA和6个以上全氟烷基碳的PFSA)被广泛应用于纺织、不粘式炊具、食品包装、泡沫灭火剂及地毯保护剂等消费品的生产过程^[2],全氟辛烷磺酸(PFOS)和全氟辛酸(PFOA)也成为环境中主要检出的全氟化合物^[3-4]。由于具有环境持久性、高毒性、生物富集性和污染广泛等特点,PFOA和PFOS分别于2017年和2009年被列入《斯德哥尔摩公约》,并对其生产和使用进行了全球限制和严格管控。

全氟丁烷磺酸(Perfluorobutanesulfonic acid, PFBS)是碳原子数为4的一种短链PFCs,与碳原子数为8的PFOS具有相似的元素组成及物理结构(图1),PFBS无明显生物积累性,在人体中的半衰期较短^[5]。因此,在2009年PFOS及其衍生物被列入国际斯德哥尔摩公约的背景下,PFBS被广泛作为PFOS的替代品而大量使用,导致PFBS在垃圾填埋场^[6]、地下水^[7]、河流水^[8]和市政污水^[9]、污泥^[10]、土壤^[11]等环境中被频繁检测到。PFBS对人体的脏器^[12]、免疫^[13]、神经^[14]、生殖^[15]及发育系统^[16]等具有毒害作用,特别是PFBS的水溶性($42 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$)远高于PFOS($591 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)^[17],其较高的环境持久性和流动性使其具有比PFOS更高的全

球污染潜力^[18],2020年1月16日PFBS及其盐类正式被添加到高度关注物质(SVHC)候选物质中,因此PFBS的环境污染问题值得我们关注。

环境污染微生物修复以其易操作、成本低和环境友好的特点而受到广大研究者的关注。胞外聚合物(Extracellular polymeric substances, EPS)是在特定生长条件下由微生物分泌、并附着在细胞表面或周围的多聚化合物,主要由蛋白质、多糖、核酸和脂质等大分子物质组成。EPS在微生物缺乏营养时即可作为碳源物质被利用,为微生物生存活动提供能量^[19];也可以帮助微生物抵御外界不良环境,提高微生物对有毒环境的耐受性^[20]。污染物的存在可以诱导微生物产生更多的EPS来抵御外界不良环境^[21],EPS对环境污染物的去除具有重要作用^[22],但PFCs对微生物产生EPS的影响具有很大的不确定性。Weathers等^[23]研究发现PFCs会诱导微生物分泌更多的EPS,从而抵御有毒物质进入细胞,保障微生物的生长和繁殖^[23];而Chen等^[24]研究发现PFOS的添加会导致EPS中类蛋白质和类腐植酸的浓度显著下降;唐琳钦等^[25]研究发现添加PFOS和PFOA会降低污泥EPS中色氨酸的含量。Yan等^[26]研究发现EPS中色氨酸和酪氨酸两种组分的浓度与添加的PFOA浓度呈负相关。目前相关研究主要集中在长链PFCs对EPS的影响上,而短链PFCs对EPS的影响研究较为鲜见。

基于此,本文从阜新某氟化工污水处理厂污泥中分离出两种PFBS耐受菌株,通过实验和三维荧光光谱(Three-dimensional fluorescence spectrum, 3D-EEM)分析,研究了 $100 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ PFBS胁迫下两种菌株的生长量与代谢活性和EPS产量、组成特征及其对PFBS的去除作用,并运用傅里叶红外光谱(Fourier transform infrared spectroscopy, FTIR)进一步分析了EPS官能团的变化,以期PFBS污染的微生物EPS去除机理提供新的认识。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 耐受菌筛选所用污泥

筛选菌种所用的污泥采自辽宁省阜新市某氟化工污水处理厂的浓缩污泥,采集时间为2020年9月28日。

1.1.2 实验仪器和主要试剂

HITACHI F-4600 荧光光度计、Thermo NICOLET 380 傅里叶红外光谱仪、Elementar Liqui TOC 总有机碳分析仪、SUPELCO Visiprep™ SPE 真空固相萃取装

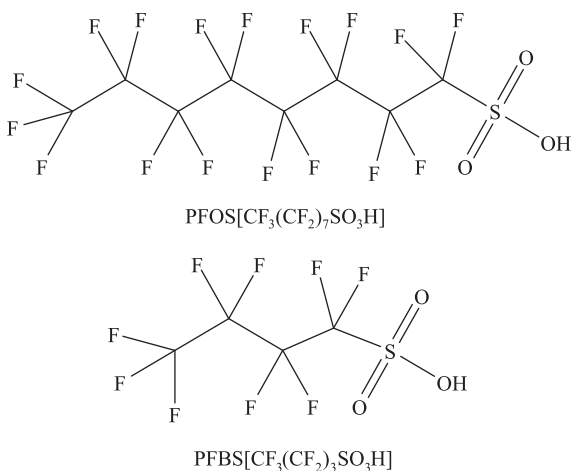


图1 PFOS和PFBS结构式

Figure 1 The structure of PFOS and PFBS

置、Thermo TSQ ENDUR 三重四极杆质谱仪、Dionex UltiMate 3000 高效液相色谱仪。PFBS ($2\,000\text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$, $\geq 99\%$) 与内标 (MPFAC-MXA, $2\,000\text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$, $\geq 99\%$) 均购自 Wellington Laboratories 公司, 甲醇 (HPLC) 和乙酸铵 (HPLC) 购自上海安谱实验科技公司, WAX-SPE 固相萃取柱购自 Suplco 公司。本试验采用富集培养基: $\text{NH}_4\text{NO}_3\ 5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $\text{NaCl}\ 2\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $\text{KH}_2\text{PO}_4\ 1\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $\text{K}_2\text{HPO}_4\ 1\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}\ 0.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $\text{CaCl}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}\ 0.05\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 、酵母粉 $1\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, 分别加入 10 、 20 、 30 、 $40\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 PFBS, pH 7.0。无机盐培养基: $\text{NH}_4\text{NO}_3\ 5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $\text{NaCl}\ 2\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $\text{KH}_2\text{PO}_4\ 1\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $\text{K}_2\text{HPO}_4\ 1\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}\ 0.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $\text{CaCl}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}\ 0.05\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, pH 7.0。LB 培养基: 蛋白胨 $10\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $\text{NaCl}\ 10\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 、酵母粉 $5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, 调节 pH 至 7.0, 固体培养基调节 pH 后再加入 $5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 琼脂粉。

1.2 实验方法

1.2.1 菌株的分离和纯化

取 10 g 污泥接种于 200 mL 富集培养基中, 在 $30\text{ }^\circ\text{C}$ 和 $130\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 的振荡条件下培养。每隔 7 d , 将 5% 的培养液转接到新的富集培养基中, 逐渐升高 PFBS 的浓度至 $50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 驯化结束。将 10 mL 驯化后的培养液转接到 90 mL 以 $50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ PFBS 为唯一碳源的无机盐培养基中。通过连续 4 次转接进行富集和筛选。取 1 mL 最终培养液用无菌水梯度稀释后, 分别涂布于含 $50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ PFBS 的琼脂平板上, 放入 $30\text{ }^\circ\text{C}$ 培养箱中培养, 待平板上长出明显菌落时, 挑选生长状态较好的菌落进行划线纯化为单一菌落 (共纯化 4 次), 纯化后的菌株在 $-20\text{ }^\circ\text{C}$ 的 15% 甘油中保存^[27]。

1.2.2 生长量

将单株菌按 2% 接种量接种到浓度为 $100\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ PFBS 的 50 mL 无机盐培养基中, 在 $30\text{ }^\circ\text{C}$ 条件下以 $130\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 振荡培养, 第 1 天分别在 0 、 4 、 8 h 和 12 h 各取样 1 次, 从第 2 天开始每天取样 1 次, 净培养 (不包括取样时间) 7 d 结束培养。实验设置 CK 对照组 (PFBS 浓度为 $0\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的无机盐培养基) 及 3 组平行 (包括 CK 组), 选用 2 mL 比色皿取 1.5 mL 培养液, 以蒸馏水为对照, 测定生长量 (OD_{600})^[28]。

1.2.3 代谢活性 (ETSA)

取 0.5 mL 培养液与 1 mL 0.2% 的 INT (氯化碘硝基四氮唑) 溶液混合, 避光反应 20 min 后加入 $50\text{ }\mu\text{L}$ 甲醛终止反应, $1\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 5 min , 去上清。沉淀用 1 mL 96% 的甲醇重悬, 混匀使之完全溶解。 $1\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 5 min , 去除菌体对吸光度的干扰。测定

495 nm 处的吸光值, 以 7 mL 96% 甲醇加 2 mL 0.2% INT 作为空白^[28]。

ETSA (A , $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$, 以 O_2 计) 的计算公式:

$$A = \frac{Ab}{15.9} \times V \times \frac{32}{2} \times \frac{1}{S \times t}$$

式中: S 为样品体积; t 为反应时间; Ab 为吸光度; V 为用来重悬的甲醇体积; $32/2$ 为常数; 15.9 为摩尔吸光度。

1.2.4 菌种鉴定

将纯化后的菌株转接到 LB 培养基中, $30\text{ }^\circ\text{C}$ 培养 2 d , 观察菌落形态, 并委托生工生物工程 (上海) 股份有限公司进行 16S rDNA 鉴定。通过 NCBI 基因库中 (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast>) Blast 已知菌株的 16S rDNA 序列与 16S rDNA 测序结果进行同源性比较, 选取相似性较高的序列, 利用 CLUSTAL-X 软件将选取的序列与菌株序列进行多序列比对, 对齐所得序列, 基于邻接法 (Neighbor-joining) 通过 MEGA7 软件构建系统发育树^[29]。

1.2.5 EPS 提取与分析

取生长到稳定期的菌体培养液, $8\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 4 min , 除去上清液后补充无菌水至原体积, 再 $8\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 4 min , 除去上清液, 补充适量无菌水制备成菌悬液。将上述菌悬液放入 $60\text{ }^\circ\text{C}$ 的水浴锅中加热 30 min , 然后样品于 $12\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 5 min , 上清液经过 $0.45\text{ }\mu\text{m}$ 滤膜过滤后, 得到的无色透明溶液即为 EPS 溶液^[30]。

用总有机碳分析仪测定 EPS 中有机碳 (TOC) 浓度。通过标准曲线计算出 EPS 中 TOC 的浓度, EPS 产生量用 TOC 浓度作为量化指标, 采用硫酸-苯酚法测定多糖的浓度, 采用改良的 Lowry 法测定 EPS 中蛋白质的浓度^[31]。

将提取的 EPS 溶液进行三维荧光测定。荧光光度计参数设定: 发射扫描波长 (E_m) $250\sim 650\text{ nm}$, 激发扫描波长 (E_x) $200\sim 550\text{ nm}$, 激发和发射狭缝宽度为 5 nm , 扫描速度为 $12\,000\text{ nm}\cdot\text{mL}^{-1}$, 响应时间为自动方式, 扫描光谱进行仪器自动校正^[30]。

将提取好的 EPS 经真空干燥 ($-60\text{ }^\circ\text{C}$, 24 h), 取适量的粉末用 NICOLET 380 傅里叶红外光谱仪进行测试, 分辨率 4 cm^{-1} , 扫描次数 $32\text{ 次}\cdot\text{min}^{-1}$, 测定范围 $4\,000\sim 500\text{ cm}^{-1}$ ^[30]。

1.2.6 PFBS 提取与分析

将单株菌按 2% 接种量接种到 PFBS 浓度为 $100\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 30 mL 液体无机盐培养基中, 在 $30\text{ }^\circ\text{C}$ 条件下

以 $130 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 振荡培养 4 d 后,取样分析。将固相萃取柱安装于固相萃取装置后,分别使用 2 mL 质量分数为 0.1% 的氨水/甲醇溶液,2 mL 甲醇溶液,2 mL Milli-Q 水进行活化。

取 2 mL 待测菌液和 $250 \mu\text{L} \rho=20 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 PFCs 内标液($n=5 \text{ ng}$)置于 WAX-SPE 中,流速控制在约 $1 \text{ 滴} \cdot \text{s}^{-1}$ 。待全部样品通过 WAX-SPE 后,加入 4 mL $\rho=25 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 醋酸铵缓冲液进行洗杂。之后用 2 mL 甲醇溶液和 2 mL 质量分数为 0.1% 的氨水/甲醇溶液进行洗脱,洗脱液收集于 15 mL 康宁离心管内。洗脱液于 40°C 水浴加热,氮气速度调节至洗脱液表面有微小旋涡,浓缩至 0.5 mL,再加入 0.5 mL 甲醇溶液,定容至 1 mL。提取液通过 $0.22 \mu\text{m}$ 滤膜后置于 2 mL 棕色进样瓶内, 4°C 保存。用 Thermo TSQ ENDUR 高效液相色谱-质谱联用仪(UPLC-MS-MS)测定 PFBS 浓度^[32]。UPLC 系统色谱条件为进样量 $10 \mu\text{L}$;流速 $0.3 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$;流动相: $5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 95% 甲醇-乙酸铵(A), $5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 乙酸铵(B);梯度洗脱条件: 0 min , 20% B; 1.5 min , 40% B; $1.5 \sim 9 \text{ min}$, 95% B; $9 \sim 12 \text{ min}$, 80% B, 将柱平衡 3 min。质谱条件:SRM 负离子模式;喷雾电压 3000 V ;护套气体压力 50 Arb;辅助气体压力 10 Arb;雾化器温度 350°C ;离子传递管温度 350°C 。Q1 分辨率 0.7;Q3 分辨率 0.7;CID 碰撞能量 2.0 mTorr。回收率范围为 92.2~94.41%,检出限为 $1.12 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$,定量限为 $3.74 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

1.3 数据处理

实验数据结果以平均值 $\pm$ 标准偏差表示。通过 Excel 2021 和 Origin pro 2020 对数据进行计算和绘图。

2 结果与讨论

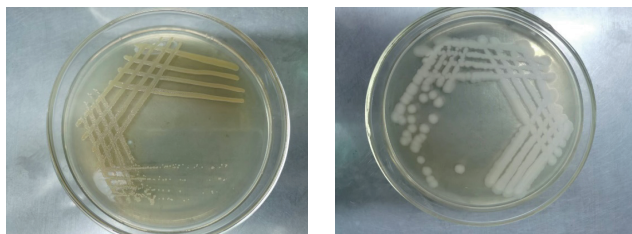
2.1 PFBS 耐受菌株的筛选与鉴定

2.1.1 PFBS 耐受菌株的筛选

(1) 菌株的培养特征

将从污泥中经过梯度压力驯化和富集培养后的菌液按不同浓度梯度涂布在含 PFBS 的无机盐固体培养基上,培养 48 h 后,用接种环挑选长势良好的菌落进行划线,挑取单菌落,重复上述步骤 4 次后,分离出两株菌落形态一致且以 PFBS 为唯一碳源的耐受菌(图 2),分别命名为 H1 菌和 B2 菌。H1 菌在培养基上呈淡黄色,是边缘规则、表面光滑、隆起的半透明圆形菌落;B2 菌在培养基上呈乳白色,是边缘规则、表面光滑、隆起的不透明圆形菌落。

(2) 菌株的生长量



(a) 菌株 H1

(b) 菌株 B2

图 2 菌株的形态

Figure 2 Morphology of the strain

H1 菌和 B2 菌的 OD_{600} 曲线如图 3 所示, OD_{600} 的值可以指示菌株的生长量。从图 3 可以看出,H1 菌在 0~8 h 内处于快速增长期,1 d 后进入稳定生长期。与 H1 菌对比,B2 菌不但快速生长期更长(0~2 d)而且在第二天生长量达到最大后明显下降,再缓慢上升。与 CK 对比,添加 $100 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ PFBS 虽然没有改变两种菌的生长周期,但两种菌的生长量均有不同程度的提高,H1 菌平均提高了 19.97%,B2 菌提高了 7.94%,表明 PFBS 对 H1 菌的促进作用更明显。该结果与有些研究的结果不同:Li 等^[33]研究了添加 PFOS 为 5、10 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 20 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时对枯草芽孢杆菌生长的影响,结果表明添加 PFOS 后 OD_{600} 值下降,PFOS 添加对枯草芽孢杆菌的生长有抑制作用;Zheng 等^[34]的研究也表明,PFOS 为 10、20 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 40 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时对枯草芽孢杆菌的生长有抑制作用,枯草芽孢杆菌的 OD_{600} 值随 PFOS 浓度的增加而降低。这可能与实验中添加的 PFOS 浓度差异较大有关,或与菌种不同有关,尚需进一步实验验证。

(3) 菌株的代谢活性

H1 和 B2 菌的 ETSA 曲线如图 4 所示,ETSA 的值可以指示菌株的代谢活性。由图 4 可知,H1 菌的 ETSA 的变化趋势基本与 OD_{600} 一致,ETSA 在 0~8 h 快速增长,在 8 h 达到最大值后迅速下降,之后趋于稳定。与 CK 处理对比,在 $100 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ PFBS 胁迫下 H1 菌的代谢活性受到明显的促进,平均提高了 59.69%。但与 H1 菌相反(图 4b),PFBS 的添加会抑制 B2 菌的代谢活性,其 ETSA 比 CK 处理平均降低了 4.71%。

2.1.2 菌株的鉴定

委托生工生物工程(上海)股份有限公司分别对 H1 菌和 B2 菌进行 16S rDNA 测序,并将所得测序结果与 NCBI 基因库中(<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast>)序列进行比对,选择相似性不小于 98% 的序列,使用 MEGA7 构建系统发育树(Neighbor-Joining 法),结果如图 5 所示。菌株 H1 的碱基对个数为 1 429 bp,菌株

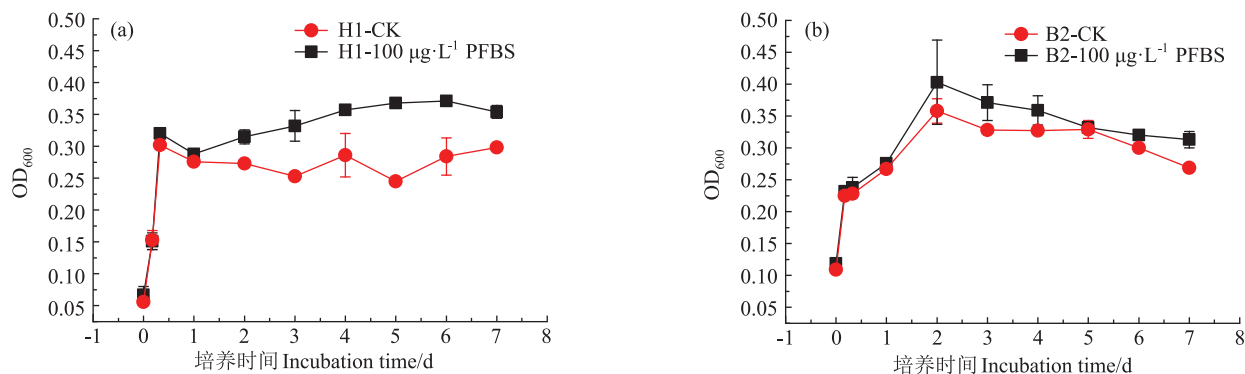


图3 H1菌和B2菌生长量曲线
Figure 3 The growth curves of H1 and B2 strain

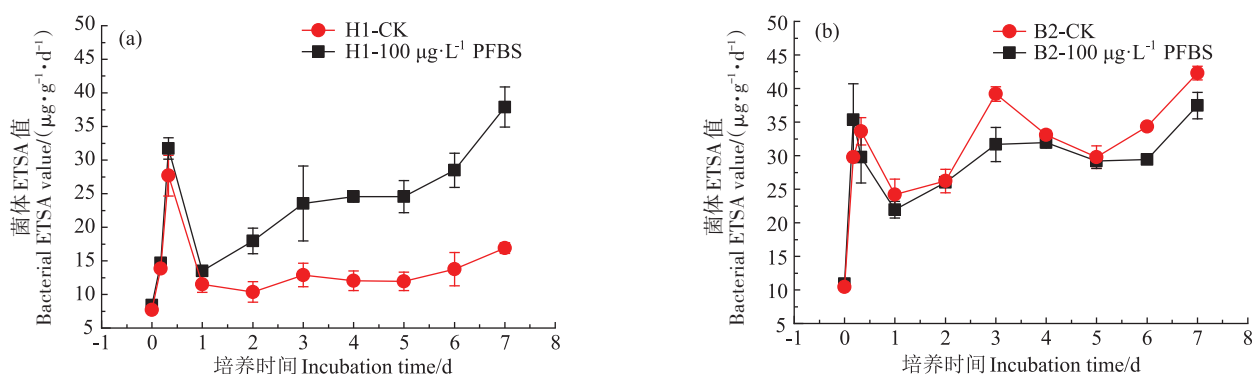


图4 H1菌和B2菌代谢活性曲线
Figure 4 Metabolic activity curves of H1 and B2 strain

B2的碱基对个数为1 364 bp。通过系统发育树分析可知,H1菌与假单胞菌亲缘性较高,与 *Pseudomonas aeruginosa* NCTC 13628(ON359917)的16S rDNA基因序列有100%的相似性,判定其为 *Pseudomonas* (假单胞菌属),推测为 *Pseudomonas aeruginosa* (铜绿假单胞菌);B2菌与沙雷氏菌亲缘性较高,与 *Serratia* sp. BZ-

L(KT001067)的16S rDNA基因序列有99.93%的相似性,判定其为 *Serratia* (沙雷氏菌属),推测为 *Serratia nematodiphila* (嗜线虫沙雷氏菌)^[35-38]。

2.2 PFBS胁迫下耐受菌株EPS产量及其对PFBS的去除作用

从图6可以看出,加入PFBS后H1菌和B2菌的

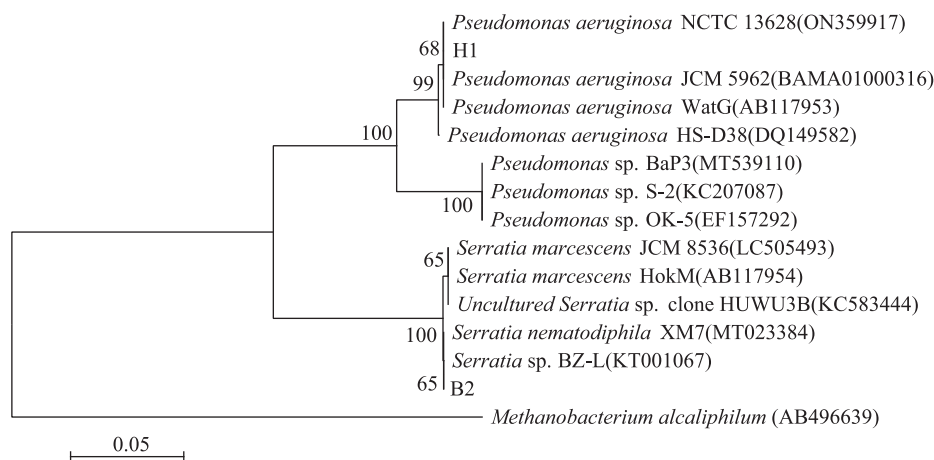


图5 菌株系统发育树
Figure 5 Phylogenetic tree of strains

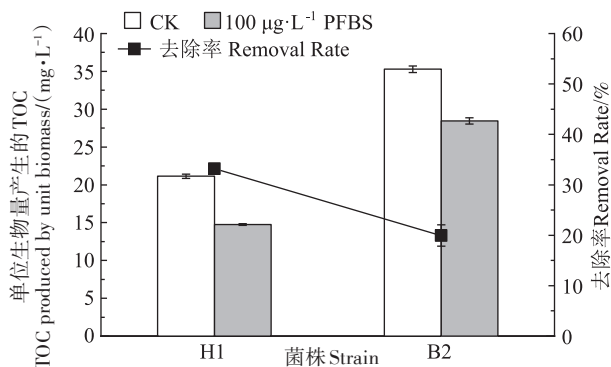


图6 H1菌和B2菌的EPS产生量及去除率

Figure 6 EPS production and removal rate of H1 and B2 strain

EPS产量减少,与CK组相比,H1菌从 $21.13 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 降低为 $14.76 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (下降了30.17%),B2菌从 $35.29 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 变为 $28.44 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (下降了19.41%),表明在 $100 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ PFBS胁迫下这两种菌分泌EPS受到抑制。H1菌和B2菌在接种量为2%时,4 d后对 $100 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ PFBS的去除率分别为33.18%和19.95%,与B2菌对比,H1菌的去除效果更好,这可能与H1的生长周期短、以及 $100 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ PFBS处理对H1菌生长量和代谢活性的促进作用更明显有关。Yi等^[27]将从全氟化合物生产厂附近土壤中分离到的*Pseudomonas parafulva*(副黄假单胞菌)YAB1,在 $30 \text{ } ^\circ\text{C}$ 、pH 7.0、2%接种量下培养96 h,发现其对 $500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ PFOA的降解率为32.4%。赵淑艳等^[29]研究发现在温度为 $30 \text{ } ^\circ\text{C}$ 、pH为7.0~7.2条件下,生丝微菌(*Hyphomicrobium*) PF1对PFOSA和N-EtFOSA的降解率分别为14.6%和8.2%。对比前人的研究结果,本研究的H1菌能在中性条件下有效去除短链全氟化合物PFBS,在短链全氟类化合物污染修复应用中具有一定的竞争优势。

2.3 PFBS胁迫下耐受菌株EPS组成特征

从H1菌和B2菌的EPS组分变化(图7)可以看出,两种菌的EPS主要成分为蛋白质。与CK处理相比,在 $100 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ PFBS胁迫下,两种菌EPS中蛋白质和多糖的浓度均降低,H1菌的EPS中蛋白质浓度从 $20.42 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 降低到 $17.08 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (下降了16.37%),多糖浓度从 $2.73 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 降低到 $1.78 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (下降了34.80%);B2菌的EPS中蛋白质浓度从 $30.21 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 降低到 $26.67 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (下降了11.72%),多糖浓度由 $13.81 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 降低到 $9.35 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (下降了32.30%)。与B2菌对比,H1菌EPS中的蛋白质、多糖降低更多。添加PFBS后,H1菌的EPS中蛋白质/多糖的比值从7.48

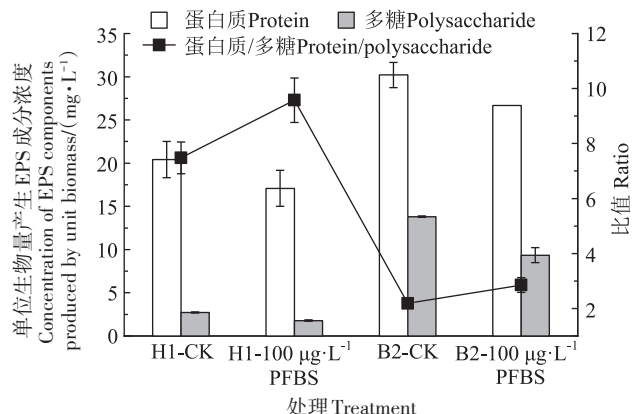


图7 H1菌和B2菌的EPS组分含量

Figure 7 Contents of EPS components of H1 and B2 strain

升高到9.58,B2菌的比值由2.19升高到2.85,分别升高了28.07%和30.14%。这可能是因为EPS是细胞代谢产生的,在营养物质缺乏的情况下,为了维持代谢活动,微生物会消耗存储在EPS中的多糖并分泌酶蛋白,使EPS中蛋白质浓度增加进而导致蛋白质/多糖的比值增大^[39]。但Lu等^[40]的研究表明,在PFOS浓度为 $10 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,蛋白质浓度升高,多糖浓度降低,而在PFOS浓度为 $1000 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,EPS中蛋白质的浓度比对照组降低了35.34%,多糖浓度提高了18.29%。由此可见,PFCs的浓度会对EPS的组成产生相反的影响。

2.4 菌株EPS三维荧光光谱分析

图8为H1菌和B2菌的EPS三维荧光光谱。由图8可知,图谱中主要有4个荧光峰,PeakA位于 $\text{Ex}/\text{Em}=225 \text{ nm}/330\sim340 \text{ nm}$,PeakB位于 $\text{Ex}/\text{Em}=275\sim280 \text{ nm}/330\sim340 \text{ nm}$,为类蛋白质物质,其中PeakA为酪氨酸物质,PeakB为色氨酸物质;PeakC位于 $\text{Ex}/\text{Em}=385\sim405 \text{ nm}/465 \text{ nm}$,为类腐植酸物质;PeakD位于 $\text{Ex}/\text{Em}=240\sim270 \text{ nm}/445\sim455 \text{ nm}$,为类富里酸物质^[41]。

从三维荧光光谱强度(表1)可以看出,与CK处理对比,添加 $100 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ PFBS使两种菌的类蛋白峰(酪氨酸和色氨酸)强度均明显下降,与实验测定的EPS中蛋白质浓度降低的结果相一致。其中H1菌的PeakA强度从129.10 a.u下降到75.81 a.u(降低了41.28%),PeakB强度从96.48 a.u下降到65.98 a.u(降低了31.61%);B2菌的PeakA强度从161.70 a.u下降到126.60 a.u(降低了21.71%),PeakB强度从157.40 a.u下降到101.40 a.u(降低了35.58%),这与前人的相关研究结果类似。Lu等^[40]的研究结果表明,添加 $1000 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ PFOS后,EPS中的酪氨酸和色氨酸分别比

CK处理降低了10.90%和9.38%;色氨酸荧光峰强度的降低是由PFCs与EPS中色氨酸发生疏水作用所导致^[25]。色氨酸和酪氨酸的荧光依赖于苯环的化学结构,PFCs中的C—F链能够与EPS蛋白质中的芳香基团形成疏水作用,导致苯环结构发生变化^[26],从而导致PeakA和PeakB的荧光强度下降。

如图8a和图8b所示,在H1菌的荧光谱图中还检测到了PeakC(类腐植酸)和PeakD(类富里酸),说明在H1菌EPS中不仅有蛋白质,还含有腐殖质。与CK处理对比(图8a),添加PFBS使H1菌的EPS中类腐植

酸峰和类富里酸峰强度也有所下降,PeakC(类腐植酸)强度从112.70 a.u下降到18.58 a.u(降低了83.51%),PeakD(类富里酸)强度从115.80 a.u下降到46.31 a.u,(降低了60.00%),可能与腐殖质含有芳香基团和PFCs中的C—F链形成的疏水作用有关^[26]。腐殖质含有更多的芳香族位点,腐殖质含量的增加可以在一定程度上阻止PFOS进入细胞^[40]。荧光峰C的强度与腐殖酸结构中的羧基有关^[42],因此推测PeakC(类腐植酸)和PeakD(类富里酸)的荧光强度下降的原因可能是其中的芳香基团和羧基与PFBS发生反

表1 H1菌和B2菌的EPS三维荧光光谱分析结果
Table 1 Three-dimensional fluorescence spectrum analysis results of H1 and B2 strain EPS

菌株 Strain	PFBS浓度 Concentration/ ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	PeakA		PeakB		PeakC		PeakD	
		激发/发射 Ex(nm)/Em (nm)	强度 Strength(a.u)	激发/发射 Ex(nm)/Em (nm)	强度 Strength(a.u)	激发/发射 Ex(nm)/Em (nm)	强度 Strength(a.u)	激发/发射 Ex(nm)/Em (nm)	强度 Strength(a.u)
H1	0	225/335	129.10	280/340	96.48	405/465	112.7	270/455	115.80
	100	225/330	75.81	280/340	65.98	385/465	18.58	240/445	46.31
B2	0	225/335	161.70	280/330	157.40	—	—	—	—
	100	225/340	126.60	275/340	101.40	—	—	—	—

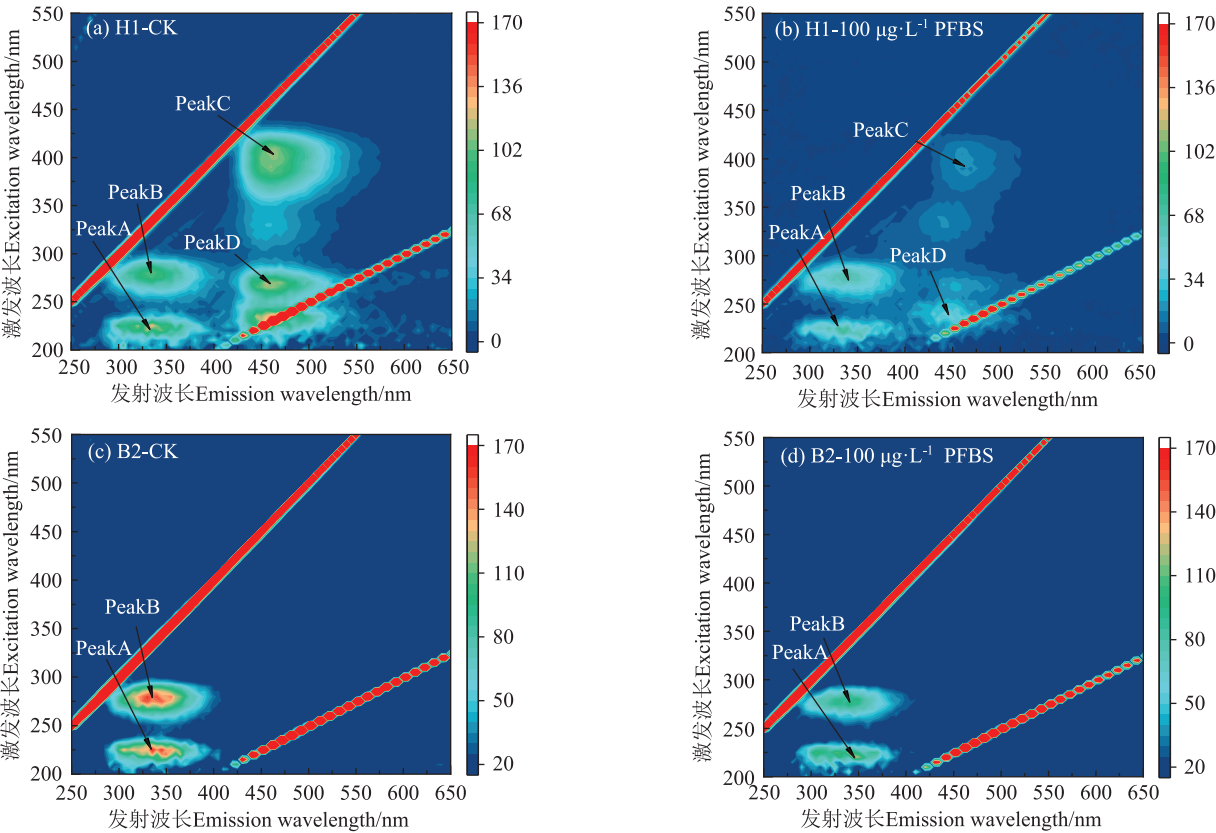


图8 H1菌和B2菌的EPS三维荧光光谱图
Figure 8 Three-dimensional fluorescence spectra of H1 and B2 strain EPS

应所导致。

2.5 菌株EPS傅里叶红外光谱分析

100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ PFBS胁迫下H1菌和B2菌EPS的傅里叶红外光谱如图9所示。从图9可以看出,在3 427 cm^{-1} 处的强宽带吸收峰为多糖和腐植酸中的羟基和蛋白质中酰胺基团产生的O—H和N—H的混合物伸缩振动^[26,43],在2 929 cm^{-1} 处出现的尖锐式不对称吸收峰为芳香族氨基酸(色氨酸)中—CH₂反对称伸缩振动,2 500~2 250 cm^{-1} 处的吸收峰为空气中CO₂引起的干扰峰,可能与样品中的CO₂没有排干净有关。1 644 cm^{-1} 处为蛋白质中酰胺的吸收带Ⅰ,1 530 cm^{-1} 和1 526 cm^{-1} 为蛋白质中酰胺的吸收带Ⅱ,1 061 cm^{-1} 处的红外吸收峰为多糖和类多糖中C—O伸缩振动,小于1 000 cm^{-1} 的吸收峰为样品中不饱和键所形成,属于指纹区域^[44-45]。

与CK处理对比,添加PFBS后,没有引起EPS的红外光谱谱峰位置的移动,表明EPS中的主要官能团类型没有发生改变。但谱峰强度有所改变,有研究表明,红外光谱图中峰强度与样品中所含官能团的浓度存在着密切关系,峰值强度的大小能够反映相应官能团的相对浓度^[46]。与CK相比,H1菌红外光谱图在3 427 cm^{-1} 处O—H和N—H伸缩振动峰强度减弱,B2

菌的红外光谱图峰的强度都变弱,尤其是3 427 cm^{-1} 和1 061 cm^{-1} 处,3 427 cm^{-1} 处O—H和N—H伸缩振动峰消失,1 061 cm^{-1} 处C—O伸缩振动峰强度减弱,推测EPS中蛋白质、多糖和腐植酸组分为PFBS的吸附提供了大量的活性结合位点^[26,39]。

3 结论

(1)H1菌和B2菌分别被鉴定为*Pseudomonas*(假单胞菌属)和*Serratia*(沙雷氏菌属),全氟丁烷磺酸(PFBS)对H1菌的生长量和代谢活性均有促进作用,对B2菌的生长量有促进作用,而对其代谢活性有抑制作用。H1菌和B2菌在接种量为2%时,4 d后对100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ PFBS的去除率分别为33.18%和19.95%。

(2)H1菌和B2菌的胞外聚合物(EPS)主要成分为蛋白质。100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ PFBS对这两种菌分泌EPS有抑制作用,EPS中的蛋白质、多糖浓度均降低,而蛋白质/多糖比值增加,其中相比于B2菌,H1菌EPS中蛋白质、多糖浓度降低更多,蛋白质/多糖的比值增加更少。

(3)三维荧光光谱结果表明,100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ PFBS胁迫下EPS中类蛋白质、类腐植酸和类富里酸的荧光强度均降低;傅里叶红外光谱结果表明,C—O、O—H和N—H等官能团峰强度降低。

参考文献:

- [1] OLSEN G W, BURRIS J M, MANDEL J H, et al. Serum perfluorooctane sulfonate and hepatic and lipid clinical chemistry tests in fluorocarbon production employees[J]. *Journal of Occupational and Environmental Medicine*, 1999, 41(9): 799-806.
- [2] ARVANITI O S, STASINAKIS A S. Review on the occurrence, fate and removal of perfluorinated compounds during wastewater treatment[J]. *Science of the Total Environment*, 2015, 524: 81-92.
- [3] 宋彦敏,周连宁,郝文龙,等. 全氟化合物的污染现状及国内外研究进展[J]. 环境工程, 2017, 35(10): 82-86. SONG Y M, ZHOU L N, HAO W L, et al. Pollution status and related research progress of perfluorinated compounds[J]. *Environmental Engineering*, 2017, 35(10): 82-86.
- [4] 张美,楼巧婷,邵倩文,等. 全氟化合物污染现状及风险评估的研究进展[J]. 生态毒理学报, 2019, 14(3): 30-53. ZHANG M, LOU Q T, SHAO Q W, et al. Research progress of perfluorinated compounds pollution status and risk assessment[J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2019, 14(3): 30-53.
- [5] 周秀鹏,盛南,王建设,等. 全氟和多氟化合物替代品的研究进展[J]. 生态毒理学报, 2017, 12(3): 3-12. ZHOU X J, SHENG N, WANG J S, et al. The current research status of several kinds of fluorinated alternatives[J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2017, 12(3): 3-

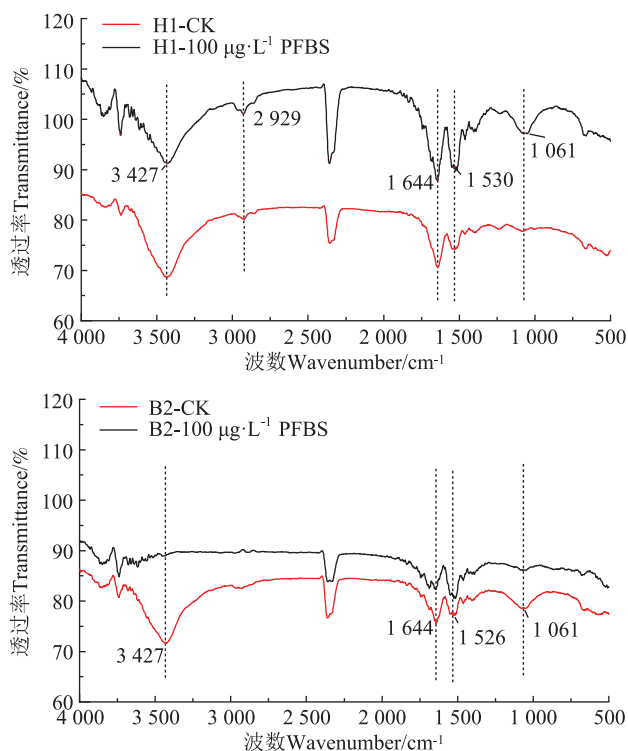


图9 H1菌和B2菌的EPS傅里叶红外光谱图

Figure 9 EPS infrared spectra of H1 and B2 strain

- 12.
- [6] YIN T, CHEN H, REINHARD M, et al. Perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances removal in a full-scale tropical constructed wetland system treating landfill leachate[J]. *Water Research*, 2017, 125:418–426.
- [7] BAO J, YU W J, LIU Y, et al. Perfluoroalkyl substances in groundwater and home-produced vegetables and eggs around a fluorochemical industrial park in China[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2019, 171:199–205.
- [8] 汤家喜, 朱永乐, 李玉, 等. 辽河流域及周边水体中全氟化合物的污染状况及生态风险评价[J]. *生态环境学报*, 2021, 30(7):1447–1454. TANG J X, ZHU Y L, LI Y, et al. Pollution status and ecological risk assessment of perfluorinated compounds in the Liao River basin and surrounding[J]. *Ecology and Environment*, 2021, 30(7):1447–1454.
- [9] 马春萌, 陈红瑞, 马洁, 等. 短链全氟烷酸替代物在城市污水深度处理工艺中的分布和排放[J]. *生态毒理学报*, 2020, 15(5):147–157. MA C M, CHEN H R, MA J, et al. Occurrence and discharge of short-chain perfluoroalkyl acids (PFAAs) substitutes during advanced treatment process in municipal wastewater treatment plants[J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2020, 15(5):147–157.
- [10] 何宗健, 甘甜, 彭希珑, 等. 环鄱阳湖城市污水处理厂污泥中全氟化合物的污染特征[J]. *南昌大学学报:工科版*, 2020, 42(2):103–108. HE Z J, GAN T, PENG X L, et al. Pollution characteristics of perfluorinated compounds in sludge from urban wastewater treatment plants around Poyang Lake[J]. *Journal of Nanchang University (Engineering & Technology)*, 2020, 42(2):103–108.
- [11] LI J, HE J, NIU Z, et al. Legacy per- and polyfluoroalkyl substances (PFASs) and alternatives (short-chain analogues, F-53B, GenX and FC-98) in residential soils of China: present implications of replacing legacy PFASs[J]. *Environment International*, 2020, 135:105419.
- [12] LIU Y, LIN N, DAI C, et al. Occurrence and distribution of per- and polyfluoroalkyl substances (PFASs) in human livers with liver cancer [J]. *Environmental Research*, 2021, 202:111775.
- [13] CORSINI E, SANGIOVANNI E, AVOGADRO A, et al. In vitro characterization of the immunotoxic potential of several perfluorinated compounds (PFCs) [J]. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2012, 258(2):248–255.
- [14] SLOTKIN T A, MACKILLOP E A, MELNICK R L, et al. Developmental neurotoxicity of perfluorinated chemicals modeled in vitro[J]. *Environmental Health Perspectives*, 2008, 116(6):716–722.
- [15] WANG B, ZHANG R, JIN F, et al. Perfluoroalkyl substances and endometriosis-related infertility in Chinese women[J]. *Environment International*, 2017, 102:207–212.
- [16] CHEN Q, ZHANG X, ZHAO Y, et al. Prenatal exposure to perfluorobutanesulfonic acid and childhood adiposity: a prospective birth cohort study in Shanghai, China[J]. *Chemosphere*, 2019, 226:17–23.
- [17] LAU C, ANITOLE K, HODES C, et al. Perfluoroalkyl acids: a review of monitoring and toxicological findings[J]. *Toxicological Sciences*, 2007, 99(2):366–394.
- [18] WEI C, WANG Q, SONG X, et al. Distribution, source identification and health risk assessment of PFASs and two PFOS alternatives in groundwater from non-industrial areas[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2018, 152:141–150.
- [19] LIN H J, ZHANG M J, WANG F Y, et al. A critical review of extracellular polymeric substances (EPSs) in membrane bioreactors: characteristics, roles in membrane fouling and control strategies[J]. *Journal of Membrane Science*, 2014, 460:110–125.
- [20] FLEMMING H C, WINGENDER J, SZEWZYK U, et al. Biofilms: an emergent form of bacterial life[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2016, 14(9):563–575.
- [21] LORIES B, ROBERFROID S, DIJLTJENS L, et al. Biofilm bacteria use stress responses to detect and respond to competitors[J]. *Current Biology*, 2020, 30(7):1231–1244.
- [22] SHENG G P, YU H Q, LI X Y. Extracellular polymeric substances (EPS) of microbial aggregates in biological wastewater treatment systems: a review[J]. *Biotechnology Advances*, 2010, 28(6):882–894.
- [23] WEATHERS T S, HIGGINS C P, SHARP J O. Enhanced biofilm production by a toluene-degrading *Rhodococcus* observed after exposure to perfluoroalkyl acids[J]. *Environmental Science & Technology*, 2015, 49(9):5458–5466.
- [24] CHEN W, YUAN D, SHAN M, et al. Single and combined effects of amino polystyrene and perfluorooctane sulfonate on hydrogen-producing thermophilic bacteria and the interaction mechanisms[J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 703:135015.
- [25] 唐琳钦, 宿程远, 黄娴, 等. PFOA 与 PFOS 对厌氧氨氧化污泥特性和微生物群落的影响[J]. *中国环境科学*, 2022, 42(1):194–202. TANG L Q, SU C Y, HUANG X, et al. Evaluation of sludge characteristics and microbial community of anammox sludge during exposure to perfluorooctane acid and perfluorooctane sulfonate[J]. *China Environmental Science*, 2022, 42(1):194–202.
- [26] YAN W, QIAN T, ZHANG L, et al. Interaction of perfluorooctanoic acid with extracellular polymeric substances – role of protein[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, 401:123381.
- [27] YI L B, CHAI L Y, XIE Y, et al. Isolation, identification, and degradation performance of a PFOA-degrading strain[J]. *Genetics & Molecular Research*, 2016, 15(2):15028043.
- [28] 徐冰洁, 高品, 薛昱, 等. 碘普罗胺降解菌 *Pseudomonas* sp. I-24 共代谢降解性能研究[J]. *环境科学*, 2014, 35(4):1443–1448. XU B J, GAO P, XUE G, et al. Study on the iopromide-degrading characteristics of strain *Pseudomonas* sp. I-24 via co-metabolism[J]. *Environmental Science*, 2014, 35(4):1443–1448.
- [29] 赵淑艳, 周涛, 王博慧, 等. 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 S Y, ZHOU T, WANG B H, et al. 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.
- [30] 唐蕊, 邵红, 贾春云, 等. 苯并[a]芘对毛霉 EPS 特征的影响[J]. *农业环境科学学报*, 2019, 38(4):765–772. TANG R, SHAO H, JIA C Y, et al. Effect of benzo[a] pyrene on the characteristics of *Mucor mucedo* EPS[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2019, 38(4):765–772.

- [31] WANG X, ZHANG B, SHEN Z, et al. The EPS characteristics of sludge in an aerobic granule membrane bioreactor[J]. *Bioresour Technol*, 2010, 101(21):8046–8050.
- [32] 陈勇杰, 张蓓蓓, 陈国松, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定污水和污泥基质中的20种全氟及多氟化合物[J]. *分析化学*, 2019, 47(4):533–540. CHEN Y J, ZHANG B B, CHEN G S, et al. Analysis of 20 kinds of perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances in wastewater and sludge samples with ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2019, 47(4):533–540.
- [33] LI J, ZHENG T, YUAN D, et al. Probing the single and combined toxicity of PFOS and Cr(VI) to soil bacteria and the interaction mechanisms[J]. *Chemosphere*, 2020, 249:126039.
- [34] ZHENG T, LI J, LIU C. Improvement of α -amylase to the metabolism adaptations of soil bacteria against PFOS exposure[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2021, 208:111770.
- [35] ZHENG Y, LIU D, LIU S, et al. Kinetics and mechanisms of p-nitrophenol biodegradation by *Pseudomonas aeruginosa* HS-D38[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2009, 21(9):1194–1199.
- [36] WONGSA P, TANAKA M, UENO A, et al. Isolation and characterization of novel strains of *Pseudomonas aeruginosa* and *Serratia marcescens* possessing high efficiency to degrade gasoline, kerosene, diesel oil, and lubricating oil[J]. *Current Microbiology*, 2004, 49(6):415–422.
- [37] 董星辰, 张晓昀, 王亚男, 等. 高效降解苯并芘假单胞菌的分离、鉴定与应用[J]. *环境科学与技术*, 2021, 44(3):1–7. DONG X C, ZHANG X Y, WANG Y N, et al. Isolation, identification and application of a benzopyrene degrading bacteria *Pseudomonas* sp.[J]. *Environmental Science & Technology*, 2021, 44(3):1–7.
- [38] HO E M, CHANG H W, KIM S I, et al. Analysis of TNT(2, 4, 6-trinitrotoluene)-inducible cellular responses and stress shock proteome in *Stenotrophomonas* sp. OK-5[J]. *Current Microbiology*, 2004, 49(5):346.
- [39] 杨国靖. PFOA在好氧颗粒污泥系统中的行为机制及其影响研究[D]. 长沙:湖南大学, 2018. YANG G J. The behavior mechanism and influence study of perfluorooctanoic acid in aerobic granular sludge system[D]. Changsha:Hunan University, 2018.
- [40] LU B, QIAN J, HE F, et al. Effects of long-term perfluorooctane sulfonate (PFOS) exposure on activated sludge performance, composition, and its microbial community[J]. *Environmental Pollution*, 2022, 295:118684.
- [41] 安莹, 王志伟, 李彬, 等. 盐度冲击下 MBR 污泥 SMP 和 EPS 的三维荧光光谱解析[J]. *中国环境学*, 2014, 34(7):1754–1762. AN Y, WANG Z W, LI B, et al. Analysis of the EEM fluorescence spectra of the SMP and EPS in MBR sludge under salinity shock[J]. *China Environmental Science*, 2014, 34(7):1754–1762.
- [42] 傅平青, 刘丛强, 尹祚莹, 等. 腐殖酸三维荧光光谱特性研究[J]. *地球化学*, 2004, 33(3):301–308. FU P Q, LIU C Q, YIN Z Y, et al. Characterization of humic acid by three-dimensional excitation emission matrix fluorescence spectroscopy[J]. *Geochimica*, 2004, 33(3):301–308.
- [43] ZHOU Q, DENG S, ZHANG Q, et al. Sorption of perfluorooctane sulfonate and perfluorooctanoate on activated sludge[J]. *Chemosphere*, 2010, 81(4):453–458.
- [44] 王玉莹, 支丽玲, 马鑫欣, 等. 好氧颗粒污泥胞外聚合物组分特征分析[J]. *哈尔滨工业大学学报*, 2020, 52(2):153–160. WANG Y Y, ZHI L L, MA X X, et al. Characterization of extracellular polymeric substances from aerobic granular sludge[J]. *Journal of Harbin Institute of Technology*, 2020, 52(2):153–160.
- [45] 王晓慧, 刘永军, 刘喆, 等. 用三维荧光和红外技术分析好氧颗粒污泥形成初期胞外聚合物的变化[J]. *环境化学*, 2016, 35(1):125–132. WANG X H, LIU Y J, LIU Z, et al. Analysis of extracellular polymeric substances changes during the initial stage of aerobic granulation by 3D-EEM and FTIR[J]. *Environmental Chemistry*, 2016, 35(1):125–132.
- [46] MANUEL P. Functional transformation of fourier-transform mid-infrared spectrum for the improving of spectral specificity by simple algorithm based on wavelet-like functions[J]. *Journal of Advanced Research*, 2018, 14:53–62.