

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第38卷 第11期

Vol.38 No.11

2017

中国科学院生态环境研究中心 主办
科学出版社 出版



目次

天津市非道路移动源污染物排放清单开发	张意, Andre Michel, 李东, 张欣, 吴琳, 张衍杰, 马超, 邹超, 毛洪钧 (4447)
基于移动监测和土地利用回归模型的上海市近地面黑碳浓度空间模拟	彭霞, 余倩楠, 龙凌波, 刘敏, 徐茜, 魏宁, 周陶冶 (4454)
鄂东典型工业城市大气 PM ₁₀ 中元素浓度特征和来源分析	占长林, 张家泉, 郑敬茹, 姚瑞珍, 刘红霞, 肖文胜, 刘先利, 曹军骥 (4463)
常州夏秋季 PM _{2.5} 中碳质气溶胶特征及来源	叶招莲, 刘佳澍, 李清, 马帅帅, 许澎 (4469)
徐州市冬季大气细颗粒物水溶性无机离子污染特征及来源解析	范美益, 曹芳, 张园园, 鲍孟盈, 刘晓妍, 张雯淇, 高嵩, 章炎麟 (4478)
南宁市一次污染过程大气颗粒物理化特性及来源	刘慧琳, 陈志明, 李宏姣, 蒋靖坤, 张强, 黄炯丽, 毛敬英, 梁桂云, 杨俊超, 张达标, 莫招育 (4486)
西安市秋冬季不同空气质量下可培养微生物气溶胶浓度和粒径分布	李婉欣, 路瑞, 谢铮胜, 王金龙, 范春兰, 刘鹏霞, 李彦鹏 (4494)
黄渤海海域秋季营养盐及有色溶解有机物分布特征	唐永, 孙语嫣, 石晓勇, 韩秀荣, 苏荣国 (4501)
华东沿海滩涂区表层沉积物重金属含量特征及风险评价	张明, 鲍征宇, 陈国光, 雍太健, 朱意萍, 梁晓红 (4513)
基于地球化学特性的海州湾海洋牧场沉积物重金属研究	李大鹏, 张硕, 张中发, 罗娜, 魏青青, 张瑞, 黄宏 (4525)
尼洋河流域水化学特征及其控制因素	张涛, 蔡五田, 李颖智, 张智印, 耿婷婷, 边超, 赵森, 蔡月梅 (4537)
南亚热带地区水库夏季铁、锰垂直分布特征	杨思远, 赵剑, 余华章, 彭亮, 肖利娟 (4546)
辽河流域地表水中典型抗生素污染特征及生态风险评估	张晓娇, 柏杨巍, 张远, 马淑芹, 郭昌胜, 张莉 (4553)
东太湖渔业养殖对沉积物营养盐的影响	何肖微, 储瑜, 曾巾, 赵大勇, 陆建明, 曹萍, 吴庆龙 (4562)
浑太河不同水生态区营养盐对底栖硅藻的影响及阈值	张莉, 林佳宁, 张远, 王书平, 臧小苗, 张晓娇 (4570)
水环境条件对三峡库区消落带狗牙根根磷养分淹水浸泡释放的影响	肖丽微, 朱波 (4580)
野鸭湖湿地芦苇根际微生物多样性与磷素形态关系	滕泽栋, 李敏, 朱静, 宋明阳 (4589)
人为扰动背景下城市边缘溪流底质硝化-反硝化潜力分析	李如忠, 郑侠, 高苏蒂, 叶舟 (4598)
不同扰动下外源磷在形态磷间的分布规律	蔡顺智, 李大鹏, 唐鑫煜, 李浩冉, 朱伟, 黄勇 (4607)
伊乐藻-高效脱氮微生物协同作用对污染水体氮素脱除机制的影响	王浩, 李正魁, 张一品, 丁帮璟 (4617)
零价铁活化过硫酸钠去除废水中的砷(V)	周孜迈, 邓文娜, 杨艺琳, 孙艳秋, 王悦, 柳听义, 王中良 (4623)
nZVI/AC 复合材料对水中锑的去除	蒋婷, 鲍玥, 李威, 方荣业, 史惠祥 (4632)
流态对生物添加强化硝化效果的影响	于莉芳, 杜倩倩, 张茹, 杨秀玲, 李初, 渭思思, 冯云堂 (4641)
温度对 SBR 生物脱氮效能及胞外聚合物的影响	孙洪伟, 陈翠忠, 吴长峰, 赵华南, 于雪, 方晓航 (4648)
温度对间歇曝气 SBR 短程硝化及硝化活性的影响	刘宏, 彭永臻, 卢炯元, 李慧, 南彦斌, 王瑾, 陈永志 (4656)
不同诱导模式下 CAST 工艺的亚硝酸盐型反硝化除磷能力	马娟, 王谨, 俞小军, 张伟, 魏雪芬, 陈永志, 田文清 (4664)
污水处理厂 CANON 工艺小试	李冬, 赵世勋, 王俊安, 朱金凤, 关宏伟, 张杰 (4673)
SBR 加载不同粒径磁性活性炭对其污泥颗粒化进程的影响机制	信欣, 管蕾, 郭俊元, 刘洁, 冯梅, 余婷婷 (4679)
常温下厌氧氨氧化污泥的储存及活性恢复	黄佳路, 王小龙, 高大文 (4687)
同步脱氮除磷好氧颗粒污泥培养过程微生物群落变化	高景峰, 王时杰, 樊晓燕, 潘凯玲, 张丽芳, 张树军, 高永青, 张帅 (4696)
硫酸盐和 Fe(II) EDTA-NO ₃ /Fe(III) EDTA 厌氧还原过程特性及微生物群落分析	张玉, 万方, 周集体 (4706)
SBR 系统外加磁场对微生物群落多样性和处理效果的影响	耿淑英, 付伟章, 王静, 郑书联 (4715)
安徽某铁矿排土场废矿石中产酸微生物群落	杜泽瑞, 郝春博, 裴理鑫, 卫朋飞, 张鑫, 鲁艳春 (4725)
典型集雨人饮地区窖水微生物群落多样性及差异解析	杨浩, 张国珍, 杨晓妮, 武福平, 赵炜, 张洪伟, 张翔 (4733)
表层沉积物中 6:2 氟调醇生物降解对细菌群落结构的影响	王丹, 侯珍, 张琪, 周莹, 卢晓霞 (4747)
外源环烷酸在土壤中的降解过程及对微生物群落结构的影响	刘艳秋, 赵嫣然, 刘梦娇, 樊灏, 黄艺 (4756)
1 株异养硝化-好氧反硝化细菌 DK1 的分离鉴定及其脱氮特性	牟东阳, 靳鹏飞, 彭永臻, 李夕耀, 张琼, 何建中 (4763)
重庆缙云山 4 种典型植被覆盖下汞的释放通量及影响因素	杨光, 孙涛, 安思危, 马明 (4774)
模拟氮沉降对闽江口淡水感潮沼泽湿地 CO ₂ 、CH ₄ 排放通量的短期影响	李冬冬, 仝川, 谭立山, 陈坤龙, 孙东耀, 黄佳芳 (4782)
地膜覆盖对稻-油轮作农田 CH ₄ 和 N ₂ O 排放的影响	石将来, 郝庆菊, 冯迪, 张凯莉, 石孝均, 江长胜 (4790)
西安市公园土壤多环芳烃污染特征、来源及风险评价	周燕, 卢新卫 (4800)
不同沙生灌木下土壤颗粒及重金属空间分布特征	代豫杰, 郭建英, 董智, 李锦荣, 李红丽 (4809)
不同水分梯度下 UV-B 辐射对 2 个稻田土壤碳氮转化的影响	蒋梦蝶, 王秋敏, 徐鹏, 周维, 郭磊, 胡荣桂 (4819)
喀斯特灌丛土壤丛枝菌根真菌群落结构及丰度的影响因子	梁月明, 苏以荣, 何寻阳, 陈香碧, 胡亚军 (4828)
生物炭和草酸活化磷矿粉对镉镍复合污染土壤的应用效果	段然, 胡红青, 付庆灵, 寇长林 (4836)
反复冻融与高温老化对神污染土壤固化稳定化效果的影响	杨洁, 钱赵秋, 王旌 (4844)
皂角苷和柠檬酸联合对污泥中 Cu、Pb 和 Zn 的去除及其稳定性特征	叶涛, 黄丽, 张克强, 张斌, 常红, 刘智杰, 杜连柱 (4850)
针铁矿与胡敏酸的交互作用及其复合物的稳定性	王锐, 朱朝菊, 向文军, 方敦, 杨小洪, 吴少尉, 魏世勇 (4860)
塑胶跑道中有机磷酸酯的含量及健康风险	印红玲, 刘琴, 廖林群, 王震, 罗怡, 邓旭, 丁凌刚, 唐铭 (4868)
农业废物堆肥中理化参数对 GH6 家族基因影响	陈耀宁, 苟宇, 黎媛萍, 伍艳馨, 陈艳容, 李辉, 刘耀, 汪元南, 张道利, 朱福造, 曾光明 (4874)
F/M 及 HRT 对果蔬垃圾厌氧发酵产氢的影响	李标, 孔晓英, 李连华, 袁振宏, 孙永明, 吕鹏梅 (4882)
环境模型中敏感性分析方法评述	陈卫平, 涂宏志, 彭驰, 侯鹰 (4889)
《环境科学》征稿简则 (4462) 《环境科学》征订启事 (4672) 信息 (4647, 4705, 4789)	

表层沉积物中 6:2 氟调醇生物降解对细菌群落结构的影响

王丹, 侯珍, 张琪, 周莹, 卢晓霞*

(北京大学城市与环境学院, 地表过程分析与模拟教育部重点实验室, 北京 100871)

摘要: 6:2 氟调醇(6:2 FTOH)是一种多氟烷基物质, 近年被广泛用于工业和消费品中, 对环境有潜在威胁, 但目前关于 6:2 FTOH 及其降解产物对沉积物中微生物群落结构的影响还不清楚。本研究的目的是通过基因分析方法探索 6:2 FTOH 生物降解对表层沉积物中细菌群落结构的影响。从天津海河采集表层沉积物和河水, 在实验室进行微宇宙实验, 通过 LC-MS/MS 测定 6:2 FTOH 及其降解产物的浓度, 通过变性梯度凝胶电泳和高通量测序分析细菌的群落结构。结果表明, 6:2 FTOH 在微生物的作用下可发生降解(半衰期小于 3 d), 生成 6:2 FTCA、6:2 FTUCA 等中间产物和 5:2 FT Ketone、5:2 sFTOH、PFHxA、PFPeA、PFBA、5:3 Acid 等稳定产物, 该过程对沉积物细菌群落结构产生明显影响, 引起细菌群落丰富度和多样性的变化。在 6:2 FTOH 降解的不同阶段, 细菌的变化和优势菌群略有不同。根据 100 d 的实验结果, 从门的分类水平看, 6:2 FTOH 生物降解引起绿弯菌门丰度大幅上升(+24.8%)、变形菌门和厚壁菌门丰度大幅下降(-17.8%和-15.9%)。从纲的分类水平看, 6:2 FTOH 生物降解引起丰度上升较大的有厌氧绳菌纲(+19.6%)和 δ -变形菌纲(+4.3%), 引起丰度下降较大的有 ϵ -变形菌纲(-20.0%)、梭菌纲(-10.1%)、芽孢杆菌纲(-5.8%)和 γ -变形菌纲(-4.2%)。从属的分类水平看, 6:2 FTOH 生物降解引起丰度上升较大的有 *Anaerolineaceae_uncultured*(+19.1%)和硫碱球菌属(+13.3%), 引起丰度下降较大的有弧菌属(-14.1%)、硫单胞菌属(-13.2%)、芽孢杆菌属(-5.1%)、*Sulfurovum*(-4.2%)和 *Fusibacter*(-4.1%)。这些结果有助于预测环境中细菌对多氟烷基物质污染的反应及筛选可降解多氟烷基物质的细菌。

关键词: 6:2 氟调醇; 生物降解; 细菌群落结构; 多样性指数; 沉积物

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2017)11-4747-09 DOI: 10.13227/j.hjlx.201704297

Impact of the Biodegradation of 6:2 Fluorotelomer Alcohol on the Bacterial Community Structure of Surface Sediment

WANG Dan, HOU Zhen, ZHANG Qi, ZHOU Ying, LU Xiao-xia*

(Laboratory for Earth Surface Processes, College of Urban and Environmental Sciences, Peking University, Beijing 100871, China)

Abstract: Fluorotelomer alcohol (6:2 FTOH) is a polyfluoroalkyl substance that has been widely used in industry and consumer products in recent years, causing potential harm to the environment. However, currently the impact of 6:2 FTOH and its degradation products on microbial communities in sediment is unclear. The purpose of this study is to explore the impact of the biodegradation of 6:2 FTOH on bacterial community structures in surface sediment based on gene analysis. Surface sediment and river water were collected from Hai river, Tianjin, and a microcosm experiment was performed in the laboratory. The concentration of 6:2 FTOH and its degradation products were analyzed by liquid chromatograph-mass spectrometry/mass spectrometry (LC-MS/MS). The bacterial community structure was analyzed by denaturing gradient gel electrophoresis and high-throughput sequencing. The results showed that 6:2 FTOH could be degraded by microorganisms (half-life was less than 3 d), producing transient products such as 6:2 fluorotelomer carboxylic acid (FTCA) and 6:2 fluorotelomer unsaturated carboxylic acid (FTUCA) and stable products such as 5:2 fluorotelomer (FT) ketone, 5:2 fluorotelomer alcohol (sFTOH), perfluorohexanoic acid (PFHxA), perfluoro-n-pentanoic acid (PFPeA), perfluorobutanoic acid (PFBA) and 5:3 polyfluorinated acid. At different stages of 6:2 FTOH degradation, a change of bacteria and the predominant population became somewhat different. Based on the experimental results for 100 d, at the Phylum level, the biodegradation of 6:2 FTOH greatly increases the abundance of Chloroflexi (+24.8%) and decreases the abundance of Proteobacteria (-17.8%) and Firmicutes (-15.9%). At the Class level, due to the biodegradation of 6:2 FTOH, bacteria with notable increases included Anaerolineae (+19.6%) and δ -Proteobacteria (+4.3%), while bacteria with notable decreases included ϵ -Proteobacteria (-20.0%), Clostridia (-10.1%), Bacilli (-5.8%) and γ -Proteobacteria (-4.2%). At the Genus level, due to the biodegradation of 6:2 FTOH, bacteria with notable increases included *Anaerolineaceae_*(uncultured) (+19.1%) and *Thioalkalispira* (+13.3%), while bacteria with notable decreases included *Vibrio* (-14.1%), *Sulfurimonas* (-13.2%), *Bacillus* (-5.1%), *Sulfurovum* (-4.2%) and *Fusibacter* (-4.1%). These results are helpful for predicting the response of bacteria to the

收稿日期: 2017-04-30; 修订日期: 2017-05-22

基金项目: 国家自然科学基金项目(41471391, 41030529, 40871214)

作者简介: 王丹(1991~), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为环境微生物, E-mail: dan.wang@pku.edu.cn

* 通信作者, E-mail: luxx@urban.pku.edu.cn

contamination of polyfluoroalkyl substances and isolating the bacteria capable of the biodegradation of polyfluoroalkyl substances.

Key words: 6:2 fluorotelomer alcohol; biodegradation; bacterial community structure; diversity index; sediment

6:2 氟调醇(6:2 FTOH)及其同系物是一类多氟烷基物质(PFASs),具有独特的疏水和疏油性质,可取代长链多氟烷基物质(≥ 7 个氟代碳原子),被用于工业和消费品中,如作为涂层和防水剂用在包装、纺织品、润滑油和涂料中^[1~3]. 近来一项关于食物接触材料中氟调醇的研究显示,6:2 FTOH 最为常见,其次为 8:2 FTOH 和 10:2 FTOH^[4]. PFASs 在工业和消费品中的使用已导致环境中 PFASs 浓度升高^[3~8]. 6:2 FTOH 对哺乳动物有毒害作用^[9,10],其在环境中的存在对生态和人体健康构成威胁.

环境中的 6:2 FTOH 可进行生物降解,产生全氟羧酸(PFCAs)^[11~14]. 以往对 6:2 FTOH 生物降解的研究多注重鉴定降解产物和分析降解途径^[5]. 已有结果显示,6:2 FTOH 在土壤、沉积物和活性污泥中可发生氧化降解,生成一系列的产物,其中 5:2 sFTOH 为主要的中间产物,5:3 Acid、PFHxA、PFPeA 和 PFBA 为主要的稳定产物^[15]. 6:2 FTOH 及其上述降解产物已在环境中被检测^[16,17],有可能对当地的微生物群落结构造成影响. 到目前为止,这方面的研究还很少,仅有一篇报道了全氟烷基酸(PFAAs)对沉积物中细菌群落组成和动态的影响^[18].

本研究的目的是通过基因分析方法研究 6:2

FTOH 生物降解对表层沉积物中细菌群落结构的影响. 这对多氟烷基物质的环境风险评估与污染环境修复具有重要意义. 沉积物微生物系统具有高度的多样性,包含好氧微生物和厌氧微生物^[19]. 本研究通过微宇宙装置来模拟表层沉积物的环境. 采用两种基因分析方法,即变性梯度凝胶电泳(DGGE)和高通量测序,两者都是直接从样品中提取微生物的基因组 DNA,采用基于核糖体 RNA 基因的通用引物进行扩增. DGGE 基于分子指纹谱图来分析群落结构的变化,比较直观,但精度低,只能对样品中丰度较大的微生物进行测定. 高通量测序精度高,信息丰富,可从不同水平分析群落结构^[20].

1 材料与方法

1.1 试剂

多氟烷基和全氟烷基化合物 6:2 FTOH、PFHxA、PFPeA 和 PFBA 购自 Sigma-Aldrich 公司(美国). 5:2 FT Ketone 购自 TCI America 公司(美国). 6:2 FTCA、6:2 FTUCA、5:2 sFTOH、5:3 Uacid、5:3 Acid 和 4:3 Acid 由 DuPont 公司(美国)合成. 所用试剂的纯度均在 97% 或以上. 表 1 给出本研究中多氟烷基和全氟烷基化合物的缩略词、全称和分子结构.

表 1 本研究中多氟烷基和全氟烷基化合物的缩略词、全称和分子结构

Table 1 Acronym, full name and chemical structure of the polyfluoroalkyl and perfluoroalkyl substances

缩略词	英文全称	中文全称	分子结构
6:2 FTOH	6:2 Fluorotelomer alcohol	6:2 氟调醇	$F(CF_2)_6CH_2CH_2OH$
6:2 FTCA	6:2 Fluorotelomer saturated acid	6:2 氟调饱和酸	$F(CF_2)_6CH_2COOH$
6:2 FTUCA	6:2 Fluorotelomer unsaturated acid	6:2 氟调非饱和酸	$F(CF_2)_5CF=CHCOOH$
5:2 FT Ketone	5:2 Fluorotelomer ketone	5:2 氟调酮	$F(CF_2)_5C(O)CH_3$
5:2 sFTOH	5:2 Polyfluorinated secondary alcohol	5:2 多氟仲醇	$F(CF_2)_5CH(OH)CH_3$
PFBA	Perfluorobutyric acid	全氟丁酸	$F(CF_2)_3COOH$
PFPeA	Perfluoropentanoic acid	全氟戊酸	$F(CF_2)_4COOH$
PFHxA	Perfluorohexanoic acid	全氟己酸	$F(CF_2)_5COOH$
5:3 Acid	5:3 Polyfluorinated acid	5:3 多氟酸	$F(CF_2)_5CH_2CH_2COOH$
4:3 Acid	4:3 Polyfluorinated acid	4:3 多氟酸	$F(CF_2)_4CH_2CH_2COOH$
5:3 Uacid	5:3 Polyfluorinated unsaturated acid	5:3 多氟非饱和酸	$F(CF_2)_5CH=CHCOOH$

用于液相色谱-串联质谱(LC-MS/MS)定量分析的内标为 $[1,1,2,2-D; 3-^{13}C]$ 6:2 FTOH $[F(CF_2)_5^{13}CF_2CD_2CD_2OH]$ (DuPont 公司,美国)和 $[1,2-^{13}C]$ PFHxA $[F(CF_2)_4^{13}CF_2COOH]$ (Wellington Laboratories,加拿大). C18 萃取柱(600 mg 吸附剂)购自 Alltech 公司(美国). 乙腈和其它溶剂(色谱

纯)购自国药集团北京化学试剂(中国). 高纯水(18 MΩ·cm)由 Milli-Q 系统产生(Millipore,德国).

1.2 样品采集

新鲜的表层沉积物样品和河水采自天津海河入海口. 沉积物样品用柱状取样器采集,然后用自封袋包装(袋内留有一定空气),放入 HDPE 大口瓶

中,旋盖密封. 河水用 HDPE 塑料桶采集后,旋盖密封. 所有样品在运输过程中保存在冷藏箱中,运回实验室后保存在 4℃ 冰箱内.

1.3 降解实验设置

使用采集的沉积物和河水混合物(体积比约为 2:3)进行实验. 实验装置为 120 mL 血清瓶,内盛 25 mL 沉积物和河水混合物与 5 mL 矿质培养基(pH 7.0). 矿质培养基的成分为: KH_2PO_4 85 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 K_2HPO_4 218 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $\text{Na}_2\text{HPO}_4\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 334 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 NH_4Cl 5 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $\text{CaCl}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 36.4 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 22.5 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $\text{FeCl}_3\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.25 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$. 配制 6:2 FTOH 储备溶液,含 24 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 6:2 FTOH,溶于 50% 乙醇(乙醇和水的体积比为 1:1). 实验设置活菌组(3 个平行)、灭菌组(两个平行)以及溶剂对照组(两个平行). 在活菌组中,加入 20 μL 6:2 FTOH 储备溶液. 在灭菌组中,培养液经高温灭菌(121℃, 1 h)并冷却后,加入 20 μL 6:2 FTOH 储备溶液. 在溶剂对照组中,仅加入 20 μL 50% 乙醇. 加入 6:2 FTOH 储备溶液或乙醇后,立即用丁基胶塞塞住瓶口,用镂空的铝盖密封. 为了保证培养物表层为有氧条件和捕获挥发性降解产物,将一根注射针和 C18 萃取柱相连,针头穿透丁基胶塞至培养瓶顶空. 所有实验瓶用铝箔纸包住,竖直放在振荡培养箱中振荡培养(转速 150 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$, 温度 20 ~ 25℃).

采用破坏性方式采样,在培养第 0、3、7、14、28、100 d 取不同处理组的整瓶样品,进行 6:2 FTOH 及其降解产物的分析. 取活菌组第 0、3、7、14、28 d 和溶剂对照组第 0、28 d 的沉积物样品,提取基因进行 DGGE 分析. 取活菌组第 0 和 100 d 的沉积物样品,提取基因进行高通量测序分析. 第 0 d 取样,指在实验设置好的当天取样.

1.4 6:2 FTOH 及其降解产物分析

取样时,在培养瓶内顶空相泵入空气约 3 min 使顶空相内气体通过 C18 萃取柱吸附所有易挥发物质,然后用 5 mL 乙腈洗脱 C18 萃取柱,将萃取液直接加入培养瓶内. 培养瓶的丁基橡胶塞被推入瓶内. 60 mL 乙腈被加入到样品瓶内萃取沉积物、水和橡胶塞混合物,用新的丁基橡胶塞塞住瓶口,铝盖密封,铝箔纸包裹,在摇床上水平振荡 2 d(转速 200 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$, 室温). 之后,萃取液在 400 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 转速离心 15 ~ 20 min,取 20 mL 上清液经孔径为 0.45 μm 的尼龙滤纸过滤,滤液保存于 20 mL 玻璃样品瓶中,用于 LC-MS/MS 分析. 5:3 Acid 在分析中易受其它

代谢产物的干扰. 为避免干扰,取上述萃取液用 EnviCarb 碳粉吸附处理^[11],具体如下:在 2.0 mL 离心管内加入 1.2 mL 乙腈、0.4 mL 萃取液、60 μL 1 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaOH 溶液和 30 mg EnviCarb 碳粉,涡旋 1 min 使加入物充分混合,接着离心管置于摇床内水平振荡 6 h(转速 200 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$, 室温),然后取出离心管并离心 15 min(转速 2000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$),吸取上清液经 0.45 μm 孔径的尼龙滤膜过滤,滤液保存在 1.5 mL 玻璃样品瓶中,用于分析.

分析 6:2 FTOH 及其降解产物的液相质谱仪为岛津 API4000,色谱柱为安捷伦 Zorbax RX-C8(150 mm $\times$ 2.1 mm, 粒径 5 μm , 孔径 8 nm),采用电喷雾离子化源(ESI),负离子模式,离子源温度 120℃,去溶剂温度 80℃,去溶剂气体流速 500 $\text{L}\cdot\text{h}^{-1}$,锥孔气体流速 50 $\text{L}\cdot\text{h}^{-1}$. 流动相由溶剂 A(0.15% 醋酸水溶液)和溶剂 B(0.15% 醋酸乙腈溶液)组成,流速为 0.4 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$. 柱温 35℃,进样量为 10 μL . 采用内标法对测定物进行定量,内标为[1,1,2,2-D; 3-¹³C] 6:2 FTOH 和[1,2-¹³C] PFHxA,标线范围为 10、20、50、100、200、300、400 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,所测氟化物的标线 R^2 均在 0.99 以上,检测限为 0.2 ~ 11 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$.

1.5 细菌群落结构分析

1.5.1 变性梯度凝胶电泳

取 0.5 g 沉积物(离心去水),用 FastDNA SPIN 土壤提取试剂盒(MPBIO, 美国)提取全基因组. 使用 TC-25/H 热循环仪(Bio-Equip, 中国),用带 GC 夹的细菌 16S rDNA 通用引物(341F-GC: 5'-CGC CCGCCGCGCCCCGCGCCCGTCCCGCCGCCCCCGCC CGCCTACGGGAGGCAGCAG-3', R518: 5'-ATTACCG CGGCTGCTGG-3')对提取的 DNA 进行扩增. 扩增采用降落 PCR 法,50 μL PCR 体系包括:1.5 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Mg^{2+} , 50 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ KCl, 200 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ dNTPs, 1 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 引物, 2.5 U DNA 聚合酶, 0.5 μL (1 pg ~ 1 ng) 模板 DNA. PCR 程序为:94℃ 预热 5 min; 循环一:变性 94℃ 1 min, 杂交 65℃ 1 min(每个循环降 0.5℃), 延伸 72℃ 1 min, 循环数 20; 循环二:变性 94℃ 1 min, 杂交 55℃ 1 min, 延伸 72℃ 1 min, 循环数 10; 最后一次延伸 72℃ 10 min; 然后 4℃ 保存. 升温程序设置为 2℃ $\cdot\text{s}^{-1}$, 降温程序设置为 -1.5℃ $\cdot\text{s}^{-1}$, 热盖.

配制丙烯酰胺胶,丙烯酰胺变性浓度范围为 35% ~ 65%. 在基因突变分析系统(INGENYphorU System, the Netherlands)中,将 DNA 扩增产物 40 μL

和 6X 载样缓冲液 8 μL 混匀后用 50 μL 注射器注入孔道. 60 $^{\circ}\text{C}$ 、100V 高压预电泳 5 min, 然后打开循环水泵, 换成 60 $^{\circ}\text{C}$ 、70V 恒温恒压电泳 16 h 以上. 取出胶体浸入 3 L EB 染液中, 避光染色 45 min, 换至清水中避光脱色 20 min 后, 在凝胶成像系统观察 DNA 条带. 对一些特征条带进行切胶, 用无菌水浸泡 12 h, 然后用不带 GC 夹的细菌 16S rDNA 通用引物 (F341: 5'-CCTACGGGAGGCAGCAG-3', R518: 5'-ATTACCGCGGCTGCTGG-3') 对浸泡液中的 DNA 进行 PCR. 配制 1.5% 琼脂糖凝胶, 取 3 μL PCR 产物与 0.6 μL 6X 缓冲液混合上样. 用 100V 恒压电泳 40 min, 在凝胶成像系统中显像, 观测 DNA 产物. 将扩增产物送到生工(上海)有限公司进行测序. 所得结果与美国国立生物信息中心的基因库进行比对, 确定其种属.

1.5.2 高通量测序

取 0.5 g 沉积物(离心去水), 用 FastDNA SPIN 土壤提取试剂盒 (MPBio, 美国) 提取全基因组. 使用 TC-25/H 热循环仪 (Bio-Equip, 中国) 对样品中 16S rRNA 基因的 V3-V4 区进行扩增, 正向和反向引物分别为 338F (5'-ACTCTACGGGAGGCAGCA-3') 和 806R (5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3'). 在正向引物的 5' 端添加带 6 个碱基长度 Barcode 序列区分样品. 反应体系 (50 μL) 包含 25 μL 2 $\times$ PCR 反应混合物 (Takara Premix TaqTM Version 2.0, 日本)、0.5 μL 正向引物 (100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)、0.5 μL 反向引物 (100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)、1 μL DNA 模板、以及 23 μL 灭菌高纯水. 循环参数如下: 在 94 $^{\circ}\text{C}$ 预热 5 min, 随后进行 30 个循环, 每个循环变性 94 $^{\circ}\text{C}$ 30 s、杂交 55 $^{\circ}\text{C}$ 30 s、延伸 72 $^{\circ}\text{C}$ 1 min, 最后延伸 72 $^{\circ}\text{C}$ 10 min. PCR 产物经 2% 琼脂糖电泳检测阳性后, 送至上海美吉生物医药科技有限公司, 使用 MiSeq PE300 高通量测序平台 (Illumina, 美国) 进行高通量测序.

MiSeq 测序得到的为双端序列数据. 使用 FLASH 将成对的 reads 拼接成一条序列, 同时对 reads 的质量和 merge 的效果进行质控过滤, 根据序列首尾两端的 barcode 和引物序列区分样品得到有效序列, 并校正序列方向. 使用 Usearch (V7.1) 对优化序列提取非重复序列, 去除没有重复的单序列. 按照 97% 相似性对非重复序列 (不含单序列) 进行操作分类单元 (OTU) 聚类, 在聚类过程中去除嵌合体, 得到 OTU 的代表序列. 将所有优化序列 map 至 OTU 代表序列, 选出与 OTU 代表序列相似性在

97% 以上的序列, 生成 OTU 表格. 使用 97% 相似度的 OTU, 利用 mothur 软件 (V1.30.1) 做稀释性 (Rarefaction) 分析, 并计算 ACE、Chao1、Shannon-weiner、Simpson 和 Coverage 参数. ACE 和 Chao1 是表征群落丰度的指数, Shannon-weiner 和 Simpson 是表征群落多样性的指数, Coverage 是表征测序深度的指数. 在 Qiime 平台上采用 RDP classifier (V2.2) 贝叶斯算法对 97% 相似水平的 OTU 代表序列进行分类学分析, 并在各个水平 (界、门、纲、目、科、属、种) 统计每个样品的群落组成, 置信度阈值为 0.7. 使用 R 程序 (V3.3.0) 制作 heatmap 等图形.

2 结果与讨论

2.1 沉积物中 6:2 FTOH 的生物降解

在为期 100 d 的实验中, 活菌组 6:2 FTOH 浓度明显下降且检测到多种降解产物, 灭菌组 6:2 FTOH 浓度下降但未检测到降解产物, 溶剂对照中未检测到 6:2 FTOH 及其降解产物. 活菌组中, 测得的初始 6:2 FTOH 浓度为 $(8.95 \pm 1.56) \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 第 3 d 时 6:2 FTOH 浓度已降至 $(3.28 \pm 0.32) \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 之后持续下降至 $(0.13 \pm 0.05) \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. 灭菌组中, 测得的初始 6:2 FTOH 浓度为 $(2.00 \pm 0.35) \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 明显低于活菌组中 6:2 FTOH 的初始浓度, 其原因可能是沉积物经高温灭菌后岩性发生变化, 对 6:2 FTOH 的吸附增强. 实验第 3 d 时灭菌组 6:2 FTOH 浓度降至约 $1.00 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 之后基本没有变化, 也无降解产物被检出. 图 1 显示活菌组中 6:2 FTOH 及其代谢产物占初始 6:2 FTOH 的摩尔分数随时间的变化.

本研究中, 6:2 FTOH 的半衰期小于 3 d, 且至少检测到 9 种降解产物, 与文献中报道的结果基本一致^[14, 21]. 实验初期, 6:2 FTOH 迅速生成 6:2 FTCA 和 6:2 FTUCA, 随后这两种物质的质量逐渐减少, 其它物质相继生成, 包括 5:2 FT Ketone、5:2 sFTOH、5:3 Uacid、PFHxA、PFPeA、PFBA、5:3 Acid 和 4:3 Acid. 根据报道^[11, 14], 在有氧条件下, 6:2 FTOH 被微生物迅速转化成 6:2 FTAL, 继而被转化为 6:2 FTCA, 再脱氟形成不饱和碳碳双键, 转化为 6:2 FTUCA. 6:2 FTUCA 有两条代谢途径: ①首先转化为 5:2 Ketone, 而后转化为 5:2 sFTOH, 最后生成 PFHxA 和 PFPeA; ②首先脱氟生成 5:3 Uacid, 而后加氢形成主要终产物 5:3 Acid 和少量 PFBA. 5:3 Acid 可进一步降解生成 4:3 Acid. 本研究中, 在第 100 d 时, 主要的稳定产物 PFHxA、PFPeA、PFBA、

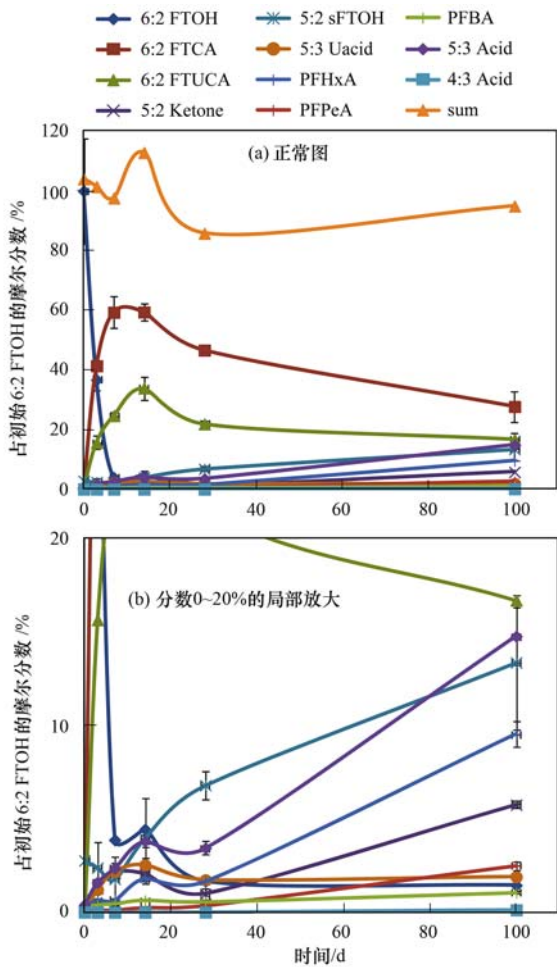


图 1 活菌组中 6:2 FTOH 及其代谢产物占初始 6:2 FTOH 的摩尔质量百分数随时间的变化

Fig. 1 Change in the ratio of abundance (molar mass fraction) of 6:2 FTOH and its degradation products as compared to the initial 6:2 FTOH) over time

5:3 Acid 和 4:3 Acid 量占 6:2 FTOH 初始量的摩尔分数分别为 9.5%、2.5%、1.1%、14.8% 和 0.2%,该结果与 Zhao 等^[11]的研究结果略有不同,其使用的实验沉积物和水样采自美国宾夕法尼亚州 Brandywine 小河,培养体系中包含 20 g 沉积物(沉积物干重 9.3 g,含水 10.7 mL)、25 mL 河水和 5 mL 矿物培养基,加入 10 μL 6:2 FTOH 储备溶液(5 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,溶于 50 % 乙醇),培养液中 6:2 FTOH 理论终浓度为 1.2 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$,经过 100 d 的有氧培养,主要的稳定产物 PFHxA、PFPeA、PFBA、5:3 Acid 和 4:3 Acid 量占 6:2 FTOH 初始量的摩尔分数分别为 8.4%、10.4%、1.5%、22.4% 和 2.7%。本实验中,沉积物中 6:2 FTOH 的初始浓度较高,可能对微生物活性有些抑制,使得下游产物的摩尔分数较低。实验期间,活菌组 6:2 FTOH 及其代谢产物占初始 6:2 FTOH 的摩尔分数之和为 85.7% ~ 104.0%,表明产生的降解产物基本能解释 6:2 FTOH 的减少。

2.2 沉积物中 6:2 FTOH 生物降解对细菌群落结构的影响

实验前期利用 DGGE 方法研究细菌群落结构。取活菌组第 0、3、7、14、28 d 样品(D0、D3、D7、D14、D28)和溶剂对照组第 0 和 28 d 样品(B-D0、B-D28)进行分析,电泳图谱见图 2。用天能凝胶成像系统自带的图像处理软件对各泳道的带条数、光密度和强度等进行分析,计算 Shannon-wiener 指数和 Simpson 指数,结果列于表 2。

在活菌组中,细菌群落结构随时间有明显变化。

表 2 不同处理组沉积物中细菌群落 α 多样性指数随时间的变化(平均值, $n=2$)

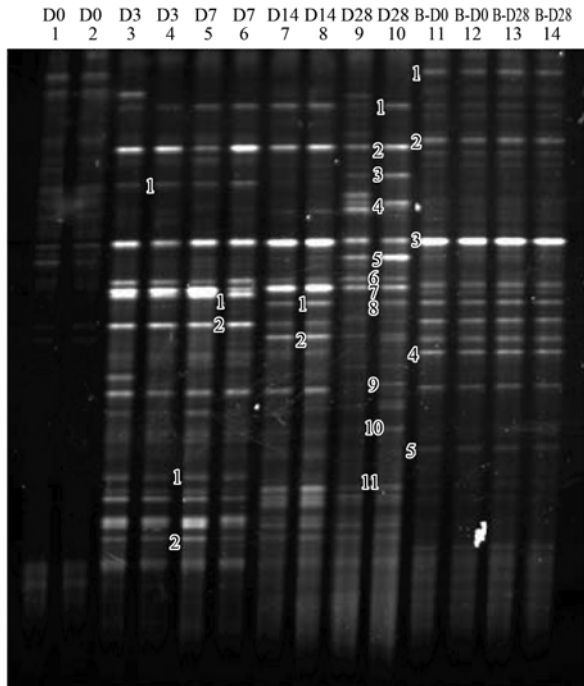
Table 2 Change of α diversity indices of bacterial community in sediments under different treatments

指数	活菌组					溶剂对照组	
	D0	D3	D7	D14	D28	B-D0	B-D28
条带数	17	21	21	26	22	24	24
Shannon-wiener 指数(H')	275	291	291	312	297	303	303
Simpson 指数(D)	0.93	0.94	0.94	0.95	0.94	0.94	0.94

实验起始时(D0),DGGE 条带的亮度较弱,条带数较少,表明细菌群落的生物量较低,丰富度和多样性也较低,其原因可能是 6:2 FTOH 刚加入到培养液时浓度较高,对细菌产生较大的毒性。实验第 3 d 和第 7 d 时(D3 和 D7),6:2 FTOH 的浓度降低,6:2 FTCA、6:2 FTUCA 等产物浓度升高,细菌群落的丰富度和多样性均增大。实验第 14 d 时(D14),5:2 sFTOH、5:3 Uacid、PFHxA 等产物浓度升高,细菌群落的丰富度和多样性增至最大。实验第 28 d 时

(D28),细菌群落的丰富度和多样性略有下降,可能是某些产物的积累对细菌的生长有抑制作用。在溶剂对照组中(B-D0 和 B-D28),细菌群落结构随时间无明显变化,表明微量乙醇的加入对细菌的群落结构影响不大。

对电泳图谱中的优势条带进行测序,结果显示沉积物中最初的优势菌种为弓形菌(*Arcobacter* spp., 11-3)。活菌组加入 6:2 FTOH 后的一周内,弓形菌的丰度下降,其它菌如 *Clostridium sticklandii* spp. (10-



4-1: *Glaciecola nitratreducens* spp. ; 5-1: *Pseudomonas stutzeri* spp. ; 5-2: *Pseudomonas denitrificans* spp. ; 6-1: *Pseudomonas putida* spp. ; 6-2: *Arcobacter nitrofigilis* spp. ; 8-1: *Rahnella aquatilis* HX2 spp. ; 8-2: *Sulfurovum* spp. ; 10-1: *Clostridium sticklandii* spp. ; 10-2: *Simidiua agarivorans* spp. ; 10-3: *Bacteroidetes* spp. ; 10-4: *Polaribacter* spp. ; 10-5: *Sulfurimonas autotrophica* spp. ; 10-6: *Pseudomonas synxantha* spp. ; 10-7: *Pseudomonas aeruginosa* spp. ; 10-8: *Shewanella baltica* spp. ; 10-9: *Lacinutrix* spp. ; 10-10: *Aequorivita sublithicola* spp. ; 11-1: *Bacillus* spp. ; 11-2: *Idiomarina loihiensis* spp. ; 11-3: *Arcobacter* spp. ; 11-4: *Thiomicrospira crunogena* spp.

图2 不同处理组细菌群落结构随时间的变化

Fig. 2 Changes in bacterial community structure over time for different treatments

1)、食藻多贺氏菌(*Simidiua agarivorans* spp. ,10-2)、脱氮居水菌(*Glaciecola nitratreducens* spp. ,4-1)、产黄假单胞菌(*Pseudomonas synxantha* spp. ,10-6)、恶臭假单胞菌(*Pseudomonas putida* spp. ,6-1)、硝化弓形菌(*Arcobacter nitrofigilis* spp. ,6-2)、施氏假单胞菌(*Pseudomonas stutzeri* spp. ,5-1)和脱氮假单胞菌(*Pseudomonas denitrificans* spp. ,5-2)的丰度上升,其中恶臭假单胞菌是优势菌,而原有的芽孢杆菌(*Bacillus* spp. ,11-1)、罗伊赫海源菌(*Idiomarina loihiensis* spp. ,11-2)和硫微螺菌(*Thiomicrospira crunogena* spp. ,11-4)的丰度下降. 至第14 d,水生拉恩菌(*Rahnella aquatilis* HX2 spp. ,8-1)和*Sulfurovum* spp. (8-2)的丰度上升,而脱氮居水菌(4-1)、恶臭假单胞菌(6-1)、硝化弓形菌(6-2)、施氏假单胞菌(5-1)和脱氮假单胞菌(5-2)的丰度下降. 至第28 d时,

拟杆菌(*Bacteroidetes* spp. ,10-3)、极地杆菌(*Polaribacter* spp. ,10-4)、硫自养菌(*Sulfurimonas autotrophica* spp. ,10-5)、*Lacinutrix* spp. (10-9)和栖海面菌(*Aequorivita sublithicola* spp. ,10-10)的丰度上升,而硝化弓形菌(6-2)和绿浓杆菌(*Pseudomonas aeruginosa* spp. ,10-7)的丰度下降.

实验设计中,最后一次采样时间点距离前面几次采样时间点较长,因此未能一起进行 DGGE 分析. 考虑到分析成本,仅对第0 d(D0)和第100 d(D100)活菌组沉积物样品进行基因的高通量测序. D0 样品获得12 294个序列数,D100 样品获得 13328个序列数,测序深度指数均为0.989,表明测序结果代表了样本中微生物的真实情况. D0 样品的 OTU 数为361,D100 样品的 OTU 数为336,根据 OTU 计算的 α 多样性指数列于表3. 与D0 样品相比,D100 样品的群落丰富度减小,但多样性增大. D0 和D100 样品中共有的 OTU 为181 个,D0 特有的 OTU 为180 个,D100 特有的 OTU 为155 个. 实验后,沉积物中细菌的群落结构发生了明显变化,群落中物种数减少,但物种的分布更均匀了.

表3 实验开始和结束时沉积物中细菌群落的 α 多样性指数比较

Table 3 Comparison of α diversity indices for bacterial community in the sediment at the beginning and end of the experiment

指数	活菌组	
	D0	D100
ACE	541	405
Chao1	497	432
H'	4.02	4.57
D	0.96	0.98

从门的分类水平看,D0 和D100 样品中共检出27 个细菌门,其中两个样品中共有的门为18 个,D0 特有的门为5 个,D100 天特有的门为4 个. 与D0 样品相比,D100 样品中有15 个门的丰度上升,12 个门的丰度下降,其中变化幅度较大的门是:绿弯菌门(*Chloroflexi*,上升24.8%)、变形菌门(*Proteobacteria*,下降17.8%)和厚壁菌门(*Firmicutes*,下降15.9%). 图3 显示D0 和D100 样品中门分类水平上的群落结构.

从纲的分类水平看,D0 和D100 样品中共检出54 个细菌纲,其中两个样品共有的纲为36 个,D0 特有的纲为6 个,D100 特有的纲为12 个. 与D0 样品相比,D100 样品中有32 个纲的丰度上升,22 个纲的丰度下降,其中变化幅度较大的纲是:厌氧绳菌纲(*Anaerolineae*,上升19.6%)、 δ -变形菌纲(*δ -Proteobacteria*,上升4.3%),OD1(上升2.3%)、

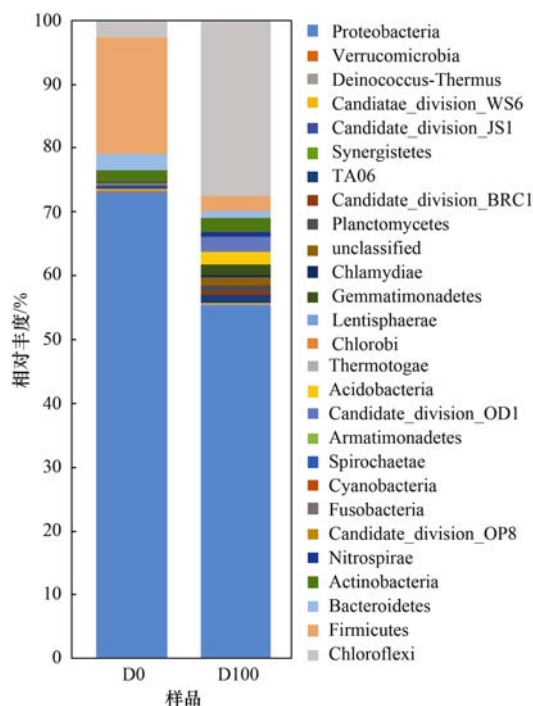


图3 活菌组 D0 和 D100 样品中门分类水平上的细菌群落结构

Fig. 3 Bacterial community structures in D0 and D100 samples of active groups at Phylum level

JG30-KF-CM66 (上升 2.1%)、酸杆菌纲 (Acidobacteria, 上升 2.0%)、 ϵ -变形菌纲 (ϵ -Proteobacteria, 下降 20.0%)、梭菌纲 (Clostridia, 下降 10.1%)、芽孢杆菌纲 (Bacilli, 下降 5.8%)、 γ -变形菌纲 (γ -Proteobacteria, 下降 4.2%)。图 4 显示

D0 和 D100 样品中纲分类水平上的群落结构。

从属的分类水平看, D0 和 D100 样品中共检出 263 个细菌属, 其中两个样品中共有的属为 126 个, D0 特有的属为 79 个, D100 特有的属为 58 个。与 D0 样品相比, D100 样品中有 119 个细菌属的丰度上升, 144 个细菌属的丰度下降, 其中变化较大的属是: Anaerolineaceae_uncultured (上升 19.1%)、硫碱球菌属 (*Thioalkalispira* spp., 上升 13.3%)、Candidate_division_OD1_norank (上升 2.3%)、JG30-KF-CM66_norank (上升 2.1%)、 γ -Proteobacteria_unclassified (上升 2.0%)、弧菌属 (*Vibrio* spp., 下降 14.1%)、硫单胞菌属 (*Sulfurimonas* spp., 下降 13.2%)、芽孢杆菌属 (*Bacillus* spp., 下降 5.1%)、*Sulfurovum* spp. (下降 4.2%)、*Fusibacter* spp. (下降 4.1%)、弓形杆菌属 (*Arcobacter* spp., 下降 2.7%)、希瓦氏菌 (*Shewanella* spp., 下降 2.3%) 和温暖杆菌属 (*Tepidibacter* spp., 下降 2.0%)。图 5 显示 D0 和 D100 样品中属分类水平上的群落结构热图 (仅显示 D0 和 D100 样品中相对丰度变化较大的前 49 个属)。

变形菌门是细菌中最大的一门, 在全球化学循环中起重要作用, 在好氧和厌氧环境中均可生活, 它分为 5 个纲, 即 α -变形菌纲、 β -变形菌纲、 γ -变形菌纲、 δ -变形菌纲和 ϵ -变形菌纲^[22], 这 5 个纲在所研究样品中均被检测到, 其中占优势的是 γ -变形菌

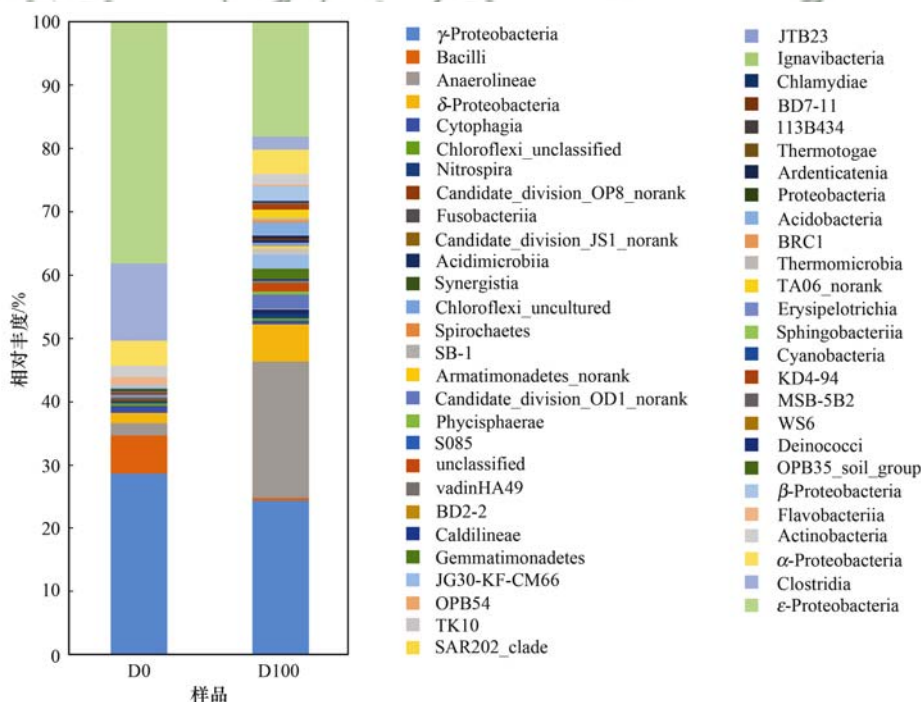


图4 活菌组 D0 和 D100 样品中纲分类水平上的细菌群落结构

Fig. 4 Bacterial community structure in D0 and D100 samples of active groups at the Class level

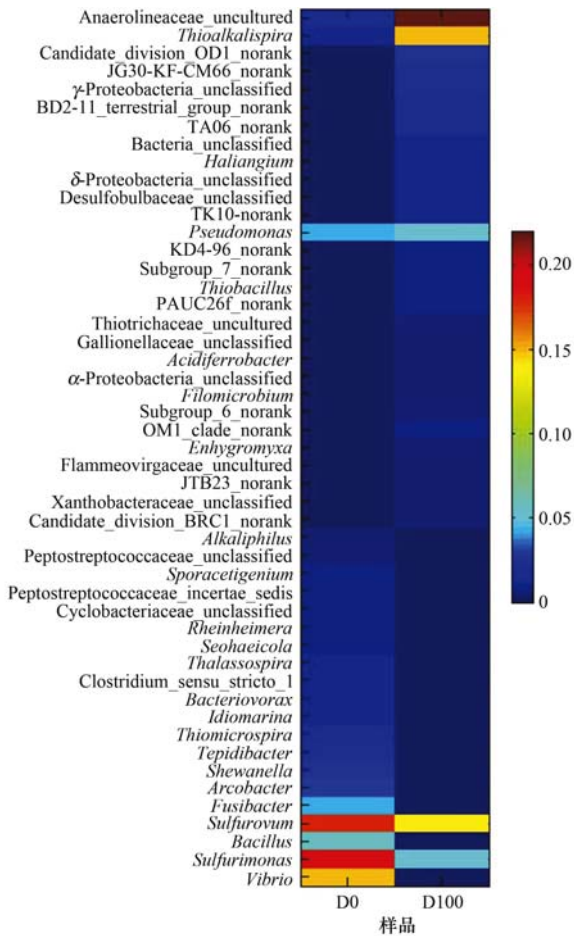


图5 活菌组 D0 和 D100 样品中属分类水平上的细菌群落结构热图

Fig. 5 Heatmap of bacterial community structure in D0 and D100 samples of active groups at the Genera level

纲. 已有研究显示, γ -变形菌纲假单胞菌属中的食油假单胞菌 (*Pseudomonas oleovorans*)、食丁烷假单胞菌 (*Pseudomonas butanovora*) 和荧光假单胞菌 (*Pseudomonas fluorescens*) 可以将 6:2 FTOH 降解为 5:2 sFTOH 和 5:2 FT Ketone^[23, 24]. 假单胞菌属在所研究样品中也被检测到, 且丰度在 D100 中 (5.1%) 大于 D0 (4.1%). 绿弯菌门是 D100 样品中丰度增加最大的一门, 它分为 6 个纲, 即厌氧绳菌纲 (Anaerolineae)、暖绳菌纲 (Caldilineae)、绿弯菌纲 (Chloroflexi)、热微菌纲 (Thermomicrobia)、脱卤菌纲 (Dehalococcoidetes) 和 Ktedobacteria, 本研究样品中检测到前 4 个纲, 其中占优势的是厌氧绳菌纲. 厌氧绳菌科中的一个尚未培养出的细菌属在属分类水平上占优势. 根据已有的报道, 厌氧绳菌科的细菌是厌氧菌, 能够降解长链正烷类物质 (C15 ~ C20)^[25, 26]. 6:2 FTOH 及其中间降解产物为带有氟取代基的长链正烷类物质, 很可能被厌氧绳菌科的细菌利用. 在本次研究中, 培养物为河水和沉积物

的混合物, 尽管培养瓶盖上插有注射器 (连接固相萃取管), 但下部沉积物内仍有可能处于厌氧状态, 从而有利于厌氧绳菌科细菌的生长. 此外, 有研究报道绿弯菌门中的细菌可以氯乙烯类、氯苯类、氯苯酚类、多氯联苯类等卤代有机物为电子受体呼吸^[27, 28]. δ -变形菌纲硫碱球菌属的细菌也可能参与 6:2 FTOH 的生物降解. 硫碱球菌属嗜卤碱, 可在微氧和厌氧条件下将硫代硫酸盐、硫化物和元素硫等氧化为硫酸盐^[29]. 某些细菌 (如弧菌属、硫单胞菌属、芽孢杆菌属、*Sulfurovum*、*Fusibacter* 等) 经培养后丰度下降, 表明其可能受到 6:2 FTOH 及其降解产物的抑制.

Sun 等^[18] 研究了受全氟烷基羧酸污染的沉积物中细菌的群落结构, 发现高浓度的全氟辛酸 (PFOA, 约 450 ng·g⁻¹, 以干重计, 下同) 可导致沉积物中 ϵ -变形菌纲的丰度 (23.4%) 远高于同一河流其它沉积物 (PFOA < 250 ng·g⁻¹) 中丰度 (0.6% ~ 1.7%), 其中硫单胞菌属的丰度 (21.1%) 远高于同一河流其它沉积物中丰度 (0.3% ~ 1.0%). 此外, 高浓度 PFOA 沉积物中 β -变形菌纲硫杆菌属的丰度 (22.9%) 也远高于同一河流其它沉积物中丰度 (1.5% ~ 6.8%). 本研究中, 尽管沉积物经过 100 d 的实验后 ϵ -变形菌纲的丰度下降 (由 38.2% 变为 18.1%)、硫单胞菌属的丰度下降 (由 18.2% 变为 5.0%), 但它们在各自水平上仍为优势菌; 沉积物经过 100 d 的实验后 β -变形菌纲硫杆菌属的丰度上升 (由 0.2% 变为 0.9%). 由于沉积物来源和研究对象不同, 所观察到的细菌群落结构变化的规律不完全相同, 但有相似之处.

3 结论

(1) 6:2 FTOH 在沉积物微生物的作用下可发生降解, 生成 6:2 FTCA、6:2 FTUCA 等中间产物和 5:2 FT Ketone、5:2 sFTOH、PFHxA、PFPeA、PFBA、5:3 Acid 等稳定产物.

(2) 6:2 FTOH 生物降解对沉积物细菌群落结构产生明显影响, 引起群落丰富度和多样性的变化. 在 6:2 FTOH 降解的不同阶段, 优势菌群略有不同. 实验期间, 6:2 FTOH 生物降解引起丰度上升较大的有 Anaerolineaceae_uncultured (+19.1%) 和硫碱球菌属 (+13.3%), 引起丰度下降较大的有弧菌属 (-14.1%)、硫单胞菌属 (-13.2%)、芽孢杆菌属 (-5.1%)、*Sulfurovum* spp. (-4.2%) 和 *Fusibacter* spp. (-4.1%).

参考文献:

- [1] Ritter S K. The shrinking case for fluorochemicals[J]. Chemical & Engineering News, 2015, **93**(28): 27-29.
- [2] Buck R C, Franklin J, Berger U, *et al.* Perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances in the environment: terminology, classification, and origins [J]. Integrated Environmental Assessment and Management, 2011, **7**(4): 513-541.
- [3] Yao Y M, Chang S, Sun H W, *et al.* Neutral and ionic per- and polyfluoroalkyl substances (PFASs) in atmospheric and dry deposition samples over a source region (Tianjin, China) [J]. Environmental Pollution, 2016, **212**: 449-456.
- [4] Yuan G X, Peng H, Huang C, *et al.* Ubiquitous occurrence of fluorotelomer alcohols in eco-friendly paper-made food-contact materials and their implication for human exposure [J]. Environmental Science & Technology, 2016, **50**(2): 942-950.
- [5] Liu J X, Avendaño S M. Microbial degradation of polyfluoroalkyl chemicals in the environment: a review [J]. Environment International, 2013, **61**: 98-114.
- [6] Ellis D A, Martin J W, De Silva A O, *et al.* Degradation of fluorotelomer alcohols: a likely atmospheric source of perfluorinated carboxylic acids [J]. Environmental Science & Technology, 2004, **38**(12): 3316-3321.
- [7] Merino N, Qu Y, Deeb R A, *et al.* Degradation and removal methods for perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances in water [J]. Environmental Engineering Science, 2016, **33**(9): 615-649.
- [8] Tian Z X, Kim S K, Shoeib M, *et al.* Human exposure to per- and polyfluoroalkyl substances (PFASs) via house dust in Korea: implication to exposure pathway [J]. Science of the Total Environment, 2016, **553**: 266-275.
- [9] Serex T, Anand S, Munley S, *et al.* Toxicological evaluation of 6:2 fluorotelomer alcohol [J]. Toxicology, 2014, **319**: 1-9.
- [10] Russell M H, Himmelstein M W, Buck R C. Inhalation and oral toxicokinetics of 6:2 FTOH and its metabolites in mammals [J]. Chemosphere, 2015, **120**: 328-335.
- [11] Zhao L J, Folsom P W, Wolstenholme B W, *et al.* 6:2 Fluorotelomer alcohol biotransformation in an aerobic river sediment system [J]. Chemosphere, 2013, **90**(2): 203-209.
- [12] Zhang S, Szostek B, McCausland P K, *et al.* 6:2 and 8:2 Fluorotelomer alcohol anaerobic biotransformation in digester sludge from a WWTP under methanogenic conditions [J]. Environmental Science & Technology, 2013, **47**(9): 4227-4235.
- [13] Tseng N, Wang N, Szostek B, *et al.* Biotransformation of 6:2 fluorotelomer alcohol (6:2 FTOH) by a wood-rotting fungus [J]. Environmental Science & Technology, 2014, **48**(7): 4012-4020.
- [14] Liu J X, Wang N, Szostek B, *et al.* 6-2 Fluorotelomer alcohol aerobic biodegradation in soil and mixed bacterial culture [J]. Chemosphere, 2010, **78**(4): 437-444.
- [15] Liu J X, Wang N, Buck R C, *et al.* Aerobic biodegradation of [^{14}C]6:2 fluorotelomer alcohol in a flow-through soil incubation system [J]. Chemosphere, 2010, **80**(7): 716-723.
- [16] Dreyer A, Ebinghaus R. Polyfluorinated compounds in ambient air from ship- and land-based measurements in northern Germany [J]. Atmospheric Environment, 2009, **43**(8): 1527-1535.
- [17] Wang Z Y, Cousins L T, Scheringer M, *et al.* Global emission inventories for C_4 - C_{14} perfluoroalkyl carboxylic acid (PFCA) homologues from 1951 to 2030, Part I: production and emissions from quantifiable sources [J]. Environment International, 2014, **70**: 62-75.
- [18] Sun Y J, Wang T Y, Peng X W, *et al.* Bacterial community compositions in sediment polluted by perfluoroalkyl acids (PFASs) using Illumina high-throughput sequencing [J]. Environmental Science and Pollution Research, 2016, **23**(11): 10556-10565.
- [19] 夏围围, 贾仲君. 高通量测序和 DGGE 分析土壤微生物群落的技术评价 [J]. 微生物学报, 2014, **54**(12): 1489-1499.
- Xia W W, Jia Z J. Comparative analysis of soil microbial communities by pyrosequencing and DGGE [J]. Acta Microbiologica Sinica, 2014, **54**(12): 1489-1499.
- [20] 许晴, 张放, 许中旗, 等. Simpson 指数和 Shannon-Wiener 指数若干特征的分析及“稀释效应” [J]. 草业科学, 2011, **28**(4): 527-531.
- Xu Q, Zhang F, Xu Z Q, *et al.* Some characteristics of Simpson index and the Shannon-Wiener index and their dilution effect [J]. Pratacultural Science, 2011, **28**(4): 527-531.
- [21] Sinclair J L, Ghiorse W C. Distribution of aerobic bacteria, protozoa, algae, and fungi in deep subsurface sediments [J]. Geomicrobiology Journal, 1989, **7**(1-2): 15-31.
- [22] Mukhopadhyay I, Hansen R, El-Omar E M, *et al.* IBD-what role do Proteobacteria play? [J]. Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology, 2012, **9**(4): 219-230.
- [23] Kim M H, Wang N, McDonald T, *et al.* Biodefluorination and biotransformation of fluorotelomer alcohols by two alkane-degrading *Pseudomonas* strains [J]. Biotechnology and Bioengineering, 2012, **109**(12): 3041-3048.
- [24] Kim M H, Wang N, Chu K H. 6:2 Fluorotelomer alcohol (6:2 FTOH) biodegradation by multiple microbial species under different physiological conditions [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2014, **98**(4): 1831-1840.
- [25] Liang B, Wang L Y, Mbadinga S M, *et al.* Anaerolineaceae and Methanosaeta turned to be the dominant microorganisms in alkanes-dependent methanogenic culture after long-term of incubation [J]. AMB Express, 2015, **5**: 37.
- [26] Liang B, Wang L Y, Zhou Z C, *et al.* High frequency of *Thermodesulfobivrio* spp. and Anaerolineaceae in association with *Methanoculleus* spp. in a long-term incubation of n-alkanes-degrading methanogenic enrichment culture [J]. Frontiers in Microbiology, 2016, **7**: 1431.
- [27] Krzmarzick M J, Crary B B, Harding J J, *et al.* Natural niche for organohalide-respiring *Chloroflexi* [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2012, **78**(2): 393-401.
- [28] Löffler F E, Yan J, Ritalahti K M, *et al.* *Dehalococcoides mccartyi* gen. nov., sp. nov., obligately organohalide-respiring anaerobic bacteria relevant to halogen cycling and bioremediation, belong to a novel bacterial class, *Dehalococcoidia* classis nov., order *Dehalococcoidales* ord. nov. and family *Dehalococcoidaceae* fam. nov., within the phylum *Chloroflexi* [J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2013, **63**(2): 625-635.
- [29] Sorokin D Y, Tourova T P, Kolganova T V, *et al.* *Thioalkalispira microaerophila* gen. nov., sp. nov., a novel lithoautotrophic, sulfur-oxidizing bacterium from a soda lake [J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2002, **52**(6): 2175-2182.

CONTENTS

Development of a Non-Road Mobile Source Emissions Inventory for Tianjin	ZHANG Yi, Andre Michel, LI Dong, <i>et al.</i> (4447)
Spatial Simulation of Black Carbon Concentrations Based on a Land Use Regression Model and Mobile Monitoring over Shanghai, China	PENG Xia, SHE Qian-nan, LONG Ling-bo, <i>et al.</i> (4454)
Characteristics and Sources of Elements of a PM ₁₀ Measurements from a Typical Industrial City in Eastern Hubei Province	ZHAN Chang-lin, ZHANG Jia-quan, ZHENG Jing-ru, <i>et al.</i> (4463)
Characteristics and Source Identification of Carbonaceous Aerosols in PM _{2.5} Measurements During Summer and Fall in Changzhou	YE Zhao-lian, LIU Jia-shu, LI Qing, <i>et al.</i> (4469)
Characteristics and Sources of Water Soluble Inorganic Ions in Fine Particulate Matter During Winter in Xuzhou	FAN Mei-yi, CAO Fang, ZHANG Yuan-yuan, <i>et al.</i> (4478)
Physiochemical Properties and Sources of Atmospheric Particulate Matter During Pollution Monitoring in Nanning, China	LIU Hui-lin, CHEN Zhi-ming, LI Hong-jiao, <i>et al.</i> (4486)
Concentration and Size Distribution Characteristics of Culturable Bioaerosols at Various Air Quality Levels During Fall and Winter in Xi'an, China	LI Wan-xin, LU Rui, XIE Zheng-sheng, <i>et al.</i> (4494)
Distribution Characteristics of Chromophoric Dissolved Organic Matter and Nutrients from the Yellow Sea and Bohai Sea in Autumn	TANG Yong, SUN Yu-yan, SHI Xiao-yong, <i>et al.</i> (4501)
Characteristics and Risks of Heavy Metals Content in Surface Sediment of Tidal Flat Areas in Eastern China	ZHANG Ming, BAO Zhen-yu, CHEN Guo-guang, <i>et al.</i> (4513)
Heavy Metals in Sediments from the Haizhou Bay Marine Ranching Based on Geochemical Characteristics	LI Da-peng, ZHANG Shuo, ZHANG Zhong-fa, <i>et al.</i> (4525)
Major Ionic Features and Their Possible Controls in the Water of the Niyang River Basin	ZHANG Tao, CAI Wu-tian, LI Ying-zhi, <i>et al.</i> (4537)
Vertical Distribution Characteristics of Fe and Mn in Subtropical Reservoirs During Summer	YANG Si-yuan, ZHAO Jian, YU Hua-zhang, <i>et al.</i> (4546)
Occurrence, Distribution, and Ecological Risk of Antibiotics in Surface Water in the Liaohe River Basin, China	ZHANG Xiao-jiao, BAI Yang-wei, ZHANG Yuan, <i>et al.</i> (4553)
Effects of Optimized Fish Farming on the Sediment Nutrients of Eastern Lake Taihu	HE Xiao-wei, CHU Yu, ZENG Jin, <i>et al.</i> (4562)
Responses of the Benthic Diatom Community to Nutrients and the Identification of Nutrient Thresholds in Three Aquatic Ecoregions of the Huntai River, Northeast China	ZHANG Li, LIN Jia-ning, ZHANG Yuan, <i>et al.</i> (4570)
Impacts of Environmental Conditions on the Soaking Release of Nitrogen and Phosphorus from <i>Cynodon dactylon</i> (Linn.) Pers. in the Water-level Fluctuation Zone of the Three Gorges Reservoir Region	XIAO Li-wei, ZHU Bo (4580)
Effects of Soil Microbial Diversity on the Phosphate Fraction in the Rhizosphere of <i>Phragmites communis</i> in the Yeyahu Wetland in Beijing, China	TENG Ze-dong, LI Min, ZHU Jing, <i>et al.</i> (4589)
Nitrification and Denitrification Potential of Benthic Sediments in a Suburban Stream under Intense Human Disturbance Scenarios	LI Ru-zhong, ZHENG Xia, GAO Su-di, <i>et al.</i> (4598)
Distribution of External Phosphorus in the Sedimentary Phosphorus forms Under Different Disturbances	CAI Shun-zhi, LI Da-peng, TANG Xin-yu, <i>et al.</i> (4607)
Effect of <i>Elodea nuttallii</i> -Immobilized Nitrogen Cycling Bacteria on the Mechanism of Nitrogen Removal in Polluted River Water	WANG Hao, LI Zheng-kui, ZHANG Yi-pin, <i>et al.</i> (4617)
Zero-Valent Iron (ZVI) Activation of Persulfate (PS) for Oxidation of Arsenic (V) Form Aqueous Solutions	ZHOU Zi-mai, DENG Wen-na, YANG Yi-lin, <i>et al.</i> (4623)
Removal of Antimony from Water by Nano Zero-Valent Iron/Activated Carbon Composites	JIANG Ting, BAO Yue, LI Wei, <i>et al.</i> (4632)
Effect of the Flow Patterns of Main-stream Reactors on the Efficiency of Nitrification Enhancement with Bioaugmentation	YU Li-fang, DU Qian-qian, ZHANG Ru, <i>et al.</i> (4641)
Effect of Temperature on Nitrogen Removal Performance and the Extracellular Polymeric Substance (EPS) in a Sequencing Batch Reactor (SBR)	SUN Hong-wei, CHEN Cui-zhong, WU Chang-feng, <i>et al.</i> (4648)
Effects of Temperature on Shortcut Nitrification and Nitrification Activity of Nitrification in an Intermittent Aeration Sequencing Batch Reactor	LIU Hong, PENG Yong-zhen, LU Jiong-yuan, <i>et al.</i> (4656)
Nitrite Type Denitrifying Phosphorus Removal Capacity of Cycle Activated Sludge Technology Processes Under Different Inducing Patterns	MA Juan, WANG Jin, YU Xiao-jun, <i>et al.</i> (4664)
Laboratory-scale CANON Processes Applied to Wastewater Treatment Plants	LI Dong, ZHAO Shi-xun, WANG Jun-an, <i>et al.</i> (4673)
Effects of Magnetic Activated Carbon with Different Particle Sizes on Sludge Granulation in a SBR System	XIN Xin, GUAN Lei, GUO Jun-yuan, <i>et al.</i> (4679)
Storage and Reactivation of Anaerobic Ammonium Oxidation (ANAMMOX) Sludge at Room Temperature	HUANG Jia-lu, WANG Xiao-long, GAO Da-wen (4687)
Microbial Population Dynamics During Sludge Granulation in a Simultaneous Nitrogen and Phosphorus Removal System	GAO Jing-feng, WANG Shi-jie, FAN Xiao-yan, <i>et al.</i> (4696)
Anaerobic Reduction Process Characteristics and Microbial Community Analysis for Sulfate and Fe(II) EDTA-NO ₃ /Fe(III) EDTA	ZHANG Yu, WAN Fang, ZHOU Ji-ti (4706)
Treatment Efficiency and Microbial Community Diversity in a Magnetic Field Enhanced Sequencing Batch Reactor (SBR)	GENG Shu-ying, FU Wei-zhang, WANG Jing, <i>et al.</i> (4715)
Molecular Research of Acid-Generating Microbial Communities in Abandoned Ores in the Waste Dump of an Iron Mine in Anhui Province	DU Ze-rui, HAO Chun-bo, PEI Li-xin, <i>et al.</i> (4725)
Microbial Community Diversity and Differences in Cellar water of Typical Rainwater Harvesting Area	YANG Hao, ZHANG Guo-zhen, YANG Xiao-ni, <i>et al.</i> (4733)
Impact of the Biodegradation of 6:2 Fluorotelomer Alcohol on the Bacterial Community Structure of Surface Sediment	WANG Dan, HOU Zhen, ZHANG Qi, <i>et al.</i> (4747)
Degradation Process of Exogenous Naphthenic Acids and Their Effects on Microbial Community Structure in Soil	LIU Yan-qiu, ZHAO Yan-ran, LIU Meng-jiao, <i>et al.</i> (4756)
Identification and Nitrogen Removal Characteristics of the Heterotrophic Nitrification and Aerobic Denitrification Bacterial Strain DK1	MU Dong-yang, JIN Peng-fei, PENG Yong-zhen, <i>et al.</i> (4763)
Mercury Release Flux and Its Influencing Factors Under Four Typical Vegetation Covers at Jinyun Mountain, Chongqing	YANG Guang, SUN Tao, AN Si-wei, <i>et al.</i> (4774)
Short-term Effects of Nitrogen Deposition on CO ₂ and CH ₄ Fluxes from Wetlands in the Minjiang River Estuary	LI Dong-dong, TONG Chuan, TAN Li-shan, <i>et al.</i> (4782)
Effects of Plastic Film Mulching on Methane and Nitrous Oxide Emissions from a Rice-Rapeseed Crop Rotation	SHI Jiang-lai, HAO Qing-ju, FENG Di, <i>et al.</i> (4790)
Assessment of Pollution, Sources, and Risks of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Soil from Urban Parks in Xi'an City, China	ZHOU Yan, LU Xin-wei (4800)
Spatial Distribution of Soil Particles and Heavy Metals Under Different Psammophilic Shrubs in the Ulan Buh Desert	DAI Yu-jie, GUO Jian-ying, DONG Zhi, <i>et al.</i> (4809)
Effects of UV-B Radiation on Soil Carbon and Nitrogen Transformation under Different Soil Moisture Contents from Two Paddy Fields	JIANG Meng-die, WANG Qiu-min, XU Peng, <i>et al.</i> (4819)
Various effects on the Abundance and Composition of Arbuscular Mycorrhizal Fungal Communities in Soils in Karst Shrub Ecosystems	LIANG Yue-ming, SU Yi-rong, HE Xun-yang, <i>et al.</i> (4828)
Remediation of Cd/Ni Contaminated Soil by Biochar and Oxalic Acid Activated Phosphate Rock	DUAN Ran, HU Hong-qing, FU Qing-ling, <i>et al.</i> (4836)
Effects of Repeated Freezing and Thawing and High Temperature Aging on the Solidification and Stabilization of Arsenic Contaminated Soil	YANG Jie, QIAN Zhao-qiu, WANG Jing (4844)
Evaluation of the Combined Removal of Heavy Metals by Saponin and Citric Acid from Municipal Sewage Sludges and Metal Stability Features	YE Tao, HUANG Li, ZHANG Ke-qiang, <i>et al.</i> (4850)
Interactions between Goethite and Humic Acid and the Stability of Goethite-Humic Acid Complex	WANG Rui, ZHU Chao-ju, XIANG Wen-jun, <i>et al.</i> (4860)
Contents and Health Risks of Organic Phosphorus Esters in Plastic Runway Products	YIN Hong-ling, LIU Qin, LIAO Lin-qun, <i>et al.</i> (4868)
Effects on Physico-chemical Parameters of Glycoside Hydrolase Family 6 Genes During Composting of Agricultural Waste	CHEN Yao-ning, GOU Yu, LI Yuan-ping, <i>et al.</i> (4874)
Effect of the Food to Mass Ratio and Hydraulic Retention Time on Hydrogen Production from Fruit and Vegetable Waste	LI Biao, KONG Xiao-ying, LI Lian-hua, <i>et al.</i> (4882)
Comment on Sensitivity Analysis Methods for Environmental Models	CHEN Wei-ping, TU Hong-zhi, PENG Chi, <i>et al.</i> (4889)