文章编号:1000-8608(2022)03-0238-08

假交替单胞菌 GCY 生物膜降解双酚 A 研究

吴 硕,张兴文,吕菁萍,王 竞*

(大连理工大学环境学院,辽宁大连 116024)

摘要: 双酚 A(bisphenol A, BPA)是一种海洋环境中普遍检出的内分泌干扰物,但生物膜作 为海洋细菌最常见的生存方式,其对海洋环境中 BPA 归趋的影响尚不清晰.考察了典型海洋 细菌——假交替单胞菌 GCY 的生物膜对 BPA 的降解特性及降解途径.结果表明,生物膜及 游离菌对 BPA 降解均符合准一级反应动力学.生物膜体系中 BPA 的降解速率常数为 0.042 5 h⁻¹,大于游离菌体系的 0.037 4 h⁻¹.并证实两体系对 BPA 的降解均发生在胞外,以 活性氧(reactive oxygen species, ROS) 介导的降解反应为主.降解过程中生物膜体系的 H_2O_2 , O_2^- 、•OH 产量高于同时刻游离菌体系的,这归因于生物膜体系 L-氨基酸氧化酶活 性及铁载体产量的提高.在生物膜体系中,BPA 的主要降解途径为异丙基断裂.

关键词:假交替单胞菌;生物膜;双酚A;活性氧;海洋环境 中图分类号:X131.2;X53 文献标识码:A doi:10.7511/dllgxb202203003

0 引 言

以药品及个人护理品、溴代阻燃剂和内分泌 干扰物等为代表的微量有机污染物(organic micropollutants,OMPs),虽然在环境中处于低浓 度水平,但因具有三致毒性、生长毒性以及生殖毒 性等^[1-2],极易对生态环境和人类健康造成危 胁^[3-5],从而引起了广泛关注.其中,双酚A (bisphenolA,BPA)作为一种典型的OMPs,被 大规模应用于工业生产中.BPA可通过污水溢 流、人类活动及地表径流等途径进入海洋环 境^[6-7].现阶段 BPA已在全球海洋环境中被广泛 检测到,浓度范围在10⁻⁹~10⁻⁶g·L^{-1[7-9]}.毒理 学研究显示,BPA与雌性激素结构类似,是一类 典型的内分泌干扰物,可对人类的生殖及免疫系 统产生毒害作用^[10].

生物降解则是自然环境中消除 BPA 的重要 途径.已有研究指出,陆域真菌、陆域细菌等微生 物可以实现 BPA 的生物降解^[11-12].而海洋环境中 普遍存在的各类微生物,也展现出对 BPA 的生物 降解能力:Ying 等^[13]利用澳大利亚南部海岸海 洋底泥微生物菌群,实现 BPA 的生物降解;Ben Ouada 等^[14]研究发现,皮囊藻对 BPA 存在良好 的去除效果,可用作 BPA 的生物修复剂;Sakai 等^[15]则使用海水中分离出的纯菌 Sphingomonas sp.菌株 BP-7 降解 BPA.在实际海洋环境中,大 部分的海洋微生物都倾向于附着在海底礁石、动 植物残骸等载体表面,以生物膜形式生长.生物膜 则为微生物提供了稳定良好的生存环境,并可以 影响微生物的代谢活性^[16-17].因此,相较于游离细 菌,以生物膜形式存在的海洋细菌可能显现出不 同的污染物降解特性,进而影响物质归趋.但目前 海洋细菌生物膜对海洋环境中 BPA 归趋的影响 尚未见报道.

因此,本文选取海洋源假交替单胞菌 GCY (*Pseudoalteromonas* sp.,GCY)进行研究,该菌属广泛分布于全球海洋环境中,且菌株 GCY 在游离状态下可以产生活性氧(reactive oxygen species,ROS).对该菌株进行挂膜培养,以探究菌株 GCY 生物膜对 BPA 的降解特性和降解途径.

收稿日期: 2021-05-09; 修回日期: 2022-02-10.

基金项目:国家自然科学基金资助项目(21876018).

作者简介:吴 硕(1994-),男,硕士生,E-mail:403361019@qq.com;王 竞*(1967-),男,教授,博士生导师,E-mail:jwang@dlut.edu. cn.

1 材料与方法

1.1 实验材料

(1)菌株

实验所用的菌株 GCY 从中国大连市黑石礁 海域(北纬 38°52′,东经 121°33′)沉积物中分离并 富集培养得到,在整个实验过程中用到的均是纯 培养菌体,该菌株已被证实可以产生胞外 O₂⁻⁻ 以 及 H₂O₂^[18].

(2)培养基

菌株活化培养基为 2216E 培养基,配方为酵 母浸粉 1 g•L⁻¹、蛋白胨 5 g•L⁻¹.降解实验所 用的培养基均为酵母浸粉培养基,配方为酵母浸 粉 6 g•L⁻¹.实验所用培养基均以人工海水为溶 剂,并调节培养基的初始 pH 至 8.0.

(3)载体材料

本实验采用泡沫炭作为生物膜培养的载体材 料.

1.2 实验方法

1.2.1 生物膜培养 将菌体接种到 100 mL 无菌 2216E 培养基内,在 25 ℃ 恒温摇床中以 150 r•min⁻¹的转速连续培养 12 h,至菌体达到 对数生长期再离心收菌,用无菌的人工海水冲洗菌饼备用.

生物膜的培养方法参照 Li 等的方法,并在此 基础上做出改进^[19-21].将泡沫炭裁剪成 1 cm× 1 cm×2 cm 的小立方体,用超纯水清洗数次烘干 后灭菌.使用支架固定,放置于 100 mL 酵母浸粉 培养基中,将活化后的菌体接种到泡沫炭上.在恒 温摇床内培养 96 h,得到生物膜.

1.2.2 BPA 降解实验 为探究附着态微生物与 游离态微生物对不同污染物降解能力的差异,设 置了如下实验对照组,每组设置3个平行:

(1)生物膜体系

按照前文所述方法培养生物膜后,取出生物 膜并用无菌 PBS 溶液轻轻冲洗后,接种到添加了 10 mg•L⁻¹ BPA 的 100 mL 酵母浸粉培养基中.

(2)游离菌体系

游离态细菌活化后,取与生物膜相同的初始 生物量接种到添加了 10 mg • L⁻¹ BPA 的 100 mL酵母浸粉培养基中. 整个降解实验在 25 ℃恒温摇床(150 r・ min⁻¹)中进行,分别在细菌生长的对数期、稳定 期取样,离心(10 000 r・min⁻¹,5 min)后取上清 液过 0.22 μm 滤膜,分别测定两个体系内的污染 物浓度.

1.2.3 降解定位与活性物种鉴定 为确定 BPA 降解发生的位置,进行了降解定位实验:参照顾 晨^[22]的方法,获取胞内、胞周及胞外提取液,并向 提取液中分别加入 10 mg • L⁻¹的 BPA. 避光反 应 5 h 后测定 BPA 浓度.

为探究 BPA 降解过程中起主要作用的活性物 种,进行了淬灭实验:向胞外液中加入 20 U•mL⁻¹ 的蛋白酶 K 来灭活体系中的酶,并向胞外液中分 别添加 50 kU•L⁻¹ SOD、50 μ g•L⁻¹ CAT 以及 10 mmol•L⁻¹硫脲,对 O₂⁻⁻、H₂O₂、•OH 进行淬 灭. 向淬灭后的各体系内分别添加 10 mg•L⁻¹的 BPA,避光反应 5 h 后测定体系内 BPA 浓度.

1.2.4 ROS 及相关 酶测定 在降解实验的同时,于对数期和稳定期进行取样测定胞外液中 ROS 生成情况及相关酶活性,测定方法如下:

(1)超氧阴离子自由基

 O_2^{--} 的测定采用 NBT 还原法^[23]. 向待测样 品胞外液中加入 1 mmol·L⁻¹的 NADH 和 50 μ mol·L⁻¹的 NBT,采用紫外可见分光光度计 在 560 nm 处连续检测 300 s,以扫描曲线斜率来 表示超氧自由基生成速率.

(2)过氧化氢的测定

 H_2O_2 的 测 定 使 用 DPD (N, N-diethyl-p-phenylenediamine)/POD(horseradish peroxidase) &

(3)羟基自由基

•OH 采用苯甲酸液相色谱法进行测定^[25].

(4)L-氨基酸氧化酶(L-amino acid oxidase, LAAO)活性

向胞外液中添加等体积 5 g • L⁻¹的亮氨酸 溶液,反应 30 min 后测定体系中 H₂O₂ 的增量.

(5)铁载体

铁载体采用 CAS 法进行测定. 向胞外液样品 中加入等体积的 CAS 溶液, 混匀放置 30 min, 以 酵母浸粉培养基作为空白对照, 在 630 nm 下测 定吸光度. 1.2.5 BPA 及降解产物测定 BPA 使用高效液 相色谱法进行测定^[26],采用 Elite C18 色谱柱 (5 μ m,4.6 mm×250 mm),流动相 A 为甲醇,流 动相 B 为超纯水,V(A):V(B)=80:20,流动相 流速为 0.8 mL•min⁻¹,柱温为 40 ℃,紫外检测 器在 273 nm 波长下进行测定.单个样品检测时 间为 10 min.并使用 Origin 软件进行降解动力学 拟合,由于生物降解为单反应物反应体系,故通常 选择一级反应动力学模型进行动力学拟合,拟合 公式如下:

$$\ln c/c_0 = -kt$$

式中:c为污染物在t时刻的浓度,c。为污染物的 初始浓度,k为一级反应动力学常数,t为时间.

降解产物采用液相色谱-串联四极杆质谱联 用仪(LC-MS)进行测定,生物膜体系在降解反应 36 h及72 h后,离心取上清液过0.22 μ m 滤膜. 色谱柱使用 Xterra MS C18 反相柱(5 μ m, 2.1 mm×100 mm, Waters, Milford, MA). 流动 相 A 为乙腈,流动相 B 为 0.01%的氨水, V(A): V(B)=60:40,流速为0.25 mL·min⁻¹.检测模 式为负模式.质谱离子源为电喷雾离子化源 (ESI),以 SCAN模式扫描, m/z扫描范围为80~ 400. 鞘气为 N₂,流速为 8.0 L·min⁻¹.

2 结果与讨论

2.1 生物膜降解 BPA 动力学特性

实验结果表明,降解过程主要发生在 12~ 48 h(图 1(a)).游离菌体系在接入降解培养基的 前 12 h内,并未发生明显的降解反应,为降解停 滞期;而生物膜体系却在 12 h降解了 13%的 BPA, 出现了降解提前的现象.并且在 12~48 h,生物膜 体系对 BPA 的降解效果始终优于游离菌体系.

对 BPA 生物降解过程进行动力学拟合,发现 两体系中的降解过程均符合准一级反应动力学 (图 1(b)). 生物膜体系与游离菌体系的降解速率 常数分别为 0.042 5 h⁻¹和 0.037 4 h⁻¹,降解反 应的半衰期 $t_{1/2}$ 分别为 16.3 h 和 18.5 h.这表明 生物膜体系相较于游离菌体系,可以更快速地降 解 BPA.

2.2 BPA 生物降解定位与活性物种鉴定

首先通过降解定位实验,确定生物膜体系与



图 1 GCY 生物膜与游离菌对 BPA 的降解 Fig. 1 Degradation of BPA by GCY biofilms and free cells

游离菌体系的 BPA 生物降解位置.两体系的胞内 和胞周提取液均无法降解 BPA,但胞外液则可以 降解 BPA(图 2).生物膜体系胞外液可降解 73% 的 BPA,游离菌体系的胞外液可降解 68%的 BPA.由此推断,BPA 的降解主要发生在胞外.





为探究在生物膜体系与游离菌体系中参与 BPA 生物降解的胞外活性物种,进行了活性物种 淬灭实验(图 3).使用蛋白酶 K 对胞外液中的酶 进行灭活处理后,生物 膜体系的降解被抑制 16%,而游离菌体系的降解则被抑制了 21%.两 体系仍存在明显的降解现象,表明 BPA 的降解由



图 3 活性物质淬灭实验的相对降解率 R Fig. 3 Relative degradation efficiency R of quenching

experiment for reactive substance

非酶降解过程主导. 而加入 SOD、CAT 以及硫脲 等淬灭剂分别对 O₂⁻⁻、H₂O₂ 和 • OH 进行淬灭 后,均检测到降解抑制的现象,生物膜体系与游离 菌体系的 BPA 降解分别被 SOD 抑制了 12%和 8%,被 CAT 抑制了 41%和 34%,被硫脲抑制了 62%和 53%.结果表明,在生物膜体系与游离菌 体系中均有 ROS 参与 BPA 的降解. 且与游离菌 体系相比,生物膜的存在使 ROS 介导的降解反应 占比增加.

2.3 降解过程中 ROS 及相关酶

研究表明,部分微生物可以利用自身产生的 胞外 ROS 降解污染物^[27-28].同时基于活性物种鉴 定实验结果,在降解反应过程中分别对 H_2O_2 、 O_2^{-} 与•OH 进行检测以明晰其在生物膜降解 BPA 过程中的作用.

生物膜体系的 H_2O_2 产量始终高于游离菌体 系,这一产量提升的现象在 24 h 及 48 h 尤为显 著,分别提升了 115%和 45%(图 4(a)).这也可 以解释 24 h 时间点的淬灭实验中, H_2O_2 主导的 降解反应占比提升的现象.菌株 GCY 生成胞外 H_2O_2 的过程由 LAAO 参与^[22],因此本实验考察 了两体系的 LAAO 酶活性(图 4(b)).菌株 GCY 在生长的各个阶段均检测到 LAAO 酶活性,且生 物膜体系均高于游离菌体系.值得注意的是,在 24 h 生物膜体系内检测到的 LAAO 酶活性为游 离菌体系的 1.85 倍,这也解释了 24 h 两体系中 H_2O_2 产量差异巨大的原因.

生物膜体系与游离菌体系的菌株 GCY 在对 数期及稳定期均可生成 O₂⁻⁻,且对数期的 O₂⁻⁻ 生 成速率均大于稳定期(图 5). 而在生物膜体系中, 各个时间点的 O₂⁻⁻ 生成速率均要高于游离菌体



图 4 H_2O_2 产量及 LAAO 酶活性 Fig. 4 H_2O_2 production and activity of LAAO



Fig. 5 Extracellular O2 - production of strain GCY

系,这表明以生物膜形式存在的 GCY 具有更强 的 O₂⁻⁻ 生成能力.本课题组前期研究发现,菌株 GCY 可在 Na⁺转位-NADH 醌氧化还原酶作用 下产生 O₂⁻⁻,该酶与呼吸相关,并在细胞增殖中 起到作用^[22].因此,推测菌株 GCY 生物膜体系相 较于游离菌体系具有更强的 O₂⁻⁻ 生成能力,是由 于生物膜为菌株提供了更适宜的生长环境,增强 了其细胞呼吸作用.

研究指出 H₂O₂ 可与 Fe(I) 或铁载体络合的 Fe(II)发生类芬顿反应产生•OH 并降解污染物^[22].因此,测定了降解过程中的•OH 与铁载体产量的变化(图 6).在 BPA 存在的条件下,生物 膜体系中的•OH 产量最高可达 0.55 μ mol•L⁻¹,为同时刻游离菌体系的 1.3 倍.在生物膜体系中检测到了更明显的铁络合现象.这表明生物 膜体系相比于游离菌体系,铁载体活性更高.这与两体系中•OH的生成趋势相一致.





2.4 降解途径推测

对生物膜体系降解 BPA 的中间产物进行鉴定,并推测 BPA 的生物降解途径.共检测出 5 个

BPA 中间产物,分别为产物 A、B、C、D、E,中间产物的 m/z 及命名如表 1 所示.

表1 BPA 降解中间产物

Tab. 1 Intermediates detected in BPA degradation



首先•OH 攻击 BPA 两苯环之间的 C-C 单 键,发生异丙基断裂,生成对异丙基苯酚自由基 (产物 A)和苯酚(产物 B),这与 Dong 等^[29]利用 高级氧化法去除 BPA 的反应途径相一致:产物 A 通过水合反应及脱氢反应生成对异丙烯基苯酚 (产物 C),产物 C 进一步反应生成对羟基苯丙酮 (产物 D), Li 等^[30] 在利用过氧化物自由基去除 BPA 中也检测到产物 C 和产物 D 的存在;此外, 异丙基苯酚自由基能进攻 BPA 苯环上羟基的邻 位,生成4,4'-(4-羟基-1,3-苯基)双(丙-2,2-二 基) 双酚, 此中间产物断键分解成苯酚和 2-(4-羟 基苯基),2-(2-羟基,5-叔丁基)丙烷(产物 E),这 一由自由基引发的反应过程已被报道^[31-33]. Lin 等[34] 对于 BPA 的降解路径分析中同样出现该反 应通路及关键产物 E. 综上,生物膜体系降解 BPA的途径为•OH 攻击异丙基,致使异丙基断 裂并进一步发生后续反应.这与已报道的高级氧 化法降解 BPA 的途径类似,也进一步证明了假交 替单胞菌 GCY 生物膜是通过产生胞外 ROS 以 降解 BPA. 菌株 GCY 降解 BPA 途径推测见图 7.





Fig. 7 The proposed biodegradation pathway of BPA by strain GCY

3 结 语

本文首次探究了海洋细菌生物膜对 BPA 生物降解的影响,测定了其降解产物并对降解途径进行了分析推测.生物膜体系对 BPA 的降解能力要优于游离菌体系,且降解过程发生在胞外并由 ROS 主导.生物膜体系更高的 BPA 降解能力是由于其 H_2O_2 、 O_2^{-} 与•OH 等 ROS 产量均高于游离菌体系.这归因于生物膜可以提高产 ROS 相关的 L-氨基酸氧化酶与铁载体的活性.降解机制研究表明,海洋细菌生物膜对 BPA 的降解主要是由于•OH 进攻异丙基而导致的异丙基断裂.

参考文献:

- TIWARI B, SELLAMUTHU B, OUARDA Y, et al. Review on fate and mechanism of removal of pharmaceutical pollutants from wastewater using biological approach [J]. Bioresource Technology, 2017, 224: 1-12.
- GONG Wenjing, ZHU Liyan, JIANG Tiantian, et al. The occurrence and spatial-temporal distribution of tetrabromobisphenol A in the coastal intertidal zone of Qingdao in China, with a focus on toxicity assessment by biological monitoring [J].
 Chemosphere, 2017, 185: 462-467.
- [3] STÜLTEN D, ZÜHLKE S, LAMSHÖFT M, et al. Occurrence of diclofenac and selected

metabolites in sewage effluents [J]. Science of the Total Environment, 2008, 405(1/2/3): 310-316.

- [4] XIE H, HAO H, XU N, et al. Pharmaceuticals and personal care products in water, sediments, aquatic organisms, and fish feeds in the Pearl River Delta: Occurrence, distribution, potential sources, and health risk assessment [J]. Science of the Total Environment, 2019, 659: 230-239.
- [5] WANG H, JIN M, MAO W, et al. Photosynthetic toxicity of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) on green algae Scenedesmus obliquus [J].
 Science of the Total Environment, 2020, 707: 136176.
- [6] STANISZEWSKA M, KONIECKO I, FALKOWSKA L, et al. Occurrence and distribution of bisphenol A and alkylphenols in the water of the Gulf of Gdansk (Southern Baltic) [J]. Marine Pollution Bulletin, 2015, 91(1): 372-379.
- ZOU Rongjie, DENG Xuxiu, WANG Bin, et al.
 Effect of water-sediment flushing events on bisphenol A contamination in the Yellow River estuary [J]. Acta Ecologica Sinica, 2015, 35(2): 263-269.
- [8] ROTIMI O A, OLAWOLE T D, DE CAMPOS O C, et al. Bisphenol A in Africa: A review of environmental and biological levels [J]. Science of the Total Environment, 2021, 764: 142854.
- [9] KANG J H, KONDO F. Bisphenol A in the surface water and freshwater snail collected from rivers around a secure landfill [J]. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 2006, 76(1): 113-118.
- [10] ANIPSITAKIS G P, DIONYSIOU D D. Degradation of organic contaminants in water with sulfate radicals generated by the conjunction of peroxymonosulfate with cobalt [J]. Environmental Science and Technology, 2003, 37(20): 4790-4797.
- [11] SPIVACK J, LEIB T K, LOBOS J H. Novel pathway for bacterial metabolism of bisphenol A. Rearrangements and stilbene cleavage in bisphenol A metabolism [J]. Journal of Biological Chemistry, 1994, 269(10): 7323-7329.
- [12] FENT G, HEIN W J, MOENDEL M J, et al. Fate of ¹⁴C-bisphenol A in soils [J]. Chemosphere, 2003, 51(8): 735-746.

- [13] YING Guangguo, KOOKANA R S. Degradation of five selected endocrine-disrupting chemicals in seawater and marine sediment [J]. Environmental Science and Technology, 2003, 37(7): 1256-1260.
- [14] BEN OUADA S, BEN ALI R, LEBOULANGER C, et al. Effect of bisphenol A on the extremophilic microalgal strain *Picocystis* sp. (Chlorophyta) and its high BPA removal ability [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2018, 158: 1-8.
- [15] SAKAI K, YAMANAKA H, MORIYOSHI K, et al. Biodegradation of bisphenol A and related compounds by Sphingomonas sp. strain BP-7 isolated from seawater [J]. Bioscience Biotechnology and Biochemistry, 2007, 71(1): 51-57.
- [16] PAERL H W, PINCKNEY J L. A mini-review of microbial consortia: Their roles in aquatic production and biogeochemical cycling [J].
 Microbial Ecology, 1996, 31(3): 225-247.
- [17] FLEMMING H C, WINGENDER J. The biofilm matrix [J]. Nature Reviews Microbiology, 2010, 8(9): 623-633.
- [18] GU Chen, WANG Jing, GUO Mengfan, et al. Extracellular degradation of tetrabromobisphenol A via biogenic reactive oxygen species by a marine Pseudoalteromonas sp. [J]. Water Research, 2018, 142: 354-362.
- [19] LI Q, LU H, YIN Y, et al. Synergic effect of adsorption and biodegradation enhance cyanide removal by immobilized Alcaligenes sp. strain DN25 [J]. Journal of Hazardous Materials, 2019, 364: 367-375.
- [20] YOUSSEF M, EL-SHATOURY E H, ALI S S, et al. Enhancement of phenol degradation by free and immobilized mixed culture of Providencia stuartii PL4 and Pseudomonas aeruginosa PDM isolated from activated sludge [J]. Bioremediation Journal, 2019, 23(2): 53-71.
- [21]周 艳. 电化学活性菌/醌改性 PUF 协同降解硝基 苯研究 [D]. 大连:大连理工大学,2012.
 ZHOU Yan. Study on degradation of nitrobenzene by the synergies of electrochemically active bacteria and quinoid-modified polyurethane foam [D].
 Dalian: Dalian University of Technology, 2012. (in Chinese)
- [22] 顾 晨.海洋细菌好氧共代谢降解四溴双酚 A 机

制研究 [D]. 大连: 大连理工大学, 2019.

GU Chen. Study on mechanism of tetrabromobisphenol A biodegradation by marine bacteria under aerobic cometabolic conditions [D]. Dalian: Dalian University of Technology, 2019. (in Chinese)

- [23] STENUIT B, LAMBLIN G, CORNELIS P, et al. Aerobic denitration of 2, 4, 6-trinitrotoluene in the presence of phenazine compounds and reduced pyridine nucleotides [J]. Environmental Science and Technology, 2012, 46(19): 10605-10613.
- [24] VOELKER B M, SULZBERGER B. Effects of fulvic acid on Fe (]]) oxidation by hydrogen peroxide [J]. Environmental Science and Technology, 1996, 30(4): 1106-1114.
- [25] ZHANG Peng, YUAN Songhu, LIAO Peng. Mechanisms of hydroxyl radical production from abiotic oxidation of pyrite under acidic conditions [J].
 Geochimica et Cosmochimica Acta, 2016, 172: 444-457.
- [26]李 嘉,董 英.高压液相色谱测定植物纤维包装容器中的双酚 A [J].分析试验室,2010,29(S1): 187-190.

LI Jia, DONG Ying. Determination of bisphenol A in plant fiber packaging containers by high pressure liquid chromatography [J]. Chinese Journal of Analysis Laboratory, 2010, 29(S1): 187-190. (in Chinese)

- [27] GU Chen, WANG Jing, LIU Shasha, et al. Biogenic Fenton-like reaction involvement in cometabolic degradation of tetrabromobisphenol A by Pseudomonas sp. fz [J]. Environmental Science and Technology, 2016, 50(18): 9981-9989.
- [28] SEKAR R, DICHRISTINA T J. Microbially driven Fenton reaction for degradation of the widespread environmental contaminant 1,4-dioxane [J].
 Environmental Science and Technology, 2014, 48(21): 12858-12867.
- [29] DONG Z Y, ZHANG Q, CHEN B Y, et al. Oxidation of bisphenol A by persulfate via Fe₃O₄alpha-MnO₂ nanoflower-like catalyst: Mechanism and efficiency [J]. Chemical Engineering Journal, 2019, 357: 337-347.
- [30] LI Xuning, WANG Zhaohui, ZHANG Bo, *et al.* $\operatorname{Fe}_{x}\operatorname{Co}_{3-x}$ O₄ nanocages derived from nanoscale

metal-organic frameworks for removal of bisphenol A by activation of peroxymonosulfate [J]. Applied Catalysis B: Environmental, 2016, 181: 788-799.

- [31] DU Jiangkun, BAO Jianguo, FU Xiaoyan, et al. Mesoporous sulfur-modified iron oxide as an effective Fenton-like catalyst for degradation of bisphenol A [J]. Applied Catalysis B: Environmental, 2016, 184: 132-141.
- [32] 林嘉薇. MIL-88B 可见光催化活化过硫酸盐降解双酚 A 的研究 [D]. 广州:华南理工大学,2020.
 LIN Jiawei. Degradation of BPA via activation of persulfate by MIL-88B under visible light [D].

Guangzhou: South China University of Technology, 2020. (in Chinese)

- [33] DU Jiangkun, BAO Jianguo, LIU Ying, et al.
 Efficient activation of peroxymonosulfate by magnetic
 Mn-MGO for degradation of bisphenol A [J].
 Journal of Hazardous Materials, 2016, 320: 150-159.
- [34] LIN Jiawei, HU Yongyou, WANG Luxiang, et al. M88/PS/Vis system for degradation of bisphenol A: Environmental factors, degradation pathways, and toxicity evaluation [J]. Chemical Engineering Journal, 2020, 382: 122931.

Research on degradation of bisphenol A by biofilm of *Pseudoalteromonas* sp. GCY

WU Shuo, ZHANG Xingwen, LÜ Jingping, WANG Jing*

(School of Environmental Science and Technology, Dalian University of Technology, Dalian 116024, China)

Abstract: Bisphenol A (BPA) is an endocrine disrupting chemical widely detected in the marine environment. Biofilm is regarded as the most common existence form of marine bacteria, however, its impact on the fate of BPA in the marine environment is still unclear. The degradation characteristics and degradation pathways of BPA by the biofilm of *Pseudoalteromonas* sp. GCY are investigated. The study results show that the degradation of BPA by the biofilm and the free cells fits the pseudo-first order kinetics. The degradation rate constant of BPA in the biofilm system is 0.042 5 h⁻¹, which is higher than that of 0.037 4 h⁻¹ of the free cells system. It is confirmed that the degradation of BPA in two systems occurs in the extracellular fraction and is mainly mediated by reactive oxygen species (ROS). During the degradation process, the H₂O₂, O₂⁻⁻, •OH production of the biofilm system is higher than that of the free cells system, which can be attributed to the increase of L-amino acid oxidase activity and siderophores production. In the biofilm system, the main degradation pathway of BPA is isopropyl rupture.

Key words: *Pseudoalteromonas* sp.; biofilm; bisphenol A; reactive oxygen species; marine environment