

DOI:10.19853/j.zgjsps.1000-4602.2020.15.004

大型水厂生物滤池的菌群特征和代谢功能研究

韩 梅¹, 李云峰¹, 游晓旭¹, 路维嘉¹, 赵洋洋¹, 刘如钢²

(1. 北京市自来水集团有限责任公司 北京市供水水质工程技术研究中心, 北京 100012;

2. 中国科学院大学 资源与环境学院, 北京 100049)

摘 要: 活性炭(或炭砂)生物滤池是饮用水处理中的重要工艺单元,为了进一步优化生物滤池的运行效能,以南水北调水为水源的两个大型水厂的生物滤池为研究对象,利用宏基因组学和 16S rRNA 高通量测序技术分析了生物滤池的菌群特征和代谢功能。结果表明,生物滤池中的优势菌属主要为鞘氨醇单胞菌、鞘脂单胞菌、生丝微菌、norank_f_DSSF69、*Phreatobacter* 等。通过宏基因组分析发现,各活性炭生物膜样品的基因组均有较完整的降解芳香类化合物的路径,与宏观上生物滤池对芳香类蛋白质的去除作用相对应。通过重构活性炭样品的基因组获得优势菌属,发现重构出的多个属于鞘氨醇单胞菌科的基因组均具有以间位裂解方式降解邻苯二酚的潜能。

关键词: 生物滤池; 菌群结构; 代谢功能; 净水厂

中图分类号: TU991 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4602(2020)15-0018-06

Microbial Community Characteristics and Metabolic Function in Biofilters of Large Waterworks

HAN Mei¹, LI Yun-feng¹, YOU Xiao-xu¹, LU Wei-jia¹, ZHAO Yang-yang¹,
LIU Ru-yin²

(1. Beijing Engineering Research Center for Drinking Water Quality, Beijing Waterworks Group Co. Ltd., Beijing 100012, China; 2. College of Resources and Environment, University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: The activated carbon (or carbon-sand) biofilter is an important process unit in drinking water treatment. In order to optimize operational efficiency of the biofilter, microbial community characteristics and metabolic functions in the biofilters of two large waterworks with source water from South-to-North Water Diversion Project were analyzed by using metagenomics and 16S rRNA high throughput sequencing technology. The results showed that the dominant genera were *Sphingorhabdus*, *Sphingomonas*, *Hyphomicrobium*, norank_f_DSSF69, *Phreatobacter*, etc. Metagenomic analysis found that the genome of each activated carbon biofilm sample had a relatively complete pathway to degrade aromatic compounds, which was corresponding to the macroscopic removal effect of aromatic proteins by the biofilters. The genomes of activated carbon samples were reconstructed to obtain the dominant genus, and the reconstructed genomes of several species belonging to *Sphingomonas* had the potential to degrade catechol by means of interposition cleavage.

Key words: biofilter; microbial community structure; metabolic function; waterworks

活性炭(或炭砂)生物滤池作为去除原水中有有机物的重要工艺单元,在我国饮用水处理工程中的应用日益广泛,特别是在经济发达地区,已成为保障饮用水安全的核心工艺。在我国北方某城市,每日的供水量近七成来自南水北调水源,为应对南水北调水长距离输送过程中的不确定性和复杂性,该市所有地表水厂均采用活性炭滤池或炭砂滤池。南水北调水中的有机物虽为微污染,但在沿程明渠供水过程中,藻类生长迅速,进入该市后呈现低浊高藻的特点,容易引发次生污染。因此,活性炭(或炭砂)生物滤池在生产中作用重大,成为保障饮用水安全多级屏障中的重要组成。

活性炭(或炭砂)生物滤池对水体中污染物的去除主要包括吸附作用和生物降解作用,随着炭龄的延长,活性炭表面的生物降解作用成为滤池去除污染物的关键^[1]。因此,一直以来,活性炭表面微生物菌群的检测、分析也是研究与讨论的热点^[2]。滤料表面菌群的生物作用对于保障饮用水处理效果具有重要意义,但由于受分析技术的限制,大多研究停留在菌群结构组成方面,而对于菌群的具体代谢功能研究较少。宏基因组不仅能开展微生物功能代谢研究,而且能反映微生物菌群的真实生存状态,特别是基于贫营养环境下的生物膜,具有检测痕量菌的优势^[3]。

鉴于此,笔者借助16S rRNA高通量测序技术分析了以南水北调水源为主的水厂中活性炭滤池和炭砂滤池的菌群结构,并通过宏基因组学解析了菌群对消毒副产物主要前体物的代谢潜能及其功能菌的类别,以期为进一步优化生物滤池的工艺运行、提升其处理效能提供参考。

1 材料与方法

1.1 水厂工艺及样本采集

本研究选取北方某城市最具代表性的两座大型水厂(G水厂和J水厂)为研究对象。G水厂的产水量约为 $35 \times 10^4 \text{ m}^3/\text{d}$,水源全部来自南水北调水,整体工艺流程为:预氧化→机械加速澄清池→臭氧接触池→炭砂滤池→消毒,其中,炭砂滤池采用下向流运行方式,来水先后通过活性炭层、石英砂层,活性炭层高为600 mm,采用煤质颗粒活性炭;石英砂层高为1 200 mm,采用气水联合反冲洗方式,反冲洗

周期为24~36 h。

J水厂的产水量约为 $170 \times 10^4 \text{ m}^3/\text{d}$,本研究的取样点覆盖J水厂供水量约为 $100 \times 10^4 \text{ m}^3/\text{d}$ 的工艺单元,水源主要为南水北调水,同时混有少量密云水库水,整体工艺流程为:预氧化→混凝沉淀(部分系列采用机械加速澄清池)→滤池(煤或石英砂)→活性炭滤池→消毒,其中,活性炭滤池采用下向流运行方式,填充厚度为1 500 mm,采用水冲的反洗方式,反洗周期为144 h。

活性炭滤料上的生物样品在滤池进水端0~30 cm处的活性炭层进行采样,取出的活性炭经过振荡、离心后置于-80℃冰箱保存,用于后续分析。对于活性炭表面生物膜样品的编号,以G、J开头的,分别为G水厂、J水厂的样品,前端包括D的为冬季样品,编号中10、20和30为取样点的炭层厚度(10即在滤池进水端炭层10 cm处取样,以此类推),其他数字为序号,无具体意义。

1.2 DNA提取和PCR扩增

使用E. Z. N. A. 土壤DNA试剂盒(Omega Bio-tek, Norcross, GA, U. S.)提取微生物DNA。采用NanoDrop 2000UV-vis分光光度计(Thermo Scientific, Wilmington, USA)测定最终的DNA浓度,并通过1%琼脂糖凝胶电泳检查DNA质量。PCR扩增通过热循环PCR系统(GeneAmp 9700, ABI, USA)用引物515F和907R扩增细菌16S rRNA基因的V4区。PCR扩增和产物测序委托美吉生物公司完成,在Illumina MiSeq(Illumina, San Diego, USA)平台上进行测序。

1.3 基因组序列分析

对5个活性炭样品进行了宏基因组测序,其中G开头的样品为炭砂滤池样本,为验证数据的可靠性,GQ1和GQ2为平行样,C开头的为采用南水北调水源的另外一个水厂的活性炭滤池样本,平均每个样品产生14.06 Gbp清洁数据,总共鉴定到2 100 008个非冗余基因,表1为研究的基因组数据集特征。基因组分析采用MetaGeneMark预测蛋白质编码基因,基因注释基于KEGG数据库的GhostKoala完成^[4]。此外,包括16S rRNA测序数据和宏基因组数据在内的所有原始测序数据已上传至NCBI的SRA数据库,登记号为:PRJNA546475。

表 1 宏基因组数据集的特征

Tab.1 Characteristics of metagenomic datasets

样本	数据量/G	序列总长度/bp	Q20/%	Contig 数量	N50/bp	平均尺寸/bp
GQ1	14.00	73 153 165	91.85	156 839	1 546	1 104
GQ2	14.19	178 714 639	91.77	170 212	1 437	1 049
GH	14.20	184 145 778	91.51	169 585	1 550	1 085
CQ	14.14	308 758 239	92.53	325 823	1 292	947
CH	14.20	426 099 848	92.67	468 226	1 096	910

2 结果与讨论

2.1 水厂滤池菌群特征分析

对 G 水厂和 J 水厂的 28 个样品进行微生物菌群多样性分析,为分析整体南水北调水源供水下生物滤池菌群的共性,选取的样本覆盖了不同炭层厚度、不同炭龄、反洗前后及同一水厂不同系列的样本,对整体样本组数量排名前 15 的物种,基于科水平进行了分析,结果见图 1。在各个样品中丰度普遍较高的是鞘氨醇单胞菌科 (*Sphingomonadaceae*),此外生丝微菌科 (*Hyphomicrobiaceae*) 丰度比例也较高,同时还包括噬纤维菌科 (*Cytophagaceae*)、DSSF69、浮霉菌科 (*Planctomycetaceae*) 和慢生根瘤菌科 (*Bradyrhizobiaceae*) 等。

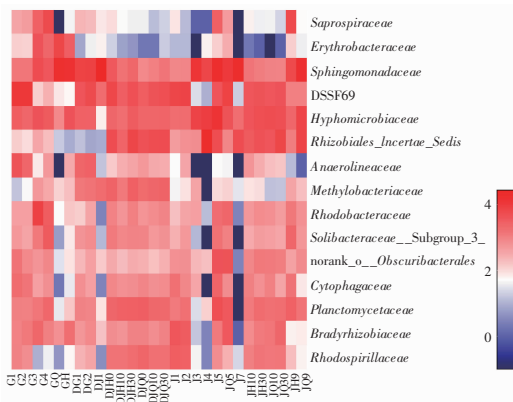


图 1 基于科水平的生物滤池菌群组成热图

Fig.1 Heatmap of community composition in biofilter at family level

基于属水平对 J 水厂和 G 水厂两组样品进行组间显著性检验分析,结果如图 2 所示,红色图例 g 表示 G 厂的活性炭样品,蓝色 j 表示 J 厂的活性炭样品。两个水厂的优势菌属以鞘脂单胞菌 (*Sphingorhabdus*)、norank_f_DSSF69、鞘氨醇单胞菌 (*Sphingomonas*)、生丝微菌 (*Hyphomicrobium*)、*Phreatobacter* 和慢生根瘤菌 (*Bradyrhizobium*) 等为主,其中 norank_f_DSSF69 和鞘脂单胞菌、鞘氨醇单

胞菌的亲缘关系较近,都属于鞘氨醇单胞菌科^[5]。G 水厂和 J 水厂的优势菌属群落丰度存在一定的差别,其中,J 水厂生物活性炭滤池中 *Phreatobacter* 的丰度较高,G 水厂炭砂滤池中鞘氨醇单胞菌的丰度较高,因此图 2 中两组样品在鞘氨醇单胞菌和 *Phreatobacter* 的分类上表现出差异极显著 ($***P \leq 0.001$)。而鞘脂单胞菌、norank_f_DSSF69 和生丝微菌属的差异较小。分析两个水厂生物滤池菌群的差异,可能是由于水源和反洗周期的差异所致,G 水厂的水源全部为南水北调水,而 J 水厂的水源还包括少量的密云水库水;另一方面,G 水厂炭砂滤池的反洗周期较短,因而黏附性、分泌性较强的鞘氨醇单胞菌成为优势菌群,而 J 水厂生物活性炭滤池的反洗周期较长,生物膜系统相对稳定,微生物菌属间的相互竞争不仅受黏附性的影响,还受到对基质的利用程度、世代周期等诸多因素的影响。*Phreatobacter* 目前描述较少,属于变形菌门、根瘤菌科,首次发现于超纯净水净水系统中,并且是巴黎供水管网系统中微生物污染的第二大优势菌群^[6-7],可见该菌属在贫营养环境下非常容易生存,对基质的利用很强,极可能是其成为优势菌的主因。

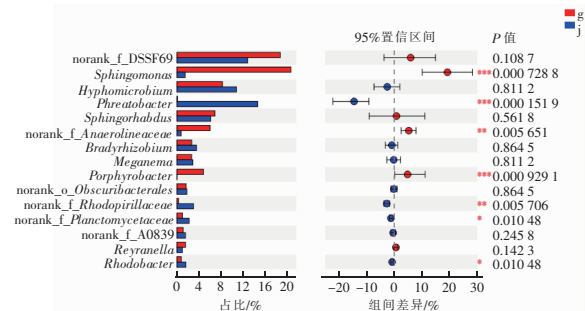


图 2 基于属水平的不同水厂生物滤池菌群结构的比较

Fig.2 Comparison of bacterial population structure in biofilter of different waterworks at genus level

2.2 生物滤池内菌群对芳香类化合物的代谢功能

芳香类化合物是天然有机物的重要组成部分,也是消毒副产物的主要前驱物,是水厂去除的主要

目标污染物^[8]。对原水以及生物滤池进水和出水进行三维荧光光谱分析,结果如图3所示。根据溶解性有机质的 Ex/Em 荧光峰位置,三维荧光光谱通常分为5个区,Ⅰ区和Ⅱ区均为芳香类蛋白质^[9]。原水在Ⅰ区和Ⅱ区的荧光强度均较高,这表明南水北调水源水体中的芳香类蛋白质组分含量较高。同样在Ⅰ区和Ⅱ区,生物滤池进水的荧光强度均高于

出水,依照寻峰法,生物滤池进水在 Ex/Em = 230 nm/335 nm 处出现峰值,荧光强度为 230.6 a.u.,而出水在 Ex/Em = 230 nm/340 nm 处出现峰值,荧光强度为 157.2 a.u.,这说明经生物滤池处理后出水中的芳香类蛋白质组分含量降低。对于使用4年的活性炭来说,其吸附作用较弱,因此分析了生物滤池内微生物菌群对芳香类化合物的代谢功能。

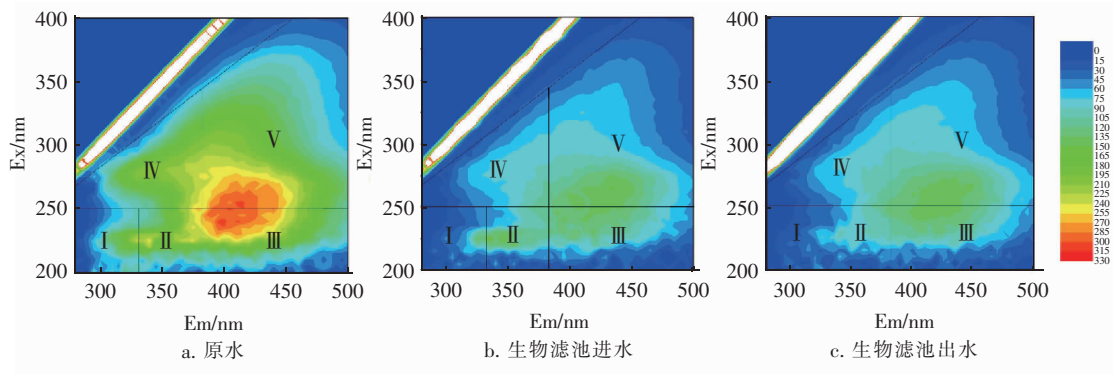


图3 原水及生物滤池进水和出水的三维荧光光谱

Fig.3 EEMs of raw water, biofilter influent and effluent

利用宏基因组学技术分析了5个活性炭生物膜样品对芳香类化合物的代谢潜力。基于KEGG的代谢通路分析表明,5个宏基因组样品编码均有几种芳香烃好氧生物降解途径的全套基因,包括降解苯甲酸、降解邻苯二酚和降解邻苯二甲酸等的全套基因。如图4所示,这些途径包括将苯甲酸转换成邻苯二酚、将甲基苯甲酸转换成甲基邻苯二酚的潜能。邻苯二酚代谢通路在芳香烃生物降解过程中是关键途径,好氧微生物对芳香族化合物的降解主要是通过产生单加氧酶或双加氧酶,在分子氧的进一步参与下使苯环羟基化,最终引发芳环裂解,因而,邻苯二酚是芳香族化合物降解过程中的重要中间体,是苯环羟基化的直接产物^[10]。在样本基因组中,邻苯二酚以两种路径转换:一种是以邻位裂解的形式转换,最终转换成3-氧代己二酸;另一种是以间位裂解的形式彻底代谢,经过复杂的代谢路径,最终转换为乙酰辅酶A,进而参与TCA循环。如表2所示,通过比较邻苯二酚裂解的关键酶基因发现,5个生物膜样本中,邻苯二酚2,3-双加氧酶基因(dmpB和catE)比邻苯二酚1,2-双加氧酶基因(catA)多。邻苯二酚2,3-双加氧酶基因和邻苯二酚1,2-双加氧酶基因分别是邻苯二酚间位裂解和邻位裂解的关键功能酶基因,常用其作为标记芳香

类化合物降解菌的关键基因^[11]。由此可知,在滤池生物膜系统中邻苯二酚裂解主要以间位裂解的方式进行,通过该裂解可最终完成对苯甲酸、邻苯二酚完全彻底的生物降解。4-甲基邻苯二酚经过多种酶降解后,一部分转换为丙酮酸,丙酮酸经过korA和korB两种关键酶的作用转换为乙酰辅酶A;一部分转换成丙酰辅酶A,进而利用PCCA、MCEE和MUT转换为琥珀酸辅酶A,参与到TCA循环。可见,活性炭生物膜系统对4-甲基苯甲酸、4-甲基邻苯二酚也具有彻底的代谢潜能。

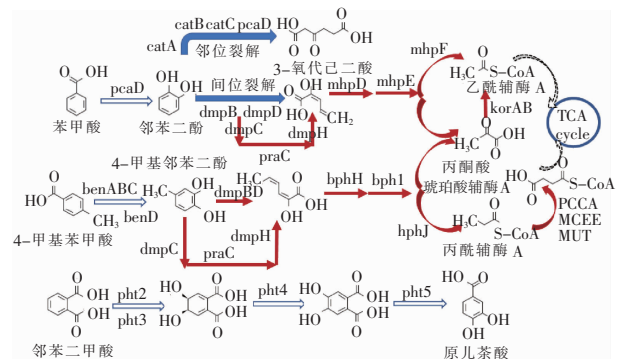


图4 生物滤池内菌群对芳香类化合物的降解路径

Fig.4 Degradation path of aromatic compounds by microbial community in biofilter

表2 参与邻苯二酚代谢路径的关键酶基因的表达

Tab.2 Expression of predictive genes involved in the catechol metabolic pathway

项 目		GQ1	GQ2	GH	CQ	CH
邻位裂解	catA	5	6	4	9	14
	catB	5	4	1	3	5
	catC	3	4	1	2	2
	pcaD	8	10	10	12	19
	pcaL	2	4	1	2	5
间位裂解	dmpB	5	7	6	4	11
	dmpC	6	9	9	14	20
	dmpH	4	3	3	1	2
	dmpD	6	5	5	1	3
	mhpD	6	7	7	7	11
	mhpE	4	6	1	1	2
	mhpF	6	4	4	1	1
	catE	4	4	6	11	11
	praC	7	10	3	14	20

此外,样本在次级代谢对芳香类化合物降解的途径中,还包括将邻苯二甲酸转化为原儿茶酸的完整代谢路径(见图4),邻苯二甲酸是增塑剂邻苯二甲酸酯生物降解的重要中间体,邻苯二甲酸酯的生物降解过程是先转化为单酯,再变成邻苯二甲酸后进一步降解,而原儿茶酸是微生物代谢的主要开环底物,即经该代谢过程后芳香类化合物更容易被微生物进一步降解。综上可见,活性炭滤池和炭砂滤池内的微生物菌群确有对芳香类化合物的代谢潜能,这与生物滤池进、出水的三维荧光光谱变化情况相一致。

为进一步剖析降解芳香类化合物的菌种,通过重构优势种属的基因组,发现在G水厂的3个样品(GQ1、GQ2和GH)重构基因组中归属于 α -变形菌纲的鞘氨醇单胞菌科,含有以间位裂解的方式降解邻苯二酚的全套基因。由此可见,鞘氨醇单胞菌科是以南水北调水源为主的生物滤池中降解芳香烃类有机物的主要功能菌,由2.1节可知,生物滤池内鞘氨醇单胞菌科是丰度最高的菌群,这为进一步研究构建鞘氨醇单胞菌科适宜生长的环境、通过宏观参数控制提升生物滤池降解芳香类化合物的效能提供了理论依据。

3 结论

① 以南水北调水为主要水源的水厂生物滤池中丰度最高的是鞘氨醇单胞菌科,具体优势菌属以

norank_f_DSSF69、鞘脂单胞菌、鞘氨醇单胞菌、生丝微菌和 *Phreatobacter* 等为主,受水源和运行方式等的影响,不同水厂生物滤池的优势菌群略有差异。

② 以南水北调水源为主的水厂中活性炭滤池和炭砂滤池均具有降解芳香类化合物的潜能。在各活性炭生物膜样本的基因组中均发现有较完整的降解芳香类化合物的路径,包括苯甲酸、4-甲基苯甲酸、邻苯二酚和邻苯二甲酸等的降解路径。

③ 活性炭生物膜样本基因组对邻苯二酚的降解主要为间位裂解方式,通过重构基因组发现,降解邻苯二酚的功能菌具体隶属于生物滤池内丰度最高的鞘氨醇单胞菌科。

参考文献:

- [1] Korotta-Gamage S M, Sathasivan A. A review: Potential and challenges of biologically activated carbon to remove natural organic matter in drinking water purification process[J]. *Chemosphere*, 2017, 167: 120-138.
- [2] Oh S, Hammes F, Liu W T. Metagenomic characterization of biofilter microbial communities in a full-scale drinking water treatment plant[J]. *Water Res*, 2018, 128: 278-285.
- [3] Chistoserdovai L. Functional metagenomics: recent advances and future challenges[J]. *Biotechnol Genet Eng Rev*, 2010, 26: 335-352.
- [4] Zhu W H, Lomsadze A, Borodovsky M. Ab initio gene identification in metagenomic sequences[J]. *Nucleic Acids Res*, 2010, 38(12): e132.
- [5] 韩梅, 曹新垠, 王敏, 等. 南水北调受水区某水厂炭砂滤池运行特性及生物安全性研究[J]. *给水排水*, 2018, 44(9): 19-23.
Han Mei, Cao Xinkai, Wang Min, et al. Research on the operation characteristics and bio-safety of a carbon-sand filter in a water plant in the water receiving area of South-to-North Water Transfer Project[J]. *Water & Wastewater Engineering*, 2018, 44(9): 19-23 (in Chinese).
- [6] Toth E M, Vengring A, Homonnay Z G, et al. *Phreatobacter oligotrophus* gen. nov., sp. nov., an alphaproteobacterium isolated from ultrapure water of the water purification system of a power plant[J]. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2014, 64(Pt 3): 839-845.
- [7] Perrin Y, Bouchon D, Delafont V, et al. Microbiome of drinking water: A full-scale spatio-temporal study to

(下转第28页)