

DOI:10.19853/j.zgjsps.1000-4602.2022.05.003

水滞留影响下不同供水末端的微生物群落对比

牛佳¹, 黄怡婷¹, 许薇¹, 龚珑聪², 吴玲婕¹, 陈淑婷¹,
史婷¹, 陈晓晨³

(1. 福建工程学院生态环境与城市建设学院 城镇给排水系统安全与节能工程技术中心, 福建 福州 350118; 2. 福州市自来水公司, 福建 福州 350001; 3. 福州大学环境与资源学院 福建省农村废弃物绿色循环技术工程研究中心, 福建 福州 350108)

摘要: 针对龙头水滞留带来的水质生物稳定性问题,选取三种末端供水方式(集中式供水、二次供水、过滤器出水)的龙头水为研究对象,运用高通量测序技术全面探索和比较了水滞留导致的水中微生物群落结构的变化。结果表明:在细菌方面,滞留后三种末端供水方式的龙头水中均以假单胞菌属为主,一些条件致病菌属,如副衣原体属、军团菌属、分枝杆菌属等也被检出。三种供水方式中,二次供水表现出较低的物种丰富度和较高的生物多样性,且其群落结构与另外两种方式显著不同。在古菌方面,滞留前集中式供水以嗜盐碱球菌属为主,二次供水主要为未鉴定菌属,过滤器出水主要为甲烷食甲基菌属;滞留后,仅集中式供水和过滤器出水的古菌群落结构发生改变,均以产甲烷古菌为主,而二次供水则以氨氧化古菌为主。该研究成果有助于掌握饮用水中微生物信息,并可为解决水滞留带来的饮用水生物安全问题和健康风险评估提供基础数据及参考。

关键词: 饮用水水质; 末端供水方式; 水滞留; 生物稳定性; 细菌群落结构; 古菌群落结构; 高通量测序

中图分类号: TU991 文献标识码: A 文章编号: 1000-4602(2022)05-0014-10

Comparison of Microbial Communities in Different Manners of Tap Water Supply as Affected by Water Stagnation

NIU Jia¹, HUANG Yi-ting¹, XU Wei¹, GONG Long-cong², WU Ling-jie¹,
CHEN Shu-ting¹, SHI Ting¹, CHEN Xiao-chen³

(1. Center of Safe and Energy-saving Engineering Technology for Urban Water Supply and Drainage System, School of Ecological Environment and Urban Construction, Fujian University of Technology, Fuzhou 350118, China; 2. Fuzhou Water Supply Company, Fuzhou 350001, China; 3. Fujian Provincial Engineering Research Center of Rural Waste Recycling Technology, College of Environment and Resources, Fuzhou University, Fuzhou 350108, China)

Abstract: An *in situ* study was carried out in order to investigate the problem of biological stability of tap water caused by water stagnation. Tap water from three types of water supply manner were selected, i.e. the centralized water supply, secondary water supply and water filter. High-throughput sequencing was

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(52000032); 福建省自然科学基金资助项目(2018J05011); 福建工程学院科研启动金资助项目(GY-Z17075); 福建省大学生创新创业训练计划项目(201910388030)

通信作者: 陈晓晨 E-mail: chenxiaochen@fzu.edu.cn

applied to investigate and compare the changes of microbial community structures in the tap water caused by water stagnation. The results showed that *Pseudomonas* was the dominant genus of bacteria community after stagnation in all the three water supply manners. Meanwhile, some opportunistic pathogens, such as *Parachlamydia*, *Legionella* and *Mycobacterium* were detected. Among them, tap water of secondary water supply system showed the lowest species richness and highest biodiversity. Besides, the bacterial community structure in the tap water of secondary water supply system was different from those in the other two water supply manners. As for archaea, before stagnation, water from the centralized water supply system was dominated by *Halalkalicoccus*. However, water from secondary water supply was dominated by unclassified genus. And tap water after filter was dominated by *Methanomethylovorans*. After stagnation, archaeal community structure changed only in the tap water of the centralized water supply and filter effluent. And both of them were dominated by methanogens. On the other hand, tap water of the secondary water supply system was dominated by ammonia-oxidizing archaea. The outcome of this study is bound to enrich the scientific knowledge of microbial information in the tap water. It will provide the first-hand information and references for solving the problems of biological safety and assessing the health risk of drinking water stagnation.

Key words: drinking water quality; water supply manner; water stagnation; biological stability; bacterial community structure; archaeal community structure; high-throughput sequencing

饮用水安全受到普遍关注,水质生物稳定性是保证饮用水安全的关键一环^[1]。我国现行的饮用水标准(GB 5749—2006)在水质检测项目中包含多项微生物学指标,体现出国家对饮用水生物稳定性的高度重视。然而,通常对饮用水水质的检测都是在管网水质监测站点完成的^[2],家庭消费端的龙头水水质往往很难直接获得检测机会而被忽视^[3]。但是,这“供水最后一公里”的饮用水才是最终被消费者所使用的,其水质好坏与人民大众的生命健康密切相关^[4]。

已有研究发现,水表与用户龙头之间的管道系统中有诸多因素可能影响水质,如温度、管材、管径、水滞留等^[5],其中水滞留尤甚。由于用水习惯等所导致的饮用水在管道中的滞留时有发生,这段停留时间可能会引起管道重金属的释放^[6]、病菌和条件致病菌的大量滋生、饮用水口感和味道变差以及变色等问题^[4],长期水滞留甚至还会导致突发性污染事件^[7-8]。对于水滞留现象,胡昌军等^[9]对我国城市居民开展了消费行为调查,发现大多数居民很少在用水前放水 1 min,往往直接使用滞留水作为饮用水和烹调水,而这种用水习惯与居民的经济和认知水平无关。由此可见,水滞留现象并未引起居民的普遍重视,其所导致的水质生物稳定性和水质安全

问题亟待科学探究。

目前,水滞留对水质生物稳定性的影响研究主要集中于对《生活饮用水卫生标准》(GB 5749—2006)中规定的相关微生物指标的测定和评价,如大肠菌群、耐热大肠菌群、大肠埃希氏菌等^[5,10-11]。尽管这些微生物和饮用水卫生直接相关,但实际上管网中还存在着大量其他微生物。在水滞留的过程中,消毒剂的衰减可导致微生物的再生长^[12],而在滞留过后大量用水过程中,管壁沉积物和生物膜亦会发生重新悬浮。这些微生物一方面可能引起水质的改变,另一方面其残体和分泌物往往会成为其他致病菌和条件致病菌生长的底物,如氢氧化微生物^[13]。大部分的微生物是无法通过传统培养的方法或者测定生物稳定性相关指标的方法(如 AOC、BDOC 等)检测到的^[5],这也就意味着在评价饮用水生物稳定性和健康风险的过程中存在着不全面的问题。水滞留引发龙头水中微生物,尤其是古菌群落结构变化的研究至今鲜有报道。

近年来,高通量测序技术被广泛应用于各种自然或工程生境中微生物群落的研究^[14]。它能够克服传统微生物培养技术和传统微生物分子生物学技术由于实验操作和引物设计而导致的结果片面性问题,最大程度地反映出样品中微生物群落的整

体情况。如 Rahmatika 等^[15]就曾利用高通量测序技术分析了不同管材的管道水经过培养后其中细菌群落结构的变化,而 Douterelo 等^[16]还运用该技术研究了给水管网管壁生物膜上的微生物群落结构。

此外,城市饮用水的末端供水方式也多种多样。除了通常采用的集中式供水方式以外,随着高层建筑逐渐增多,将集中式供水先贮藏在蓄水池中再进行输送的二次供水方式也十分普遍。与此同时,越来越多的居民开始注重饮用水品质而采取在龙头水之前安装过滤器等净水装置。因此,有必要研究不同末端供水方式下水滞留对龙头水微生物群落结构的影响。

综上所述,选取城市三种末端供水方式(集中式供水、二次供水、过滤器出水)的龙头水为研究对象,以 24 h 为代表性的滞留时间,考察了水滞留前后不同供水方式的龙头水水质及其微生物群落结构,并对变化的原因及其机理进行探讨,以期丰富和发展饮用水中微生物相关信息,为保障城市饮用水水质生物稳定性及安全性提供支撑。

1 材料与方法

1.1 采样点及采样方法

选取某校园生活区内建筑楼进行研究。该地区水源地水质符合《地表水环境质量标准》(GB 3838—2002)中Ⅱ类水质标准^[17],相应水厂处理工艺为传统的“混凝—沉淀—过滤—消毒”工艺,消毒剂为二氧化氯。市政供水管网采用球墨铸铁管,建筑楼室内供水管网采用镀锌钢管,均已稳定运行约十年。以该建筑楼内不同供水设施的龙头水为研究对象,包括集中式供水、二次供水和过滤器的末端出水。其中,二次供水的蓄水池置于屋顶,体积约 500 m³;过滤器为国内某常见品牌净水器,安装于集中式供水管道末端。

在实验开始之前,三个水龙头均按日常用水习惯正常用水。于 2019 年 7 月开展原位采样,同时采集三个龙头水水样,采集前先对水龙头进行灼烧并放水 5 min^[18],之后用灭菌的容器接水 2 L,作为滞留前水样。参考大多数微生物生长代时较短^[19]以及 Lautenschlager 等^[3]和 Zlatanović 等^[4]报道水滞留引起的水质和异养微生物变化规律,选取 24 h 作为代表性滞留时间。此外,该滞留时间的选取还考虑到城市居民的用水习惯,24 h 可以作为居民日常不使

用水龙头的中长期时间,如出差或者假日出行。可以预见,其对饮用水健康的影响/风险比短时间的水滞留更大。在用水行为上,相对于更长时间不使用水龙头的情况,人们通常会选择放水一段时间后再使用,24 h 水滞留后的放水行为往往易被忽视。据此,本实验在关闭水龙头后,保持 24 h 不使用的状态,之后打开水龙头并收集 2 L 水作为滞留后水样。对收集到的滞留前后水样进行水质及微生物群落分析。

1.2 水质指标测定方法

分别对采集水样的 pH 值、余氯、浊度、TOC、NH₄⁺-N 进行测定。其中,pH 值采用 pH 试纸进行测定,余氯、浊度和 TOC 分别采用余氯仪、浊度仪和 TOC 仪(岛津 TOC-VCPH 总有机碳分析仪)进行测定,NH₄⁺-N 采用国家标准方法测定。采用 IBM SPSS Statistics 20 对滞留前后水质参数进行统计学分析。

1.3 水体中微生物群落多样性

1.3.1 水样处理及 DNA 提取

将收集到的 2 L 龙头水水样全部用 0.22 μm PTFE 膜过滤。滤膜用于龙头水中微生物 DNA 提取,首先将滤膜样品进行液氮冷冻,之后用组织破碎仪破碎。将破碎后的滤膜装入 2 mL 离心管中,用 E. Z. N. A™ Mag-Bind Soil DNA Kit 进行 DNA 提取,并对提取 DNA 完整性进行琼脂糖凝胶电泳检测。

1.3.2 细菌和古菌的 PCR 扩增

分别对细菌和古菌的 V3-V4 区进行扩增。细菌采用 V3-V4 通用引物扩增,引物为 341F(CCCTACACGCTCTTCCGATCTGCCTACGGGNGGCWGCAG)和 805R(GACTGGAGTTCCTTGGCACCCGAGAATTCCAGACTACHVGGGTATCTAATCC)。PCR 扩增程序为 94 ℃反应 3 min,94 ℃反应 30 s,45 ℃反应 20 s,65 ℃反应 30 s,共 5 个循环;94 ℃反应 20 s,55 ℃反应 20 s,72 ℃反应 30 s,共 20 个循环;72 ℃延长 5 min,最后保持在 10 ℃。第二轮扩增引入 Illumina 桥式 PCR 兼容引物,扩增程序为 95 ℃反应 3 min,94 ℃反应 20 s,55 ℃反应 20 s,72 ℃反应 30 s,共 5 个循环;72 ℃延长 5 min,最后保持在 10 ℃。

古菌采用槽式 PCR 扩增,共扩增三轮,所用引物分别为 M-340F(CCCTAYGGGGYGCASCAG)和 GU1ST-1000R(GGCCATGCACYWCYTCTC)、349F(CCCTACACGCTCTTCCGATCTNGYGCASCAG-

KCGMGAAW)和806R(GACTGGAGTTCCTTGGCACC-CGAGAATTCCAGGACTACVSGGTATCTAAT)。前两轮PCR程序为94℃反应3 min,94℃反应30 s,45℃反应20 s,65℃反应30 s,共5个循环;94℃反应20 s,55℃反应20 s,72℃反应30 s,共20个循环;72℃延长5 min,最后保持在10℃。第三轮扩增引入Illumina桥式PCR兼容引物,扩增程序与细菌相同。

1.3.3 Illumina MiSeq高通量测序分析

各样本测序序列通过独特的标签序列分开。数据经预处理后,用USEARCH version 5.2.236去除非扩增区域序列^[20],并进行测序错误校正,调用UCHIME version 4.2.40完成嵌合体的鉴定与去除。使用UCLUST算法,以97%的相似性阈值将剩余的序列聚类成操作分类单位(OTUs),选择丰度最高的序列作为OTU的代表性序列,计算Alpha多样性指数。使用R语言的VennDiagram软件包得到不同样品OTU分布韦恩图。根据每个样本的分类学对比结果,选出优势物种。

2 结果与讨论

2.1 不同供水方式下龙头水滞留前后的水质变化

滞留前后的龙头水pH值均约为7.0, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 未检出,即饮用水的pH值、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度在滞留24 h后并未发生变化,但余氯、浊度和TOC浓度在滞留前后变化显著(见表1)。三种供水方式的龙头水在滞留后余氯均有显著下降,尤其是供水管道与市政供水管网直接相连的集中式供水的龙头水下降最多。这与以往的研究结果较一致^[21],即水中的余氯与管壁生物膜、沉积物、有机物等发生作用,同时还会受到水流速、管径等影响,造成余氯在运输过程中的衰减。

饮用水浊度在滞留后的集中式供水和二次供水龙头水中均有显著增加,其中前者的浊度超过《生活饮用水卫生标准》(GB 5749—2006)中对浊度的要求(≤ 1 NTU)。浊度的增加可能与管壁上沉积物或生物膜的重新悬浮有关。但经过过滤后滞留后的浊度反而下降了,反映出过滤装置中的膜对水中杂质的阻隔作用。

TOC作为表征微生物可利用的底物,在不同龙头水中表现不一,集中式供水的TOC浓度显著下降,这与Zlatanović等^[4]观察到的TOC随水滞留时间增加而逐渐降低的结果一致,推测与余氯下降以及

微生物再生长有关。然而,二次供水滞留前后的TOC浓度变化却不明显,推测是由于二次供水先经过蓄水池,而蓄水池在一定程度上能够对TOC浓度变化起到缓冲作用。此外,过滤器的龙头水则表现为滞留后TOC浓度上升的现象,考虑可能与过滤器内膜上物质的重新溶解有关^[15]。由此可见,不同供水方式所产生的滞留前后TOC浓度变化不一的原因有必要进一步深入研究。

表1 龙头水滞留前后水质参数

Tab.1 Water quality parameters of tap water before and after stagnation

水质参数	集中式供水		二次供水		集中式供水+过滤器	
	滞留前(TWB1)	滞留后(TWA1)	滞留前(TWB2)	滞留后(TWA2)	滞留前(TWB3)	滞留后(TWA3)
余氯/($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	0.42±0.00	0.28±0.00**	0.41±0.00	0.34±0.00**	0.43±0.01	0.37±0.00**
浊度/NTU	0.92±0.00	1.45±0.01**	0.77±0.03	0.99±0.04**	0.52±0.00	0.42±0.00
TOC/($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	0.64±0.00	0.47±0.01**	0.60±0.01	0.62±0.01	0.54±0.00	0.59±0.02**

注: “**”代表极显著差异。

2.2 滞留前后龙头水中细菌群落结构变化

滞留前的水样未获得细菌PCR产物,表明通常情况下管网水中的细菌受到消毒剂余氯的作用而使其基因遭到破坏,不易从水样中获得细菌基因的PCR产物^[22]。然而,在经过24 h滞留后,从三种龙头水中都成功获得了细菌的PCR产物,表明经过滞留后,一方面水中微生物可能发生了再生长^[3-4],另一方面,与管壁长时间的作用接触有可能使管壁沉积物和生物膜上细菌重新悬浮,从而改变了水中细菌的群落结构。通过高通量测序技术分别对三种供水方式的龙头水在滞留后的细菌群落结构进行了全面的比较和分析。

2.2.1 细菌群落结构多样性比较

通过Illumina测序并对原始序列进行数据预处理,在滞留后的三种龙头水中分别得到优质序列数为48 766、28 793和44 937,对这些序列在97%的相似性水平下进行聚类分析,得到每个样本中细菌OTU的数量。三种龙头水中细菌的群落多样性通过Shannon、Chao1和Simpson等指数来反映,结果如

表2所示。

表2 滞留后三种龙头水中细菌多样性

Tab.2 Bacterial diversity in three tap water after stagnation

供水方式	OTU 数量	Chao1 指数	Shannon 指数	Simpson 指数	测序深度指数
集中式供水	964	8 066.22	2.23	0.27	0.98
二次供水	944	3 328.33	3.00	0.18	0.98
过滤器	846	4 546.44	2.09	0.29	0.99

表2中的测序深度指数指测序结果所能代表的样本的真实情况,从每个水样所对应的测序深度指数可以看出,测序结果几乎覆盖样品中所有能检测到的全部序列(>97%)。Chao1 指数用于反映物种的丰富度,结果表明二次供水滞留后的龙头水中细菌丰富度最低,而细菌丰富度最高的则是集中式供水滞留后的龙头水。Shannon 指数和 Simpson 指数则可代表生物多样性,Shannon 指数值越大,生物多样性越高。

表2显示,生物多样性最高的为二次供水龙头水,最低的则是过滤器出水。综上所述,二次供水滞留水呈现出物种丰富度最低但生物多样性最高,这与二次供水中蓄水池的作用有关^[23],即蓄水池的长期选择作用使其表现出稳定的细菌种类,同时每个种类的细菌数量较均一,因此生物多样性最高。此外,集中式供水滞留后水中的细菌表现出较高的物种丰富度的原因可能来自滞留过程中再生长的

细菌^[3],以及管壁沉积物和生物膜的重新悬浮^[24]。过滤器出水较低的生物多样性则是由于膜的过滤作用。

三种龙头水中细菌 OTU 分布的韦恩图见图1。可以看出,三种龙头水虽然来自于同一个市政管网,但滞留后共有的 OTU 数目仅为 53,说明饮用水在管道输送和停留过程中,细菌种类已发生了显著改变。由此可见,末端饮用水微生物群落结构与供水方式和最后的供水管道密切相关。

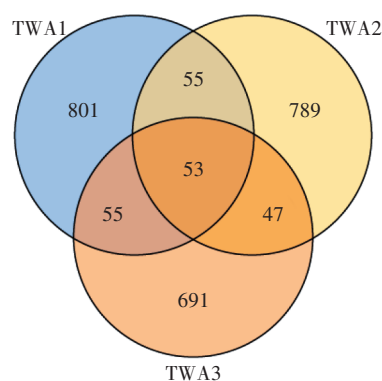


图1 三种龙头水中细菌 OTU 分布的韦恩图

Fig.1 Wayne diagram of OTU distribution of bacteria in three tap water

2.2.2 滞留后的龙头水中细菌群落组成

三种龙头水中的细菌在属水平上的群落结构组成及聚类分析结果如图2所示。

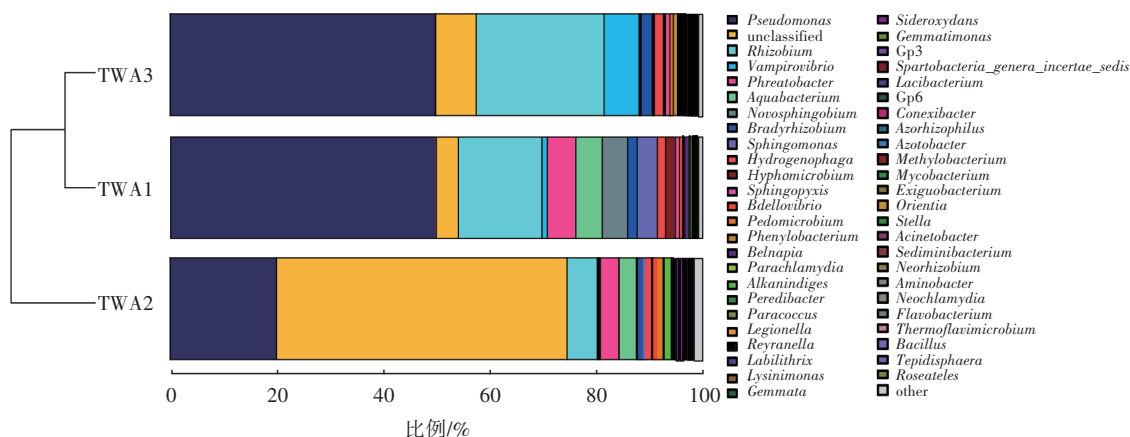


图2 滞留后龙头水中细菌群落结构组成及其相似性分析

Fig.2 Bacterial community structure and similarity in tap water after stagnation

TWA1 和 TWA3 具有相似的细菌群落结构,这与它们来自于相同的市政供水管网和建筑室内供水管道有关,虽然在水质、细菌物种丰富度上不同,

但是过滤装置并未改变水中细菌群落组成。相反地,集中式供水和过滤器出水的细菌群落结构与二次供水差异较大。就占主导的细菌种类而言,

TWA1 和 TWA3 龙头水中假单胞菌属(*Pseudomonas*) 占比最大(49.87%和49.89%)。在 TWA2 中,除未鉴定到的细菌属(unclassified)外,假单胞菌属也是所有细菌中占比最大的(占 20%)。假单胞菌在滞留后水体中出现且数量较多与 Lautenschlager 等^[1]的研究结果一致。已有的报道发现假单胞菌属多为条件致病菌,与人类健康和感染有关^[1,25],如铜绿假单胞菌、产碱假单胞菌等,前者属于条件致病菌,当人体防御机制改变时才引起病变。而后者则广泛存在于水源中,并可引起肺炎等感染性疾病。此外,根瘤菌属(*Rhizobium*)也被发现在三种龙头水中占较大比例,尤其是集中式供水和过滤器所对应龙头水(分别为 16% 和 24%)。该类微生物曾被报道可以从水库沉积物中富集分离得到,因此推断其主要来自于水源水或管壁沉积物。除了上述主要细菌外,滞留后的水中还检测出一些水体致病菌属,如副衣原体菌属(*Parachlamydia*)、军团菌属(*Legionella*)、分枝杆菌属(*Mycobacterium*)^[25-26],虽然它们的丰度在细菌群落中所占比例均不大于 1%,但其在水中的存在表明水滞留将会给饮用水带来一定的健康风险。

2.3 滞留前后龙头水中古菌群落结构变化

古菌在发育树上是独立于原核生物和真核生物的一类生物,因其结构及生理功能的独特性,常常在一些极端环境中被发现,如寡营养环境等^[19]。尽管未在滞留前的龙头水中获得细菌的 PCR 产物,但古菌 PCR 产物在滞留前后均可获得,表明水中的余氯并未完全抑制或破坏管网水中的古菌细胞及基因结构。类似地, Roy 等^[27]对液氯和氯胺消毒管网中水样和生物膜的研究也发现,氨氧化古菌能够存在于饮用水中,且其丰度不受采样点和采样时间的影响。Niu 等^[22]对水厂各工艺出水的研究也证实了古菌在处理水中的普遍存在。由此可见,本实验检测到的龙头水中的古菌一方面可能来自出厂水,另一方面有可能来自于输送过程中管壁沉积物和生物膜的重新悬浮。

2.3.1 古菌群落结构多样性比较

通过 Illumina 测序并对原始序列进行数据预处理,得到滞留前后三种龙头水的优质序列数如表 3 所示。将这些序列在 97% 的相似性水平下进行聚类分析,得出每个样本中古菌的 OTU 数量。从 OTU 数量上可以看出,滞留后水中的古菌数量均高于滞留前。但是,将古菌和细菌的 OTU 进行比较则发

现,龙头水中古菌的 OTU 数量都低于滞留后水中细菌的 OTU 数量。

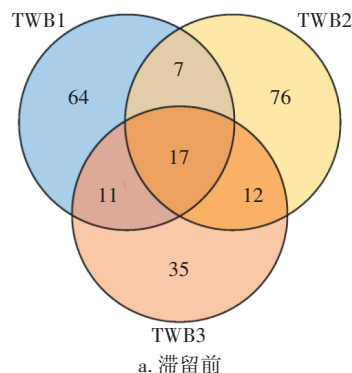
表 3 三种龙头水滞留前后水中古菌多样性

Tab.3 Archaea diversity in three tap water before and after stagnation

样品	序列数	OTU 数量	Chao1 指数	Shannon 指数	Simpson 指数
TWB1	62 986	99	99.77	0.22	0.95
TWA1	60 925	172	175.37	1.60	0.40
TWB2	70 518	112	113.00	0.73	0.74
TWA2	58 958	241	242.91	2.01	0.44
TWB3	66 600	75	77.10	0.22	0.95
TWA3	56 903	348	349.57	2.88	0.14

从测序深度指数来看,所测序列可以涵盖样本中所有古菌序列(测序深度指数=1.00)。Chao1 指数表明三种供水设施滞留后的龙头水古菌丰富度均高于滞留前,同时, Shannon 指数和 Simpson 指数也反映出滞留后龙头水中古菌的生物多样性明显增高。有意思的是,三种供水方式的龙头水中古菌物种丰富度和生物多样性最高的是滞留后的过滤器出水,然而过滤器的滞留水中细菌物种丰富度和多样性则是三种龙头水中最低的,反映出过滤器中的生物膜对细菌有一定的选择过滤作用,但却有可能成为古菌生长的“温床”。

分别对滞留前和滞留后不同龙头水中古菌的 OTU 进行对比,得到如图 3 所示的韦恩图。可以看出滞留前三种水样的共有 OTU 较少,而滞留后共有 OTU 数量有所增加,但集中式供水和二次供水共有 OTU 数量无论在滞留前还是滞留后都是最少的,表明二者在古菌群落结构上的固有差异。由于这两种龙头水来自同一市政管网,因此推测造成其古菌种类差异显著的主要原因是建筑室内末端供水方式的不同。



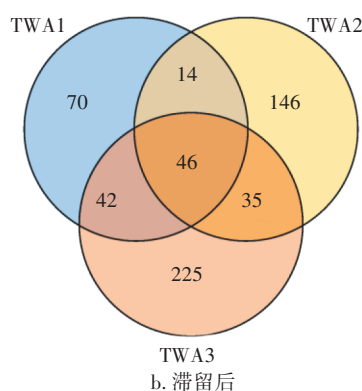


图3 三种龙头水滞留前后古菌 OTU 的韦恩图

Fig.3 Wayne diagram of OTU distribution of archaea in three tap water before and after stagnation

将所有龙头水(滞留前后)中的古菌 OTU 数量进行对比分析,如图4所示。可以发现,过滤器出水在滞留前独有的古菌 OTU 数量最少,但是滞留后其独有的古菌 OTU 数量最多,由此可以推测 TWA3 中的古菌很有可能来自于过滤器内部,因此经过水滞留后检测到了与其他供水方式的龙头水中不同种类的 OTU。

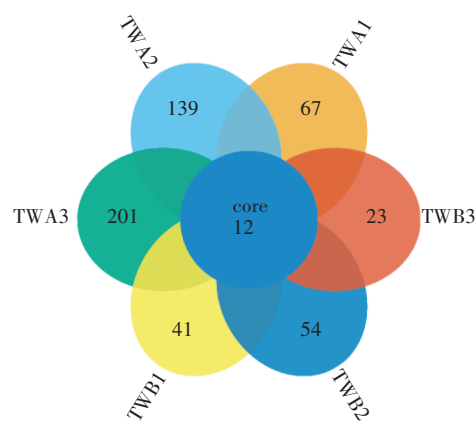


图4 所有龙头水(滞留前后)中古菌 OTU 对比的韦恩图

Fig.4 Wayne diagram of OTU distribution of archaea in all the tap water (before and after stagnation)

2.3.2 滞留前后龙头水中古菌群落组成

滞留前后三种龙头水中古菌在属水平上的群落结构组成及聚类分析结果如图5所示。集中式供水和过滤器出水的古菌群落相似,但二者在滞留前后古菌群落结构变化较大;而二次供水与前两者的古菌群落结构都不同,且滞留前后没有发生变化。

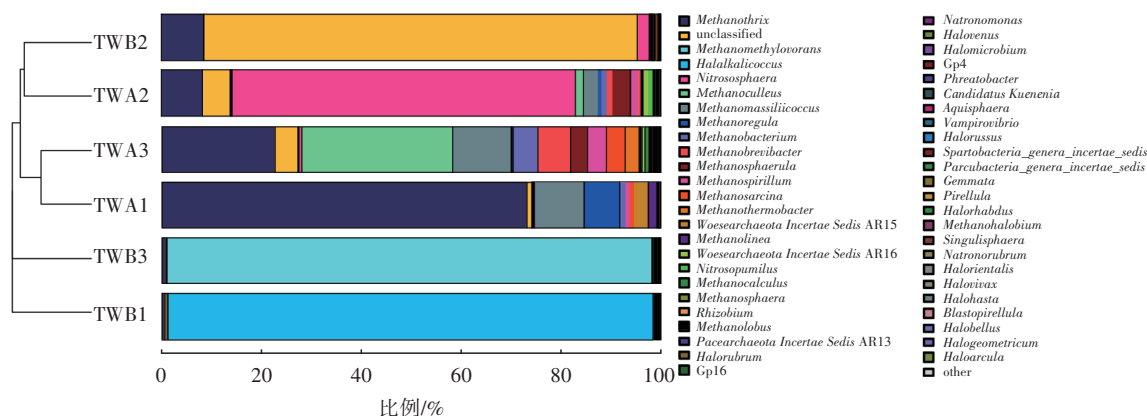


图5 滞留前后龙头水中古菌群落结构组成及其相似性分析

Fig.5 Archaeal community structure and similarity in tap water before and after stagnation

考虑二次供水与其他两种供水方式的主要差异在于是否先经过蓄水池再进行二次供应,因此推测蓄水池是造成其古菌群落结构与其他供水方式出现显著差异的主要原因。

对于龙头水在古菌属水平的组成,集中式供水在滞留前以嗜盐碱球菌属(*Halalkalicoccus*)为主(97%),推测高含量的嗜盐古菌存在可能与水源受到一定畜禽养殖污染导致水源水中盐碱度较高,同时嗜盐古菌对氯不敏感,因此不容易被消毒剂杀死而长期存活于水中有关^[28],另一种可能性则是该

属的嗜盐古菌已长期存在于管壁生物膜上,通过饮用水输送过程的重新悬浮进入饮用水中。经过 24 h 滞留后,集中式供水的龙头水(TWA1)中古菌群落以甲烷丝菌属(*Methanotherix*)为主(73%)。甲烷古菌是一类严格厌氧且世代时间较长(4~6 d)的微生物,具有生物排他性^[29],从其较长的生长世代时间推测 24 h 滞留过程不足以使原来管网水中低含量(<1%)的甲烷丝菌属数量增加到 73%,因此滞留后水中甲烷丝菌属必然来自管壁生物膜。根据甲烷古菌的生物排他性及管道相对封闭的厌氧环境,推

测原本是主导地位的严格好氧的嗜盐古菌数量在滞留后急剧减少,并被甲烷古菌取代。不同于集中式供水龙头水中古菌群落结构,连接于同一个建筑室内管道的过滤器龙头水在滞留前古菌群落则以甲烷食甲基菌属(*Methanomethylovorans*)为主(97%),推测这些产甲烷古菌主要来自于过滤器内,由于膜的截留作用使集中式供水中原有的古菌被截留,但过滤器的长期运行又使其内部形成的产甲烷古菌如甲烷食甲基菌属易于从生物膜上冲刷下来,因此在用水过程的水流冲刷作用下重新悬浮于水中。在滞留 24 h 以后,过滤器的龙头水中微生物群落结构发生了一定改变,主要以甲烷丝菌属(*Methanothrix*)、甲烷袋状菌属(*Methanoculleus*)和马氏甲烷球菌(*Methanomassiliicoccus*)为主,分别占整个古菌群落的 22.53%、30.15% 和 11.86%。对过滤器龙头水滞留前后古菌群落结构的对比可以看出,过滤器出水古菌群落主要以产甲烷古菌为主。不同产甲烷古菌属在滞留前后数量上的改变则主要与过滤器及过滤器后连接管道的管壁生物膜有关,易于被冲刷下来的产甲烷古菌在滞留前的水中数量较大,而在水滞留过程中,生物膜上的产甲烷古菌在膜与水体的长期接触中不断发生着沉积与重新悬浮,从而使滞留后的水中占优势古菌种类数量增多。

二次供水过程中饮用水需经过蓄水池再进入到末端水龙头,其在滞留前后古菌群落主要菌属发生了较大变化,滞留前二次供水龙头水中未鉴定属(*unclassified*)占 87%,而滞留后主要以硝化球菌属(*Nitrososphaera*)为主,占整个古菌群落的 69%,其次为甲烷丝菌属(*Methanothrix*),占古菌群落的 8%。硝化球菌属(*Nitrososphaera*)是一类氨氧化古菌^[30],在水底微生物垫上被发现,可以在寡氨氮的环境下生存,它的出现极有可能与二次供水的蓄水池有关,由于停止水龙头的使用而增长了水在蓄水池中的停留时间,从而引起蓄水池内氨氧化微生物的再生长,进而改变了龙头水中古菌群落结构。有研究表明^[31],氨氧化古菌在管网中的大量存在会造成水质恶化、亚硝酸盐产生、异养菌及条件致病菌的大量繁殖,威胁公众健康。

综上所述,无论采用哪种供水方式,饮用水在管道中的滞留均可引起水质以及微生物群落结构的改变,如细菌群落在饮用水中的检测从无到有,

以及古菌群落结构在滞留前后的明显改变,水滞留甚至还可能引起一些条件致病菌的再生长。因此,水滞留所引发的水质生物稳定性、用水安全问题,以及龙头水中功能性古菌(如产甲烷古菌、氨氧化古菌等)群落结构的变化应引起足够的重视。基于此,在未来的研究中可以尝试探索其他影响因素与水滞留共同作用下对供水末端微生物群落结构的影响,如滞留时间、管材、温度或季节等。此外,还可以进行长期监测,从而得到微生物群落受到水滞留影响的变化规律和生长潜力,进一步丰富和发展相关研究,以为供水安全保障提供相应策略。

3 结论

① 龙头水在滞留前后的水质变化明显。滞留后余氯均显著下降,但是浊度在集中式供水和二次供水的龙头水中都显著升高,甚至超过国家标准。滞留前后 TOC 浓度的变化在不同供水方式的龙头水中表现不一,有必要进一步探究造成其差异的主要原因。

② 滞留前受到余氯作用的影响,在水中并未检测到细菌群落,但是滞留后,随着消毒剂的衰减和长时间水滞留,使得管道水与管壁生物膜等相互作用,龙头水出水中呈现出复杂的细菌群落结构,甚至检测到了一些病原菌和条件致病菌基因的存在,表明滞留后的龙头水存在一定的健康风险。此外,二次供水的龙头水在三种供水方式的出水中表现出细菌物种丰富度最低但生物多样性最高的特点。

③ 饮用水中存在一定数量的古菌,并且其群落组成在滞留前后发生了显著变化。不同供水方式下龙头水呈现出不同的古菌群落结构变化,集中式供水和过滤器出水滞留后的古菌群落主要以产甲烷古菌为主,二次供水方式的龙头水出水主要以氨氧化古菌为主。此外,二次供水的古菌群落与集中式供水和过滤器出水截然不同。古菌的存在以及滞留前后群落结构和种属较大的差别预示着其可能带来潜在的健康风险,在今后饮用水安全应多关注水中古菌种类及其功能。

参考文献:

- [1] LAUTENSCHLAGER K, HWANG C, LIU W T, et al. A microbiology-based multi-parametric approach towards assessing biological stability in drinking water

- distribution networks [J]. *Water Research*, 2013, 47(9): 3015–3025.
- [2] 黄善钦,王圃,王峰青,等. 基于覆盖水量的水质监测点选址模型改进及应用[J]. *中国给水排水*, 2020, 36(11): 46–50, 56.
- HUANG Shanqin, WANG Pu, WANG Fengqing, *et al.* Modification and application of water quality monitoring points location model based on demand coverage [J]. *China Water & Wastewater*, 2020, 36(11): 46–50, 56 (in Chinese).
- [3] LAUTENSCHLAGER K, BOON N, WANG Y Y, *et al.* Overnight stagnation of drinking water in household taps induces microbial growth and changes in community composition [J]. *Water Research*, 2010, 44: 4868–4877.
- [4] ZLATANOVIĆ L, VAN DER HOEK J P, VREEBURG J H G. An experimental study on the influence of water stagnation and temperature change on water quality in a full-scale domestic drinking water system [J]. *Water Research*, 2017, 123: 761–772.
- [5] PREST E I, HAMMES F, VAN LOOSDRECHT M C M, *et al.* Biological stability of drinking water: controlling factors, methods, and challenges [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2016, 7: 45.
- [6] 吴小辉,王旭初. 不同给水管材对住宅自来水水质的影响[J]. *环境与健康杂志*, 2002, 19(2): 127–129.
- WU Xiaohui, WANG Xuchu. Effects of different kinds of water supply pipe material on tap water quality of residence [J]. *Journal of Environmental Health*, 2002, 19(2): 127–129 (in Chinese).
- [7] 陈绍运. 一起生活饮用水突发性污染事件的调查分析[J]. *广西医学*, 2008, 30(2): 229–230.
- CHEN Shaoyun. An investigation of an accidental pollution even of drinking water [J]. *Guangxi Medical Journal*, 2008, 30(2): 229–230 (in Chinese).
- [8] RISEBRO H L, DORIA M F, ANDERSSON Y, *et al.* Fault tree analysis of the causes of waterborne outbreaks [J]. *Journal of Water Health*, 2007, 5(S1): 1–18.
- [9] 胡昌军,胡昌标,陈允喜,等. 城市居民水管滞留水消费行为调查[J]. *卫生研究*, 2006, 35(6): 804.
- HU Changjun, HU Changbiao, CHEN Yunxi, *et al.* Investigation of drinking water stagnation by city residents [J]. *Journal of Hygiene Research*, 2006, 35(6): 804 (in Chinese).
- [10] 王亚军,王进喜,杨亚红,等. 校园生活饮用水管网中水质健康风险评估基础研究[J]. *甘肃科学学报*, 2013, 25(1): 39–41.
- WANG Yajun, WANG Jinxi, YANG Yahong, *et al.* Fundamental research of health risk assessment of drinking water quality for campus life [J]. *Journal of Gansu Science*, 2013, 25(1): 39–41 (in Chinese).
- [11] 马向盛,苏成君,何晓芳,等. 自来水管网生境中细菌多样性的研究[J]. *中国卫生检验杂志*, 2016, 26(17): 2482–2486.
- MA Xiangsheng, SU Chengjun, HE Xiaofang, *et al.* Study on the bacterial diversity in tap water pipe network habitat [J]. *Chinese Journal of Health Laboratory Technology*, 2016, 26(17): 2482–2486 (in Chinese).
- [12] BAL KRISHAN K C, SATHASIVAN A, GINIGE M. Microbial community changes with decaying chloramine residuals in a lab-scale system [J]. *Water Research*, 2013, 47(13): 4666–4679.
- [13] SARKER D, SATHASIVAN A, JOLL C A, *et al.* Modelling temperature effects on ammonia-oxidizing bacterial biostability in chloraminated systems [J]. *Science of the Total Environment*, 2013, 454/455: 88–98.
- [14] JU F, ZHANG T. 16S rRNA gene high-throughput sequencing data mining of microbial diversity and interactions [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2015, 99(10): 4119–4129.
- [15] RAHMATIKA I, KASUGA I, KURISU F, *et al.* Impacts of organic matter migrating from pipe materials on microbial regrowth in drinking water [J]. *Journal of Water and Environment Technology*, 2020, 18(1): 45–53.
- [16] DOUTERELLO I, JACKSON M, SOLOMON C, *et al.* Microbial analysis of in situ biofilm formation in drinking water distribution systems: implications for monitoring and control of drinking water quality [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2016, 100(7): 3301–3311.
- [17] 林佳,李赫龙,苏玉萍,等. 溪源水库蓄水前后冬春季水体营养盐和浮游植物特征研究[J]. *中国环境监测*, 2016, 32(6): 43–49.
- LIN Jia, LI Helong, SU Yuping, *et al.* Study on the nutrients and phytoplankton communities of Xiuyan Reservoir before and after impoundment in winter and spring [J]. *Environmental Monitoring in China*, 2016, 32(6): 43–49 (in Chinese).
- [18] 生态环境部. 水质 细菌总数的测定 平皿计数法: HJ 1000—2018 [S]. 北京: 中国环境出版社, 2019.

- Ministry of Ecology and Environment. Water Quality—Determination of Total Bacteria—Plate Count Method: HJ 1000-2018 [S]. Beijing: China Environmental Press, 2019(in Chinese).
- [19] 顾夏声,胡洪营,文湘华,等. 水处理生物学 [M]. 5 版. 北京:中国建筑工业出版社,2011.
- GU Xiasheng, HU Hongying, WEN Xianghua, *et al.* Water Treatment Biology [M]. 5th ed. Beijing: China Building Industry Press, 2011(in Chinese).
- [20] EDGAR R C. Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST[J]. Bioinformatics, 2010, 26(19): 2460-2461.
- [21] 李欣,宋雪峰,赵洪宾. 配水管网水质变化的研究(II)——余氯消耗动力学机制的研究[J]. 哈尔滨建筑大学学报,1999,32(3):52-56.
- LI Xin, SONG Xuefeng, ZHAO Hongbin. Studying of the chlorine decay in water distribution system [J]. Journal of Harbin University of Civil Engineering & Architecture, 1999, 32(3): 52-56(in Chinese).
- [22] NIU J, KASUGA I, KURISU F, *et al.* Abundance and diversity of ammonia-oxidizing archaea and bacteria on granular activated carbon and their fates during drinking water purification process[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2016, 100:729-742.
- [23] 孟秀花,李永青,吴恬. 不同材质水箱贮存水微生物学指标变化规律的研究[J]. 西南给排水,2004,26(6):36-38.
- MENG Xiuhua, LI Yongqing, WU Tian. Study on the microbial changes in the water of tanks with different material[J]. Southwest Water & Wastewater, 2004, 26(6):36-38(in Chinese).
- [24] 宁伟. 城市供水管网二次污染的原因及对策分析[J]. 中国新技术新产品, 2016, 4: 133-134.
- NING Wei. Investigation of the causes and countermeasures of secondary pollution of urban water supply system [J]. China New Technologies and Products, 2016, 4:133-134(in Chinese).
- [25] LING F Q, WHITAKER R, LECHEVALLIER M W, *et al.* Drinking water microbiome assembly induced by water stagnation [J]. The ISME Journal, 2018, 12: 1520-1531.
- [26] WANG H, EDWARDS M, FALKINHAM J O, *et al.* Molecular survey of the occurrence of *Legionella* spp., *Mycobacterium* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, and amoeba hosts in two chloraminated drinking water distribution systems [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2012, 78(17): 6285-6294.
- [27] ROY D, MCEVOY J, KHAN E. Abundance and activity of ammonia oxidizing archaea and bacteria in bulk water and biofilm in water supply systems practicing chlorination and chloramination: full and laboratory scale investigations [J]. Science of the Total Environment, 2020, 715: 137043.
- [28] RAJEEV M, SUSHMITHA T J, PRASATH K G, *et al.* Systematic assessment of chlorine tolerance mechanism in a potent biofilm forming marine bacterium *Halomonas boliviensis* [J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2020, 151: 104967.
- [29] GALAND P E, SAARNIO S, FRITZE H, *et al.* Depth related diversity of methanogen archaea in Finnish oligotrophic fen [J]. FEMS Microbiology Ecology, 2002, 42(3): 441-449.
- [30] HATZENPICHLER R. Diversity, physiology, and niche differentiation of ammonia-oxidizing archaea [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2012, 78(21): 7501-7510.
- [31] VAN DER WIELEN P W J J, VOOST S, VAN DER KOOIJ D. Ammonia-oxidizing bacteria and archaea in groundwater treatment and drinking water distribution system [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2009, 75(14): 4687-4695.

作者简介:牛佳(1985-),女,山西太原人,博士,副教授,主要从事饮用水安全保障、水处理工艺及其生物学过程研究。

E-mail:niujia2221@126.com

收稿日期:2020-06-24

修回日期:2020-08-01

(编辑:李德强)