

饮用水砂滤池中微生物对微量污染物的降解潜力与途径

周洁^{1,2}, 王东麟^{1,2}, 林慧^{1,2}, 柏耀辉^{2*}

(1. 中国科学院生态环境研究中心饮用水科学与技术重点实验室, 北京 100085; 2. 中国科学院大学资源与环境学院, 北京 100049)

摘要: 砂滤池已广泛应用于饮用水处理中, 已有研究证明砂滤池能有效降解部分微量污染物, 但对其降解途径和降解微生物缺乏深入探讨. 据此, 本研究首先采集 2 个实际饮用水厂滤池中的石英砂和锰砂滤料, 通过宏基因组分析了滤料对阿替洛尔、阿特拉津、磺胺嘧啶和卡马西平的降解基因和相关降解微生物. 结果表明, 锰砂滤池生丝微菌科和石英砂滤池中的假单胞菌属具有将阿特拉津转化为羟基阿特拉津的潜力; 砂滤池含多种分泌阿替洛尔酰胺水解酶的微生物, 具有将阿替洛尔转换为阿替洛尔酸的能力; 在滤池中广泛存在单、双加氧酶和细胞色素 P450, 能将阿特拉津、磺胺嘧啶和卡马西平氧化. 进一步通过培养实验验证了滤料对这 4 种微量污染物的降解途径. 本研究最后对其它 9 个实际水厂砂滤池滤料的宏基因组分析发现所有砂滤池都含有丰富的酰胺水解酶、加氧酶和细胞色素 P450, 说明饮用水砂滤池都具有降解多种微量污染物的潜力.

关键词: 砂滤池; 微生物群落; 微量污染物; 宏基因组; 降解途径

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2021)12-5905-07 DOI: 10.13227/j.hjx.202104043

Microbial Degradation Potential and Transformation Pathway of Micropollutants in Sand Filters of Drinking Water Treatment Plants

ZHOU Jie^{1,2}, WANG Dong-lin^{1,2}, LIN Hui^{1,2}, BAI Yao-hui^{2*}

(1. Key Laboratory of Drinking Water Science and Technology, Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China; 2. College of Resources and Environment, University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: Sand filters have been widely used in drinking water treatments. Previous studies have demonstrated that sand filters can degrade some micropollutants. However, the degradation pathway and associated microorganisms have not been clearly investigated. Accordingly, in this study, the quartz sands and manganese sands from two drinking water treatment plants were sampled, and their biodegradation genes for four micropollutants (atrazine, atenolol, sulfadiazine, and carbamazepine) and associated microbial strains were analyzed. Metagenomic results showed that the bacterial strains affiliated with Hyphomicrobiaceae in the manganese sand filter and *Pseudomonas* strains in the quartz sand filter can transform the atrazine into atrazine-2-hydroxy; atenolamide hydrolase of some microorganisms in the two sand filters can transform atenolol into atenolol acid; and monooxygenase, dioxygenase and cytochrome P450, which can oxidize atrazine, sulfadiazine, and carbamazepine, were widely present in the two sand filters. The study further confirmed the biodegradation pathways of these four micropollutants according to the measurements of transformation intermediates in the cultivation experiment. Finally, the study analyzed the biodegradation genes in the other nine sand filters of drinking water treatment plants and found that abundant amidohydrolase, oxygenase, and cytochrome P450 were present in all sand filters, indicating that sand filters have the potential to biodegrade a number of micropollutants.

Key words: sand filters; microbial community; micropollutants; metagenomic; biodegradation pathway

砂滤池在世界范围内广泛应用于饮用水处理中. 最初对砂滤池净水原理的认识仅限于物理过滤作用, 认为滤料的孔隙能有效截留水中的微生物和部分化学污染物, 并且滤料自身具有的吸附能力能有效促进污染物的去除^[1]. 近些年来的研究表明截留的微生物在贫营养且间断性水力冲击的条件下能缓慢生长, 并在滤料表面形成一层生物膜, 而这层生物膜可以去除氨氮和有机物, 且能调控滤池出水中的微生物物种组成^[2,3].

有研究证明, 砂滤池能去除多种难降解的微量污染物^[4-9]. 如在空床接触时间为 0~60 h 范围内时, 慢速生物砂滤池对 7 种微量污染物(双氯芬酸、普萘洛尔、碘普罗明、碘己醇、碘美普罗、戊康唑和丙环唑)的去除规律符合一级动力学^[4]. Zearley 等^[5]的研究发现, 快速砂滤池对 19 种微量污染物如咖啡因、阿特拉津、卡马西平、萘普生和甲氧苄啶等的去

除也遵循一级动力学方程. 研究在模拟生物滤池反应器中投加 29 种微量污染物, 发现其中有 11 种可以被生物去除, 包括阿替洛尔、咖啡因和萘普生等, 而卡马西平、阿特拉津和磺胺甲噁唑等 13 种物质在生物滤池中具有抗性, 难以被生物去除^[6]. 在以地下水为水源的快速砂滤池中, 氯丙酸在滤池吸附和微生物的共同作用下由 $0.037 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 降至 $<0.010 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ^[7]; 除草剂苯达松在初始浓度较低时 ($<10 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) 去除率高达 92%, 其生物转化作用与甲烷氧化菌和异养菌的活性有关, 降解产物为羧基苯达松^[8]. 此外, 有研究还发现在滤池中加入 *Aminobacter* sp. MSH1 菌株, 能强化去除地下水中 2,6-二氯苯甲

收稿日期: 2021-04-06; 修订日期: 2021-05-13

基金项目: 国家自然科学基金项目(51778603)

作者简介: 周洁(1994-), 女, 硕士, 主要研究方向为饮用水处理和环境微生物学. E-mail: jiezhou_st@reces.ac.cn

* 通信作者 E-mail: yhbai@reces.ac.cn

酰胺,并将 2- β -二氯苯甲酰胺矿化为 CO_2 、 NH_4^+ 和 Cl^- [9].

尽管以往研究表明微生物是砂滤池去除微量污染物的一个关键部分,但:①何为微生物对微量污染物的降解途径?②其具体的降解微生物有哪些?仍不清楚.为回答以上科学问题,本研究结合液相质谱分析和宏基因组学技术,解析了砂滤池微生物对典型微量污染物的潜在去除机制,通过明确砂滤池中微生物在微量污染物去除中的作用,加深了人们对饮用水砂滤池净水作用的基础认知.

1 材料与方法

1.1 微量污染物降解数据库的构建

根据已有报道和 *enviPath* [10] 数据库确定微生物对 4 种目标微量污染物的降解基因(酶).进一步在 GenBank、KEGG 和 Swiss-Prot 这 3 个数据库中下载相关的 DNA 序列和蛋白序列,整合为一个目标微量污染物微生物降解基因(酶)参考数据库.

1.2 滤料采集和宏基因组分析

本研究以江苏刘湾净水厂和内蒙古通新净水厂的砂滤池为研究对象.江苏刘湾净水厂以地表水为水源,砂滤池采用石英砂滤料,内蒙古通新净水厂以地下水为水源,砂滤池采用锰砂滤料.为保证足够的生物量,在砂滤池反冲洗前采集滤料并低温保存运回实验室.使用土壤 DNA 提取试剂盒 (DNeasy PowerMax Soil Kit, QIAGEN, Germany) 提取滤料中的 DNA,并委托华大基因进行宏基因组测序,序列去除污染后进行以下生物信息学分析.

(1) 组装和分箱 利用 MEGAHIT (v1.1.3) 将 4 个样本(2 个石英砂滤料和 2 个锰砂滤料)宏基因组短序列 [(4.96 ± 0.09) Gbp] 进行组装.使用 MetaBAT [11]、CONCOCT [12] 和 MaxBin [13] 分别将组装序列聚类得到宏基因组草图 (metagenome-assembled genomes, MAGs). 锰砂和石英砂滤料的 DNA 序列使用上述软件进行单个样本组装和所有样本混合组装并生成微生物基因组草图,使用 MetaWRAP 中的 bin_refine 模块对每个样品的 MAGs 进行筛选 [14] (完整性 > 50%; 污染率 < 10%), 获得高质量的 MAGs. 然后将所有样品 MAGs 合并并用 dRep [15] 去冗余 (完整性 > 50%; 污染率 < 10%), 最终形成一个非冗余的基因组集.

(2) 使用基因组分类数据库 (gtdbtk_r86_v3_data.tar.gz) 对非冗余基因组 MAGs 进行注释,非冗余基因组集在每个样本中的相对丰度的计算方法参考前人的研究 [BBMap (v38.43)] [16]. 采用 SingleMv0.13.2 (<https://github.com/wwood/>

singlem) 评估 MAGs 的群落代表度.

1.3 含微量污染物原水的配置

阿替洛尔 (atenolol, $\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_3$) 购于上海阿拉丁生化科技股份有限公司,阿特拉津 (atrazine, $\text{C}_8\text{H}_{14}\text{ClN}_5$)、磺胺嘧啶 (sulfadiazine, $\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{N}_4\text{O}_2\text{S}$) 和卡马西平 (carbamazepine, $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}$) 购于上海麦克林生化科技有限公司.阿替洛尔酸 (atenolol acid, $\text{C}_{14}\text{H}_{21}\text{NO}_4$)、羟基阿特拉津 (hydroxyatrazine, $\text{C}_8\text{H}_{15}\text{N}_5\text{O}$)、脱乙基阿特拉津 (deethylatrazine, $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{ClN}_5$)、脱异丙基阿特拉津 (deisopropylatrazine, $\text{C}_5\text{H}_8\text{ClN}_5$)、卡马西平-10,11-环氧化物 (carbamazepine-10,11-epoxide, $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_2$)、亚氨基芪 (iminostilbene, $\text{C}_{14}\text{H}_{11}\text{N}$) 和 2-氨基嘧啶 (2-aminopyrimidine, $\text{C}_4\text{H}_5\text{N}_3$) 标准品购于天津阿尔塔科技有限公司.选择阿替洛尔、阿特拉津、磺胺嘧啶和卡马西平这 4 种物质用超纯水配置成初始浓度为 $20 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的微量污染物溶液.

1.4 滤料培养实验

在 150 mL 锥形瓶中分别加入 5.0 g 采集的表面附着生物膜的石英砂和锰砂滤料,并加入 50 mL 配置的微量污染物溶液.将锥形瓶放置在 30°C $170 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 的摇床中振荡培养,在 2、4、8、18、24 和 48 h 时采集 1.0 mL 混合液,经 $0.45 \mu\text{m}$ 滤头过滤后用于微量污染物降解产物的测定.另外,将 120°C 高温灭菌后的石英砂和锰砂滤料作为无微生物作用的对照组同步进行培养.本实验设 3 个重复.

1.5 微量污染物和中间产物的浓度测定

采用超高效液相色谱串联四级杆质谱联用仪测定 (Ultimate 3000 HPLC, Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA) 微量污染物的浓度.以 Hypersil GOLD (2.1 mm × 100 mm, particle size 1.8 μm , Thermo Scientific, Bellefonte, USA) 为色谱柱,采用二元梯度体系(流动相 A 为含 0.1% 甲酸的超纯水;流动相 B 为 HPLC 级乙腈).在 0 ~ 12 min 内,流动相 B 溶剂梯度为 5% ~ 95%,然后在 95% 上维持 15 min. HPLC 与 TSQ Altis 三重四级杆质谱仪 (Thermo Scientific, San Jose, CA, USA) 的电喷雾电离探针 (ESI) 相连接,在 SRM 模式下操作.以氮气为保护气体和辅助气体,以氩气 (1.5 mTorr) 为碰撞气体,在喷雾电压为 3 800 V (正模式),毛细管温度为 350°C 进行操作.水样中目标微量污染物中间产物的定量方法采用外标法.在每个实验批次中随机抽取样品进行加标回收率实验(加标浓度为 $5 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) 作为质量控制.相对标准偏差的最大范围在 15% 以内.

1.6 9 个饮用水砂滤池对典型微量污染物的降解途径分析

利用 Usearch v10.0.240 (-ublast-accel 0.8) 将以往本实验室获取的 9 个饮用水砂滤池的宏基因组序列与微量污染物降解基因/酶参考数据库和 16S rRNA 基因数据库 GraftM v0.13.1^[17] 分别进行比对, 确定每个滤料样品中微量污染物降解基因和 16S rRNA 基因的拷贝数. 进一步将每个样品中所有与数据库参考序列比对上的序列的长度相加, 然后除以参考序列的长度, 获得每个样品中该降解功能基因的平均拷贝数. 通过将每个功能基因的拷贝数除以 16S rRNA 基因的拷贝数获得其丰度 (gene copy numbers per 16S rRNA gene).

2 结果与讨论

2.1 微量污染物降解基因/酶数据库的构建

根据前人的研究, 明确了 4 种典型微量污染物

的微生物降解途径、基因和相关微生物(表 1), 并将参与生物转化过程的基因和酶构建成微量污染物微生物降解基因(酶)参考数据库. 其中, 除草剂阿特拉津在环境中的生物降解的途径有两种, 一是在阿特拉津氯水解酶的作用下转化成羟基阿特拉津^[18~22], 二是在细胞色素 P450 的作用下氧化生成脱异丙基阿特拉津和脱乙基阿特拉津^[23, 24]. 微生物对阿替洛尔的去毒机制研究报道较少, 目前仅已知阿替洛尔能够被一级酰胺水解后转化成阿替洛尔酸^[25]. 磺胺嘧啶可以被单加氧酶氧化生成 2-氨基嘧啶和 4-羟基-2-氨基嘧啶^[26~28]. 卡马西平能被 *Paraburkholderia xenovorans* LB400 分泌的联苯双加氧酶快速氧化^[29]. *Labrys portucalensis* F11 在卡马西平为单一碳源时在 30 d 内可转化 95.4% 的卡马西平, 氧化生成卡马西平-10, 11-环氧化物和亚氨基芪. 细菌主要通过分泌细胞色素 P450 参与卡马西平的氧化过程^[30].

表 1 微量污染物生物降解基因(宿主)、酶和途径

Table 1 Biodegradation genes (their hosts), enzymes, and pathways of selected micropollutants

微量污染物	基因	宿主	酶	降解途径	文献
阿特拉津	<i>atzABCDEF</i>	<i>Pseudomonas</i> sp. strain ADP	阿特拉津氯水解酶	阿特拉津 → 羟基阿特拉津	[18~22]
	<i>trzN</i>	<i>Klebsiella variicola</i> strain FH-1			
	<i>thcB</i>	<i>Rhodococcus</i> spp. NI86/21	细胞色素 P450	阿特拉津 → 脱异丙基阿特拉津 + 脱乙基阿特拉津	[23, 24]
磺胺嘧啶	<i>sadABC</i>	<i>Achromobacter</i> sp. strain D2/D4 <i>Microbacterium</i> sp.	FMNH2 依赖性单加氧酶	磺胺嘧啶 → 2-氨基嘧啶 + 4-羟基-2-氨基嘧啶	[26~28]
阿替洛尔	/	<i>Betaproteobacteria</i> sp.	阿替洛尔酰胺水解酶	阿替洛尔 → 阿替洛尔酸	[25]
卡马西平	/	<i>Paraburkholderia xenovorans</i> LB400	联苯双加氧酶	卡马西平 → 顺式-10, 11-二羟基-10, 11-二氢卡马西平 + 顺式-2, 3-二羟基-2, 3-二氢卡马西平	[29]
	/	<i>Labrys portucalensis</i> F11	细胞色素 P450	卡马西平 → 卡马西平-10, 11-环氧化物 + 亚氨基芪	[30]

2.2 砂滤池中滤料生物膜降解微量污染物潜力

将滤料宏基因组获取的 MAGs 与参考数据库比对分析发现 [图 1(a)], 锰砂滤池和石英砂滤池中都有含 *atzA* 基因的微生物, 说明两种砂滤池中的微生物具有分泌阿特拉津氯水解酶的能力, 能够将阿特拉津转化为羟基阿特拉津. 其中锰砂滤池中的生丝微菌科菌株和石英砂滤池中的假单胞菌属是主要的潜在阿特拉津降解菌. 同时, 砂滤池中也检测到能够分泌细胞色素 P450 的生丝微菌属与 *Methylotenera* 等菌株, 说明阿特拉津在砂滤池中也可能被氧化为脱乙基阿特拉津和脱异丙基阿特拉津.

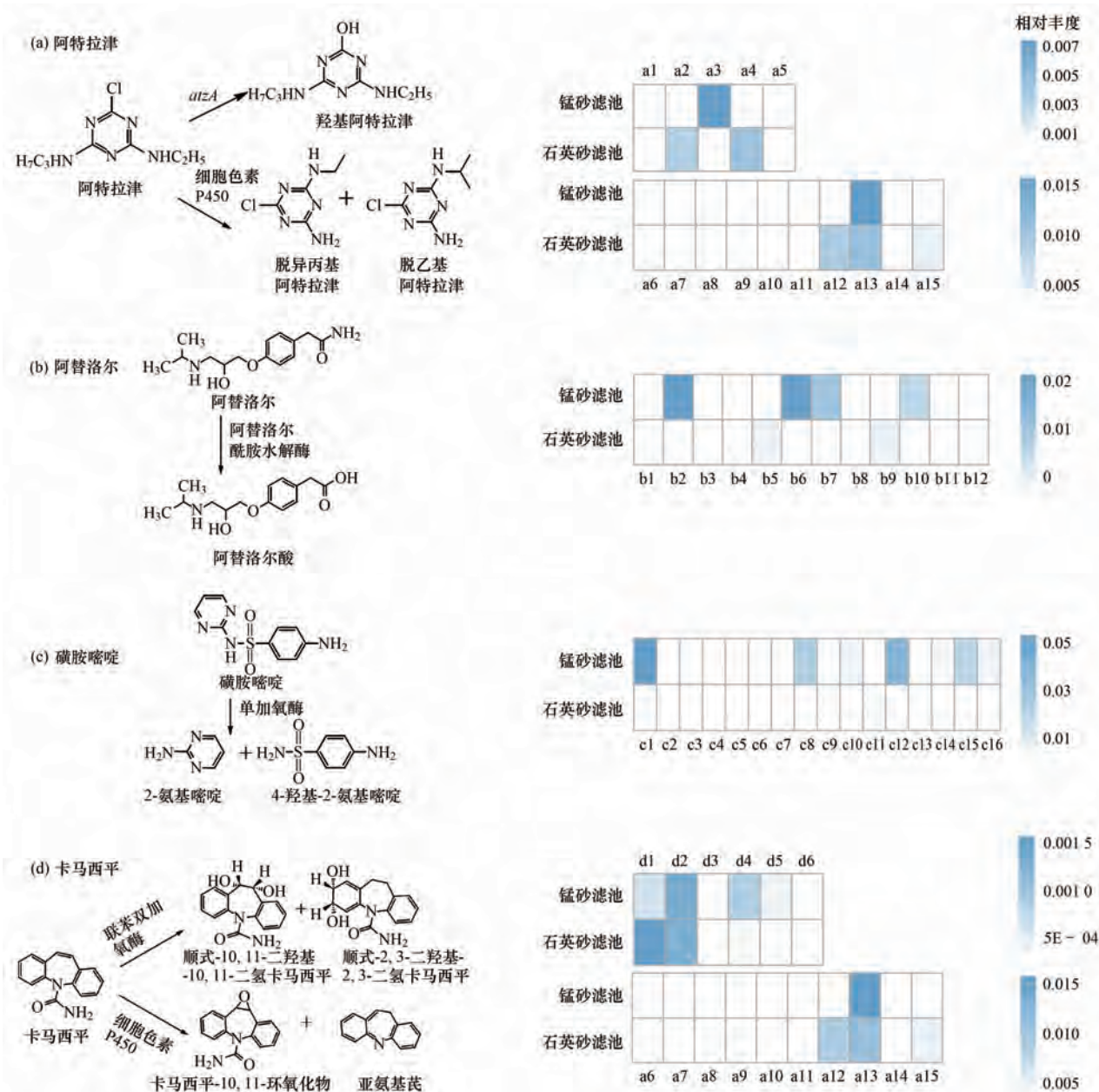
两个砂滤池的微生物群落中含有丰富的分泌阿替洛尔酰胺水解酶的微生物 [图 1(b)], 其中亚硝化单胞菌属、根瘤菌科、生丝微菌科和根瘤菌属的微生物在锰砂滤池中的相对丰度高于石英砂滤池.

单加氧酶能够参与多种物质的氧化过程, 包括磺胺类抗生素的氧化. 两个砂滤池中共检测到 16 个科/属含有单加氧酶, 其中以锰砂滤料中的亚硝化单胞菌属、产硫酸杆菌属和根瘤菌科的相对丰度较高 [图 1(c)]. 两种滤池中微生物群落分布的差异主要是由于其进水水源不同(地下水与地表水).

卡马西平能在联苯双加氧酶和细胞色素 P450 酶的作用下被氧化, 具有分泌联苯单加氧酶的能力的微生物在砂滤池中的相对丰度较低 ($6.14 \times 10^{-6} \% \sim 1.66 \times 10^{-3} \%$), 推测卡马西平在砂滤池中的降解潜力较弱.

2.3 微量污染物的生物降解途径验证

通过高效液相色谱-串联质谱法分析了滤料培养实验中微生物对阿特拉津、阿替洛尔、磺胺嘧啶和卡马西平的降解中间产物, 结果如图 2 所示. 鉴定到的阿特拉津降解中间产物分别为羟基阿特拉津、脱



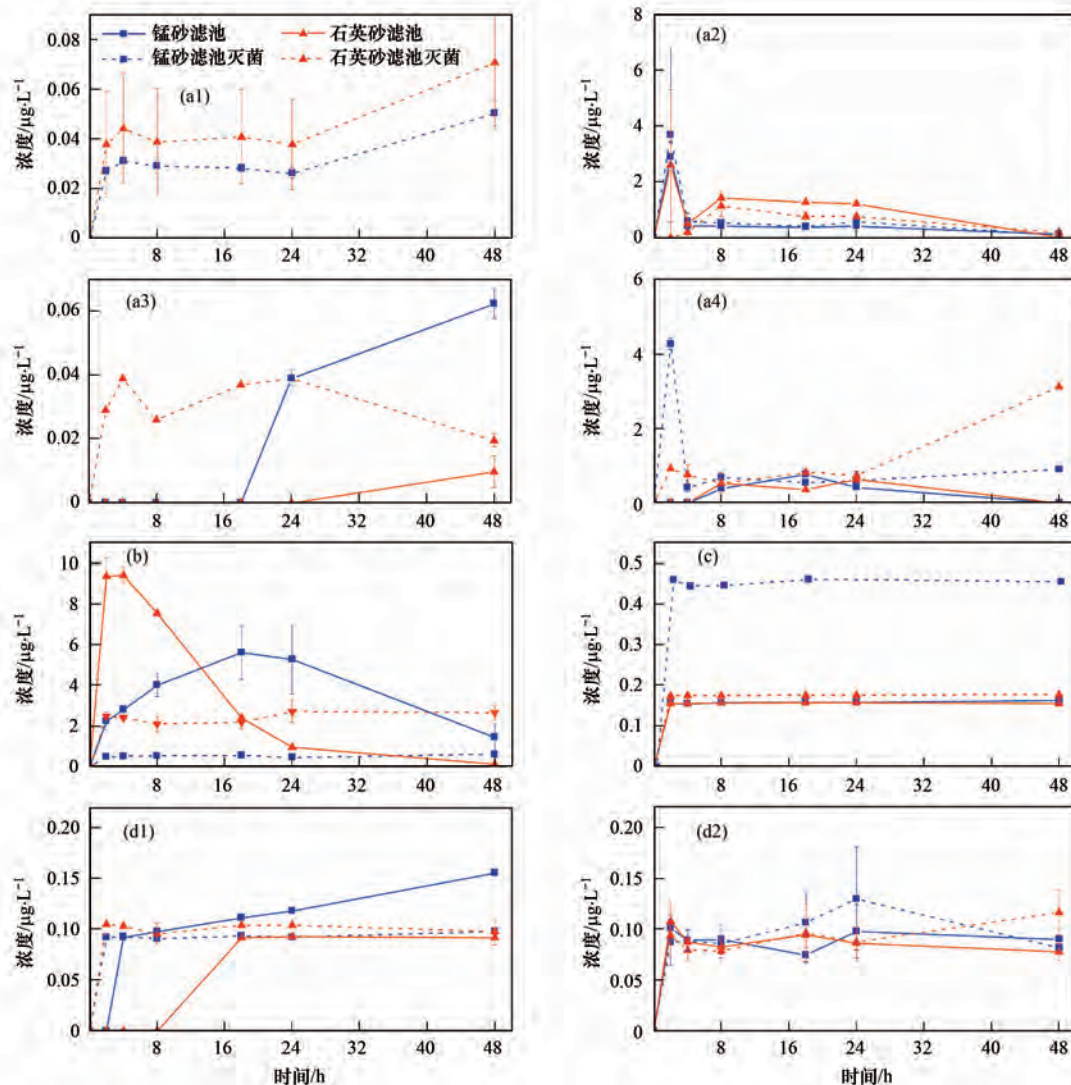
a1. *g_Pseudaminobacter*, a2. *o_Acetobacterales*, a3. *f_Hyphomicrobiaceae*, a4. *g_Pseudomonas*, a5. *f_Dongiaceae*, a6. *g_Archangium*, a7. *g_Vitreoscilla*, a8. *g_Chthoniobacter*, a9. *g_Sphingobium*, a10. *g_Pseudomonas*, a11. *g_Methyloversatilis*, a12. *g_Methylothenera*, a13. *g_Hyphomicrobium*, a14. *g_Piscinibacter*, a15. *g_Shewanella*, b1. *g_Pseudomonas*, b2. *g_Nitrosomonas*, b3. *g_Piscinibacter*, b4. *g_Hydrogenophaga*, b5. *g_Shewanella*, b6. *f_Rhizobiaceae*, b7. *f_Hyphomicrobiaceae*, b8. *g_Vitreoscilla*, b9. *f_Reyranellaceae*, b10. *g_Mesorhizobium*, b11. *g_Methylophilus*, b12. *g_Methyloversatilis*, c1. *g_Nitrosomonas*, c2. *g_Methyloversatilis*, c3. *g_Novimethylophilus*, c4. *g_Piscinibacter*, c5. *g_Sulfuritalea*, c6. *g_Pseudomonas*, c7. *g_Hydrogenophaga*, c8. *g_Thiobacillus*, c9. *g_Rubrivivax*, c10. *g_Hyphomicrobium*, c11. *g_Flavobacterium*, c12. *f_Hyphomicrobiaceae*, c13. *f_Burkholderiaceae*, c14. *f_Gallionellaceae*, c15. *f_Rhizobiaceae*, c16. *f_Andersenellaceae*, d1. *f_Beijerinckiaceae*, d2. *f_Bryobacteraceae*, d3. *f_Sphingomonadaceae*, d4. *g_Pseudoxanthomonas*, d5. *g_Hydrogenophaga*, d6. *f_Hyphomonadaceae*

图1 阿特拉津、阿替洛尔、磺胺嘧啶和卡马西平在砂滤池中的潜在转化途径和潜在降解菌

Fig. 1 Potential transformation pathways of atrazine, atenolol, sulfadiazine, carbamazepine, and associated bacteria in sand filters

异丙基阿特拉津、脱乙基阿特拉津和脱乙基脱异丙基阿特拉津 [图 2 (a)]. 灭菌后的石英砂和锰砂培养 2 h 后有羟基阿特拉津生成,而未灭菌的滤料在培养过程中未发现羟基阿特拉津的产生,推测其可能被微生物快速利用.同时,灭菌和未灭菌培养实验都能检测到脱异丙基阿特拉津的生成,但脱异丙基

阿特拉津在 4 h 后浓度下降,说明此时脱异丙基阿特拉津开始降解,48 h 后为 $(0.02 \pm 0.02) \sim (0.20 \pm 0.02) \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$. 脱乙基阿特拉津的检出浓度较低,在 $0 \sim (0.06 \pm 0.005) \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 之间,但它的下一步转化产物脱乙基脱异丙基阿特拉津检出浓度较高,可达 $(4.27 \pm 0.16) \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$. 因此,阿特拉津在砂滤池



(a1) 羟基阿特拉津 (a2) 脱异丙基阿特拉津 (a3) 脱乙基阿特拉津 (a4) 脱乙基脱异丙基阿特拉津, (b) 阿替洛尔 (c) 2-氨基嘧啶 (d1) 卡马西平-10,11-环氧化物 (d2) 亚氨基苄

图2 石英砂和锰砂滤料培养后阿特拉津、阿替洛尔、磺胺嘧啶和卡马西平的转化产物分析

Fig. 2 Analysis of biotransformation products of atrazine, atenolol, sulfadiazine, and carbamazepine after cultivation of biofilmed quartz-sands and manganese-sands

的微生物降解主要是依靠氧化作用。

对于阿替洛尔的降解,结果发现[图2(b)],灭菌后的石英砂和锰砂滤料培养后产生的阿替洛尔酸较少且浓度较稳定[2~48 h内石英砂滤料中为 $(2.10 \pm 0.36) \sim (2.72 \pm 0.55) \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$; 锰砂滤料中为 $(0.46 \pm 0.01) \sim (0.61 \pm 0.02) \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$],而未灭菌的石英砂培养后生成的 ρ (阿替洛尔酸)较高,2 h后可达到 $(9.38 \pm 0.87) \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$,在4 h后浓度开始下降,48 h后为 $(0.12 \pm 0.01) \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。锰砂培养后阿替洛尔酸的生成较石英砂慢,在0~18 h内 ρ (阿替洛尔酸)逐渐升高直至 $(5.63 \pm 1.32) \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$,之后开始下降,48 h为 $(1.45 \pm 0.67) \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。这些结果表明微生物降解和转化阿替洛尔酸占主导地位。

灭菌和未灭菌的锰砂和石英砂滤料培养后都能

检测到2-氨基嘧啶的产生[图2(c)],但灭菌后的滤料中2-氨基嘧啶的浓度明显较未灭菌的高,且都在2 h后浓度达到稳定,说明微生物可能利用了2-氨基嘧啶作为生长的碳氮源。

对于卡马西平的降解,结果发现未灭菌的锰砂培养后卡马西平-10,11-环氧化物的浓度明显高于灭菌后[图2(d1)],且其浓度在未灭菌的锰砂培养中呈上升趋势,与灭菌后的锰砂培养趋势明显不同,说明微生物主导了卡马西平转化为卡马西平-10,11-环氧化物的过程。未灭菌的石英砂培养后8 h内未检测到卡马西平-10,11-环氧化物的生成,但灭菌后的石英砂中有检出,推测可能是由于微生物将生成的卡马西平-10,11-环氧化物进一步转化为其它产物。结果同时发现灭菌后的锰砂和石英砂培养中亚氨基苄的浓度高于未灭菌[图2(d2)],这可能是

滤料中的微生物将亚氨基芪进一步转化. 由于没有顺式-10,11-二羟基-10,11-二氢卡马西平和顺式-2,3-二羟基-2,3-二氢卡马西平的标准品,故未能鉴定卡马西平在联苯双加氧酶作用下的转化途径.

2.4 不同水厂砂滤池对微量污染物的降解途径解析

为了研究饮用水砂滤池中微量污染物降解途径的特征,将本实验室前期在全国范围内9座饮

用水厂快速砂滤池的宏基因组测序样品与4种微量污染物生物降解基因/酶数据库进行比对分析. 结果发现砂滤池微生物组中含有丰富的酰胺水解酶、单加氧酶和细胞色素P450,说明饮用水砂滤池都具有降解典型微量污染物的潜力(图3). 但分泌阿特拉津水解酶的 *atzAB* 基因的丰度较低,推测砂滤池微生物对阿特拉津的水解作用贡献较小[图3(a)].

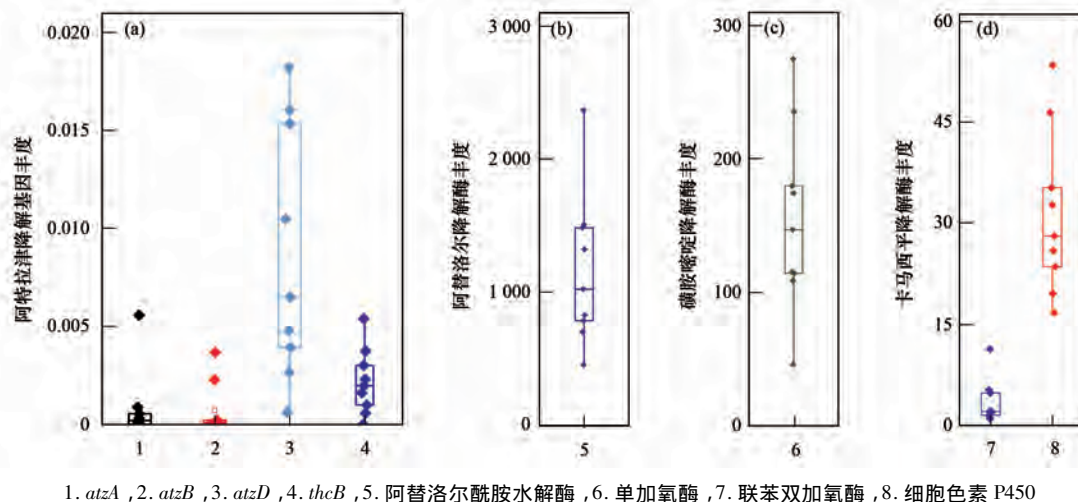


Fig. 3 Biodegradation potentials and pathways of four micropollutants by the sand filters in nine drinking water treatment plants

3 结论

(1) 依据以往文献报道和现有核酸数据库,构建了4种微量污染物微生物降解基因(酶)参考数据库.

(2) 通过滤料宏基因组序列与参考数据库比对分析,发现锰砂滤池生丝微菌科菌株和石英砂滤池中的假单胞菌菌株具有将阿特拉津转化的潜力;砂滤池含多种分泌阿替洛尔酰胺水解酶的微生物,如亚硝化单胞菌属与生丝微菌属;在滤池中广泛存在单、双加氧酶和细胞色素P450,能将阿特拉津、磺胺嘧啶和卡马西平氧化.

(3) 滤料培养实验确定了砂滤池中4种典型微量污染物的降解途径,分别为阿特拉津转化为羟基阿特拉津、脱异丙基阿特拉津、脱乙基阿特拉津和脱乙基脱异丙基阿特拉津;阿替洛尔转化为阿替洛尔酸;磺胺嘧啶被氧化成2-氨基嘧啶;卡马西平被氧化成卡马西平-10,11-环氧化物和亚氨基芪.

(4) 将全国范围内9座饮用水厂快速砂滤池的宏基因组测序样品与参考数据库进行比对分析,发现砂滤池微生物组中含有丰富的酰胺水解酶、单加氧酶和细胞色素P450,说明饮用水砂滤池普遍具有降解典型微量污染物的潜力.

参考文献:

- [1] U. S. EPA. Technologies for upgrading existing or designing new drinking water treatment facilities [M]. Washington, DC: Environmental Protection Agency, 1990.
- [2] Bai Y H, Liu R P, Liang J S, *et al.* Integrated metagenomic and physicochemical analyses to evaluate the potential role of microbes in the sand filter of a drinking water treatment system [J]. *PLoS One*, 2013, **8**(4), doi: 10.1371/journal.pone.0061011.
- [3] Pinto A J, Xi C W, Raskin L. Bacterial community structure in the drinking water microbiome is governed by filtration processes [J]. *Environmental Science & Technology*, 2012, **46**(16): 8851-8859.
- [4] Casas M E, Bester K. Can those organic micro-pollutants that are recalcitrant in activated sludge treatment be removed from wastewater by biofilm reactors (slow sand filters)? [J]. *Science of the Total Environment*, 2015, **506-507**: 315-322.
- [5] Zearley T L, Summers R S. Removal of trace organic micropollutants by drinking water biological filters [J]. *Environmental Science & Technology*, 2012, **46**(17): 9412-9419.
- [6] Carpenter C M G, Helbling D E. Removal of micropollutants in biofilters: Hydrodynamic effects on biofilm assembly and functioning [J]. *Water Research*, 2017, **120**: 211-221.
- [7] Hedegaard M J, Arvin E, Corfitzen C B, *et al.* Mecrop (MCP) removal in full-scale rapid sand filters at a groundwater-based waterworks [J]. *Science of the Total Environment*, 2014, **499**: 257-264.
- [8] Hedegaard M J, Deliniere H, Prasse C, *et al.* Evidence of co-metabolic bentazone transformation by methanotrophic enrichment from a groundwater-fed rapid sand filter [J]. *Water Research*, 2018, **129**: 105-114.

- [9] Ellegaard-Jensen L, Horemans B, Raes B, et al. Groundwater contamination with 2, 6-dichlorobenzamide (BAM) and perspectives for its microbial removal [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2017, **101**(13): 5235-5245.
- [10] Wicker J, Lorschbach T, Gutlein M, et al. enviPath-The environmental contaminant biotransformation pathway resource [J]. Nucleic Acids Research, 2016, **44**(D1): D502-D508.
- [11] Kang D D, Froula J, Egan R, et al. MetaBAT, an efficient tool for accurately reconstructing single genomes from complex microbial communities [J]. PeerJ, 2015, **3**, doi: 10.7717/peerj.1165.
- [12] Alneberg J, Bjarnason B S, de Bruijn I, et al. Binning metagenomic contigs by coverage and composition [J]. Nature Methods, 2014, **11**(11): 1144-1146.
- [13] Wu Y W, Tang Y H, Tringe S G, et al. MaxBin: an automated binning method to recover individual genomes from metagenomes using an expectation-maximization algorithm [J]. Microbiome, 2014, **2**(1), doi: 10.1186/2049-2618-2-26.
- [14] Uritskiy G V, DiRuggiero J, Taylor J. MetaWRAP—a flexible pipeline for genome-resolved metagenomic data analysis [J]. Microbiome, 2018, **6**(1), doi: 10.1186/s40168-018-0541-1.
- [15] Olm M R, Brown C T, Brooks B, et al. dRep: a tool for fast and accurate genomic comparisons that enables improved genome recovery from metagenomes through de-replication [J]. The ISME Journal, 2017, **11**(12): 2864-2868.
- [16] Hu W C, Liang J S, Ju F, et al. Metagenomics unravels differential microbiome composition and metabolic potential in rapid sand filters purifying surface water versus groundwater [J]. Environmental Science & Technology, 2020, **54**(8): 5197-5206.
- [17] Boyd J A, Woodcroft B J, Tyson G W. GraftM: a tool for scalable, phylogenetically informed classification of genes within metagenomes [J]. Nucleic Acids Research, 2018, **46**(10), doi: 10.1093/nar/gky174.
- [18] De Souza M L, Sadowsky M J, Wackett L P. Atrazine chlorohydrolase from *Pseudomonas* sp. strain ADP: gene sequence, enzyme purification, and protein characterization [J]. Journal of Bacteriology, 1999, **181**(2): 695.
- [19] De Souza M L, Wackett L P, Boundy-Mills K L, et al. Cloning, characterization, and expression of a gene region from *Pseudomonas* sp. strain ADP involved in the dechlorination of atrazine [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1995, **61**(9): 3373-3378.
- [20] Martinez B, Tomkins J, Wackett L P, et al. Complete nucleotide sequence and organization of the atrazine catabolic plasmid pADP-1 from *Pseudomonas* sp. strain ADP [J]. Journal of Bacteriology, 2001, **183**(19): 5684-5697.
- [21] Wackett L P, Sadowsky M J, Martinez B, et al. Biodegradation of atrazine and related s-triazine compounds: from enzymes to field studies [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2002, **58**(1): 39-45.
- [22] Yang X Y, Wei H Y, Zhu C X, et al. Biodegradation of atrazine by the novel *Citricoccus* sp. strain TT3 [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2018, **147**: 144-150.
- [23] Nagy I, Compennolle F, Ghys K, et al. A single cytochrome P-450 system is involved in degradation of the herbicides Eptc (s-ethyl dipropylthiocarbamate) and atrazine by *Rhodococcus* sp. strain Ni86/21 [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1995, **61**(5): 2056-2060.
- [24] Shao Z Q, Behki R. Characterization of the expression of the *thcB* gene, coding for a pesticide-degrading cytochrome P-450 in *Rhodococcus* strains [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1996, **62**(2): 403-407.
- [25] Helbling D E, Hollender J, Kohler H P E, et al. High-throughput identification of microbial transformation products of organic micropollutants [J]. Environmental Science & Technology, 2010, **44**(17): 6621-6627.
- [26] Chen J F, Xie S G. Overview of sulfonamide biodegradation and the relevant pathways and microorganisms [J]. Science of the Total Environment, 2018, **640-641**: 1465-1477.
- [27] Deng Y, Wang Y L, Mao Y P, et al. Partnership of *Arthrobacter* and *Pimelobacter* in aerobic degradation of sulfadiazine revealed by metagenomics analysis and isolation [J]. Environmental Science & Technology, 2018, **52**(5): 2963-2972.
- [28] Ricken B, Kolvenbach B A, Bergesch C, et al. FMNH2-dependent monooxygenases initiate catabolism of sulfonamides in *Microbacterium* sp. strain BR1 subsisting on sulfonamide antibiotics [J]. Scientific Reports, 2017, **7**(1), doi: 10.1038/s41598-017-16132-8.
- [29] Aukema K G, Escalante D E, Maltby M M, et al. In silico identification of bioremediation potential: carbamazepine and other recalcitrant personal care products [J]. Environmental Science & Technology, 2017, **51**(2): 880-888.
- [30] Bessa V S, Moreira I S, Murgolo S, et al. Carbamazepine is degraded by the bacterial strain *Labrys portucalensis* F11 [J]. Science of the Total Environment, 2019, **690**: 739-747.