

广州地区生活饮用水处理系统中微生物多样性及影响因素分析

刘振杰¹, 毛磊红², 陈玲¹, 陈维¹, 容顺¹, 黎思乐¹, 林秀华¹, 郭伟鹏^{1*}, 古其会^{1*}

(1. 广东省科学院微生物研究所, 广东省微生物分析检测中心, 华南应用微生物国家重点实验室, 广东省微生物安全与健康重点实验室, 国家卫健委微生物食品营养与安全科技创新平台, 广东广州 510070)

(2. 上海康识食品科技有限公司, 上海 201100)

摘要: 为明确广州地区饮用水厂的微生物群落结构特征、潜在致病微生物分布及关键影响因素, 该文采用高通量测序技术与可培养手段相结合对广州地区饮用水厂微生物群落和风险进行了分析。高通量结果显示: 饮用水厂 A 和 B 微生物菌群差异较大, 其中水厂 A 的优势菌属为 *hgcI_clade* (0~30.54%) 和 *Phreatobacter* (0~46.36%); 水厂 B 的优势菌属为 *hgcI_clade* (0~46.33%) 和 *Stenotrophomonas* (0~46.68%)。对潜在致病菌的进一步分析显示, 水厂 A 消毒后水中的 *Phreatobacter* (46.36%) 和鞘氨醇单胞菌属 (*Sphingomonas*, 32.98%) 占有很高的比例; 水厂 B 消毒后水中的高丰度潜在致病菌为寡养单胞菌属 (*Stenotrophomonas*, 46.70%) 和红球菌属 (*Rhodococcus*, 41.40%), 这些菌的存在会带来食品安全风险。可培养法结果显示: 饮用水厂 B 的微生物多样性和潜在致病微生物比水厂 A 更多, 且在滤料中分离出条件致病菌蜡样芽胞杆菌和铜绿假单胞菌, 提示后期应加强对滤料的消毒清洗或更换。典型关联分析 (Canonical Correlation Analysis, CCA) 分析表明: 温度、pH、可溶解氧、化学需氧量和总碳是影响饮用水处理系统微生物群落结构的主要因素。综上所述, 饮用水厂 A 和 B 均存在不同程度的致病微生物污染, 后期需要进一步提升对饮用水处理系统中关键污染点的管控。本文研究结果为饮用水厂微生物高效控制和处理工艺优化提供了理论基础, 对保障饮用水微生物安全具有重要实践意义。

关键词: 饮用水; 微生物风险; 微生物多样性; 微生物群落组成; 高通量测序技术

文章编号: 1673-9078(2026)6-367-376

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2026.6.0614

Microbial Risk Analysis in Drinking Water Treatment Systems for the Guangzhou Region

LIU Zhenjie¹, MAO Leihong², CHEN Ling¹, CHEN Wei¹, RONG Shun¹, LI Sile¹,

LIN Xiuhua¹, GUO Weipeng^{1*}, GU Qihui^{1*}

(1. Institute of Microbiology, Guangdong Academy of Sciences, State Key Laboratory of Applied Microbiology Southern China, Guangdong Provincial Key Laboratory of Microbial Safety and Health, Guangdong Provincial Key Laboratory of Microbial Safety and Health, National Health Commission Science and Technology Innovation Platform for Nutrition and

引文格式:

刘振杰, 毛磊红, 陈玲, 等. 广州地区生活饮用水处理系统中微生物多样性及影响因素分析[J]. 现代食品科技, 2026, 42(6): 367-376.

LIU Zhenjie, MAO Leihong, CHEN Ling, et al. Microbial risk analysis in drinking water treatment systems for the Guangzhou region [J]. Modern Food Science and Technology, 2026, 42(6): 367-376.

收稿日期: 2025-05-08; 修回日期: 2025-10-20; 接受日期: 2025-10-30

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2022YFC3204702); 广东省基础与应用基础研究基金自然科学基金面上项目 (2024A1515010082)

作者简介: 刘振杰 (1975-), 男, 硕士研究生, 研究反向: 检测新技术研究开发, E-mail: lqh0828@126.com

通讯作者: 古其会 (1986-), 女, 博士, 副研究员, 研究方向: 饮用水安全, E-mail: guqh888@163.com; 共同通讯作者: 郭伟鹏 (1974-), 男, 本科, 教授级高级工程师, 研究方向: 微生物安全检测新技术开发, E-mail: guowp@yeah.net

Safety of Microbial Food, Guangzhou 510070, China)

(2.Shanghai Kangshi Food Technology Co. Ltd., Shanghai 201100, China)

Abstract: To clarify the microbial community structure characteristics, distribution of potential pathogenic microorganisms, and key influencing factors in drinking water plants in Guangzhou, this study analyzed the microbial community and risk in drinking water plants in Guangzhou by combining high-throughput sequencing technology with culturable methods. Significant differences in microbial communities between Water Plants A and B were revealed using high-throughput sequencing results. The dominant genera in Water Plant A were *hgcl_clade* (0~30.54%) and *Phreatobacter* (0~46.36%), whereas the dominant genera in Water Plant B were *hgcl_clade* (0~46.33%) and *Stenotrophomonas* (0~46.68%). Potential pathogenic bacteria were further analyzed, and *Phreatobacter* (46.36%) and *Sphingomonas* (32.98%) proportions were found to be high in Water Plant A after disinfection. In contrast, *Stenotrophomonas* (46.70%) and *Rhodococcus* (41.40%) were the dominant pathogenic bacteria in Water Plant B. Results from culture methods indicated higher microbial diversity and more pathogenic microorganisms in Water Plant B than in Water Plant A. Pathogenic bacteria such as *Bacillus cereus* and *Pseudomonas aeruginosa* were isolated from the filter media, suggesting that disinfection, cleaning, or replacement of the filter media should be strengthened in the future. Canonical correlation analysis indicated that temperature, pH, dissolved oxygen, chemical oxygen demand, and total carbon were the main factors affecting the microbial community structure of the drinking water treatment system. In conclusion, both drinking water plants A and B have varying degrees of pathogenic microbial contamination. The key contamination points in the drinking water treatment system should be further controlled in the future. The results of this study provide a theoretical basis for the efficient control of microorganisms in drinking water plants and optimization of treatment processes, and have significant practical significance for ensuring the microbial safety of drinking water.

Key words: drinking water; microbiological risk; microbial diversity; microbial community composition; high throughput sequencing technology

饮用水水质是影响人类健康的关键因素之一。随着工业化与城市化进程加快,生活饮用水安全面临严峻挑战。许多国家(尤其是发展中国家)的饮用水水质不理想,水质差易诱发水传播疾病^[1]。水源性病原体污染及相关疾病是全球关注的主要水质问题^[2]。饮用水微生物污染涵盖细菌、病毒、原生动物等,可通过水体传播并引发人体疾病。为保障饮用水微生物安全,各国制定系列标准措施,如加强水源保护、优化输配水系统、强化水质监测与消毒。但因微生物种类多、繁殖快、适应力强,污染问题仍难以完全避免。

指示生物通常用于评估水资源中的病原体水平。监测指示生物(如粪便大肠菌群、大肠杆菌)的水平是量化环境水体中潜在病原体负荷的常用方法^[3]。目前,使用指示生物来确保饮用水的微生物安全仍然是整个发达国家的标准做法^[4]。然而,传统的大肠菌群指标并不总是最适合所有水传播病原体的指标,特别是病毒和原生动物。另外,大肠菌群的来源包括人类粪便、动物粪便、野生动物排泄物和水禽粪便等,而被人类排泄物污染的饮用水才与人类病原体感染的较高风险有关。因此,追踪特定水源的微生物指标将有助于查明水污染的来源以及风险。

现阶段,高通量测序技术对饮用水微生物多样性的调查注入了新的检测方法,高通量测序技术不仅能克服常规的分子技术存在通量低,成本高的缺点,还能对环境中的低浓度和低阈值的微生物进行全面地检测,并能深入的挖掘该环境中微生物致病因子。对我们更加全面掌握饮用水微生物污染情况,尤其致病微生物的分布规律和特征最有重要意义。

饮用水企业作为保障饮用水安全的最后一道保障,其对水体的净化和消毒尤为重要,不仅应该加强对饮用水中微生物检测,还应该加强水处理过程中包括絮凝、沉淀、过滤、消毒等水处理工艺的微生物控制,从而有效去除或杀灭水中的致病微生物。因此,为了更全面地对饮用水生产过程中的微生物风险进行评估,该研究采用高通量测序技术与传统可培养手段相结合的方法对两种不同处理工艺的生活饮用水厂各个生产环节水样的微生物多样性和群落结构进行解析,目的是:(1)掌握整个工艺流程水样的微生物分布特征和污染情况;(2)探讨不同工艺处理后水样的微生物多样性和群落组成差异;(3)了解理化性质对微生物多样性和群落组成的影响;(4)揭示生活饮用水生产过程中的微生物风险。以期对生活饮用水厂工艺优化以及保障饮用水安全提供数据支撑和理论基础。

1 材料与方法

1.1 样品采集

样品于 2023 年 6 月采自广州市两种不同处理工艺的生活饮用水厂的两条生产线, 生产工艺流程和水样采样点如图 1 所示, 每个水样采集点分别采集样品 18 L。为了减少时间变化带来的样品差异, 我们在每个水样采集点采集 3 个重复样品。此外, 分别在两条生产线的活性炭滤池和砂滤池不同位置(离表层 0、30 和 50 cm)采集 50 g 生物膜样品。采集完的样品立即运往实验室进行实验。饮用水厂 A 的水源水来自珠江流域的北江水, 该水厂采用了臭氧-活性炭深度处理工艺, 滤池的填料为生物活性炭, 在滤池前增加臭氧预氧化。饮用水厂 B 是典型的常规处理工艺, 滤池的填料是普通的石英砂, 饮用水厂 B 的水源水也来自珠江流域的北江分支。两个水厂的出厂水都满足生活饮用水卫生标准(GB 5749-2022)。

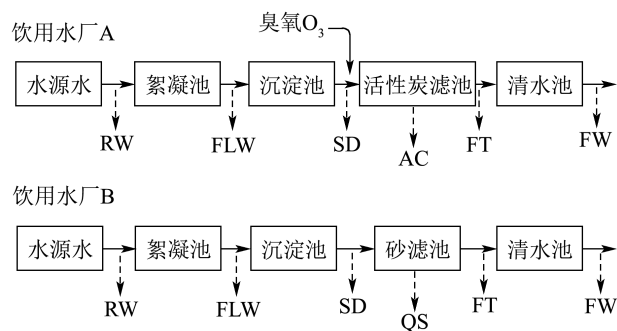


图 1 饮用水厂 A 和饮用水厂 B 处理工艺示意图和采样点

Fig.1 Schematic diagram of the treatment processes of Water Plant A and Water Plant B, along with sampling points

注: RW: 水源水; FLW: 絮凝池出水; SD: 沉淀后出水; FT: 砂滤后水; FW: 消毒后水; AC: 活性炭; QS: 石英砂。下同。

1.2 水样理化指标测定与分析

测定的水样理化特性参数包括温度 (T)、pH 值、浑浊度、溶解氧 (DO)、氨氮 (Ammonia-N)、化学需氧量 (COD_{Mn}) 和总碳 (TC)。针对这些参数, 我们采用了不同的专业设备进行测定: 水样的 pH 值、 T 与 DO 由哈希便携式多参数分析仪 HQ40D 完成测量; 浊度采用哈希便携式浊度仪 2100Q 进行测定; TC 采用岛津总有机碳分析仪 TOC-LCPH 测定; Ammonia-N 和 COD_{Mn} 采用哈希 DR1900 便携式分光光度计进行测定。采用 SPSS 软件分析方法中的非参数检验独立样本对水质参数在不同水处理环节中数据进行统计学分析。

1.3 菌株的分离与鉴定

每个采样点收集的样品进行细菌分离培养。方法如下: 将 0.2 mL 水样通过 L 型涂层棒涂抹在 R2A 琼脂平板上, 25 °C 培养 7 d。计算 R2A 琼脂平板上的菌落数来确定总异养菌数 (Heterotrophic Plate Count, HPC)^[5]。接着, 使用划线法挑选并纯化不同形态的菌落, 重复该过程直到获得纯菌株。为了鉴定获得的纯菌株, 首先将所有纯菌株在 R2A 液体培养基中进行活化, 然后使用 DNA 提取试剂盒 (美基, 广州, 中国) 提取基因组。使用通用引物 27 F 和 1492 R 对 16S rRNA 基因进行扩增^[6]。PCR 产物送华大基因测序, 16S rRNA 基因测序结果提交 NCBI 公共数据库 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 进行比对鉴定。当 “top hit” 存在多条序列时, 优先选择模式菌株; 若无模式菌株, 则选择相似性最高且覆盖度 $\geq 98\%$ 的序列; 相似性和覆盖度一致时, 选择最新提交的序列。

1.4 高通量测序与分析

1.4.1 水样处理和 DNA 提取

首先, 采用 0.22 μm 单片无菌微生物分析滤膜 (广东环凯微生物科技有限公司) 上过滤 5~10 L 水样, 再采用土壤 DNA 提取试剂盒 (FastDNA SPIN Kit for Soil (MP Biomedicals, CA) 提取滤膜上的微生物总 DNA, 并使用显微分光光度计 Nano DropND-2000 (NanoDrop Technologies, DE) 测量 DNA 浓度和纯度^[7,8]。

1.4.2 细菌 PCR 扩增测序

使用 16S rRNA 的 V3~V4 区特异引物 338F (5'-ACT CCT ACG GGA GGC AGC AG-3') 与 806R (5'-GGA CTA CHV GGG TWT CTA AT-3') 进行扩增。扩增条件为: 95 °C 预变性 3 min, 95 °C 变性 30 s, 55 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 45 s, 25 个循环, 72 °C 终延伸 10 min, 10 °C 保存备用。PCR 产物纯化使用 AxyPrep DNA Gel Extraction Kit, 按照说明书步骤进行操作, 将 PCR 产物用 Quantus™ Fluorometer 进行检测定量。按照每个样本的测序量要求, 进行相应比例的混合。使用 NEXTFLEX Rapid DNA-Seq Kit 进行建库, 具体流程如下: 1) 接头链接; 2) 使用磁珠筛选去除接头自连片段; 3) 利用 PCR 扩增进行文库模板的; 4) 磁珠回收 PCR 产物得到最终的文库。构建好的文库在利用 Illumina 公司的 NovaSeq PE250 平台进行测序。

1.4.3 数据分析

所有测序数据按照 Qiime2-Deblur 流程进行处理^[9], 使用 fastp (<https://github.com/OpenGene/fastp>, version

0.20.0) 软件对原始测序序列进行质控, 使用 FLASH (<http://www.cbcb.umd.edu/software/flash>, version 1.2.7) 软件进行拼接。使用 UPARSE 软件 (<http://drive5.com/uparse/>, version 7.1), 根据 97% 的相似度对序列进行扩增子序列变体 (Amplicon Sequence Variants, ASV) 聚类。利用 RDP classifier (<http://rdp.cme.msu.edu/>, version 2.2) 对每条序列进行物种分类注释, 比对 Silva 16S rRNA 数据库 (v138), 设置比对阈值为 70%。物种比对注释使用 q2-feature-classifier 插件默认参数进行分类学分析, 确定其相应的分类学地位。本研究所获得的物种分类学门水平信息全部按照最新修订的规则进行命名。 α 多样性和 β 多样性分别通过 QIIME 2 和 R 软件计算和显示。使用 PICRUST2 软件预测已知微生物基因功能, 线性判别分析效应大小 (linear discriminant analysis effectsize, LEfSe) 分析使用 BMKCloud (<https://www.biocloud.net>) 进行。水质参数与样品细菌多样性进行典型相关分析 (Canonical Correlation Analysis, CCA), 具体如下: ASV 表格先经“相对丰度转换”(总丰度标准化), 再通过 Hellinger 转换 (降低高丰度 ASV 的权重), 连续型变量 (如温度等) 先进行“中心化和标准化”(均值为 0, 标准差为 1), 分类变量 (如分组处理) 进行哑变量转换。

2 结果与讨论

2.1 水质参数分析

从表 1 可以看到, 饮用水厂 A 各个处理单元水温维持在 25.26~26.20 ℃, pH 值维持在 7.36~8.21。在水处理过程中, DO 一直保持稳定状态。而 ATP 和 HPC 总得呈逐渐下降趋势, 氯消毒后, HPC 变为零。由此可见, 氯消毒对可培养微生物的杀灭效果非常显著 ($P<0.01$)。经过沉淀池后, 浊度从 74.56 NTU 大幅下降到 2.32 NTU。氨氮和 COD_{Mn} 随着处理过程逐渐下降, 尤其沉淀工艺后, 能去除大部分氨氮和 COD_{Mn}。总的来说, 氯消毒后的饮用水理化指标均符合饮用水标准。表 2 显示, 饮用水厂 B 的水温范围为 26.30~27.23 ℃, 水的 pH 值范围为 7.25~7.60。经过沉淀后, 浊度显著降低, 从 63.60 NTU 降至 2.15 NTU。DO 在原水中最高, 过滤和消毒后略有下降。根据 ATP 和 HPC 的结果, 氯消毒能有效去除微生物。此外, 沉淀工艺也能大幅度降低氨氮和有机物含量。随着水处理过程的进行, COD_{Mn} 展现出下降的趋势。而总碳基本保持稳定。总的来说, 饮用水厂 A 和 B 处理工艺都能够有效地降低浊度 ($P<0.01$), 并去除氨氮、微生物和有机物 ($P<0.01$)。

表 1 饮用水厂 A 不同处理单元水样的物理化学和微生物指标测定

Table 1 Physical, chemical and microbiological indicators of water samples from different treatment units of drinking water plant A									
Samples	Temperature/ ℃	pH	Turbidity/ NTU	DO/ (mg·L ⁻¹)	ATP/ (10 ⁻⁸ mol·L ⁻¹)	HPC (10 ³ CFU/mL)	Ammonia-N/ (mg·L ⁻¹)	COD _{Mn} / (mg·L ⁻¹)	TC/ (mg·L ⁻¹)
RW	26.20 ± 0.10	7.46 ± 0.02	74.53 ± 0.02	6.02 ± 0.01	8.04 ± 0.01	62.4 ± 0.20	0.44 ± 0.02	1.82 ± 0.03	15.24 ± 0.02
FLW	25.26 ± 0.04**	7.55 ± 0.01	73.56 ± 0.02	6.02 ± 0.01	6.25 ± 0.01	30.5 ± 0.10	0.38 ± 0.01	1.54 ± 0.02	15.19 ± 0.01
SD	25.26 ± 0.06**	7.36 ± 0.02	2.32 ± 0.02	6.22 ± 0.01	4.14 ± 0.02	2.23 ± 0.01*	0.13 ± 0.02	0.73 ± 0.01	13.68 ± 0.01
FT	25.48 ± 0.02	8.16 ± 0.02	2.12 ± 0.02*	6.25 ± 0.01**	1.67 ± 0.01*	2.33 ± 0.03	0.07 ± 0.01*	0.58 ± 0.02*	11.75 ± 0.03*
FW	25.50 ± 0.02	8.21 ± 0.02*	0.31 ± 0.01**	6.21 ± 0.01	0.21 ± 0.01**	ND***	0.03 ± 0.01**	0.35 ± 0.02**	10.05 ± 0.01**

注: *** 代表与第一个水处理环节数据比极其显著 ($P<0.001$); ** 代表与第一个水处理环节数据比高度显著 ($P<0.01$); * 代表与第一个水处理环节数据比显著 ($P<0.05$)。ND: 代表未检出。表 2 同。

表 2 饮用水厂 B 不同处理单元水样的物理化学和微生物指标测定

Table 2 Physical, chemical and microbiological indicators of water samples from different treatment units of drinking water plant B									
Samples	Temperature/ ℃	pH	Turbidity /NTU	DO/ (mg·L ⁻¹)	ATP/ (10 ⁻⁸ mol·L ⁻¹)	HPC/ (10 ³ CFU/m)	Ammonia-N/ (mg·L ⁻¹)	COD _{Mn} / (mg·L ⁻¹)	TC/ (mg·L ⁻¹)
RW	26.40 ± 0.10	7.60 ± 0.02	90.27 ± 0.06	5.77 ± 0.04	6.23 ± 0.01	53.40 ± 1.70	0.23 ± 0.02	1.54 ± 0.02	13.77 ± 0.04
FLW	26.50 ± 0.20	7.29 ± 0.01*	63.60 ± 0.53	5.72 ± 0.09	2.45 ± 0.02	151.00 ± 3.00	0.25 ± 0.01	1.32 ± 0.02	12.97 ± 0.04
SD	26.7 ± 0.10	7.48 ± 0.01	2.15 ± 0.01	5.60 ± 0.02	1.48 ± 0.03	2.46 ± 0.11	0.11 ± 0.01	0.93 ± 0.02	12.60 ± 0.02**
FT	26.3 ± 0.10	7.25 ± 0.01**	0.16 ± 0.01*	4.78 ± 0.02**	1.24 ± 0.02*	1.35 ± 0.03	0.09 ± 0.01	0.32 ± 0.02*	12.94 ± 0.04*
FW	27.2 ± 0.15*	7.34 ± 0.02	0.13 ± 0.01**	4.85 ± 0.03*	0.21 ± 0.01**	ND**	0.05 ± 0.01**	0.22 ± 0.02**	13.06 ± 0.02

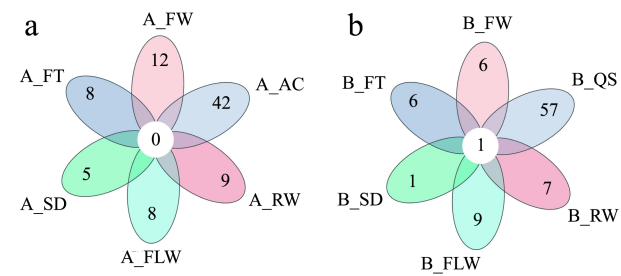


图 2 细菌属水平 Venn 图

Fig.2 Venn diagrams at the bacterial genus level

注：(a) 饮用水厂 A 各处理环节细菌 Venn 图；(b) 饮用水厂 B 各处理环节细菌 Venn 图。

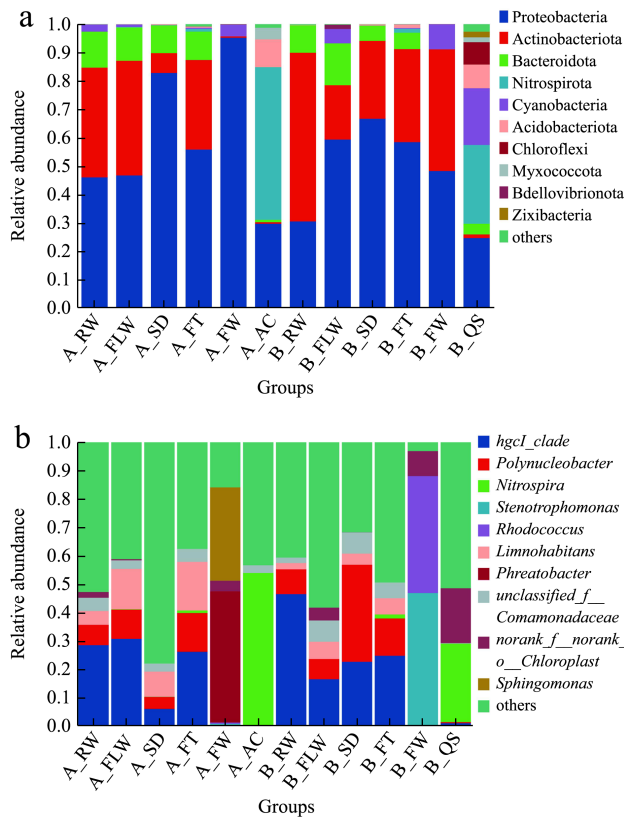


图 3 细菌群落组成

Fig.3 Composition of bacterial communities

注：(a) 门水平细菌群落组成柱状图；(b) 属水平细菌群落组成柱状图。

2.2 饮用水处理系统微生物群落结构分析

经过 ASV 分类学分析，水厂 A 和水厂 B 所有样品共产生 1 089 个 ASV，归属于 22 个门、44 纲、94 目 138 科、196 属和 247 种。ASV 数量最多的水厂 B 的石英砂 (B_QS)，含有 164 个 ASV，其次是水厂 A 的活性炭 (A_AC)，含有 120 个 ASV。由图 2 从属水平的韦恩图可以看出，水厂 A 各个处理环节没

有相同的菌株，而水厂 B，各环节都含有一种多核杆菌 (*Polynucleobacter*)，属于饮用水处理系统中的核心菌株。

从图 3a 可以看出，两个水厂的主要优势菌门为变形菌门 (*Proteobacteria*)、放线菌门 (*Actinobacteriota*) 和拟杆菌门 (*Bacteroidota*)。水厂 A 和 B 的不同处理工艺出水的细菌类群相对丰度差异显著 (chao 指数, $P < 0.01$; shannon 指数, $P < 0.05$; Student's T 检验)。随着水样经过不同的处理工艺，细菌群落结构发生了很大变化 (chao 指数, $P < 0.001$; shannon 指数, $P < 0.01$; Kruskal-Wallis H 检验)。A 水厂中 *Proteobacteria* 在水源水中的占比为 46.03%，到出厂水上升到 95.23%。*Actinobacteriota* 从水源水中的 38.67%，到出厂水下降到 0.48%。*Bacteroidota* 从水源水中的 12.66%，到出厂水下降为 0%。水厂 B 中 *Proteobacteria* 比例从水源水中的 30.47%，经过水处理后出厂水上升到 48.25%。*Actinobacteriota* 从水源水中的 59.51% 下降到 42.88%。而 *Bacteroidota* 从水源水中的 9.61%，到出厂水为 0%。从水厂 A 和水厂 B 可以看出 *Proteobacteria* 随着水处理过程的进行，它的丰度都是快速升高。而 *Actinobacteriota* 和 *Bacteroidota* 它们的丰度是下降的。在其他研究中也有相同的结论，有研究表明：*Proteobacteria* 在饮用水处理后水 (60%)、管网水 (98%) 以及龙头水 (91%) 中的比例都很高，对氯有一定的抗性^[10]。另一个研究也表明 *Proteobacteria* 门中的 α -*Proteobacteria*， β -*Proteobacteria* 和 γ -*Proteobacteria* 对水处理包括氯有更强的抗性^[11]。A 水厂活性炭填料 (A_AC) 的主要优势菌门为 *Proteobacteria* (29.67%) 和 *Nitrospirata* (53.82%) 和 *Acidobacteriota* (9.82%)。B 水厂的石英砂填料 (B_QS) 的主要优势菌门为 *Proteobacteria* (24.58%)、*Cyanobacteria* (20.00%) 和 *Nitrospirata* (27.77%)。两种填料对微生物的截留和附着相差很大。从属水平看 (图 3b)，水厂 A 中的优势物种为 *hgcI_clade* (0~30.54%)、*Phreatobacter* (0~46.36%) 和 *Limnhabitans* (0~17.21%)。水厂 B 中的优势物种为 *hgcI_clade* (0~46.33%)、*Stenotrophomonas* (0~46.68%) 和 *Polynucleobacter* (0.02%~34.32%)。两个水厂不同填料中的优势菌也不相同，水厂 A 的活性炭中的优势菌为 *Nitrospira* (53.82%) 和 *g_unclassified_f_Comamonadaceae* (2.74%)。水厂 B 的石英砂中优势菌为 *Nitrospira* (27.77%) 和 *Chloroplast* (19.39%)。对两个水厂中潜在致病菌的进一步分析显示，水厂

A 消毒后水中的 *Phreatobacter* (46.36%) 和鞘氨醇单胞菌属 (*Sphingomonas*, 32.98%) 占有很高的比例, 这两种菌都存在潜在危害。相关的研究也表明 *Phreatobacter* 在二氧化氯消毒后的出厂水中丰度也有升高^[12]。另外, *Phreatobacter* 也是饮用水管网中的优势菌属之一^[13]。说明 *Phreatobacter* 在某些消毒条件下, 它可能比其他细菌更具生存能力。而 *Phreatobacter* 属目前未发现明确致病菌株, 但与其他耐药菌的共现可能促进抗性基因的水平转移(如通过质粒交换), 间接加剧临床耐药性问题^[14]。*Sphingomonas* 普遍具有代谢多样性和环境适应性, 生物膜形成能力很强, 降低消毒剂渗透效, 从而增强其对氧化型消毒剂(如氯、过氧化物)的耐受能力^[15]。同样多篇文献已报告 *Sphingomonas* 能耐受消毒剂的氧化, 包括氯和氯胺等^[16,17]。该菌也常常在龙头水中检测到^[18]。在临床方面, *Sphingomonas* 属部分菌株(如 *S. paucimobilis*) 为条件致病菌, 它属于是一种正在崛起的病原体, 常侵犯免疫功能低下的个体^[19]。尽管该微生物的毒性并不强, 且可能尚未引发严重危及生命的感染。然而, 其不断演变的抗药性模式以及感染范围的扩大情况应当得到高度重视^[20]。*Sphingomonas paucimobilis* 据报道在消毒后水中容易富集可能增加医疗环境暴露风险, 尤其当水处理系统消毒不彻底时, 需警惕生物膜形成导致的持续污染。受污染的溶液, 包括蒸馏水、肾透析液和无菌药物溶液等易引起的菌血症/败血症^[21]。水厂 B 消毒后水中的高丰度菌为寡养单胞菌属 (*Stenotrophomonas*) 和红球菌属 (*Rhodococcus*)。寡养单胞菌属中的嗜麦芽窄食单胞菌 (*Stenotrophomonas maltophilia*) 是条件致病菌, 近期被普遍认定为一类新型的病原微生物, 因为它作为一种多药耐药的机会性病原体出现, 引起血液、呼吸道和尿路感染, 给临床抗感染治疗和感染防控带来挑战^[22]。不少学者也在饮用水这种贫营养环境中分离到, 且容易在饮用水配水管道中与其他物种互作形成致密的生物膜^[23], 抵抗氯消毒剂的作用^[24]。红球菌属 (*Rhodococcus*) 分布范围很广, 在土壤、岩石、地下水、海底沉积物、昆虫内脏及动物粪便中都能存活。红球菌属中的马红球菌 (*Rhodococcus. equi*) 是一些动物物种的病原体, 它可在免疫功能低下的人群中引起机会性肺部感染^[25]。相关研究也表明, 红球菌易于出现在饮用水分配系统管道中, 尤其 PE 材质的管道, 而且对氯也具有较高的耐受性^[26]。

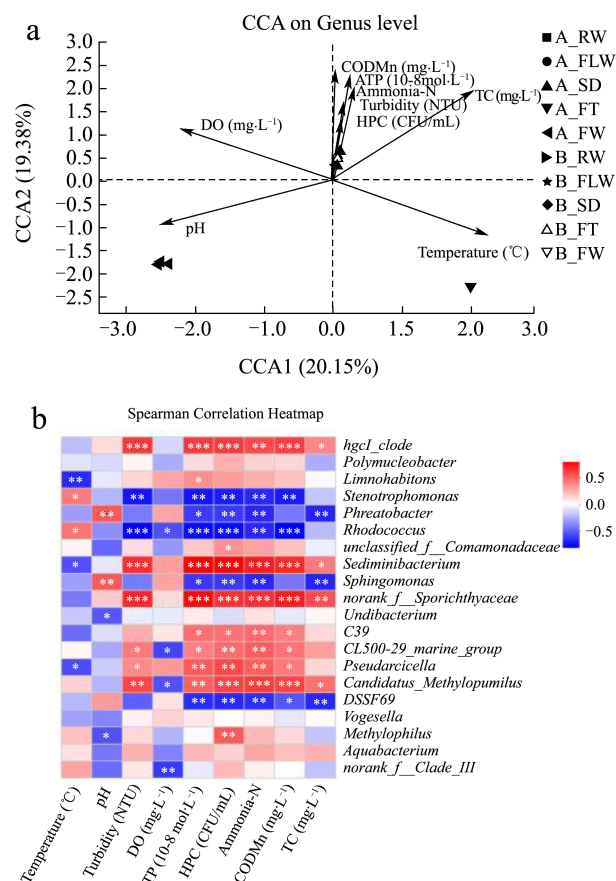


图4 环境因子与细菌菌群结构相关性分析

Fig.4 Correlation analysis of environmental factors and bacterial community structure

注: (a) 环境因子与细菌 CCA 分析; (b) 环境因子与细菌相关性热图; * $0.01 < P \leq 0.05$, ** $0.001 < P \leq 0.01$, *** $P \leq 0.001$ 。

2.3 环境因子对微生物群落结构的影响

通过量化环境因子对微生物群落的组成和分布影响, 得到了 CCA 分析图(图 4a)和热图(图 4b)。结果同样显示, 微生物群落结构与环境理化性质之间存在明显的关联, 箭头代表不同的环境因子, 射线越长表示该环境因子对微生物群落结构的影响越大。从图 4a 可以看出, Temperature、pH、DO、COD 和 TC 对饮用水处理系统中微生物群落结构的影响最大。从图 4b 看出, *hgcI_clade* 与 Turbidity、ATP、HPC、COD_{Mn} 具有高度显著正相关性 ($P \leq 0.001$)。*Sediminibacterium* 和 *norank_f_Sporichthyaceae* 与 Turbidity、ATP、HPC、COD_{Mn}、Ammonia_N 具有高度显著正相关性 ($P \leq 0.001$)。*Candidatus_Methylophilus* 与 HPC、COD_{Mn}、Ammonia_N 具有高度显著正相关性 ($P \leq 0.001$)。而 *Rhodococcus* 与 Turbidity、ATP、

HPC、COD_{Mn} 具有高度显著负相关性 ($P \leq 0.001$)。总的来说, 环境因子中的 Turbidity、ATP、HPC、Ammonia_N 和 COD_{Mn} 对饮用水中优势群落影响是最为显著的。因此, 我们得出水样中的理化性质的改变会导致水中的群落结构发生变化, 进而微生物安全风险也会发生相应的变化。水质与微生物群落相关性分析提示我们可以通过调控水中某些水质参数 (例如:

Turbidity、Ammonia_N 和 COD_{Mn}) 来达到改变致病微生物丰度的可能性。

2.4 可培养微生物分析

为了进一步评估饮用水厂微生物风险, 对饮用水厂 A 和 B 生产过程中的可培养微生物进行了分离纯化。可培养微生物计数结果见表 3。

表 3 饮用水厂细菌鉴定结果
Table 3 Results of bacterial identification in drinking water plants

序号	属名		最相似菌株名称及序列号 (通过 NCBI blastn top hit 分析获得)	相似度/%	来源
	拉丁文	中文			
1	<i>Bacillus</i>	芽孢杆菌	<i>Bacillus pumilus</i> strain IP10 (KY621526.1)	100	A_RW
2	<i>Tessaracoccus</i>	肆球菌	<i>Tessaracoccus defluvii</i> (CP060789.1)	99.85	A_RW
3	<i>Hydrogenophaga</i>	氢噬胞菌	<i>Hydrogenophaga</i> sp. strain S5-13-3 (OL311038.1)	99.93	A_RW
4	<i>Kytococcus</i>	皮球菌	<i>Kytococcus</i> sp. strain CW533 (MK034271.1)	99.85	A_RW
5	<i>Staphylococcus</i>	葡萄球菌	<i>Staphylococcus epidermidis</i> strain CU1-13 (MT397012.1)	100	A_RW
6	<i>Bacillus</i>	芽孢杆菌	<i>Bacillus methylotrophicus</i> strain HB24 (KM659225.1)	100	A_RW
7	<i>Acidovorax</i>	食酸菌	<i>Acidovorax temperans</i> strain LMJ (CP117193.1)	100	A_FLW
8	<i>Paenibacillus</i>	类芽孢杆菌	<i>Paenibacillus polymyxa</i> (JF683620.1)	100	A_FLW
9	<i>Bacillus</i>	芽孢杆菌	<i>Bacillus pumilus</i> strain sk-11 (HQ164548.1)	100	A_FLW
10	<i>Bacillus</i>	芽孢杆菌	<i>Bacillus stratosphericus</i> strain SNS (MK168590.1)	100	A_SD
11	<i>Microbacterium</i>	微杆菌	<i>Microbacterium lacticum</i> (EU573788.1)	99.86	A_SD
12	<i>Cohnella</i>	科恩氏菌	<i>Cohnella massiliensis</i> strain 6021052837 (NR_169412.1)	99.79	A_FT
13	<i>Bacillus</i>	芽孢杆菌	<i>Bacillus stratosphericus</i> strain SOE_40 (MW092026.1)	100	A_FT
14	<i>Bacillus</i>	芽孢杆菌	<i>Bacillus altitudinis</i> strain HNS61 (KF933658.1)	100	A_FT
15	<i>Paenibacillus</i>	类芽孢杆菌	<i>Paenibacillus polymyxa</i> strain JK1 (KU563771.1)	100	A_FT
16	<i>Deinococcus</i>	异常球菌	<i>Deinococcus fonticola</i> strain FeSDHB5-19 (NR_169474.1)	100	A_FT
17	<i>Staphylococcus</i>	葡萄球菌	<i>Staphylococcus epidermidis</i> strain R2-11-3 (OL322025.1)	100	A_FW
18	<i>Sphingomonas</i>	鞘氨醇单胞菌	<i>Sphingomonas hengshuiensis</i> strain WHSC-8 (CP010836.1)	98.96	A_FW
19	<i>Acidovorax</i>	食酸菌	<i>Acidovorax temperans</i> strain S_WK.AG21.012 (OL440729.1)	100	B_RW
20	<i>Chromobacterium</i>	色杆菌	<i>Chromobacterium rhizoryzae</i> strain TH21 (MZ379440.1)	100	B_RW
21	<i>Simplicispira</i>	简单螺旋形菌	<i>Simplicispira sedimenti</i> strain W1-6 (MF370622.1)	99.93	B_RW
22	<i>Priestia</i>	普里斯特菌	<i>Priestia aryabhattai</i> strain PCA7 (OK083712.1)	100	B_RW
23	<i>Bacillus</i>	芽孢杆菌	<i>Bacillus pumilus</i> strain 3J (KP676167.1)	100	B_RW
24	<i>Pseudomonas</i>	假单胞菌	<i>Pseudomonas alcaligenes</i> strain pJ8 (MW433872.1)	99.86	B_RW
25	<i>Bacillus</i>	芽孢杆菌	<i>Bacillus xiamenensis</i> strain VITBJ4 (MH100881.1)	100	B_RW
26	<i>Paenibacillus</i>	类芽孢杆菌	<i>Paenibacillus oryzae</i> strain HNS-S38 (PP087049.1)	99.86	B_RW
27	<i>Dickeya</i>	菊欧文氏菌	<i>Dickeya zeae</i> strain DOAC-B1181 (MF787369.1)	99.58	B_RW
28	<i>Microbacterium</i>	微杆菌	<i>Microbacterium</i> sp. Bra47 (JQ977090.1)	100	B_FLW
29	<i>Actinomycetes</i>	放线菌	<i>Actinomycetes bacterium</i> strain 1011-14.2 (MG807550.1)	100	B_FLW
30	<i>Verrucosispora</i>	疣孢菌	<i>Verrucosispora</i> sp. FIM 0615 (EU732533.1)	100	B_FLW

续表3

序号	属名		最相似菌株名称及序列号 (通过 NCBI blastn top hit 分析获得)	相似度/%	来源
	拉丁文	中文			
31	<i>Micromonospora</i>	小单胞菌	<i>Micromonospora echinospora</i> strain XMU249 (KX607083.1)	100	B_FLW
32	<i>Micrococcus</i>	微球菌	<i>Micrococcus yunnanensis</i> strain S-CSR0010 (KT443901.1)	100	B_SD
33	<i>Bacillus</i>	芽孢杆菌	<i>Bacillus cereus</i> strain BXC15 (OQ103370.1)	99.93	B_SD
34	<i>Chromobacterium</i>	色杆菌	<i>Chromobacterium violaceum</i> strain K2PVR22 (OP811899.1)	100	B_SD
35	<i>Bacillus</i>	芽孢杆菌	<i>Bacillus cereus</i> strain MOB-3 (MH041184.1)	100	B_FT
36	<i>Bacillus</i>	芽孢杆菌	<i>Bacillus altitudinis</i> strain GD6 (MW380574.1)	100	B_FT
37	<i>Streptomyces</i>	链霉菌	<i>Streptomyces</i> sp. strain RXX-1 (OR426565.1)	99.85	B_FT
38	<i>Pseudomonas</i>	假单胞菌	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> strain PaLo22 (CP075830.1)	100	B_FT
39	<i>Bacillus</i>	芽孢杆菌	<i>Bacillus licheniformis</i> strain NB45 (MT534569.1)	100	B_FT
40	<i>Bacillus</i>	芽孢杆菌	<i>Bacillus safensis</i> strain XCY36 (OP055813.1)	100	B_FT
41	<i>Lysinibacillus</i>	赖氨酸芽孢杆菌	<i>Lysinibacillus</i> sp. JNUCC-51 (CP065545.1)	99.93	B_FW
42	<i>Micrococcus</i>	微球菌	<i>Micrococcus yunnanensis</i> strain JCR-24 (KU684497.1)	100	B_FW
43	<i>Paenibacillus</i>	类芽孢杆菌	<i>Paenibacillus glycanilyticus</i> strain S178a (KM894182.1)	100	B_FW

从表 3 可以看到,从饮用水厂 A 中分离到 18 株异养菌,其中,芽孢杆菌属分离到最多 (n=6),其次是葡萄球菌属 (n=2) 和类芽孢菌属 (n=2)。从饮用水厂 B 中分离到 25 株异养菌,其中蜡样芽孢杆菌 (n=2) 和云南微球菌 (n=2) 分离到最多。饮用水厂 B 的微生物多样性 (n=10) 比饮用水厂 A (n=8) 的高,且在饮用水厂 B 分离到的致病微生物更多。比如在水厂 B 的沉淀后水和滤后水中都分离到蜡样芽孢杆菌。蜡样芽孢杆菌常常通过分泌呕吐或腹泻毒素引起人类食物中毒^[27],蜡样芽孢杆菌被证明对氯有耐受性^[28],在消毒后存易于存活^[29]。蜡样芽孢杆菌容易形成生物膜能力很强^[30],饮用水管网中时常检测到它^[31]。另外在滤后水中还分离到铜绿假单胞菌。铜绿假单胞菌是一种重要的介水致病菌,在我国包装饮用水标准 (GB 19298-2014) 和饮用天然矿泉水标准 (GB 8537-2018) 中都对它明确的限量。铜绿假单胞菌在饮用水中的危害很大,它对多种抗生素都耐药^[32],含有多种抗生素抗性基因,铜绿假单胞菌及其相关抗生素耐药基因也作为废水处理指标^[33]。因此,铜绿假单胞菌的灭活是饮用水厂的最关注的微生物指标之一。饮用水厂 B 风险最高的处理工艺为滤池,滤池对微生物有富集作用,微生物容易在填料表面形成生物膜^[34],虽然很多污染物,尤其有机物在滤池中容易被填料中的微生物降解,但是滤池也会有生物泄露的风险^[35],因此需要加强对填料的清洗消毒,以及增加对填料的更换频率。饮用水厂 A 中也分离到条件致病菌,例如表皮葡萄球菌是大多时候不致病,在免疫力低下的时候会

致病,且易在设备表面形成强的生物膜,从而导致对消毒剂耐受^[36]。

3 结论

该研究采用传统培养法和高通量测序方法探讨了华南地区不同处理工艺的饮用水厂微生物多样性以及环境因子对其的影响。结果显示,饮用水厂 A 和 B 水源水主要优势微生物相似,但经过两种不同处理工艺后,出厂水的细菌类群相对丰度差异显著。随着水样经过不同的处理工艺,细菌群落结构发生了很大变化。环境因子中的 Turbidity、ATP、HPC、Ammonia_N 和 COD_{Mn} 是影响饮用水处理系统微生物群落结构的主要因素。后期可以优化混凝工艺,调整混凝池网格,合理控制混凝剂的投加量,是水中的胶体等颗粒物更易于团聚沉淀,进而降低浊度减少微生物量。同时也可以增加水在沉淀池中的沉淀时间,使其充分混合沉淀,降低浊度来减少微生物量。另外,可以通过增加预氧化来减少营养物质碳源和氮源的含量,进而减少微生物的含量和丰度。传统培养方法结果表明饮用水厂 B 的多样性是高于水厂 A,且水厂 B 中分离到的致病微生物高于水厂 A,其中滤池后的水样中致病菌的丰度最高,后期应该加强对滤池的冲洗和消毒,甚至增加填料更换的频率。

参考文献

[1] LI P Y, WU J H. Drinking water quality and public health [J]. Exposure and Health, 2019, 11(2): 73-79.

- [2] PANDEY P K, PHILIP H K, MICHELLE L S, et al. Contamination of water resources by pathogenic bacteria [J]. *Amb Express*, 2014, 4(1): 51.
- [3] JOSE L L, ELKYN R L, MARIO D L P, et al. A systematic review of microorganisms as indicators of recreational water quality in natural and drinking water systems [J]. *Journal of Water and Health*, 2021, 19(1): 20-28.
- [4] SHARON C L, ERIN S, CATALINA A, et al. Evaluation of three source tracking indicator organisms for watershed management [J]. *Journal of Water Supply Research and Technology-Aqua*, 2003, 52(8): 565-575.
- [5] MARIA F F D, IVONE V M, CE' LIA M M. Bottled mineral water as a potential source of antibiotic resistant bacteria [J]. *Water Research*, 2012, 46(11): 3612-3622.
- [6] GU Q H, WU Q P, ZHANG J M, et al. Isolation and transcriptome analysis of phenol-degrading bacterium from carbon-sand filters in a full-scale drinking water treatment plant [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 2162.
- [7] MD J F, SILVIA J S C. Improving the efficiency of DNA extraction from iron incrustations and oilfield-produced water [J]. *Scientific Reports*, 2024, 14(1): 10.
- [8] JAKOB B, MAD S A. Investigation of detection limits and the influence of DNA extraction and primer choice on the observed microbial communities in drinking water samples using 16S rRNA gene amplicon sequencing [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 2140.
- [9] YELDA K, MINE K, SINEM B, et al. Oral microbiota and dental caries data from monozygotic and dizygotic twin children [J]. *Scientific Data*, 2020, 7(1): 348.
- [10] VANESSA C F D, AUDREY A D, PHILIPPE C, et al. Identification of factors affecting bacterial abundance and community structures in a full-scale chlorinated drinking water distribution system [J]. *Water*, 2019, 11(3): 627.
- [11] GU Q H, SUN M, LIN T, et al. Characteristics of antibiotic resistance genes and antibiotic-resistant bacteria in full-scale drinking water treatment system using metagenomics and culturing [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2022, 12: 798442.
- [12] MA X, LI G W, CHEN R Y, et al. Revealing the changes of bacterial community from water source to consumers tap: a full-scale investigation in eastern city of China [J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2020, 87: 331-340.
- [13] YOANN P, DIDIER B, VINCENT D, et al. Microbiome of drinking water: a full-scale spatio-temporal study to monitor water quality in the Paris distribution system [J]. *Water Research*, 2019, 149: 375-385.
- [14] ZHANG T Q, LIAO P B, FANG L, et al. Effect of booster disinfection on the prevalence of microbial antibiotic resistance and bacterial community in a simulated drinking water distribution system [J]. *Environmental Pollution*, 2024, 341(15): 122902.
- [15] LANGSRUD S, BORE E. Resistance phenomena in dairies due to disinfection [C]// 34th R3 Nordic Contamination Control Symposium. Turku, Finland: 2003.
- [16] MA X, LI G W, CHEN R Y, et al. Revealing the changes of bacterial community from water source to consumers tap: a full-scale investigation in eastern city of China [J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2020, 87: 331-340.
- [17] KE Y C, SUN W J, CHEN Z Y, et al. Effects of disinfectant type and dosage on biofilm's activity, viability, microbiome and antibiotic resistome in bench-scale drinking water distribution systems [J]. *Water Research*, 2024, 249: 120958.
- [18] R K, T A, P K, et al. Characterization of *Sphingomonas* isolates from finnish and swedish drinking water distribution systems [J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2000, 89(4): 687-696.
- [19] MOHAMMED K A, SARAH I A, MOHAMMED T, et al. Septic arthritis caused by *Sphingomonas paucimobilis* in immunocompetent patient: Case report and literature review [J]. *Cureus*, 2022, 14(2): e22167.
- [20] ROHILLA R, DIMPLE R, MALVIKA S, et al. Evaluation of *Sphingomonas paucimobilis* as an emerging nosocomial pathogen in a teaching hospital in Uttarakhand [J]. *Iranian Journal of Microbiology*, 2021, 13(5): 617-623.
- [21] RYAN M P, ADLEY C C. *Sphingomonas paucimobilis*: A persistent Gram-negative nosocomial infectious organism [J]. *Journal of Hospital Infection*, 2010, 75(3): 153-157.
- [22] LAURITA K, JULIJA A, JURATE S, et al. The toxin-antitoxin systems of the opportunistic pathogen *Stenotrophomonas maltophilia* of environmental and clinical origin [J]. *Toxins*, 2020, 12(10): 635.
- [23] ANA C A, INES B G, FRANCISCA M, et al. Coaggregation dynamics in drinking water biofilms and implications for chlorine disinfection [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2024, 480(5): 135948.
- [24] INES B, GOMES A, LUCIA C, et al. The effects of emerging environmental contaminants on *Stenotrophomonas maltophilia* isolated from drinking water in planktonic and sessile states [J]. *Science of the Total Environment*, 2018, 643: 1348-1356.
- [25] ADAM S, DAVID S, MICHAEL C, et al. *Rhodococcus equi* infection: A diverse spectrum of disease [J]. *IDCases*, 2019, 15: e00487.
- [26] ZHANG X Y, LIN T, JIANG F C, et al. Impact of pipe material and chlorination on the biofilm structure and microbial communities [J]. *Chemosphere*, 2022, 289: 133218.
- [27] SACHA K S, CELIA B D M, HUUB C J H, et al. Stoichiometry, absolute abundance, and localization of proteins in the *Bacillus cereus* spore coat insoluble fraction determined using a qconcat approach [J]. *Journal of Proteome Research*, 2018, 17(7): 2562.
- [28] DING W Q, JIN W B, CAO S, et al. Ozone disinfection of chlorine-resistant bacteria in drinking water [J]. *Water Research*, 2019, 160: 339-349.
- [29] XU J X, CHEN G Q, CHEN Y L, et al. Nanowire-assisted electroporation via inducing cell destruction for inhibiting formation of VBNC bacteria: Comparison with chlorination [J]. *Water Research*, 2024, 258: 121776.

[30] ZHU Z B, SHAN L L, HU F P, et al. Biofilm formation potential and chlorine resistance of typical bacteria isolated from drinking water distribution systems [J]. RSC Advances, 2020, 10(52): 31295-31304.

[31] 刘小琳,刘文君,金丽燕,等.北京市模拟给水管网管壁微生物膜群落分析[J].环境科学,2008,29(5):1170-1174.

[32] MONTRI Y, THUNWARAT S, MANASSANAN P, et al. Draft genome sequence data of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* wo7 from a hospital wastewater treatment plant in Thailand [J]. Data in Brief, 2024, 54: 110344.

[33] ALARIQI R, SIHAM A, AHMED M S, et al. *Pseudomonas aeruginosa* and related antibiotic resistance genes as indicators for wastewater treatment [J]. Heliyon, 2024, 10(9): e29798.

[34] DAVID R S. Biofilm processes in biologically active carbon water purification [J]. Water Research, 2008, 42(12): 2839-2848.

[35] HOU L F, ZHOU Q, WU Q P, et al. Spatiotemporal changes in bacterial community and microbial activity in a full-scale drinking water treatment plant [J]. Science of the Total Environment, 2018, 625: 449-459.

[36] CUONG V, MICHAEL O. *Staphylococcus epidermidis* infections [J]. Microbes and Infection, 2002, 4(4):481-489.