

# 再生水受纳河流中抗性基因污染及影响因素

杜文静 严宏应 宋宇洋 郭洪发

中国海洋大学三亚海洋研究院

DOI:10.12238/eep.v7i3.2011

**[摘要]** 研究系统概述了不同污水处理工艺对抗生素抗性基因的去除,阐述了再生水回用过程中抗生素抗性基因的污染及其影响因素,为再生水回用过程中抗生素抗性基因的污染水平和风险评估提供了一定的支撑,对再生水受纳河流的稳定性和抗性评估具有一定的意义。

**[关键词]** 再生水受纳河流; 抗生素抗性基因; 影响因素

中图分类号: R978.1 文献标识码: A

## Pollution and influencing factors of resistance genes in receiving reclaimed water

Wenjing Du Hongying Yan Yuyang Song Hongfa Guo

Sanya Institute of Oceanography, Ocean University of China

**[Abstract]** This study systematically summarizes the removal of antibiotic resistance genes by different sewage treatment processes, and expounds the pollution and influencing factors of antibiotic resistance genes in the recycling process of reclaimed water, which provides a certain support for the pollution level and risk assessment of antibiotic resistance genes in the recycling process of reclaimed water, and is of certain significance for the stability and resistance assessment of rivers in which reclaimed water is received.

**[Key words]** River receiving reclaimed water; Antibiotic resistance genes; Influential factors

## 引言

抗生素的广泛应用会诱导细菌产生耐药性,从而促进抗生素抗性基因(Antibiotic resistance gene, ARGs)的产生。污水处理厂对ARGs的去除效果并不显著,大量研究均在再生水中检测到了高丰度的ARGs。目前,再生水被广泛应用于景观水体的补给水源,致使ARGs会随再生水输入到受纳河流中,并且可以依靠可移动遗传元件(mobile genetic elements, MGEs)介导的水平基因转移(horizontal gene transfer, HGT)进行传播,对人类健康构成直接威胁。

### 1 不同污水处理工艺对抗生素抗性基因的去除

抗生素被广泛用于预防和治疗感染以及养殖行业,但抗生素的滥用诱导产生抗生素抗性基因(Antibiotic resistance gene, ARGs),并最终与污水共同汇入污水处理厂(Waste water treatment plant, WWTPs)。WWTPs作为污水的集中式处理设施,对ARGs的去除效果并不是很显著,国内外相关研究均表明,高水平的ARGs广泛存在于污水处理厂的各个处理单元。目前,在污水处理厂中已广泛检出了四环素类、磺胺类、大环内酯类、氨基糖苷类、喹诺酮类、 $\beta$ -内酰胺类、万古霉素类和甲氧苄啶类共8类ARGs<sup>[1]</sup>,其中氨基糖苷类、 $\beta$ -内酰胺类和四环素类是丰度最高且最普遍的ARGs类型。WWTPs被认为是ARGs的重要汇和源。

#### 1.1 污水处理厂物理处理工艺

污水处理厂物理处理工艺是通过物理的方法去除污水中的悬浮物和固体颗粒,通常包括沉淀、过滤和曝气等。大量研究表明,格栅、砂滤和初级沉降等物理处理工艺对ARGs的去除效果不明显。段然连续6个月对污水处理厂物理处理单元出水中ARGs进行监测中,发现沉砂池、沉淀池等处理单元出水中的四环素类、磺胺类等ARGs与进水中的丰度相差不大<sup>[2]</sup>。但也有学者观察到二次沉淀池进水中的ARGs会通过污泥沉降的方式转移到污泥中,从而使出水中的四环素类和磺胺类ARGs丰度小于进水<sup>[3]</sup>。但是整体而言,污水处理厂物理处理工艺对污水中ARGs去除效果较弱。

#### 1.2 污水处理厂生物处理工艺

污水的生物处理工艺可以通过微生物的代谢作用去除有机物和微生物,从而去除部分ARGs。通过对比活性污泥工艺前后污水中四环素类ARGs的丰度发现,出水中的丰度远远低于进水,四环素类ARGs的去除率可高达95%以上<sup>[4]</sup>。李侃竹<sup>[5]</sup>研究了厌氧-好氧工艺对红霉素类ARGs的去除效果,发现所有ARGs在该工艺出水中的丰度均低于进水丰度,其中ermA在出水中未检测到,这说明厌氧-好氧工艺能够在一定程度上去除ARGs,并根据ARGs种类的不同而发生变化。杨莲<sup>[6]</sup>研究了三种污水处理厂,分别采用的是厌氧-缺氧-好氧工艺、厌氧-好氧工艺和循环式活性污泥工艺,通过对四环素类、磺胺类和 $\beta$ -内酰胺类ARGs在各处理工艺

进出水中的浓度进行对比,发现生物处理工艺对ARGs的去除率远高于其他工艺,去除量可达到1-2个数量级,其中厌氧-缺氧-好氧工艺对ARGs的去除率最高。

然而,由于污水处理厂生物处理单元中营养较为丰富,细菌的密度较高,这为细菌接触和基因交换创造了理想的环境,导致生物工艺处理后的污水中也有可能出现ARGs丰度增加的情况,例如:宋磊<sup>[7]</sup>在使用活性污泥工艺处理工艺的污水处理厂出水中发现,ARGs的丰度均不同程度地高于进水。同样,谢辉<sup>[8]</sup>等在污水处理厂的厌氧-缺氧-好氧工艺出水中观察到了胞内和胞外ARGs的富集。

### 1.3 污水处理厂消毒工艺

#### 1.3.1 氯消毒

氯消毒是污水处理厂最常见的消毒方法,该工艺会对细胞膜造成破坏,使得DNA和蛋白质等成分外露,随后会进一步破坏核酸等内部成分。氯消毒能够在一定程度上去除部分ARGs,也会使细胞裂解从而释放ARGs,因此对ARGs的去除率影响不一。氯消毒可以通过减少携带相关ARGs的宿主菌数量的方式削减部分ARGs的丰度<sup>[9]</sup>。但也有研究表明在进行氯消毒后,ARGs丰度会增加,这是因为氯的浓度较低,增加了细菌的选择压力,从而导致ARGs的富集。

#### 1.3.2 紫外消毒

紫外光作用于核酸从而改变DNA的生物活性,因此紫外消毒被认为能有效去除ARGs。紫外消毒虽然可以灭活细菌,但对ARGs的去除率表现出较大的差异,这与细菌敏感的紫外线波长不同有关<sup>[10]</sup>。紫外消毒虽然能够有效灭活ARGs的宿主细菌,但并不能实现对ARGs的完全消除,这表明紫外消毒工艺的出水依然具有传播ARGs的风险。

#### 1.3.3 臭氧

臭氧自身和分解产生的羟基自由基均具有超强的氧化能力,从而裂解DNA等分子结构,对ARGs的丰度产生影响,研究表明低浓度的臭氧就能有效去除ARGs,但是细菌长期存在臭氧环境中,可能会对其产生抗性,从而削减对ARGs的去除力度,因此出现了ARGs丰度在臭氧的出水中并没有降低甚至出现了富集的现象。

### 1.4 污水处理厂高级氧化工艺

高级氧化工艺主要利用反应过程中产生的羟基自由基,有效地去除有机物、重金属和其他有机污染物。其中,芬顿和光芬顿氧化具有高效、适用范围广和不易产生二次污染等优点,被认为是一种很有前景的ARGs去除技术。

高级氧化工艺能够有效去除污水中的ARGs,芬顿技术能使ARGs绝对丰度下降的原理是铁离子(Fe<sup>3+</sup>)和亚铁离子(Fe<sup>2+</sup>)与过氧化氢(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)反应会产生一系列具有超强氧化能力的羟基自由基,从而对细胞造成完全不可逆氧化破坏<sup>[11]</sup>,此外H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>还会进入细胞内部与Fe<sup>2+</sup>/Fe<sup>3+</sup>发生芬顿反应,造成DNA损伤,从而去除ARGs。

芬顿氧化的效率受芬顿试剂的浓度、Fe<sup>2+</sup>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>的摩尔比例、pH和反应时间等因素的影响<sup>[12]</sup>。过量的芬顿试剂会清除体

系中的羟基自由基,从而影响ARGs的去除。pH值也会影响芬顿对ARGs去除的效果,这是因为pH值会对羟基自由基的产生造成影响,从而影响芬顿反应的效率。此外,芬顿的反应时间也会影响ARGs的去除,反应时间在2h之内,并且去除效率随反应时间的增加而增加,Zhang等<sup>[13]</sup>探究了芬顿去除ARGs的最佳处理条件,发现在Fe<sup>2+</sup>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>的摩尔比为0.1、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>的浓度为0.01mol/L、pH值为3.0、反应时间为2h的实验条件下,对ARGs的去除达到2.58-3.79个数量级。但也有部分研究发现,在经芬顿处理后的样品中出现ARGs的富集现象。

## 2 再生水中抗生素抗性基因的污染

我国正面临着水资源紧缺和水污染双重困境构成的水源危机,积极开发和利用非常规水资源,会在一定程度上缓解我国水资源严重不足的压力。再生水具有水量稳定、供给可靠等优秀特质,是提高改善水环境质量、缓解水资源供需矛盾的有效途径。目前,我国多数城市充分利用再生水作为景观水体的补给水源,已经开始推动和启用污水再生利用工程。北京市、西安市、厦门等城市的再生水的回用量逐年上升。

再生水被认为是ARGs的储存库和污染源,目前已在再生水中普遍检测到了多种类和高丰度的ARGs。马业萍等<sup>[14]</sup>在全国15个典型城市再生水的调查中发现,11种ARGs(tetO、tetW、sul1、sul2、ermF、floR、cat2、dfrA1、dfrA12、qnrVC、qnrD)和移动遗传元件(intI1)在各个地区的再生水中普遍存在,sul1的绝对丰度最高,其次是sul2和ermF,绝对丰度均高于1.0×10<sup>7</sup> copies/mL。

## 3 再生水受纳河流中抗生素抗性基因的空间分布特征

目前很少学者会关注到再生水受纳河流中抗生素抗性基因的空间分布特征,尤其是国内对于该方面的研究更为欠缺,但在已有的研究中会发现再生水受纳河流中多数ARGs丰度具有显著的空间性差异。罗晓等<sup>[15]</sup>对石家庄某污水处理厂受纳河流冬季常见的两类ARGs(四环素类和磺胺类)进行研究,结果发现所检测的四种目的基因中,有三种ARGs(tetA、sul1、sul2)的丰度表现为污水处理厂出水口下游高于上游。在对西班牙Tordera流域再生水受纳河流中ARGs的研究中发现,ARGs在污水处理厂上游的丰度较低,而在污水处理出水下游的丰度显著增加(特别是ermB和sul1),这表明再生水回用可能有利于生物膜中ARGs的传播,且ARGs在污水处理厂排水点下游1公里处的绝对丰度最高<sup>[16]</sup>。

## 4 河流中抗生素抗性基因空间分布的影响因素

### 4.1 水质条件对河流中抗生素抗性基因的影响

由于河流中的无机盐和有机物可以影响河流中微生物的生长繁殖和群落结构,因此总氮(TN)、总磷(TP)、氨氮(NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N)、总有机碳(TOC)等水质会影响ARGs的分布和传播。TN、TP和NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N等无机污染物作为水体富营养化的重要指标,与水环境中的营养状态密切相关,而ARGs在富营养的状态下水平基因转移会更为活跃。但水质如何影响ARGs丰度的变化尚未有明确结

论。有研究发现, tetC、ermB等基因丰度与水中氨氮浓度呈明显正相关<sup>[6]</sup>, 而在西北内陆河的研究中并没有发现氨氮、总氮与ARGs之间的显著相关性<sup>[17]</sup>。此外, 水体温度、pH会因季节和区域的不同而对ARGs分布产生不同影响<sup>[18]</sup>。

#### 4.2 微生物群落对河流中抗生素抗性基因的影响

微生物通常以群落的形式存在, 微生物群落扮演着营养物质以及有机无机污染物携带者和转移者的角色, 也会影响ARGs的产生和丰度。ARGs在微生物中主要通过两种方式进行转移: 基因垂直转移和基因水平转移。大量研究发现, ARGs与微生物群落之间存在较强相关性。吴天宇<sup>[19]</sup>发现微生物群落与ARGs之间密切相关, ARGs可以通过其潜在宿主细菌进行传播。有些细菌会携带多种ARGs, 一种ARGs也可以被多种细菌所携带, Proteobacteria携带了tetA、tetW和sul1等多种ARGs, tetW可以被Bacteroidetes、Actinobacteria和Nitrospirae等多个宿主所携带。

#### 4.3 移动遗传元件对河流中抗生素抗性基因的影响

移动遗传元件(MGE)作为能够在微生物基因组中移动DNA片段, 可以通过基因水平转移的方式参与ARGs的传播, 使ARGs在各种环境中持久存在且广泛分布。MGEs包括整合子, 质粒和转座子, 近年来大量的研究表明, MGE与ARGs密切相关。移动遗传元件intI1与aadA-01、sul1、sul2和tetX表现为显著相关性, 促进了ARGs在沉积物中的传播。微生物可以利用MGEs使ARGs水平转移, 从而使环境成为一个巨大的ARGs储存库, 对生态环境以及人类健康造成威胁。

### 5 结语

通过研究污水处理工艺对ARGs的去除及再生水和受纳河流中ARGs的污染, 阐明了再生水回用过程中抗生素抗性基因污染特征。此外, 水质条件、微生物群落及MGEs均会影响河流中ARGs的空间分布, 为再生水回用过程中ARGs风险评估提供了科学依据。

#### [参考文献]

- [1]胡啸威, 沈梦楠, 杨帆, 等. 污水处理系统中抗性基因的研究进展[J]. 化工设计通讯, 2023, 49(08): 160-161+182.
- [2]段然. 哈尔滨市污水厂中抗生素抗性基因分布及强化去除研究[D]. 黑龙江: 哈尔滨工业大学, 2014.
- [3]张明美. 污水处理系统中抗生素抗性基因污染研究[D]. 浙江: 浙江大学, 2013.
- [4]赵福正. 污水处理系统中ARGs、MGEs分布特征与菌群结构相关性研究[D]. 江苏: 南京大学, 2014.
- [5]李佩竹, 吴立乐, 黄圣琳, 等. 污水处理厂中红霉素抗药性

基因的污染特征及选择性因子[J]. 环境科学, 2014, 35(12): 4589-4595.

[6]杨莲. 抗生素抗性基因在城镇污水处理系统的分布与去除机制研究[D]. 黑龙江: 哈尔滨工业大学, 2019.

[7]宋磊, 何云天, 柳彦俊. 铝形态对铝系混凝剂去除抗性基因的影响[J]. 环境科学学报: 1-9.

[8]谢辉, 包樱钰, 李菲菲, 等. A~2/O生活污水处理系统中抗生素抗性基因的分布及去除[J]. 环境工程, 2019, 37(12): 80-89.

[9]付树森, 王艺, 王肖霖, 等. 氯和紫外消毒过程中胞外抗性基因的产生特征[J]. 中国环境科学, 2021, 41(10): 4756-4762.

[10]李佳欢. 污水处理系统中抗生素和抗性基因的强化去除与控制机制研究[D]. 山东: 山东大学, 2022.

[11]姚鹏城. 典型抗生素的预氧化降解: 可生化性及抑菌效应变化机制[D]. 上海: 上海师范大学, 2022.

[12]李佳欢. 污水处理系统中抗生素和抗性基因的强化去除与控制机制研究[D]. 山东: 山东大学, 2022.

[13]Zhang, Y., Zhuang, Y., Geng, J., et al. Reduction of antibiotic resistance genes in municipal wastewater effluent by advanced oxidation processes[J]. Science of the Total Environment, 2016, 550: 184-191.

[14]马业萍. 再生水入渗过程抗生素及抗性基因的分布及关联性分析[D]. 清华大学, 2015.

[15]罗晓, 张文丽, 许曼, 等. 冬季河流中抗生素抗性基因和微生物群落相关性研究[J]. 环境科学与技术, 2019, 42(05): 20-26.

[16]Proia, L., von Schiller, D., Sánchez-Melsió, A., et al. Occurrence and persistence of antibiotic resistance genes in river biofilms after wastewater inputs in small rivers[J]. Environmental Pollution, 2016, 210: 121-128.

[17]邢月, 张雯, 程艳. 西北内陆河抗生素抗性基因赋存特征及其影响因素[J]. 中国环境科学, 2023, 43(06): 3077-3086.

[18]林小如, 李子歆, 孙安琪. 增温情景下木荷叶际抗生素抗性基因的季节变化特征[J]. 中国环境科学, 1-12[2024-05-10].

[19]吴天宇, 李江, 杨爱江. 赤水河流域水体抗生素污染特征及风险评价[J]. 环境科学, 2022, 43(01): 210-219.

#### 作者简介:

杜文静(1999--), 女, 汉族, 河北衡水人, 中国海洋大学三亚海洋研究院硕士研究生, 环境工程专业, 研究方向: 新污染物环境过程与控制。