牛 佳,蒋志达,徐佳燕,等.饮用水系统中微塑料上氨氧化微生物的定植与多样性 [J]. 中国环境科学, 2025,45(8):4628-4637.
Niu J, Jiang Z D, Xu J Y, et al. Colonization and diversity of ammonia-oxidizing microorganisms on microplastics in drinking water systems [J]. China Environmental Science, 2025,45(8):4628-4637.

饮用水系统中微塑料上氨氧化微生物的定植与多样性

牛 佳[1,2],蒋志达[1],徐佳燕[3],许华诚[4],余健英[5],刘宪华[6],徐开钦[1],陈晓晨[1*] (1.福州大学环境与安全工程学院,福州大学冶金地质土壤综合修复治理工程技术研发中心,福建 福州 350108；2.福建理工大学生态环境与城市建设学院,福建省水污染阻控与系统智能技术工程研究中心,福建 福州 350118；3.泉州蓝深环保研究院有限公司,福建 泉州 362000；4.福建省蓝深环保技术股份有限公司,福建 泉州 362000；5.中国冶金地质总局第二地质勘查院,福建 福州 350108；6.天津大学环境科学与工程学院,天津 300350)

摘要：采用模拟管网环境的生物膜培养反应器结合物化表征和微生物学分析方法,探讨了供水系统中5种常见微塑料上氨氧化微生物定植过程及其作为潜在硝化生态位的可能性.结果表明,氯化和微生物的定植作用导致微塑料结晶度增加并产生羰基、羟基等亲水基团. 微塑料上的氨氧化微生物*amo*A功能基因丰度范围在$(1.54\pm0.02)\times10^{4}$～$(3.07\pm0.64)\times10^{10}$copies/g.在大多数情况下,完全氨氧化菌(Comammox)在微塑料上占据优势地位,仅在氯化处理42d的5种微塑料上发现耐氯性较强的氨氧化古菌(AOA)处于优势地位.原始微塑料(未氯化)上氨氧化微生物总丰度与微塑料的结晶度呈正相关,并在结晶度较高的PE和PP微塑料上表现得尤为明显.氯化处理后该相关性不复存在.微塑料上定植氨氧化微生物的多样性分析表明原始微塑料上的AOA种类更接近土壤来源的AOA,而氯化处理后更接近水系AOA.

关键字：饮用水；微塑料；氨氧化微生物；*amo*A基因；高通量测序；定量PCR
中图分类号：X172 **文献标识码**：A **文章编号**：1000-6923(2025)08-4628-10

Colonization and diversity of ammonia-oxidizing microorganisms on microplastics in drinking water systems. NIU Jia[1,2], JIANG Zhi-da[1], XU Jia-yan[3], XU Hua-cheng[4], YU Jian-ying[5], LIU Xian-hua[6], XU Kai-qin[1], CHEN Xiao-chen[1*] (1.Innovation Center for Soil Remediation and Restoration Technologies, College of Environment and Safety Engineering, Fuzhou University, Fuzhou 350108, China；2.Fujian Engineering Research Center of Water Pollution Control and System Intelligence Technology, School of Ecological Environment and Urban Construction, Fujian University of Technology, Fuzhou 350118, China；3.Quanzhou Lanshen Environmental Protection Research Institute Co. Ltd., Quanzhou 362000, China；4.Fujian Lanshen Environmental Protection Technology Co. Ltd., Quanzhou 362000, China；5.The Second Geological Exploration Institute, China Metallurgical Geology Bureau, Fuzhou 350108, China；6.School of Environmental Science and Engineering, Tianjin University, Tianjin 300350, China). *China Environmental Science*, 2025,45(8)：4628~4637

Abstract：This study investigated the colonization process of ammonia-oxidizing microorganisms (AOMs) on five common types of microplastics (MPs) as well as the potential nitrification niches of MPs in water supply systems, with the methods of biofilm simulation reactors, physicochemical characterization of MPs and microbiological analysis techniques. The results indicated that chlorination and microbial colonization led to an increase in the crystallinity of microplastics and the formation of hydrophilic groups such as carbonyl and hydroxyl moieties. The abundances of *amo*A genes of AOMs on microplastics ranged from $(1.54\pm0.02)\times10$ to $(3.07\pm0.64)\times10^{1}$ copies/g. Comammox was predominant on most of the microplastics. Ammonia-oxidizing archaea (AOA), which was highly chlorine-resistant, was found to be predominant on the MPs only after chlorination for 42days. The total abundance of AOMs exhibited a positive correlation with microplastic crystallinity on unchlorinated microplastics, which was particularly obvious on higher intrinsic crystallinity MPs, *i.e.*, polyethylene (PE) and polypropylene (PP). However, this correlation was not observed after chlorination treatment. Diversity analysis of AOMs colonizing on microplastics revealed that AOA on unchlorinated MPs were more closely related to soil-derived AOA. On the contrary, AOA on chlorinated MPs was more closely to aquatic AOA.

Key words：Drinking Water；Microplastic；Ammonia-Oxidizing Microorganisms；amo*A*；High-Throughput Sequencing；qPCR

研究表明,微塑料存在于饮用水系统的不同环节[1-3],包括饮用水源地(地下水和地表水)、饮用水处理厂、输配管网和龙头水等.当前,大部分研究集中于前端饮用水厂中微塑料的赋存特征及去除效率.

收稿日期：2024-12-26
基金项目：国家自然科学基金资助项目(52000032,42377380);福建省自然科学基金资助项目(2023J01933)
* 责任作者, 教授, chenxiaochen@fzu.edu.cn

饮用水处理厂的处理工艺对微塑料的去除能力有限,部分处理工艺甚至导致其进一步碎片化,从而威胁下游管网水质的化学和生物稳定性.此外,供水管道自身也存在向水体释放微塑料的潜在可能性[4].由于管道的相对隐蔽性,相关研究报道较少.在前端水厂处理过程中,微塑料会受到短期高浓度氯化消毒以及管道内长期余氯反应的老化作用[5].氯化是影响微塑料的形态和性质的主要因素之一,强氧化性氯可能引入 C−Cl 键,从而增加微塑料的环境持久性和生态毒性[6].除了微塑料本身的生物毒性外,由于微塑料表面粗糙且疏水性强,极易成为微生物附着定植的有效基质和生态位,从而促进生物膜的形成[7-8].这种新型的人造生态系统被称为塑料际[9].在不同的环境条件下,微塑料可以作为载体富集特殊的微生物组[10],比如潜在致病菌、抗生素耐药菌和功能微生物[11]等,对饮用水分配系统的水质生物稳定和人体健康安全具有一定影响.

有研究发现老化处理的微塑料会促进特定细菌的形成,尤其对氮循环过程具有更快速和更显著的影响能力[12].如 Chen 等[13]通过微宇宙实验发现,定植生物膜的聚丙烯微塑料可以加速氨和亚硝酸盐的氧化,同时生物膜成熟后分解重新将氮和磷释放到水中.另有研究发现,聚酰胺微塑料通过富集水中的氨氧化微生物,显著提升硝化速率并降低氨浓度[14].此外,有研究报道进入水体的微塑料通过携带定植其上微生物并沉降在沉积物中,改变沉积物微生物群落结构和功能,从而干扰硝化过程[15].已有研究探讨微塑料与硝化作用的关系,但主要集中于自然生态系统和废水处理系统.关于引起饮用水在输配中水质问题的管网硝化作用研究则多聚焦于探究管壁和水体中氨氧化微生物生长,忽略了饮用水中可能作为微生物生长载体的微塑料在吸附和携带氨氧化微生物方面的作用.

本研究根据不同微塑料在饮用水系统中的检出情况、丰度以及物理化学性质差异等[2,16-17],选用饮用水分配系统中常见的 5 种代表性微塑料,即聚酰胺(PA)、聚乙烯(PE)、聚对苯二甲酸乙二醇酯(PET)、聚丙烯(PP)和聚苯乙烯(PS),将不同类型的微塑料培养在管网原位搭建的、改进的 Propella^{TM} 管网模拟反应器中[18],以最大程度还原真实的运行状态.对比不同类型和不同老化方式(原始状态和氯化处理)的微塑料上 3 类氨氧化微生物——氨氧化古菌(AOA)、氨氧化细菌(AOB)和完全氨氧化菌(Comammox)定植过程(丰度和多样性),并解析微塑料在微生物定植后的物理化学特性的变化,旨在揭示饮用水分配系统中微塑料作为潜在硝化生态位的作用机制.

1　材料与方法

1.1　微塑料预处理

选用粒径为 150μm 的 5 种微塑料(PA、PE、PET、PP 和 PS).首先将微塑料颗粒浸泡于 75%乙醇中 1h 后,再用去离子水清洗,在 50~55°C 下干燥备用.氯化处理步骤如下:将微塑料颗粒投加到棕色玻璃瓶内,设置氯化消毒处理中有效氯为 2.5mg/L[19],放入摇床中,设置转速为 120r/min,温度为(25±2)℃.加入磷酸盐缓冲液(PBS),使反应体系的 pH 值维持在 7.0.为保持体系中有持续的氯含量,每 3d 补充一次消毒剂含量,反应 2 周时间.有效浓度时间积(CT 值)为 50800 (mg·min)/L,模拟管网长期余氯消毒反应.其中 C 是氯的浓度,mg/L.T 为接触时间(min).氯化反应结束后,立即使用粉末状硫代硫酸钠($Na_2S_2O_3$,剂量为 12mg/L)进行脱氯处理[20].然后取出暴露的微塑料用不锈钢滤袋(8cm×10cm,500 目,高压灭菌并干燥)过滤,并用去离子水冲洗并自然风干备用.

1.2　管网模拟反应器及原位培养实验

培养微塑料所用的管网模拟反应器为改进的 Propella^{TM} 反应器[18],以具有 15 年管龄的一段市政供水管道(DN150)作为外部圆筒,最大程度模拟实际管网的内部环境.内圆筒和左、右盖采用 304 不锈钢制成,通过不锈钢条将内圆筒固定在右盖.通过调节电机转速控制水流的剪切力,模拟所需流速下的水力条件.将反应器搭建在市政供水管网上,以市政管道水作为反应器进水,并对其进出水水质进行监测.反应器结构如图 1 所示.

采集 2L 进、出水样品和反应器内部的生物膜样品并及时冷藏保存.微塑料包装在不锈钢滤袋内并做好标记.再将装配好的滤袋密封好并放置在反应器底部,接入管网水进反应器(容积为 8.24L),同时维持转速为日常流速(0.3m/s)状态[18].根据 Pang 等[21]对微塑料上生物膜的培养实验,定期(14,28,42d)采集微塑料,观察氨氧化微生物群落的定植和动态演替

变化.运行 42d 结束后,采集微塑料颗粒样品,放入无菌培养皿中,用无菌水冲洗 3 次去除松散的附着杂质,再放入装有冰袋的保温箱内,带回实验室于−20 ℃条件下保存备用.

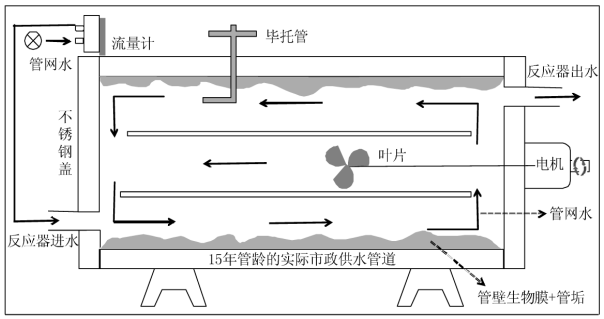


图 1 反应器结构示意

Fig.1 Schematic of the reactor

在反应器运行期间,进、出水的水质保持稳定.反应器进出水的 pH 值分别为 7.18±0.03 和 7.29±0.03, 水温为 (15.15±0.80),(15.70±1.00) ℃, 浊度为 (0.02±0.04),(0.05±0.03) NTU, 余氯浓度为 (0.68±0.05),(0.13±0.02) mg/L,总有机碳浓度分别为(1.33±0.05),(1.33±0.08) mg/L,溶解氧浓度为(9.38±0.63),(9.73±0.35) mg/L,硝酸盐氮浓度为(1.46±0.13),(1.00±0.18) mg/L.氨氮和亚硝酸盐氮均低于检测限.

1.3 微塑料表面表征分析

采用傅里叶红外光谱仪 (FTIR,Thermo Scientific Nicolet iS50)测定 5 种微塑料官能团.先将微塑料置于玻璃培养皿中,用超纯水清洗 3 次.再放入超声清洗仪中清洗 2 次,每次 30min,有效去除附着的污染物,最后自然干燥.干燥后的样品进行官能团扫描,扫描波长范围为 400~4000cm¹,分辨率为 4cm¹,扫描 32 次.通过不同微塑料的羰基峰强和参考峰强的比值得到羰基指数(Carbonyl Index,CI),表征微塑料的氧化程度和降解情况.

通过 X 射线衍射(XRD,Miniflex600)对微塑料的晶型特征进行分析.微塑料颗粒均匀铺在玻璃样品板上,保证 X 射线衍射信号的可靠性.以 Cu−Kα 为辐射源(λ=1.5406),设置扫描角度范围为 5°~70°,扫描速度为 2°/min.通过 XRD 图谱中的衍射峰位置、强度以及全宽半高等分析,计算样品的结晶度,揭示微塑料的结晶特性.

1.4 DNA 提取和 PCR

使用 FastDNA^{TM} Spin Kit for Soil(MP Biomedicals, USA)试剂盒提取样品中微生物的总基因组 DNA.微塑料和生物膜样品取 0.3~0.4g,饮用水样本则通过 0.2μm 滤膜预处理.PCR 扩增使用 2×FineTaq^{TM} PCR SuperMix 试剂盒 (TransGen Biotech,中国)和 C1000Touch PCR 仪(Bio−Rad,USA).针对 AOA 和 AOB 的 *amo*A 基因,分别使用引物 Arch−*amo*A F/R 和 *amo*A 1F*/2R[22];PCR 程序为 94 ℃ 30s,53℃ 30s,72℃ 1min,共 35 个循环,延伸为 72 ℃ 10min;Comammox 的 *amo*A 基因扩增使用巢式 PCR[23],第一轮引物为 A189Y/C576r,程序为 94℃ 5min,然后进行 94℃ 1min,52℃ 50s,72℃ 50s,共 25 个循环,最后 72℃ 10min;第二轮引物为 CA209f/C576r,程序为 94℃ 5min,然后进行 94℃ 1min,50℃ 50s,72℃ 50s,共 35 个循环,最后 72℃ 10min.

1.5 Q−PCR 定量分析

对提取的 DNA 样品进行实时荧光定量 PCR(Q−PCR)分析,采用 SYBR Green I 染色法,所用试剂为 PerfectStart^{TM} Green qPCR SuperMix 试剂盒 (TransGen Biotech, 中国), 实验使用 Applied Biosystems QuantStudio 3 扩增仪 (Applied Biosystems, CA,USA).AOA 和 AOB 的引物与 PCR 相同,Comammox 的引物对为 comamoA F/R[24].以携带 *Nitrosomonas europaea* ATCC 19718*amo*A 基因的质粒作为 AOB 的标准品[25].AOA 和 Comammox 的 *amo*A 基因标准品从管网生物膜中获得,通过质粒提取步骤得到目的基因标准品(NCBI 序列号分别为 OM735820 和 OP966793).将标准品以 10 倍浓度梯度稀释后,与待测 DNA 同时进行 qPCR.AOA 的 Q−PCR 程序为 95℃ 5min,然后进行 95℃ 10s,53℃ 20s,72℃ 30s,共 50 个循环;AOB 的 Q−PCR 程序为 95℃ 5min,然后进行 95℃ 10s, 54℃ 20s,72℃ 30s, 80℃ 5s,共 50 个循环[26].对于 Comammox,根据 Zhao 等[27]的扩增程序优化为 95℃ 5min,然后进行 95℃ 10s,53℃ 20s,72℃ 30s,共 40 个循环.

1.6 高通量测序及数据处理

扩增产物纯化和质量控制后,使用 Illumina MiSeq 系统(Illumina MiSeq,USA)进行高通量测序.测序结束后,将测序结果提交到 DNA 序列数据库 (Gen Bank),项目编号为 PRJNA1198869.对序列进行聚类,得到操作分类单元(OTU),将每个分类中丰度

最高的序列作为该 OTU 的代表序列.将这些 OTU 在 NCBI 上进行 BLAST 序列比对,并选择具有较高同源性的参考序列.用 MEGA11 进行序列对齐和系统发育树的构建,具体选择邻接法(Neighbor−Joining, NJ)构建系统发育树.为评估树的可靠性,使用自举法(Bootstrap)进行 1000 次重复采样计算置信度.

1.7　统计分析

使用 SPSS 20 统计分析软件(IBM,USA)对所得到的数据进行多因素单变量方差分析(MANOVA)和配对样本 T 检验.

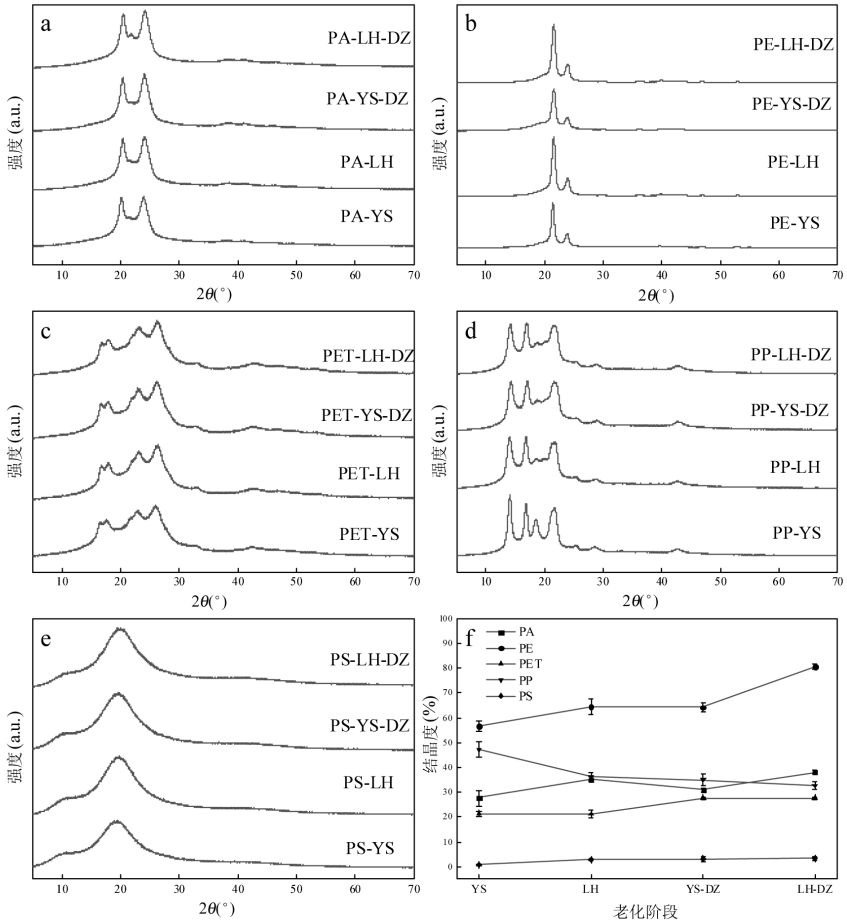


图 2　微塑料的 XRD 图谱及结晶度变化

Fig.2　XRD patterns and crystallinity of microplastics

a~e 分别为 PA−MPs、PE−MPs、PET−MPs、PP−MPs 和 PS−MPs 的 XRD 图谱;f 为各 MPs 的结晶度变化.YS 为原始微塑料;LH 为经过氯化处理的微塑料;YS−DZ 为经过 42d 反应器原位培养的原始微塑料;LH−DZ 为经过 42d 反应器原位培养的氯化微塑料

2　结果与讨论

2.1　微塑料的理化性质变化

2.1.1　结晶度变化　微塑料的结晶度对其吸附性能具有驱动作用,氯化处理和定植培养可能改变微塑料的结晶度[28].由图 2 可见,未处理和氯化处理的微塑料结晶度梯度均为 PE>PP>PA>PET>PS.其中,PA 和 PE 氯化处理后的结晶度均显著提高(P<0.05),而 PP 的结晶度显著降低(P<0.05).原始微塑料在定植培养后的结晶度梯度未发生变化,但氯化处理组经定植培养后,PA 结晶度超过了 PP.对于 PA 微塑料,氯化处理显著提高其结晶度 (P<0.05),定植培养后结晶度进一步增加(P<0.05).PE 原始微塑料的结晶度显著低于氯化处理和定植培养后的状态(P<0.05),其中氯化并定植后的结晶度增幅最大.类似的结果也见于樊淋阳等[29]对 PE 地膜的老化研究,对其进行 40d 自然老化,结晶度有明显提高.

PET 微塑料经氯化处理后的结晶度显著高于原始状态(P<0.05),但定植培养 42d 后,原始组和氯化组的结晶度均无显著性变化.这可能与 PET 分子

链上存在极性基团有关,作为半晶态聚合物,PET 的分子链运动在室温下受到限制,难以发生二次结晶[30].PP 原始微塑料的结晶度显著高于其他状态(P<0.05),说明 PP 在老化过程中晶型结构不断被破坏.这一现象与其他研究结果一致,例如 Lv 等[31]对 PP 进行 30d 的实验室强化老化,发现结晶度随着时间延长不断降低;吴小伟[32]通过对水环境中 PP 微塑料进行光老化,发现 40d 后微塑料的衍射峰强度明显降低,表明其结晶度也不断降低.PS 微塑料的结晶度经过氯化和定植均无显著性变化,PS 本身为无定形聚合物,因此结晶度较低.综上,微塑料经过氯化处理和定植培养后,PA、PE 和 PET 结晶度增加可能会降低吸附能力,而 PP 的结晶度降低则可能会增强吸附能力.

2.1.2 微塑料的官能团变化 微塑料经氯化处理和反应器定植培养后,其表面官能团发生一定程度的变化,进而影响微塑料的亲疏水性和吸附能力[33].图 3 中,羰基指数用于表征聚合物的老化程度.PA 微塑料表面官能团在氯化处理后未发生明显变化,但氯化处理后羰基指数上升,表明羰基峰的强度增加.经过 42d 的反应器定植培养,PA 微塑料在 1536cm^{-1} 处的酰胺基(N−H、C−N 键)和 1635cm^{-1} 处的羰基(C=O 键)特征官能团强度下降,这可能是由于酰胺基裂解和表面活化引起的.PE 微塑料在氯化处理后表面官能团变化不显著,但两组经定植培养后,在 1023cm^{-1} 出现亚甲基(−CH_2)弯曲振动峰,在 1534cm^{-1} 及 1640cm^{-1} 处出现羰基(C=O)的吸收峰,此外,氯化定植组在 3300cm^{-1} 处出现弱强度的羟基(−OH)吸收峰.羰基吸收峰的形成主要是 PE 在管网环境中经历水解和生物降解过程,形成羧酸、醇、酮和醛等羰基化合物[34],同时氧化和断裂后的 PE 聚合物亲水性增加.

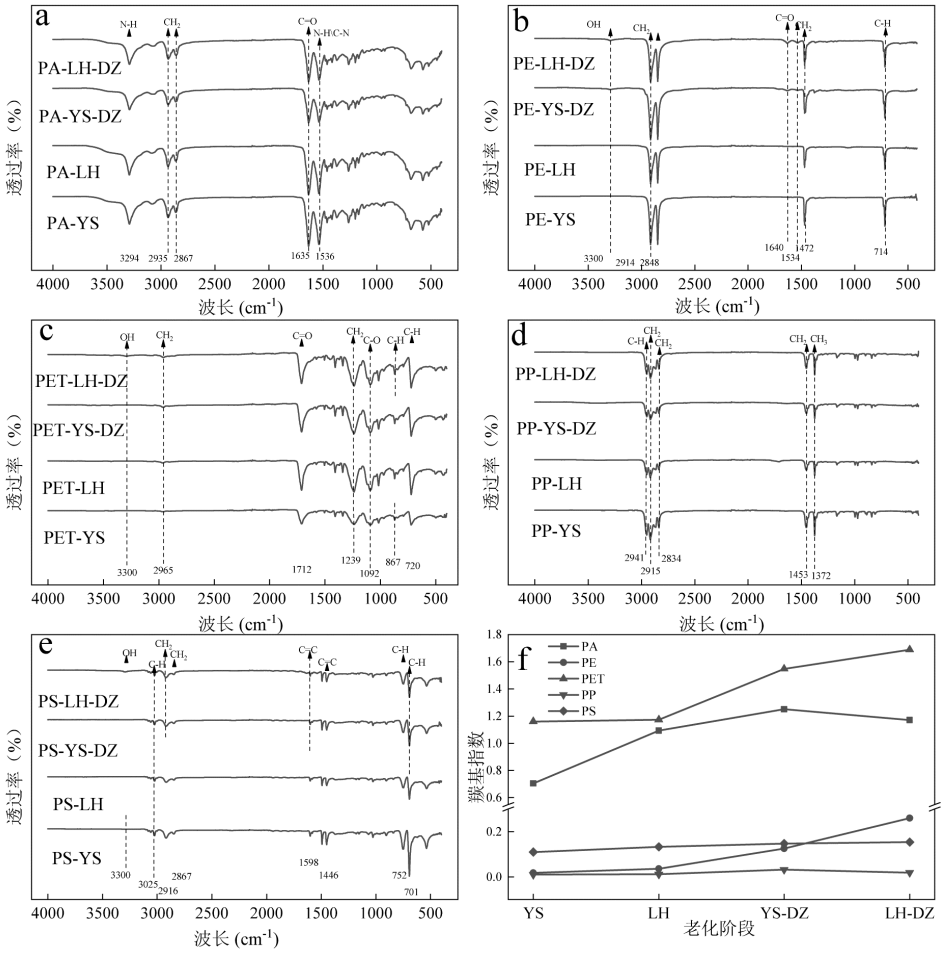


图 3 微塑料的表面官能团及羰基指数变化

Fig.3 Surface functional groups and carbonyl index of microplastics

a~e 分别为 PA-MPs、PE-MPs、PET-MPs、PP-MPs 和 PS-MPs 的 FTIR 光谱;f 为各 MPs 的羰基指数变化.

PET 微塑料在 3 种不同老化条件下,1712cm^{-1} 处的羰基(C=O)吸收峰强度均增加,以及氯化定植后的 PET 微塑料在 3300cm^{-1} 也出现弱强度的羟基(−OH)吸收峰.说明老化过程中发生氧化反应,含氧官能团增强.特别是在定植培养过程中发生水解和生物降解,主要是 2 种类型的酶(PETase 和 MHETase)参与 PET 的生物降解[35].PP 微塑料在 3 种老化条件下均没有观察到新的吸收峰或任何吸收峰移动,特别是在 1650~1850cm^{-1} 处未观察到羰基吸收峰,表明芳香族聚合物 PP 具有很好的稳定性.但 1372~1453cm^{-1} 处的亚甲基(−CH_2)和甲基(−CH_3)特征吸收峰强度有所降低,说明老化过程中发生部分降解,结合 PP 羰基指数的变化趋势可知降解程度较低.经过老化处理后,PS 微塑料在 1598~1752cm^{-1} 的羰基带吸收峰强度出现一定程度的降低,氯化定植后的 PS 微塑料在 3300cm^{-1} 处同样出现弱强度的羟基(−OH)吸收峰.然而,目前关于 PS 生物降解的研究表明,其降解效率较低,通常需要特定降解菌以及最佳温度和营养条件.在实际管网环境中的寡营养水质和黑暗密闭条件下, PS 的降解效率可能更低[36].

总之,微塑料的降解程度取决于聚合物的特性,管网环境影响微塑料的降解由水流机械力、非生物氧化(如氯氧化)和生物膜降解共同驱动.以 PE、PP 和 PS 为代表的聚烯烃类微塑料,其非生物降解作用(光降解、水解和电化学降解等)通常先于生物降解.有研究将原始塑料暴露于不同的灭菌条件(饮用水、废水和严重污染表面消毒的剂量),发现 PP 最耐氯化,其次是 PE 和 PS[20].结合三者的羰基指数的低水平和低变化,进一步证明 PE、PP 和 PS 的耐氯性和化学稳定性.三者以 C−C 和 C−H 键为主要组成,与酯键相比降解难度更大.而 PA 和 PET 是主链上中含有 N 和 O 的聚合物,进入水环境发生酰胺基团和酯基的断裂,更容易通过水解和生物降解生成以羧基和羟基为末端的单体或低聚物.

2.2　生物膜培养反应器进出水和生物膜中的氨氧化微生物丰度

由图 4a 可见,反应器进出水样品测定的氨氧化微生物丰度没有发生显著性的变化.进出水的 AOA *amo*A 基因拷贝数范围为(2.47±0.09)×10^4 ~ (1.12±0.08) ×10^{5}copies/L;AOB *amo*A 基因拷贝数范围为(3.05±0.18) × 10^6 ~ (5.64±0.12) × 10^{6}copies/L;Comammox *amo*A 基因拷贝数范围为(3.81±0.54) × 10^5~ (4.52±0.76) × 10^{5}copies/L.整体上的氨氧化微生物丰度大小为 AOB>Comammox>AOA.由图 4b 可见,生物膜中 AOA *amo*A 基因拷贝数为(9.01±0.67)×10^{5}copies/g;AOB *amo*A 基因拷贝数为(8.47±0.12)×10^{6}copies/g;Comammox *amo*A 基因拷贝数为(2.54 ± 0.47)×10^{7}copies/g. 水中的 Comammox 和 AOB 的丰度相当且在氨氧化微生物群落中占据主导地位.生物膜中 Comammox 数量的优势可能与其高效氨氧化能力以及对稳定附着环境的偏好有关.

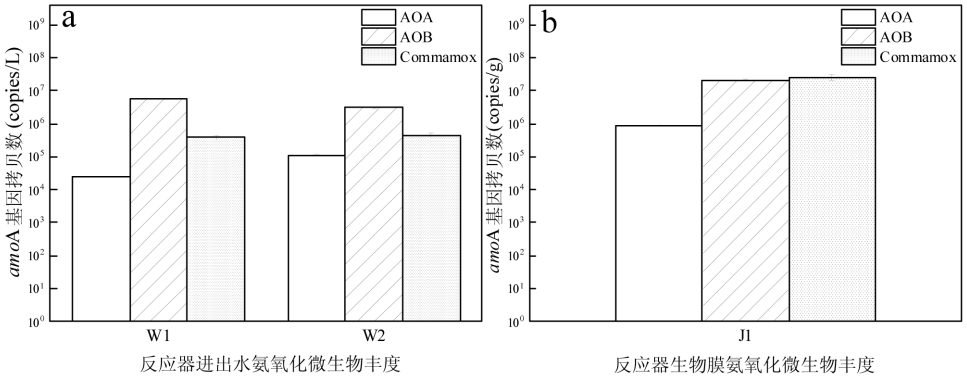


图 4　反应器水相和生物膜相的氨氧化微生物丰度

Fig.4　Abundance of ammonia−oxidizing microorganisms in the aqueous and biofilm phases of the reactor

W1 为反应器进水;W2 为反应器出水;J1 为生物膜样品

2.3　微塑料上定植的氨氧化微生物丰度

由图 5 可见,AOA *amo*A 基因丰度的变化整体随定植时间呈现逐渐上升的趋势,到 42d 时其丰度处于高位.原始微塑料 AOA *amo*A 基因拷贝数范围为

(1.54±0.02) ×10^4 ~ (3.22±0.01) ×10^{5}copies/g,氯化微塑料 AOA *amo*A 基因拷贝数范围为(8.32±0.82) ×10^4 ~ (2.96±0.05) ×10^{7}copies/g.相比之下,原始微塑料的 AOB *amoA* 基因丰度的变化整体随定植时间呈现先上升后下降的趋势,基因拷贝数范围为(8.15±0.31) ×10^5 ~ (8.55±0.12) ×10^{8}copies/g;而氯化微塑料的 AOB *amo*A 基因丰度在定植时间段未发生明显改变,拷贝数范围为(1.70±0.17) ×10^5~ (6.72±0.27) ×10^{5}copies/g.此外,Comammox *amo*A 基因丰度的变化在 5 种微塑料上存在差异,PA 氯化微塑料出现先下降后上升的现象,其余微塑料上的 Comammox 丰度整体表现下降的趋势.Comammox 在原始微塑料拷贝数范围为(4.62±0.23) × 10^5 ~ (3.07±0.64) × 10^{10}copies/g,氯化微塑料拷贝数范围为(3.19±0.31) × 10^5~ (6.69±0.17) × 10^{9}copies/g. PA、PE、PP 原始微塑料定植的氨氧化微生物中 Comammox 占主导地位.PE 氯化微塑料上定植的 Comammox 基因丰度显著高于其他类型(P<0.05).然而,PET 和 PS 微塑料的氨氧化微生物丰度在氯化处理前后均无显著变化.

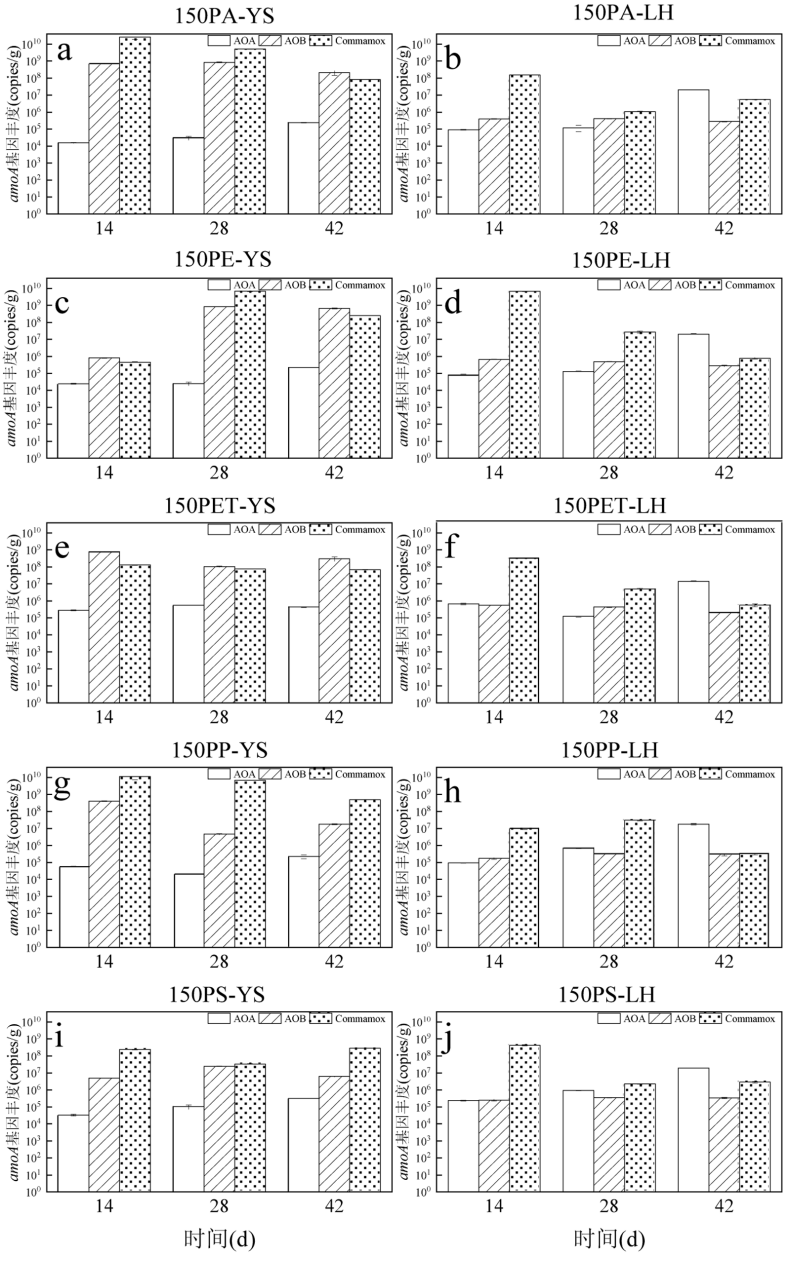


图 5 微塑料上氨氧化微生物丰度

Fig.5 Abundance of ammonia-oxidizing microorganisms on microplastics

原始微塑料上氨氧化微生物总丰度与结晶度显著正相关(r^2=0.8486,P<0.01).总丰度梯度为:PE>PP>PET>PA>PS.Zhang 等[28]研究表明,结晶度和亲疏水性是影响微塑料吸附能力的两大关键性因素.结晶度高的微塑料(如 PE 和 PP)表面更疏水,易吸附疏水性微生物和胞外聚合物(EPS)促进生物膜形成,导致表面氨氧化微生物更快响应和生长.而氯化处理后的微塑料上氨氧化微生物总丰度不仅低于原始微塑料上的总丰度,且与结晶度大小无显著相关性,这与氯化处理后微塑料上可能残留消毒剂而抑制微生物生长有关,表明氯化成为影响氨氧化微生物生长的主要因素.

通过对比可见,原始微塑料 *amo*A 基因丰度梯度在定植初期(14d)大多情况为 Comammox>AOB>AOA,除了 PET 微塑料的 AOB 基因丰度会高于 Comammox.在培养初期,氯化微塑料定植的 Comammox 的丰度也远高于 AOA 和 AOB,达 2~4 个数量级.与管壁生物膜测定的氨氧化微生物丰度对比,表明微塑料在短期内能够定植相当数量的氨氧化微生物.基于氨亲和力研究,目前认为饮用水系统中 AOA 和 Comammox 在硝化生态位中居主导地位[37].其中 PA、PE 和 PP 微塑料上更偏好生长 Comammox,其高氨亲和力表明在供水管网的寡营养环境中短期定植生长具有优势[38].与原始微塑料定植情况相比,氯化处理的微塑料上的 AOB 和 Comammox 基因丰度整体有所降低,特别是 PA 和 PP 微塑料定植的 Comammox 基因丰度在氯化后显著降低(P<0.01).可能由于微塑料具有较强的吸附能力[20],同时在水基质中会形成团聚体[39],因此氯化处理后,即使经过前期清洗和管网水流冲洗,颗粒内部可能有消毒剂残留,抑制了 AOB 和 Comammox 的生长.而 AOA 对氯消毒剂具有较强的抗性[40],因此氯化微塑料的 AOA 基因丰度能够显著高于原始微塑料,特别是 42d 均观察到 AOA 基因丰度开始高于 AOB 和 Comammox.总体来看,微塑料上的 *amo*A 基因丰度会受到老化方法、培养时间、微塑料类型和氨氧化微生物种类的显著影响(P<0.01).

2.4　原始微塑料氨氧化微生物多样性及群落组成

本研究成功对 33 个样本 DNA 进行 PCR 扩增并完成 AOA *amo*A 基因的高通量测序,但未能得到 AOB 和 Comammox 的 PCR 产物,可能与提取微塑料样品上的 DNA 过程中产生 PCR 反应抑制物有关[41].在经过嵌合过滤和质量控制后,原始微塑料样品(15 个)以 97%的相似性水平为阈值从 10309 个 AOA *amo*A 基因序列中得到 1 个最丰富的序列 OTU1(占比 73.32%).水样和生物膜样品以及氯化处理的微塑料样品以 97%的相似性水平为阈值从 1760444 个 AOA *amo*A 基因序列中得到 15 个 OTUs,其中 OTU2(85.72%)和 OTU3(14.27%)占比达到了 99.99%.将这 3 个主要的 OTU 代表序列和已知的 AOA *amo*A 基因的序列导入 MEGA11.0 软件中,进行序列的系统发育分析,如图 6 所示.

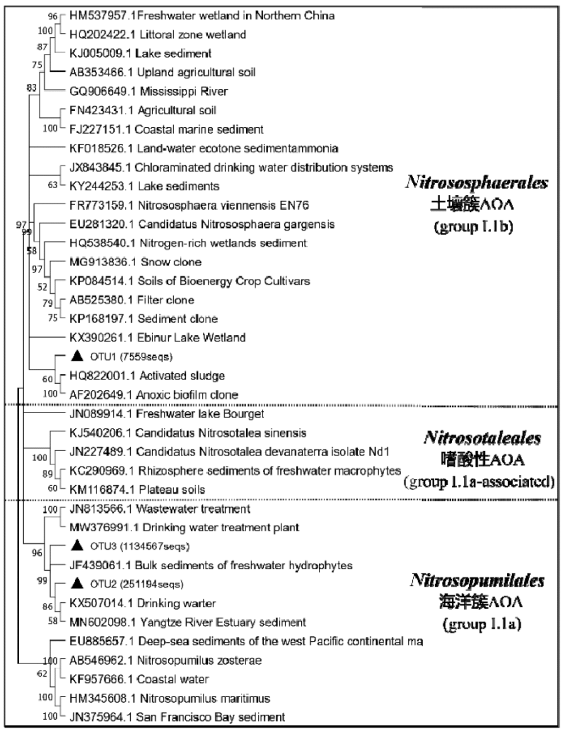


图 6　AOA *amo*A 基因的系统发育树

Fig.6　Phylogenetic tree of the AOA *amo*A gene

原始微塑料的代表序列 OTU1 归属于土壤 AOA 簇(*Nitrososphaera/Nitrososphaera sister cluster*),表现出高度的亲缘性相似.但是 OTU1 的序列条数远小于 OTU2 和 OTU3,表明饮用水系统中 group I.1b(土壤 AOA 簇)的占比含量很低.另一方面,饮用水、生物膜样本以及氯化微塑料的 AOA *amo*A 基因序列均属于 group I.1a,和饮用水处理厂以及长江口沉积物中的 AOA *amo*A 基因被聚类在一个组群,并与海洋 AOA 簇显示较强的同源性.

3 结论

3.1 原始(未氯化)和氯化处理的微塑料结晶度梯度为 PE>PP>PA>PET>PS.氯化处理和定植培养后,PA、PE 和 PET 微塑料的结晶度均显著提高,而 PP 结晶度不断降低.

3.2 PA 微塑料氯化处理和定植培养后表面官能团未明显变化.PE 和 PET 微塑料经过老化后,表面出现羰基和羟基吸收峰.PP 微塑料三种老化条件处理未见明显吸收峰变化.PS 微塑料表现出轻微的羰基吸收峰变化.微塑料的老化程度与其化学结构有关,PE、PP 和 PS 主要通过非生物降解作用老化,而 PA 和 PET 更易通过生物降解和水解老化.

3.3 微塑料表面的氨氧化微生物(AOA、AOB、Comammox)*amo*A 基因丰度受老化处理、培养时间及微塑料种类因素显著影响.其中原始微塑料(未氯化)上氨氧化微生物总丰度与结晶度呈正相关.微塑料普遍在培养早期表现出较高的 Comammox 和 AOB 富集能力,其中 PA、PE 和 PP 微塑料上更偏好生长 Comammox;而氯化处理后的微塑料 AOA *amo*A 基因丰度在 42d 高于前两者.

3.4 未氯化和氯化处理的微塑料 AOA *amo*A 基因的多样性差异显著.饮用水、生物膜样本以及氯化微塑料的 AOA *amo*A 基因序列均属于 group I.1a,与海洋 AOA 簇有较强的同源性.而原始(未氯化)微塑料主要定植的 AOA 属于土壤 AOA 簇,且亲缘性高度相似.

参考文献:

[1] Shi J, Dong Y, Shi Y, et al. Groundwater antibiotics and microplastics in a drinking-water source area, northern China: Occurrence, spatial distribution, risk assessment, and correlation [J]. Environmental Research, 2022,210:112855.

[2] Acarer S. Abundance and characteristics of microplastics in drinking water treatment plants, distribution systems, water from refill kiosks, tap waters and bottled waters [J]. Science of the Total Environment, 2023,884:163866.

[3] Yang X, Xu X, Zhou Y, et al. Longitudinal and vertical distribution of microplastics in various pipe scales in an operating drinking water distribution system [J]. Journal of Hazardous Materials, 2023,459:132108.

[4] 居传福.不同类型微塑料微生物老化行为及其环境效应研究 [D]. 上海:东华大学, 2022.
Ju C F. Study on microbial aging behavior and environmental effects of different types of microplastics [D]. Shanghai: Donghua University, 2022.

[5] Wu X, Fan M, Tan Z, et al. Modifications to sorption and sinking capability of microplastics after chlorination [J]. Water Supply, 2023,23(8):3046-3060.

[6] El-Shahawi M S, Hamza A, Bashammakh A S, et al. An overview on the accumulation, distribution, transformations, toxicity and analytical methods for the monitoring of persistent organic pollutants [J]. Talanta, 2010,80(5):1587-1597.

[7] Huang H, Wang F, Ma S, et al. The aquatic plastisphere: methodology, biofilm formation mechanism, and microbial diversity [J]. Reviews of Environmental Contamination and Toxicology, 2024,262(1):15.

[8] 李 雪,罗玉华,李 华,等.水环境中微塑料与微生物的相互作用研究进展 [J]. 中国环境科学, 2024,44(12):6962-6971.
Li X, Luo Y H, Li H, et al. Advances in the study of microplastic-microbial interactions in the aquatic environment [J]. China Environmental Science, 2024,44(12):6962-6971.

[9] Zettler E R, Mincer T J, Amaral-Zettler L A. Life in the “plastisphere”: microbial communities on plastic marine debris [J]. Environmental Science & Technology, 2013,47(13):7137-7146.

[10] Oberbeckmann S, Kreikemeyer B, Labrenz M. Environmental factors support the formation of specific bacterial assemblages on microplastics [J]. Frontiers in Microbiology, 2018,8:2709.

[11] Othman A R, Hasan H A, Muhamad M H, et al. Microbial degradation of microplastics by enzymatic processes: a review [J]. Environmental Chemistry Letters, 2021,19(4):3057-3073.

[12] Wang X, Zhang X, Yao C, et al. Impact of aged and virgin microplastics on sedimentary nitrogen cycling and microbial ecosystems in estuaries [J]. Science of the Total Environment, 2023,878:162977.

[13] Chen X, Chen X, Zhao Y, et al. Effects of microplastic biofilms on nutrient cycling in simulated freshwater systems [J]. Science of the Total Environment, 2020,719:137276.

[14] Huang J N, Wen B, Miao L, et al. Microplastics drive nitrification by enriching functional microorganisms in aquaculture pond waters [J]. Chemosphere, 2022,309:136646.

[15] Seeley M E, Song B, Passie R, et al. Microplastics affect sedimentary microbial communities and nitrogen cycling [J]. Nature Communications, 2020,11(1):2372.

[16] Barbier J S, Dris R, Lecarpentier C, et al. Microplastic occurrence after conventional and nanofiltration processes at drinking water treatment plants: Preliminary results [J]. Frontiers in Water, 2022,4:886703.

[17] 赵思凯,刘沅鑫,梁 越,等.水厂消毒中微塑料的赋存、去除及潜在风险 [J]. 中国环境科学, 2025,45(4):2208-2219.
Zhao S K, Liu Y X, Liang Y, et al. Occurrence, removal and potential risks of microplastics in disinfection processes of water treatment plants [J]. China Environmental Science, 2025,45(4):2208-2219.

[18] Chen X, Xiao L, Niu J, et al. Early succession of biofilm bacterial communities in newly built drinking water pipelines via multi-area analysis [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2023,107(11):3817-3828.

[19] Li Y, Li J, Ding J, et al. Degradation of nano-sized polystyrene plastics by ozonation or chlorination in drinking water disinfection

processes [J]. Chemical Engineering Journal, 2022,427:131690.

[20] Kelkar V P, Rolsky C B, Pant A, et al. Chemical and physical changes of microplastics during sterilization by chlorination [J]. Water Research, 2019,163:114871.

[21] Pang R, Wang X, Zhang L, et al. Genome-centric metagenomics insights into the plastisphere-driven natural degradation characteristics and mechanism of biodegradable plastics in aquatic environments [J]. Environmental Science & Technology, 2024,58(42):18915-18927.

[22] Francis C A, Roberts K J, Beman J M, et al. Ubiquity and diversity of ammonia-oxidizing archaea in water columns and sediments of the ocean [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2005, 102(41):14683-14688.

[23] Xia F, Wang J G, Zhu T, et al. Ubiquity and diversity of complete ammonia oxidizers (comammox) [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2018,84(24):e01390-18.

[24] Zhao Z, Huang G, He S, et al. Abundance and community composition of comammox bacteria in different ecosystems by a universal primer set [J]. Science of the Total Environment, 2019,691:146-155.

[25] Kasuga I, Nakagaki H, Kurisu F, et al. Predominance of ammonia-oxidizing archaea on granular activated carbon used in a full-scale advanced drinking water treatment plant [J]. Water Research, 2010, 44(17):5039-5049.

[26] 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(2):729-742.

[27] Zhao Z, Huang G, He S, et al. Abundance and community composition of comammox bacteria in different ecosystems by a universal primer set [J]. Science of the Total Environment, 2019,691:146-155.

[28] Zhang D, Zhang Z, Liu H, et al. Insights into the effect of crystallinity on the sorption of organic pollutants to microplastics [J]. Environmental Science and Pollution Research, 2024,31(29):42202-42211.

[29] 樊淋阳,李恩泽,李鸿环,等.不同老化方法对聚乙烯地膜结构和性能的影响 [J]. 塑料工业, 2024,52(3):104-109,123.
Fan L Y, Li E Z, Li H H, et al. Effect of different aging methods on the structures and properties of polyethylene mulch films [J]. China Plastics Industry, 2024,52(3):104-109,123.

[30] 李　哲.微塑料的老化及其对水中抗生素的吸附行为 [D]. 沈阳:辽宁大学, 2024.
Li Z. Aging of microplastics and their adsorption behavior of antibiotics in water [D]. Shenyang: Liaoning University, 2024.

[31] Lv Y, Huang Y, Yang J, et al. Outdoor and accelerated laboratory weathering of polypropylene: A comparison and correlation study [J]. Polymer Degradation and Stability, 2015,112:145-159.

[32] 吴小伟.水环境中聚丙烯微塑料的光老化过程及影响因素 [D]. 南京:南京大学, 2022.
Wu X W. The photo aging process of polypropylene microplastics and related impact factors in aquatic environment [D]. Nanjing: Nanjing University, 2022.

[33] 徐甜甜,陈海波,谢东丽,等.微塑料的化学老化过程及吸附有机污染物的研究进展 [J]. 环境化学, 2024,43(11):3616-3628.
Xu T T, Chen H B, Xie D L, et al. Research progress on chemical aging microplastics and the adsorption of organic pollutants [J]. Environmental Chemistry, 2024,43(11):3616-3628.

[34] Gewert B, Plassmann M M, MacLeod M. Pathways for degradation of plastic polymers floating in the marine environment [J]. Environmental Science: Processes & Impacts, 2015,17(9):1513-1521.

[35] Yoshida S, Hiraga K, Takehana T, et al. A bacterium that degrades and assimilates poly (ethylene terephthalate) [J]. Science, 2016,351(6278): 1196-1199.

[36] Thakur B, Singh J, Singh J, et al. Biodegradation of different types of microplastics: Molecular mechanism and degradation efficiency [J]. Science of the Total Environment, 2023,877:162912.

[37] Al-Ajeel S, Spasov E, Sauder L A, et al. Ammonia-oxidizing archaea and complete ammonia-oxidizing Nitrospira in water treatment systems [J]. Water Research X, 2022,15:100131.

[38] Kits K D, Sedlacek C J, Lebedeva E V, et al. Kinetic analysis of a complete nitrifier reveals an oligotrophic lifestyle [J]. Nature, 2017,549(7671):269-272.

[39] 郑莹莹,张可佳,岑　程,等.供水管网中微/纳米塑料的赋存及污染特性 [J]. 中国环境科学, 2022,42(4):1610-1617.
Zheng Y Y, Zhang K J, Cen C, et al. The abundance and contamination characteristics of micro/nano-plastics in drinking water distribution systems [J]. China Environmental Science, 2022,42(4):1610-1617.

[40] 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.

[41] Linzner N, Bartel A, Schumacher V, et al. Effective inhibitor removal from wastewater samples increases sensitivity of RT-dPCR and sequencing analyses and enhances the stability of wastewater-based surveillance [J]. Microorganisms, 2024,12(12):2475.

作者简介：牛　佳(1985-),女,山西太原人,副教授,博士,主要从事水环境保护及水质保障技术研究工作.发表论文 30 余篇.niujia@fjut.edu.cn.