

郭子宁, 王旭升, 向师正, 等. 再生水入渗区典型抗生素分布特征与地下水微生物群落影响因素研究 [J]. 岩矿测试, 2022, 41(3): 451 - 462.

GUO Zining, WANG Xusheng, XIANG Shizheng, et al. Distribution Characteristics of Typical Antibiotics in Reclaimed Water Infiltration Area and Influencing Factors of Groundwater Microbial Community [J]. Rock and Mineral Analysis, 2022, 41 (3): 451 - 462.

【DOI: 10.15898/j.cnki.11-2131/td.202111040163】

## 再生水入渗区典型抗生素分布特征与地下水微生物群落影响因素研究

郭子宁<sup>1</sup>, 王旭升<sup>1</sup>, 向师正<sup>1</sup>, 胡桐搏<sup>1</sup>, 刘菲<sup>2</sup>, 关翔宇<sup>1\*</sup>

(1. 中国地质大学(北京)海洋学院, 北京 100083;

2. 水资源与环境工程北京市重点实验室, 中国地质大学(北京), 北京 100083)

**摘要:** 再生水入渗携带的抗生素污染是地下水污染的来源之一, 已经成为城市地下水资源的安全中不可忽视的问题。抗生素对复杂和脆弱地下水环境中的微生物群落及其功能的影响值得关注。本研究基于利用 16S rRNA 基因高通量测序方法, 对 3 月和 9 月两个月份再生水渗入区城市地下水中微生物群落结构进行分析。结合现场调查测试和室内分析, 测得样品中离子 ( $K^+$ 、 $Na^+$ 、 $Ca^{2+}$ 、 $Mg^{2+}$ 、 $NH_4^+$ 、 $F^-$ 、 $Cl^-$ 、 $SO_4^{2-}$ 、 $NO_3^-$ 、 $NO_2^-$ 、 $HCO_3^-$ 、 $CO_3^{2-}$ ) 浓度, 并采用超高效液相色谱 - 串联质谱技术测得主要的抗生素浓度(环丙沙星、诺氟沙星、氧氟沙星、莫西沙星、磺胺吡啶和磺胺醋酰), 对研究区地下水环境中微生物群落结构及与环境因子的响应规律进行探讨。结果表明: ①研究区内 3 月份地下水中抗生素浓度要高于 9 月份整体抗生素浓度, 以磺胺醋酰和环丙沙星为主, 此外除了季节因素外, 人类活动可能是影响抗生素分布的又一因素; ②微生物群落主要由变形菌门 (*Proteobacteria*, 81.04%), 其次是拟杆菌门 (*Bacteroidota*, 7.60%)、厚壁菌门 (*Firmicutes*, 4.21%) 等组成。三氮 ( $NH_4^+$ 、 $NO_3^-$ 、 $NO_2^-$ ) 和抗生素是影响研究区内微生物群落结构的重要影响因素, 不同抗生素对微生物群落影响存在差异, 其中磺胺吡啶、诺氟沙星、氧氟沙星和莫西沙星对微生物的影响最大, 环丙沙星和磺胺醋酰的影响程度较小; ③共现性网络分析发现有占据优势的两个功能群与抗生素有较高的连结度, 即抗生素对该研究区内主要的微生物功能群及其功能存在潜在的影响。本研究可为认识抗生素对地下水微生物群落的影响机制以及生态风险提供帮助。

**关键词:** 城市地下水; 再生水入渗; 抗生素; 超高效液相色谱 - 串联质谱法; 群落结构; 群落功能要点:

- (1) 再生水入渗区地下水中典型抗生素的分布呈现季节分布, 同时受到人为因素的影响。
- (2) 三氮和抗生素是影响微生物群落组成和功能的主要影响因素, 不同类型抗生素对微生物群落的影响具有差异性。
- (3) 抗生素污染对微生物功能产生直接和间接影响, 同时造成潜在的生态风险。

中图分类号: 0657.63

文献标识码: A

地下水是城市居民生产和生活的重要水源, 但当前地下水污染问题日益严重, 医院、工业、农业

废水的排放都会导致地下水污染, 给饮用水安全带来许多问题<sup>[1]</sup>, 严重威胁了饮用水的安全, 查明污

收稿日期: 2021-11-04; 修回日期: 2021-11-26; 接受日期: 2022-01-27

基金项目: 中华人民共和国生态环境部项目(2018ZX07109)

第一作者: 郭子宁, 硕士, 主要研究方向为环境微生物。E-mail: 2713980751@qq.com。

通信作者: 关翔宇, 博士, 副教授, 主要研究方向为环境微生物。E-mail: guanxy@cugb.edu.cn。

染物对于地下水环境中生物和非生物因素的影响具有重要意义。城市地下水水文条件复杂,而且地下水污染存在非点源污染<sup>[2-3]</sup>,研究地下水微生物群落的组成和结构,探究其与地下水生态系统功能的关联,识别影响微生物多样性的主要环境因子,了解地表水和地下水微生物群落和污染源之间的关系,是开展地表水和地下水污染修复的重点课题之一<sup>[4-5]</sup>。

作为环境中物质循环和能量代谢的介导者——微生物,其在地下水环境中的群落多样性较高且相对稳定,不同的微生物种群相互作用,形成稳定的群落结构并参与元素循环过程<sup>[6]</sup>。大量研究表明,当环境条件改变时会发生显著的变化,地下水中的微生物群落组成和结构会受不同理化条件的影响而产生差异性的改变,进而改变微生物的群落多样性、组成、互作关系及功能,并且对城市水地下水环境中的元素循环和物质代谢产生影响<sup>[7]</sup>。例如,Harvey等对地下水污染下微生物功能进行了研究,结果显示,亚处理浓度的污染改变了富集硝酸盐还原微生物群落的组成,抑制了硝酸盐还原能力<sup>[8]</sup>。然而在多种地下水污染物中,抗生素作为一种新型污染物近年来被广泛关注<sup>[9]</sup>。自然环境中抗生素污染往往是通过水体传播的,主要来源为污水处理厂排水、化工厂排水和农业用水排水。抗生素进入环境后经过自然水体稀释,其浓度大幅降低,但低浓度的抗生素(比临床确定的最低抑菌浓度低10~100倍)往往可以增加耐药菌的相对丰度,并通过提高适应性进化的速率来选择耐药性<sup>[10-11]</sup>。由于抗生素滥用所产生的细菌耐药性以抗性基因的形式在微生物群落中传播,导致大量非目标微生物产生抗性,进而不可避免地使微生物群落参与的营养循环、污染物降解等功能受到影响<sup>[12]</sup>,进一步加剧了抗生素污染的影响面积和严重性。

自20世纪70年代以来,抗生素的使用量已经大幅增加<sup>[13]</sup>,环境中的抗生素抗性细菌(antibiotic resistance bacteria, ARB)的总量也在不断地增加<sup>[14]</sup>。大量的抗生素抗性基因(antibiotic resistance genes, ARGs)使得潜在的致病菌增加了更多无形的威胁<sup>[15]</sup>。所以,由此产生的污染可能影响整个地下水生态环境,进而对人类的饮水安全和健康构成严重威胁。Korzeniewska等分析了废水样本和接受废水处理的河流样本,结果显示传统的废水处理技术不能完全去除抗生素,污水的排放增加了河流中抗性基因的数量。对于河流微生物群落而言,抗生素

抗性基因`cnrA`和整合酶基因参与了细菌或致病菌耐药的共同选择,这一选择结果增加了污水处理厂工作人员所面临的生态和健康风险<sup>[16]</sup>。Shigei等<sup>[17]</sup>分析了约旦最大污水处理厂排放的废水样品,结果显示废水中检出5种抗生素,除克拉霉素外,所有抗生素的流出物浓度与进水相比增加了2~5倍,而在污水处理厂附近的河流中,均检测到抗生素污染。废水排放可能是这种污染传播的主要途径,同时这些河流水体用于灌溉饲料和蔬菜,对当地居民的健康构成了严重威胁。虽然之前的研究表明了自然水体或者生活、工业、农业废水中的抗生素污染能够造成潜在的生态风险,并且对生态风险的评估也提供了帮助,然而在地表河流接纳污水处理厂的再生水后,一部分接纳水体会经过河床下渗到地下水。因地下水系统并非是抗生素污染的直接接纳水体,所以通常被认为是受抗生素污染较小的一环往往被忽视,但实际上地下水由于其特殊的环境特性和与底层、层间包气带水的复杂相互作用而更容易成为抗性基因水平转移的场所。目前对于地下水中的抗生素污染对微生物群落的影响研究还很欠缺。

本文对再生水入渗区污水处理厂排水和地下水的污染开展调查,基于微生物群落16S rRNA基因高通量测序结果,利用统计学将分子生物学和地球化学耦合一起,对再生水入渗区抗生素对地下水微生物群落组成和功能的影响开展研究。主要关注的问题包括:不同季节地下水环境因子的差异和抗生素污染分布特征;微生物群落多样性、不同季节微生物群落差异以及再生水与地下水之间微生物群落的联系;在物种和功能群水平上,抗生素及其他主要环境因子对微生物群落的影响机制。拟为探讨再生水渗入对城市地下水微生物群落结构及其功能的影响,以及抗生素的生态风险提供帮助。

## 1 研究区概况

研究区位于北方某城市河流径流区域周边,为山前冲洪积扇,地势北高南低,由山前向平原倾斜。水文地质条件主要为第四系沉积,厚度由北向东南增大,含水层结构由粗变细,层次由单一到多层。地下水流向与地表水相同,由东北流向西南。其中,采样点G1、G2为受到W1污水处理厂排水河道下渗直接影响的地下水硝酸盐污染区;G3、G4为受南水回补影响的地下水;G5为受到引温济潮回补影响的地下水。G3和G5点位附近人口较为密集,分布有城市排污口、农田灌溉地以及养殖场等(图1)。

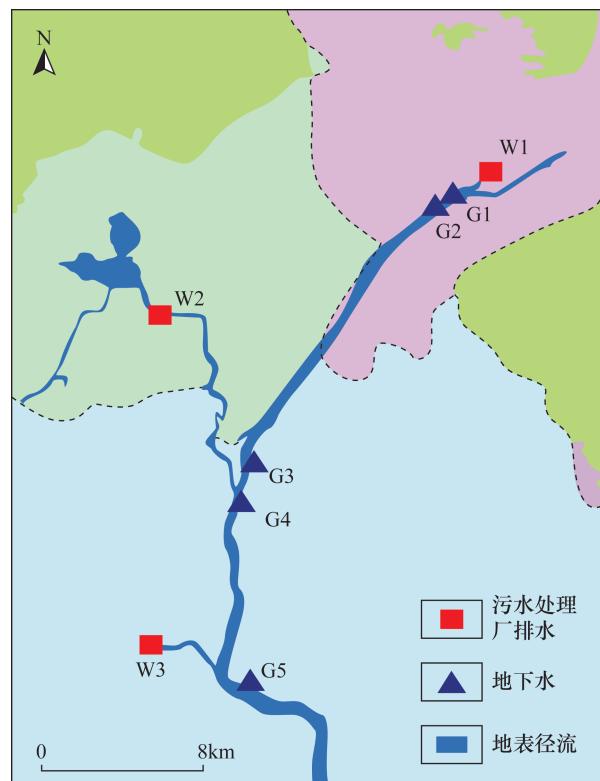


图1 采样点区位图

Fig. 1 Bitmap of the sampling point area

## 2 实验部分

### 2.1 样品采集

本研究共有8个采样点,其中3个采样点为污水处理厂排水口(waste water treatment plant, WWTP),再生水样品标记为W1、W2、W3。5个采样点(图1)位于再生水入渗影响的地下水监测井(groundwater, GWT),分别标记为G1(水位25.04~25.29m)、G2(水位28.70~29.20m)、G3(水位17.50~20.24m)、G4(水位17.99~23.08m)、G5(水位17.88~20.05m)。样品采集于2020年3月(-Mar)、9月两个月份(-Sept),共采集样品15个,编号分别为W1-Mar、W2-Mar、W3-Mar、G1-Mar、G2-Mar、G3-Mar、G4-Mar、G5-Mar、W1-Spet、W2-Spet、W3-Spet、G1-Spet、G3-Spet、G4-Spet、G5-Spet(9月份G2位点封闭未采集)。

样品采集使用无菌聚苯乙烯瓶(1L),每个采样点各采集10L水样(其中5L用于理化因子分析,3L用于微生物样品富集,2L样品作为备份)。将采集好的样品放置于低温保温箱中12h内运送至实验室,储存在4℃冰箱中。

### 2.2 样品分析测试方法

本课题组对采集的样品进行理化测试,现场采

集的样品一部分进行就地测量,以表征样品的pH、溶解氧、氧化还原电位和电导率。实验室测定指标主要包括无机阴阳离子、三氮和抗生素。其中无机组分具体包括,金属阳离子: $K^+$ 、 $Na^+$ 、 $Ca^{2+}$ 、 $Mg^{2+}$ 、 $NH_4^+$ ;阴离子: $F^-$ 、 $Cl^-$ 、 $SO_4^{2-}$ 、 $NO_3^-$ 、 $NO_2^-$ 等;超高效液相色谱-质谱联用仪检测所有抗生素浓度。

#### 2.2.1 无机阴离子、金属阳离子及三氮测试

(1) 金属阳离子( $K^+$ 、 $Na^+$ 、 $Ca^{2+}$ 、 $Mg^{2+}$ 等)通过电感耦合等离子体发射光谱仪(德国,SPECTRO)进行定量,阴离子( $F^-$ 、 $Cl^-$ 、 $SO_4^{2-}$ 、 $HCO_3^-$ 、 $CO_3^{2-}$ )通过离子色谱法使用ICS-90离子色谱仪(美国,Dionex)测定。测定次数为3次,空白样品为0,其中 $K^+$ 、 $Na^+$ 、 $Ca^{2+}$ 、 $Mg^{2+}$ 的检出限分别为:0.15、0.02、0.02、0.02  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,质量控制的相对偏差在0.07~0.19之间。

(2) 使用紫外分光光度法,利用HP 8453紫外可见分光光度计(美国,Hewlett-Packard)分别在220~275nm、540nm和420nm波长处测定 $NO_3^-$ 、 $NO_2^-$ 和 $NH_4^+$ 浓度。硝酸盐氮最低检出浓度为0.08 mg/L,测量上限为4mg/L硝酸盐氮,标线浓度范围为0、0.2、0.6、1.0、1.4、2.0mg/L;亚硝酸盐氮最低检出浓度为0.003mg/L,测量上限为0.20mg/L亚硝酸盐氮,标线浓度分别为0、0.02、0.06、0.1、0.14、0.2mg/L;氨氮最低检出浓度为0.025mg/L,测量上限为2mg/L氨氮,标线浓度分别为0、0.1、0.2、0.6、1、1.4、2mg/L。

#### 2.2.2 抗生素指标(替代物、基质加标、空白加标回收率)和浓度测试

抗生素采用固相萃取(SPE)与超高效液相色谱-串联二级质谱(美国,UPLC-MS/MS)的方法检测。抗生素萃取使用自动固相萃取仪器(Auto SPE-06C,美国,Reeko Instrument)和Oasis HLB SPE柱(6mL,500mg,美国,Waters)来萃取地下水样品中的抗生素。每一根SPE柱使用6mL甲醇和6mL乙二胺四乙酸溶液( $Na_2EDTA$ ,0.1g/L)活化SPE柱。在1L地下水样品中添加6.0g的 $Na_2EDTA$ ,待 $Na_2EDTA$ 完全溶解后,使用6mmol/L盐酸和氢氧化钠溶液调节样品pH在4.3~4.5范围内。再向样品中加入10 $\mu\text{L}$ 替代标准混合溶液[4ng/ $\mu\text{L}$ 的氟沙星-D<sub>3</sub>和磺胺邻二甲氧嘧啶-D<sub>6</sub>(sulfadimethoxine)的甲醇溶液,德国,Witega],并以6mL/min的速度活化SPE柱后再进行固相萃取。1L地下水样品完全萃取在SPE柱后,将SPE柱用10mL超纯水浸提,并使用高纯氮气干燥30min,

然后用6mL氨水/甲醇(5:95,V/V)溶液洗脱。最后,将洗脱液用氮气吹脱至小于1mL。使用甲醇-水溶液(1:1,V/V)将洗脱液体积补定容至1.0mL。再向1.0mL洗脱液中加入10μL内标混合物[4ng/μL的达氟沙星-D<sub>3</sub>、磺胺毗啶-<sup>13</sup>C<sub>6</sub>、磺胺氯哒嗪-<sup>13</sup>C<sub>6</sub>、红霉素<sup>13</sup>C-D<sub>3</sub>和去甲基金霉素(demethylchlortetracycline)的甲醇溶液,德国,Witega]。

后续对抗生素进行测定的仪器参数如下。色谱柱:Waters ACQUITY UPLCBEH C18 2.1mm×50mm;流动相A:0.1%甲酸水溶液;流动相B:甲醇/乙腈(1:1,V/V,含0.1%甲酸);流速设定为0.2mL/min,进样量设定为1μL,柱温为40℃。进行室内分析时,一个实验室空白、一个实验室空白加标、一个平行样品和一个样品基质加标作为实验室质控样品。实验室空白中抗生素的浓度低于相应方法检测限(method detection limits,MDL),实验室空白加标的回收率范围为76.50%~92.25%,基质加标回收率范围为85.17%~103.75%,目标化合物的替代物、样品加标回收率、基质加标回收率均在合理范围内(50%~150%)。本研究中,抗生素的方法检出限为:磺胺醋酰(1.82ng/mL)、磺胺毗啶(0.81ng/mL)、莫西沙星(0.94ng/mL)、环丙沙星(3.95ng/mL)、氧氟沙星(3.01ng/mL)、诺氟沙星(1.08ng/mL)。

### 2.2.3 微生物分子生物学测试

使用无菌0.22 μm滤膜(美国,Millipore)收集水体样品(3L)中的微生物用于提取DNA。使用E.Z.N.A.<sup>®</sup> Soil DNA Kit(美国,Omega Bio-tek)土壤DNA提取试剂盒进行样品DNA提取,提取后将DNA存储在-80℃下。构建PE文库及Illumina测序。使用NEXTFLEXRapid DNA-Seq Kit进行建库,利用Illumina公司的Miseq PE300平台进行测序(上海美吉生物医药科技有限公司)。

### 2.3 数据分析方法

使用FASTP软件对原始测序序列进行质控,使用FLASH软件进行拼接,使用UPARSE软件,根据97%的相似度对序列进行OTU聚类。利用RDP classifier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%。

使用R中Vegan包(<https://github.com/vegandevelopers/vegan>)计算微生物群落的物种丰富度、Simpson指数、方差分解分析(variance partitioning analysis,VPA)、相似性分析(analyses of similarities,

ANOSIM)、方差膨胀因子分析(variance inflation factor,VIF)等;使用R中ape包(<http://ape-package.ird.fr/>)进行非度量多维尺度分析(Non-metric multidimensional scaling,NMDS);利用R语言中CCA包(<https://CRAN.R-project.org/package=CCA>)进行环境因子与微生物群落丰度之间的典范对应分析(canonical correspondence analysis,CCA);利用R语言Hmisc包(<https://github.com/harrelfe/Hmisc/>)计算物种与物种之间以及物种与环境因子之间的相关性,配合Gephi软件(Version 0.92)实现微生物共现性网络的可视化。

## 3 结果与讨论

### 3.1 理化因子及抗生素测试结果(回收率、检出率以及浓度)

对3月和9月两期水样的阳离子进行分析发现(表1),Ca<sup>2+</sup>、Mg<sup>2+</sup>在3月份的最高浓度分别为127.35mg/L、81.93mg/L,在9月份的最高浓度分别为97.11mg/L、31.34mg/L,可见3月浓度高于9月份,说明3月份样品中水质硬度明显高于9月水质硬度。K<sup>+</sup>、Na<sup>+</sup>浓度在9月份样品中出现最大值(20.91mg/L、120.30mg/L),两期水样中的变化较为显著。从阴离子分析结果中可以发现,Cl<sup>-</sup>浓度在两期样品中无明显的浓度变化,但是污水处理厂排水处样品的Cl<sup>-</sup>浓度较地下水偏高,可能因为污水处理厂处理废水出水前的最后一步添加氯或者在城市用水中氯化物的大量使用<sup>[18-19]</sup>。F<sup>-</sup>、HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>、CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>和SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>各离子浓度在两期样品中并无组间显著差异。三氮(NH<sub>4</sub><sup>+</sup>、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>和NO<sub>2</sub><sup>-</sup>)在不同季节两组间的差异并不显著,且在组内变化也不明显。虽然三氮随季节变化不明显,但是NO<sub>3</sub><sup>-</sup>在地下水样品G1处却有较高浓度(3月和9月样品分别为79.07mg/L、54.27mg/L),说明了G1处可能存在有其他的无机氮源。

本研究每个采样点的测试样品为单份样品,每个样品都取三次平行测定值计算其平均值,3月份样品替代物(氧氟沙星-D3和磺胺二甲氧嘧啶-D6)的回收率分别为54.75%~81.75%和54.17%~118.08%,9月份样品替代物的回收率分别为92.58%~118.25%和76.08%~90.17%,分析结果均满足要求。通过筛选,6种抗生素在各个采样点检出率都大于50%(表2),主要为诺氟沙星(Norfloxacin)、磺胺毗啶(Sulfapyridine)、磺胺醋酰(Sulfacetamide)、莫西沙星(Moxifloxacin)、氧氟沙星

表1 各采样点理化因子数据

Table 1 Physical and chemical factor data of each sampling point

样品编号	理化因子含量(mg/L)											
	K <sup>+</sup>	Na <sup>+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	F <sup>-</sup>	Cl <sup>-</sup>	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>
W1 - Mar	-	12.44	72.52	48.14	0.63	0.34	179.00	108.00	23.30	0.19	-	216.98
W2 - Mar	-	13.58	127.35	81.93	1.26	0.42	165.00	71.90	7.52	0.16	-	330.06
W3 - Mar	-	12.62	99.49	61.64	0.07	0.60	76.40	63.00	9.48	0.02	-	255.49
G1 - Mar	6.50	47.81	97.24	30.61	4.05	0.21	47.38	120.15	54.27	0.15	259.77	-
G2 - Mar	7.95	73.52	82.87	28.29	0.62	0.37	68.29	122.90	9.19	0.10	265.88	-
G3 - Mar	1.34	16.06	14.48	11.13	0.14	0.55	13.16	18.59	1.96	0.03	79.46	-
G5 - Mar	2.48	80.27	42.32	17.12	2.01	0.35	25.06	21.78	2.00	0.07	319.06	-
W1 - Sept	20.12	104.40	97.11	27.88	0.66	0.35	193.10	139.30	3.36	0.02	305.60	-
W2 - Sept	15.45	120.30	80.21	25.98	0.37	0.64	166.20	72.60	31.21	0.21	287.30	-
W3 - Sept	20.91	93.65	46.66	20.15	0.09	-	62.01	50.38	3.15	-	273.60	-
G1 - Sept	7.00	61.44	95.63	31.34	0.87	0.24	88.91	96.76	79.07	0.34	252.40	-
G3 - Sept	1.78	16.35	22.40	11.41	0.09	0.42	21.83	24.32	5.54	-	96.57	-
G4 - Sept	1.61	13.36	38.09	11.14	0.05	0.39	16.35	24.87	6.08	-	138.70	-
G5 - Sept	3.60	86.61	54.64	22.84	3.08	0.49	90.62	28.04	1.16	0.01	313.50	-

注:“-”表示低于检出限; G4 - Mar 未测试完整数据导致数据缺失未列出; G2 - Sept 由于采样点封闭,样品未采集,故缺失数据。

(Ofloxacin)和环丙沙星(Ciprofloxacin)。检出结果显示,磺胺毗啶、诺氟沙星和氧氟沙星三种抗生素在所有点位几乎均有检出。聚类分析结果显示,3月份抗生素浓度要高于9月份整体抗生素浓度,主要表现为磺胺醋酰和环丙沙星的浓度偏高。本文推测主要原因是9月份处于汛期,水量较大导致抗生素浓度较低,而3月份水量较少同时地下水主要由再生水补给,导致整体上抗生素浓度在该月偏高,这也说明地下水中的抗生素污染可能主要来自于再生水。另一个可能的原因是与季节性流行病的爆发有关,由于季节性流行病而引起抗生素使用量的增加从而导致城市地下水体中抗生素浓度增加<sup>[20]</sup>。同时抗生素浓度在样品采样点存在差异,污水处理厂排水中总体抗生素浓度也要高于地下水,这可能是携带有抗生素的再生水在与地下水交汇之前和过程中被包气带物质所吸附,或者在运输过程中被其他水流稀释,故导致地下水抗生素浓度检出不明显<sup>[21-23]</sup>。

对于不同的抗生素种类,氧氟沙星在污水处理厂排水样品中检出较高,浓度最高达到了1210ng/L(W1 - Sept);磺胺醋酰在3月份的样品中浓度较高,最高达到269.40ng/L(W2 - Mar);环丙沙星在地下水样品G1、G3、G5组较高,最高达到340ng/L(G3 - Mar);诺氟沙星和磺胺毗啶类似,都在污水处理厂排水样品中有较高浓度检出;莫西沙星不仅在污水处理厂排水有较高检出,同时在地下水G1和G5也有较高检出。此结果与之前研究中发现的氟喹诺酮类抗生素(包括环丙沙星、氧氟沙星等)和磺

胺类抗生素在污水处理厂水样以及地下水中占据主导相似<sup>[24]</sup>。地下水样品中,G1、G3、G5整体抗生素浓度较高,G1点位更靠近污水处理厂,再生水排放后由于距离G1点位较近,被吸附或稀释较少,所以G1点位整体抗生素浓度较高,而G3和G5不仅是河流下游和交界点,同时该点位周围居民较多,附近分布有城市排污口、农家养殖场和农作物灌溉地,其他研究结果显示城市污水排放和畜牧业等对地下水中的抗生素分布具有显著影响,因此人为活动可能是影响本研究区地下水中的抗生素浓度的又一因素<sup>[25]</sup>。

表2 各采样点抗生素浓度

Table 2 Antibiotic concentration in each sampling point

样品编号	磺胺醋酰 (ng/L)	磺胺毗啶 (ng/L)	莫西沙星 (ng/L)	环丙沙星 (ng/L)	氧氟沙星 (ng/L)	诺氟沙星 (ng/L)
W1 - Mar	267.50	47.03	21.43	30.57	438.33	111.17
W2 - Mar	269.40	16.97	0.94	12.03	57.20	13.03
W3 - Mar	196.53	11.67	9.45	36.30	106.33	19.77
G1 - Mar	202.70	4.77	10.95	158.23	3.57	12.57
G2 - Mar	209.20	3.73	0.95	31.97	3.04	1.36
G3 - Mar	212.60	0.89	0.94	340.17	10.63	15.47
G4 - Mar	196.97	0.83	0.99	37.27	3.23	1.77
G5 - Mar	204.53	0.97	10.53	212.37	3.68	15.40
W1 - Sept	-	81.20	15.60	22.70	1210.00	100.00
W2 - Sept	-	9.70	-	-	43.70	11.40
W3 - Sept	-	14.00	-	-	144.00	12.80
G1 - Sept	-	7.97	-	-	7.20	5.30
G3 - Sept	-	0.88	-	-	3.05	-
G4 - Sept	-	1.01	-	-	3.19	1.14
G5 - Sept	-	1.22	-	-	3.22	7.33

注:“-”表示低于检出限; G2 - Sept 由于采样点封闭,样品未采集,故缺失数据。

### 3.2 微生物群落结构分析

本文对所测得的两期 16S rRNA 测序数据进行稀释曲线分析,其结果显示 Shannon 指数的稀释曲线趋近于平缓,说明了对样本微生物群落的检测比率接近饱和,目前的测序量能够覆盖样本中的绝大部分物种。将 3 月份和 9 月份污水处理厂排水和地下水样品得到的高质量序列按照 97% 的相似性聚类成不同的 OTU,共得到 1026 个 OTU,这些 OTU 分属于 332 个种,294 个属,198 个科,119 个目,67 个纲以及 24 个门。两期样品中占据主导地位的都是变形菌门 (*Proteobacteria*, 81. 04%), 其次是拟杆菌门 (*Bacteroidota*, 7. 60%)、厚壁菌门 (*Firmicutes*, 4. 21%)。在不同的样品间,优势微生物差异并不明显,其中 G1 和 G4 表现出与污水处理厂更高的相似性。污水处理厂排水和地下水采样点的距离往往也会对地下水的物种组成产生一定影响。例如在距

离污水处理厂排水较近的地下水采样点处,由于污水处理厂再生水的入渗,该处地下水的物种组成往往与污水处理厂处的相似度更高,即再生水入渗会改变研究区地下水的微生物群落物种组成<sup>[26]</sup>。3 月份的优势属有鞘脂菌属 (*Sphingobium*, 29. 27%)、假单胞菌 (*Pseudomonas*, 14. 50%)、甲基单胞菌属 (*Methylotenera*, 6. 61%);而 9 月份的优势菌属有福格斯氏菌 (*Vogesella*, 11. 82%)、黄杆菌 (*Flavobacterium*, 6. 68%)、鞘氨醇单胞菌 (*Sphingomonas*, 5. 44%)。在丰度前 20 的优势属中(图 2),黄杆菌属<sup>[27]</sup>和默氏菌属<sup>[28]</sup>均被报道具有对环境压力的高抗性和耐药性。

对样品进行群落组成差异分析,发现在属水平上两组样品间存在着显著的差异,3 月份和 9 月份的样品明显地分离开来( $P = 0.005$ )。为了检验各点数据按季节分组是否显著(图 3a),本文对两期数

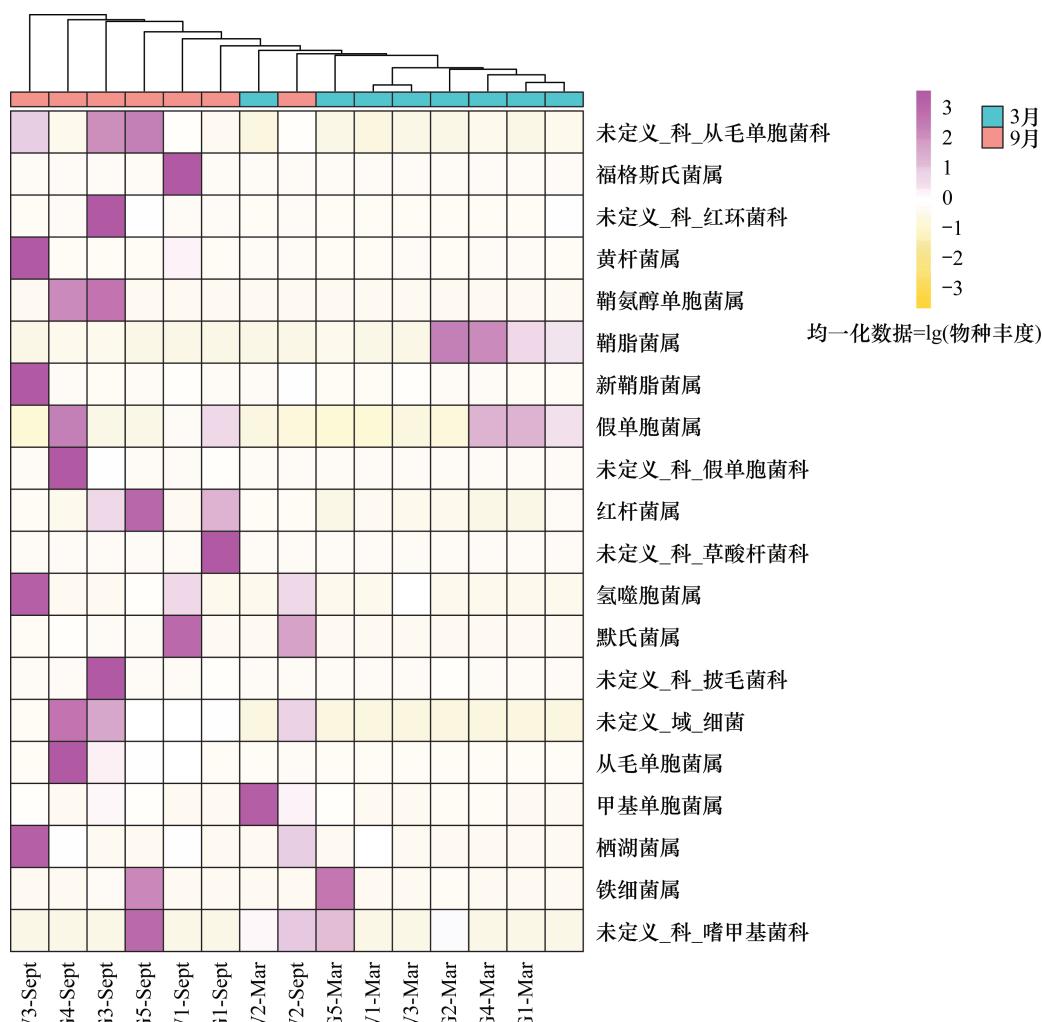
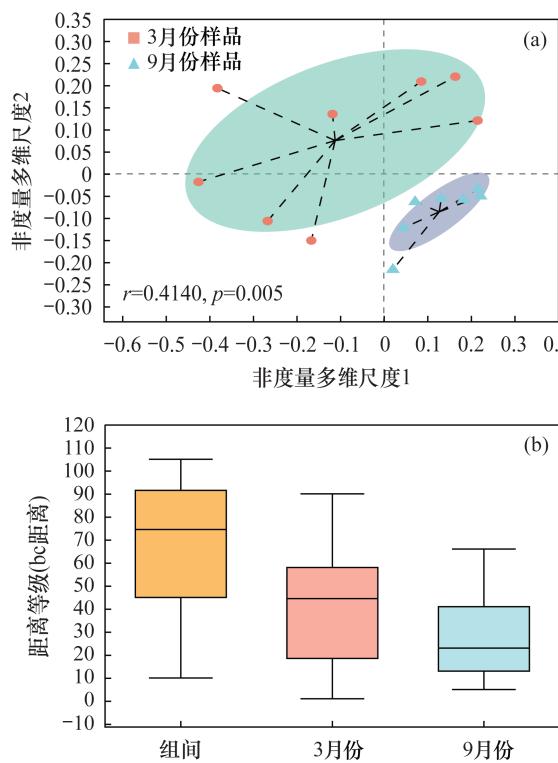


图 2 前 20 优势物种在再生水和地下水中的丰度

Fig. 2 Abundance of the top 20 genera in reclaimed water and groundwater



a—微生物群落属水平上的非度量多维尺度(NMDS)分析;  
b—属水平上相似性分析(ANOSIM)用来检验组间(3月和9月)的差异是否显著大于组内差异,从而判断按季节分组是否有意义。

图3 3月和9月水体样品中微生物群落结构差异

Fig. 3 Differences of microbial community structure in water samples in March and September. a. Non-metric multidimensional scaling (NMDS) analysis at the genus level of microbial community; b. At the genus level, analysis of similarities (ANOSIM) is used to test whether the difference between groups (March and September) is significantly greater than that within groups, so as to judge whether it is meaningful to group by season

据进行 ANOSIM 分析,结果如图 3b 所示,两组的组间差异显著大于两组内的差异( $P < 0.001$ ),说明了在月份样品中微生物群落呈现出不同的组成。其中,鞘脂菌属是 3 月份样品中丰度最高的微生物,同时也是差异较为显著的微生物( $P < 0.05$ )。福格斯氏菌属、默氏菌属在 9 月份样品中的丰度要显著高于其在 3 月份样品中的丰度( $P < 0.01$ ),而束毛球菌属的丰度则在 3 月份较高( $P < 0.05$ )。此外,不动杆菌在 3 月和 9 月呈现显著差异( $P < 0.01$ ),它是一种耐药性较强的菌属,对氨苄西林、头孢菌素、氯霉素和喹诺酮类药物大多耐药,之前有研究表明,低浓度的抗生素影响下,微生物的功能以及抗性仍

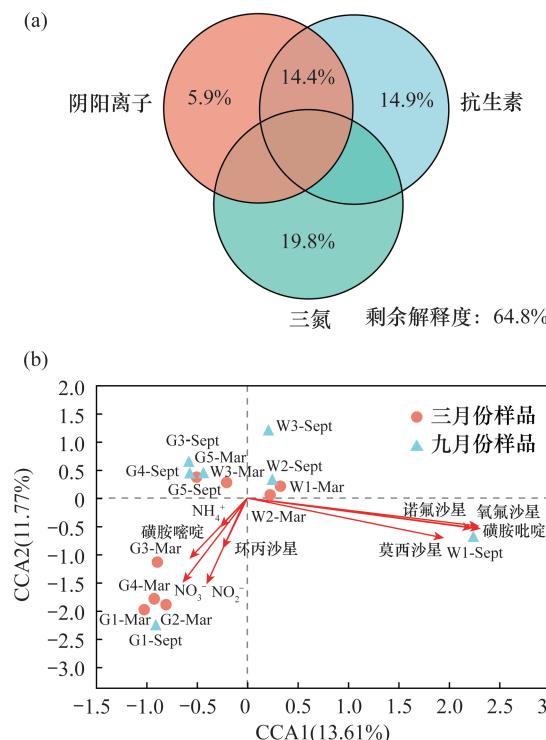
受抗生素的调控,同时在亚最低抑制浓度时仍能诱导微生物耐药性突变,或者增加某一微生物类群的耐药性从而导致微生物群落多样性的降低<sup>[29]</sup>。所以不动杆菌在 3 月和 9 月可能接受到两种不同的调控机制,在 9 月份抗生素浓度较低的情况下,由于受到抗生素亚最低浓度特性的调控,具有耐药性的不动杆菌会比其他不具备耐药性的菌属更容易接受低胁迫环境从而导致丰度增加;相反,在抗生素浓度较高的 3 月,过高的环境胁迫导致超过不动杆菌生态位耐受限度,从而降低其丰度,这为人们认识抗生素污染所带来的生态风险提供了一个新的认识。而对于丰度较高的物种——鞘脂菌属和福格斯氏菌属,其差异显著的原因可能是由于季节差异而引起的,受到抗生素的调控可能较小,两期样品表现出明显的季节差异。大多数微生物在季节变化上的差异大于样品组间的差异,因此,本课题组将重点关注不同季节微生物对环境的响应关系。

### 3.3 微生物群落与环境因子关联

#### 3.3.1 环境因子对微生物群落的影响

为了探究理化因子与抗生素和微生物之间的关联性,首先本课题组对所有测量的环境因子进行 VIF 分析后,挑选出了三氮( $\text{NH}_4^+$ 、 $\text{NO}_3^-$ 、 $\text{NO}_2^-$ )、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ 、 $\text{F}^-$  以及 6 种抗生素这些环境因子进行后续分析。再对筛选出来的环境因子与微生物进行了 VPA 分析(图 4a),结果显示抗生素、三氮、阴阳离子浓度对微生物群落的解释度分别为 14.9%、19.8%、5.9%,三氮的解释度最高,其次是抗生素、离子共同解释度和单抗生素解释度。本文选取了所有样品点与三氮和抗生素进行 CCA 分析(图 4b),结果表明 6 种抗生素对微生物样本有较强的影响,不同类型的抗生素对于微生物的塑造能力也是不同。从整体来看,磺胺吡啶、诺氟沙星、氧氟沙星和莫西沙星对于微生物的影响强度最大,环丙沙星和磺胺醋酰的影响程度较小,大部分微生物样本与三氮都呈现出负相关,地下水中 G1 点表现出与  $\text{NO}_3^-$  极强的相关性,这与 G1 点位检出的高浓度  $\text{NO}_3^-$  结果吻合,说明 G1 点的三氮污染显著影响了该处的微生物群落组成。

为了研究不同季节的抗生素和微生物相互作用,在不同月份的样品属水平上对前 20 位的微生物与主要抗生素进行相关性分析(图 5),发现 9 月份优势微生物丰度与抗生素之间的相关性较低,只有 5 种微生物表现出对磺胺类抗生素、氧氟沙星以及诺氟沙星的显著相关性,9 月份水量的增加使得



a—环境因子与微生物群落组成 VPA 分析(方差分解分析);

b—三氮、抗生素与微生物群落组成 CCA 分析(典范对应分析)。

#### 图4 微生物和环境因子关联

Fig. 4 Correlation between microorganisms and environmental factors. a. Variance partitioning analysis (VPA) of environmental factors and microbial community composition; b. Canonical correspondence analysis (CCA) of three nitrogen, antibiotics and microbial community composition

抗生素迁移快,稀释作用明显<sup>[30]</sup>,这可能是抗生素与物种相关性不显著的主要原因;在3月份的样品中,前20位的优势微生物属有13种表现出与抗生素之间显著的相关性,其中有8种优势微生物表现出与抗生素有较强的相关性。然而在单个季节的抗生素和微生物相关性中,环丙沙星和磺胺醋酰的显著相关性却最强,环丙沙星和磺胺醋酰与微生物群落较强的显著性有可能是和三氮共同作用微生物群落从而引起的。

#### 3.3.2 抗生素对于地下水不同微生物功能群落的影响

为了探究不同季节阶段抗生素对不同微生物功能群的影响,选取了前50优势属进行了微生物相关性网络分析( $r \geq 0.5, P < 0.05$ ,图6),并且对不同季节的网络图进行了节点、正相关线、负相关线、平均聚类系数、网络直径、模块化、所属关键类群分类以及正负相关线比值的计算。通过共现性网络分析,

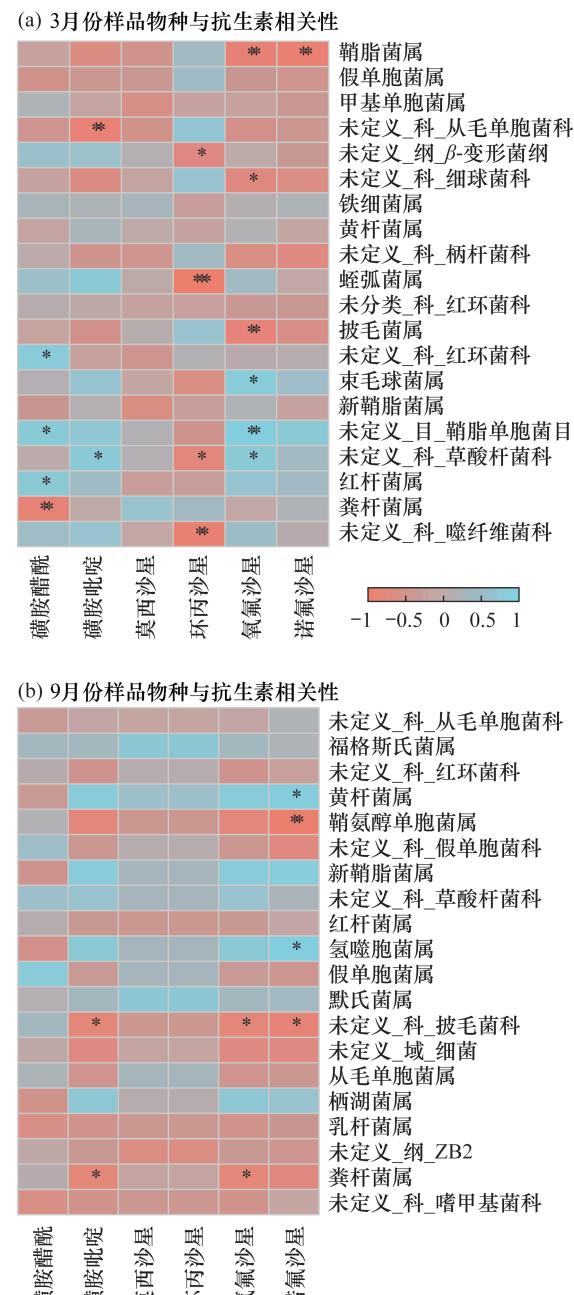
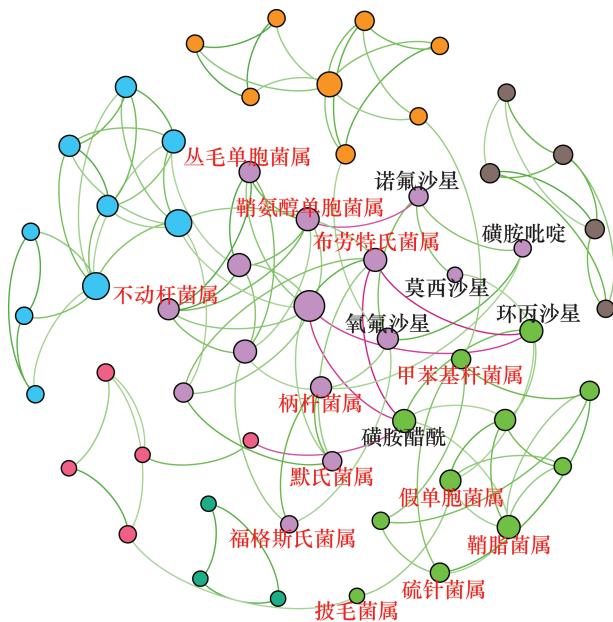


图5 3月份和9月份样品抗生素与物种相关性

Fig. 5 Correlation between sample species and antibiotics in (a) March and (b) September

将微生物群落和抗生素互作划分成了8个模块,每个模块都是一个潜在的协同进化生态功能群。其中一个模块中包含了7个主要菌属,与4种抗生素(诺氟沙星、磺胺吡啶、氧氟沙星、莫西沙星)具有显著相关性。另一个模块包含了5个菌属,与抗生素磺胺醋酰和环丙沙星显著相关,这两个模块中抗生素与物种均有较高的连结度。作用于不同的微生物功能群落并且与微生物和抗生素有较高连结度的两个



Spearman 相关系数阈值( $r \geq 0.5, P < 0.05$ )。每个结点的大小反映了附加到它的边的数量(程度中心性)。不同结点的颜色代表了优势菌属在网络中属于不同的模块。同一模块中的优势菌属在网络中具有较高的相似性。

图6 丰度前50优势属与抗生素之间的共现性网络

Fig. 6 Co-occurrence network between the top 50 genera and antibiotics. Spearman correlation coefficient threshold ( $r \geq 0.5, P < 0.05$ ). The size of each node reflects the number of edges attached to it (degree centrality). The colors of different nodes represent that the dominant genus belong to different modules in the network. The dominant genus in the same module has high similarity in the network

模块占据着微生物群落核心位置(两个模块在丰度前50的优势菌属中分别占29%和11%)，同时抗生素对于核心微生物的调控占据主导地位。具有正相关关系的菌属可能受到抗生素较强的作用从而改变微生物群落功能。抗生素在核心模块中都存在潜在的传播，不同的生态群体及其功能在抗生素污染的选择压力下均受到影响<sup>[31]</sup>。假单胞菌和鞘脂菌属都属于农药污染降解菌属<sup>[32]</sup>，硫针菌属常用于芳香族化合物的降解，例如煤焦油<sup>[33]</sup>，而在抗生素的环境胁迫下，这些菌属的降解功能可能会受到影响。不动杆菌是一种致病菌属，虽然在网络分析中，其并没有和抗生素产生连结，但抗生素可能通过作用于整个模块从而间接影响该致病菌，增加了地下水抗生素污染的生态风险，进而影响城市饮用水的健康安全。

## 4 结论

本文利用一系列统计学分析方法，对不同季节城市污水处理厂的再生水经河道入渗至地下水，进而对地下水中微生物群落产生的潜在影响开展研究，得到以下结果：①该研究区内环境因子在不同季节的差异不大，但是三氮的浓度却在G1、G2处偏高，抗生素差异十分明显，呈现出3月份高、9月份低的态势。②对于不同季节下的分组，在优势物种的丰度上有明显差异：3月份优势物种呈现出平均分布，9月份物种多集中于优势物种，同时，两个季节的优势物种也呈现出差异：鞘脂菌属是3月份样品中丰度最高的微生物，也是差异较为显著的微生物。福格斯氏菌属、默氏菌属在9月份样品中的丰度要显著高于其在3月份样品中的丰度，而束毛球菌属的丰度则在3月份较高。③抗生素对于核心微生物的调控占据主导地位，由于抗生素季节差异，优势种的丰度也会随之改变，核心微生物的功能也会直接或间接地受到抗生素的影响。同时，三氮对于微生物群落的塑造也存在一定的影响。

在此领域，前人的研究内容多集中于自然水体或者废水中的抗生素污染对微生物的影响及潜在的生态风险。而从菌种水平和功能群水平上认识抗生素对地下水环境微生物群落的扰动作用，对于再生水的利用及抗生素的污染管控具有意义。本文的研究聚焦城市地下水体中抗生素污染对微生物群落结构及功能群的潜在影响，揭示了不同季节抗生素的使用以及季节性的水量变化是影响研究区内抗生素浓度产生差异的主要原因；厘清了再生水入渗区地下水抗生素和三氮是影响微生物群落组成和功能的主要影响因素，且不同类型抗生素对微生物群落的影响具有差异性；优势功能群与抗生素的显著相关性也暗示了抗生素污染在功能群水平上对微生物群落的影响机制和潜在的环境效应。本研究为再生水入渗地下水的风险评估和水资源的安全利用提供了参考。

## 5 参考文献

- [1] 刘菲.地下水污染监测与修复专栏成果简评[J].岩矿测试,2012,31(4):645-646.  
Liu F. Brief review on achievements of groundwater contamination monitoring and remediation [J]. Rock and Mineral Analysis, 2012, 31(4): 645-646.
- [2] Biswas J K, Sarkar D. Nanopollution in the aquatic environment and ecotoxicity: Nonanoissue! [J]. Current

- Pollution Reports, 2019, 5:4–7.
- [3] Burri N M, Weatherl R, Moeck C, et al. A review of threats to groundwater quality in the anthropocene [J]. Science of the Total Environment, 2019, 684:136–154.
- [4] Li J, Sun Y, Wang X, et al. Changes in microbial community structures under reclaimed water replenishment conditions [J]. International Journal Environment Research and Public Health, 2020, 17(4):120–122.
- [5] Sharma P, Pandey A K, Kim S H, et al. Critical review on microbial community during *in-situ* bioremediation of heavy metals from industrial wastewater [J]. Environmental Technology and Innovation, 2021, 24:101826.
- [6] Fillinger L, Hug K, Griebler C. Selection imposed by local environmental conditions drives differences in microbial community composition across geographically distinct groundwater aquifers [J]. Federation of European Microbiological Societies Microbiology Ecology, 2019, 95(11):45–48.
- [7] Korbel K L, Greenfield P, Hose G C. Agricultural practices linked to shifts in groundwater microbial structure and denitrifying bacteria [J]. Science of the Total Environment, 2022, 807:150870.
- [8] Underwood J C, Harvey R W, Metge D W, et al. Effects of the antimicrobial sulfamethoxazole on groundwater bacterial enrichment [J]. Environmental Science and Technology, 2011, 45:3096–3101.
- [9] 祁彦洁, 刘菲. 地下水中抗生素污染检测分析研究进展 [J]. 岩矿测试, 2014, 33(1):67–73.  
Qi Y J, Liu F. Analysis of antibiotics in groundwater: A review [J]. Rock and Mineral Analysis, 2014, 33(1):67–73.
- [10] Wang Y F, Wang L F, Liu R M, et al. Source-specific risk apportionment and critical risk source identification of antibiotic resistance in Fenhe River Basin, China [J]. Chemosphere, 2022, 287:131997.
- [11] Lundstrom S V, Ostman M, Bengtsson-Palme J, et al. Minimal selective concentrations of tetracycline in complex aquatic bacterial biofilms [J]. Science of the Total Environment, 2016, 553:587–595.
- [12] Flaherty C M, Dodson S I. Effects of pharmaceuticals on daphnia survival, growth, and reproduction [J]. Chemosphere, 2005, 61:200–207.
- [13] Thuy T T, Huy B T. Highly stable Cs<sub>4</sub>PbBr<sub>6</sub>/CsPbBr<sub>3</sub> perovskite nanoparticles as a new fluorescence nanosensor for selective detection of trace tetracycline in food samples [J]. Journal of Industrial and Engineering Chemistry, 2021, 104:437–444.
- [14] Hunter B, Walker I, Lassiter R, et al. Evaluation of private well contaminants in an underserved North Carolina community [J]. Science of the Total Environment, 2021, 789:147823.
- [15] Zhao J H, Li B, Huang X, et al. Distribution of antibiotic resistance genes and their association with bacteria and viruses in decentralized sewage treatment facilities [J]. Frontiers of Environmental Science and Engineering, 2022, 16(3):35.
- [16] Zielinski W, Korzeniewska E, Harnisz M, et al. Wastewater treatment plants as a reservoir of integrase and antibiotic resistance genes—An epidemiological threat to workers and environment [J]. Environment International, 2021, 156:106641.
- [17] Shigei M, Assayed A, Hazaymeh A, et al. Pharmaceutical and antibiotic pollutant levels in wastewater and the waters of the Zarqa River, Jordan [J]. Applied Sciences, 2021, 11(18):8638.
- [18] Rajala K, Grönfors O, Hesampour M, et al. Removal of microplastics from secondary wastewater treatment plant effluent by coagulation/flocculation with iron, aluminum and polyamine-based chemicals [J]. Water Research, 2020, 183:116045.
- [19] Sérodes J B, Behmel S, Simard S, et al. Tracking domestic wastewater and road de-icing salt in a municipal drinking water reservoir: Acesulfame and chloride as co-tracers [J]. Water Research, 2021, 203:117493.
- [20] Caucci S, Karkman A, Cacace D, et al. Seasonality of antibiotic prescriptions for outpatients and resistance genes in sewers and wastewater treatment plant outflow [J]. Federation of European Microbiological Societies Microbiology Ecology, 2016, 92:few060.
- [21] Ding G, Chen G, Liu Y, et al. Occurrence and risk assessment of fluoroquinolone antibiotics in reclaimed water and receiving groundwater with different replenishment pathways [J]. Science of the Total Environment, 2020, 738:139802.
- [22] Jurado A, Margareto A, Pujades E, et al. Fate and risk assessment of sulfonamides and metabolites in urban groundwater [J]. Environment Pollution, 2020, 267:115480.
- [23] Vystavna Y, Schmidt S I, Diadin D, et al. Multi-tracing of recharge seasonality and contamination in groundwater: A tool for urban water resource management [J]. Water Research, 2019, 161:413–422.
- [24] Li W, Shi Y, Gao L, et al. Occurrence, distribution and potential affecting factors of antibiotics in sewage sludge of wastewater treatment plants in China [J]. Science of

- the Total Environment, 2013, 445–446:306–313.
- [25] 马健生,王卓,张泽宇,等.哈尔滨市地下水中29种抗生素分布特征研究[J].岩矿测试,2021,40(6):944–953.  
Ma J S, Wang Z, Zhang Z Y, et al. Distribution characteristics of 29 antibiotics in groundwater in Harbin [J]. Rock and Mineral Analysis, 2021, 40(6):944–953.
- [26] Oliveira M A, Goulder R. The effects of sewage – treatment – works effluent on epilithic bacterial and algal communities of three streams in northern England [J]. Hydrobiologia, 2006, 568(1):29–42.
- [27] Wang Z, Yuan S, Deng Z, et al. Evaluating responses of nitrification and denitrification to the co – selective pressure of divalent zinc and tetracycline based on resistance genes changes [J]. Bioresource Technology, 2020, 314:123769.
- [28] Fu J, Zhong C, Zhang P, et al. Novel mobilizable genomic island GEI – D18A mediates conjugational transfer of antibiotic resistance genes in the multidrug – resistant strain *Rheinheimera* sp. D18 [J]. Frontiers in Microbiology, 2020, 11:627.
- [29] Cairns J, Ruokolainen L, Hultman J, et al. Ecology determines how low antibiotic concentration impacts community composition and horizontal transfer of resistance genes [J]. Communications Biology, 2018, 1:35.
- [30] Huang F, Zou S, Deng D, et al. Antibiotics in a typical karst river system in China: Spatiotemporal variation and environmental risks [J]. Science of the Total Environment, 2019, 650:1348–1355.
- [31] Zhang Q, Zhang Z Y, Zhou S Y D, et al. Macleaya cordata extract, an antibiotic alternative, does not contribute to antibiotic resistance gene dissemination [J]. Journal of Hazardous Materials, 2021, 412:125272.
- [32] Gorodlyova N, Michel C, Seron A, et al. Modified zeolite – supported biofilm in service of pesticide biodegradation [J]. Environmental Science Pollution Research, 2021, 28:45296–45316.
- [33] Sperfeld M, Rauschenbach C, Diekert G, et al. Microbial community of a gasworks aquifer and identification of nitrate – reducing *Azoarcus* and *Georgfuchsia* as key players in BTEX degradation [J]. Water Research, 2018, 132:146–157.

## Distribution Characteristics of Typical Antibiotics in Reclaimed Water Infiltration Area and Influencing Factors of Groundwater Microbial Community

GUO Zining<sup>1</sup>, WANG Xusheng<sup>1</sup>, XIANG Shizheng<sup>1</sup>, HU Tongbo<sup>1</sup>, LIU Fei<sup>2</sup>, GUAN Xiangyu<sup>1\*</sup>

(1. School of Ocean Sciences, China University of Geosciences (Beijing), Beijing 100083, China;

2. Beijing Key Laboratory of Water Resources and Environmental Engineering, China University of Geosciences (Beijing), Beijing 100083, China)

### HIGHLIGHTS

- (1) The distribution of typical antibiotics in groundwater in a reclaimed water infiltration area presents seasonal distribution and is affected by human factors.
- (2) N – nitrogen and antibiotics are the main factors affecting the composition and function of a microbial community. The effects of different types of antibiotics on a microbial community vary.
- (3) Antibiotic pollution has a direct and indirect impact on microbial function, and causes potential simultaneous ecological risks.

**ABSTRACT**

**BACKGROUND:** Antibiotic pollution carried by reclaimed water infiltration is one of the sources of groundwater pollution, which has become a problem that cannot be ignored in the safety of urban groundwater resources. The effects of antibiotics on microbial communities and their functions in complex and fragile groundwater environments deserve attention.

**OBJECTIVES:** To explore the differences of groundwater environmental factors in different seasons and the distribution characteristics of antibiotic pollution, and to explore the influence mechanism of antibiotics on a microbial community.

**METHODS:** Based on the high - throughput sequencing method of 16S rRNA gene, the microbial community structure in urban groundwater in the infiltration area of reclaimed water in March and September was studied. Combined with field investigation and indoor analysis, the ion ( $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $NH_4^+$ ,  $F^-$ ,  $Cl^-$ ,  $SO_4^{2-}$ ,  $NO_3^-$ ,  $NO_2^-$ ,  $HCO_3^-$ ,  $CO_3^{2-}$ ) concentration in the sample was measured, and the main antibiotic (ciprofloxacin, norfloxacin, ofloxacin, moxifloxacin, sulfapyridine, sulfacetamide) concentration was measured by ultra - high performance liquid chromatography - tandem mass spectrometry.

**RESULTS:** (1) In the study area, the concentration of antibiotics in groundwater in March was higher than that in September, mainly sulfacetamide and ciprofloxacin. In addition to seasonal factors, human activities may be another factor affecting the distribution of antibiotics. (2) The microbial community was mainly composed of *Proteobacteria* (81.04%), *Bacteroidota* (7.60%), and *Firmicutes* (4.21%). 3 - nitrogen ( $NH_4^+$ ,  $NO_3^-$ ,  $NO_2^-$ ) and antibiotics were important factors affecting the microbial community structure in the study area. Different antibiotics had different effects on the microbial community. Among them, sulfapyridine, norfloxacin, ofloxacin and moxifloxacin had the greatest impact on microorganisms, while ciprofloxacin and sulfacetamide had less impact. (3) Co - occurrence network analysis found that the two dominant functional groups had a high degree of connection with antibiotics, namely, antibiotics had a potential impact on the main microbial functional groups and their functions in the study area.

**CONCLUSIONS:** The study provides support for understanding the impact mechanism of antibiotics on a groundwater microbial community and the ecological risk.

**KEY WORDS:** urban groundwater; reclaimed water infiltration; antibiotics; ultra performance liquid chromatography - triple quadrupole - mass spectrometry; community structure; community function