

DOI:10.19853/j.zgjsps.1000-4602.2024.19.003

锰氧化物介导自养脱氮的启动、效能及机制

李光蕾, 李 军

(沈阳建筑大学 市政与环境工程学院, 辽宁 沈阳 110168)

摘 要: 锰氧化物在厌氧条件下介导自养脱氮是一种很有前途的氨氮废水处理方法。通过调整pH、添加微量元素(EDTA和 Fe^{2+})、采用低氨氮负荷的方式启动厌氧反应器,探究锰氧化物介导自养脱氮过程,分析微生物在脱氮过程中的作用。启动成功后,反应器的氨氮去除负荷(ARR)和总氮去除负荷(NRR)分别为 (0.031 ± 0.009) 、 (0.025 ± 0.010) $\text{kg}/(\text{m}^3\cdot\text{d})$,且投加EDTA和 Fe^{2+} 促进了氨氮的去除。随着颗粒污泥的形成,锰氧化物逐渐由 Mn(IV) 向 Mn(II) 转化,又经锰自养反硝化(NDMO)过程形成复杂的生物锰氧化物。反应器内存在多种脱氮菌群,包含锰氧化还原菌群 *Acinetobacter*、*Bacillus*、*Anaeromyxobacter* 和 *Geothrix*, 厌氧氨氧化菌 *Candidatus_Brocadia* 以及硝化-反硝化菌群 *Ellin6067*、*Nitrospira*、*norank_f__PHOS-HE36*、*Nitrosomonas* 和 *Denitratisoma*。锰氧化物丰富了微生物的多样性,产生了多种脱氮途径。

关键词: 锰氧化物; 自养脱氮; 启动; 微生物群落

中图分类号: TU992 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4602(2024)19-0016-09

Manganese Oxide Mediated Autotrophic Denitrification: Startup, Efficiency and Mechanisms

LI Guang-lei, LI Jun

(School of Municipal and Environmental Engineering, Shenyang Jianzhu University, Shenyang 110168, China)

Abstract: Manganese oxide mediated autotrophic denitrification is a promising method for treating ammonia wastewater under anaerobic conditions. The anaerobic reactor was activated by adjusting pH, adding trace elements (EDTA and Fe^{2+}), and reducing ammonia nitrogen load. The manganese oxide mediated autotrophic denitrification process and the role of microorganisms was analyzed. It was found that the ammonia nitrogen removal load (ARR) and total nitrogen removal load (NRR) of the reactor were (0.031 ± 0.009) $\text{kg}/(\text{m}^3\cdot\text{d})$ and (0.025 ± 0.010) $\text{kg}/(\text{m}^3\cdot\text{d})$ respectively after successful startup, and the addition of EDTA and Fe^{2+} promoted the conversion of ammonia nitrogen. As the granular sludge formed, manganese oxides gradually transform from Mn(IV) to Mn(II) , and then formed complex biological manganese oxides through the manganese autotrophic denitrification process (NDMO). There were various bacterial communities in the reactor, including manganese redox bacteria such as *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Anaeromyxobacter* and *Geothrix*, Anammox bacteria (*Candidatus_Brocadia*), and the nitrification-denitrification microbial communities *Ellin6067*, *Nitrospira*, *norank_f__PHOS-HE36*,

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(51108277)

通信作者: 李军 Email: junlee@sjzu.edu.cn

Nitrosomonas and Denitratisoma. Manganese oxide enriches the diversity of microorganisms and generates multiple denitrification pathways.

Key words: manganese oxide; autotrophic denitrification; startup; microbial community

污水处理是典型的高能耗行业,节能降耗空间很大。以活性污泥法为基础的传统城市污水处理工艺模式,虽然可以满足污染控制的目标,但是不符合当前“节能减排”的发展理念,因此开发全自养脱氮工艺是未来发展的必然趋势。近十多年来,发现了一种广泛存在于自然界中的代谢途径——在厌氧条件下,金属氧化物(主要是 $\text{FeO}_x/\text{MnO}_x$)和氨氮进行氧化还原反应。近些年来,国内外学者十分关注铁氨氧化(Feammox)。王冰等^[1]通过同位素示踪试验发现,Feammox系统中氮元素的去除是由Feammox、厌氧氨氧化(Anammox)和硝酸盐依赖性铁氧化(NDFO)3种反应共同完成的。吴悦溪等^[2]在厌氧序批式反应器(ASBR)中富集培养Feammox,Feammox反应途径对氨氮去除的贡献率为57.7%,厌氧氨氧化约占42.3%,实现了污水自养脱氮。铁氧化物介导的自养脱氮过程,并不是单一的反应过程,是多种脱氮途径共同协作的结果。铁氨氧化过程是铁氨氧化菌为主导,其产率和比增殖速率均较低,导致氨氮氧化速率并不高,不能快速完成脱氮过程^[3]。脱氮过程中氧化剂的氧化还原电位顺序为 $\text{O}_2 > \text{NO}_3^- > \text{MnO}_x > \text{FeO}_x$, $\text{Mn}^{4+}/\text{Mn}^{2+}$ 的氧化还原电位(1.23 V)高于 $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ (0.77 V),因此 $\text{Mn}^{4+}/\text{Mn}^{2+}$ 比 $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ 更有利于氧化还原反应^[4]。

在厌氧条件下,以锰氧化物作为电子受体介导氨氮的氧化,最终生成 NO_2^- 、 NO_3^- 和 N_2 ,而锰氧化物被还原为 Mn^{2+} ,简称锰氨氧化过程(Mnammox)。锰氧化物也是一种催化剂,可以作为活性氧化膜催化氧化饮用水中的氨氮。 Mn(IV) 在催化氧化过程中将 NH_4^+ 氧化为 NO_3^- ,同时产生 Mn^{2+} ^[5]。 $\text{Mn}^{4+}/\text{Mn}^{2+}$ 之间存在热力学不稳定的过渡形式的 Mn^{3+} ,可以通过调控,使锰氧化物在固体氧化相 Mn(IV) 和可溶还原相 Mn(II) 之间交替。氧化膜催化氧化去除水中氨氮的机理为: NH_4^+ 被吸附到活性锰氧化膜表面,经催化氧化后脱附,且活性组分 Mn(III) 和 Mn(IV) 与 NH_4^+ 直接反应,生成的 Mn(II) 经自催化作用再次生成活性氧化膜^[6]。

据报道,细菌在锰氧化还原过程中具有重要的

作用^[7]。锰氧化物介导自养脱氮过程存在两种途径:① Mn(IV) 还原与 NH_4^+ 氧化相结合,其中 NH_4^+ 转化为 NO_3^- 或者 NO_2^- , Mn(II) 氧化介导 $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ 还原为 N_2 的过程(NDMO)^[8];② Mn(IV) 与 NH_4^+ 发生部分硝化或者 Mn(II) 与 NO_x^- 发生部分反硝化,随后进行厌氧氨氧化^[9]。Mnammox以锰还原菌(MRB)为主,而NDMO以锰氧化菌(MOB)为主,生成的生物锰氧化物(Bio- MnO_x)继续参与下一个Mnammox循环,将这个过程命名为Mnammox-NDMO^[10]。Cheng等人^[8]对锰砂基质潜流人工湿地的研究表明,锰砂能提高氨氮转化率,并延迟 NH_4^+ 氧化和 NO_2^- 、 NO_3^- 的生成。同时Mn能促进氨单加氧酶基因,降低温室气体 N_2O 的产生,增强反硝化和厌氧氨氧化。Wang等人^[11]基于宏基因组学揭示了锰矿石-颗粒活性炭微生物燃料电池耦合人工湿地(CW-CM)中氮的代谢机制,大部分 NH_4^+ 通过硝化和反硝化反应被去除。在缺氧条件下,锰氧化物介导硝化-反硝化过程已得到多方面的证实,但二氧化锰介导的厌氧氨氧化过程及途径则实证很少。卓亿元等^[12]提出Feammox中可能倾向于将 NH_4^+-N 直接氧化为 N_2 ,而Mnammox则是更倾向于先将 NH_4^+-N 氧化为 $\text{NO}_x^- - \text{N}$,生成的 $\text{NO}_x^- - \text{N}$ 可以通过传统反硝化或者与 Mn^{2+} 耦合的反硝化方式生成 N_2 。Chen等人^[13]提出Feammox伴随着Mnammox发生,且Mnammox比Feammox更有效, MnO_2 的添加在促进Mnammox发生的同时抑制Feammox反应。经过多年研究发现,Mnammox主要集中在自然环境中,如海底沉积物、土壤、湿地等,能否应用于水处理反应器还未见详细的研究。笔者通过多种调控策略调整启动锰氧化物介导自养脱氮过程,探究启动过程中反应器的脱氮性能、微生物群落结构等的变化情况,以期对锰氧化物介导自养脱氮的启动和脱氮机制研究提供理论依据,完善锰循环的可能性。

1 材料与方法

1.1 接种污泥

接种体积比为1:2的厌氧污泥和活性污泥,总体积为1.5 L。厌氧污泥取自沈阳造化污水处理厂

的厌氧段, MLSS浓度为8 564 mg/L; 活性污泥取自抚顺市三宝屯污水处理厂二沉池回流污泥, MLSS浓度为7 883 mg/L。启动后(第160天)反应器内MLSS浓度为9 792 mg/L。

1.2 模拟废水

试验采用模拟废水, 以 MnO_2 粉末(分析纯, 天津化学试剂有限公司)和 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 为反应装置提供锰氧化物和 NH_4^+-N , 其中 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 按照需求(50~100 mg/L)配制, MnO_2 分3次投加(30 g/次); 其余成分包括 KH_2PO_4 、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、 NaHCO_3 、 CaCl_2 , 投量分别为30、200、250、136 mg/L, 并添加1 mL/L微量元素I和II^[14]。

1.3 试验装置与运行参数

厌氧反应器如图1所示。反应器总体积为4 L, 有效体积为3 L, 内径为10 cm, 外设2 cm厚的水浴循环套管, 进水流速通过蠕动泵调控。反应器温度控制在 $(30 \pm 2)^\circ\text{C}$, 以碳酸氢钠和硫酸(1 mol/L)调节pH。启动过程共计160 d, 分为初始、驯化、启动成功三个阶段。由于接种污泥全部取自于污水处理

厂, 在初始阶段(阶段I)采用低浓度氨氮(50 mg/L); 在阶段II, 通过改变进水氨氮浓度、HRT、pH、添加微量元素II等策略逐渐启动反应器; 在反应器成功启动阶段(阶段III), NH_4^+-N 浓度为50 mg/L, 进水氨氮容积负荷(ALR)为0.056~0.082 $\text{kg}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$, pH为6.8~7.2。在启动过程中, 仅在初始阶段向反应器内投加90 g MnO_2 粉末, 其他阶段则未添加锰氧化物。反应器启动过程中具体调控参数见表1。

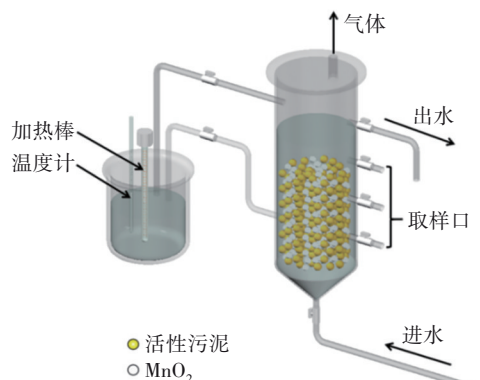


图1 试验装置示意

Fig.1 Schematic diagram of experimental equipment

表1 启动期间的调控参数

Tab.1 Control parameters during startup period

阶段	时间/d	进水氨氮/ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	氨氮容积负荷/ ($\text{kg} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$)	HRT/h	进水pH	微量元素II/($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	
						EDTA	Fe^{2+}
I	1~29	50±10	0.160±0.032	7.5	7.5±0.2	0	0
II	30~44	100±20	0.343±0.068	7.0	7.5±0.2	0	0
	45~56	100±20		7.0	7.0±0.2	0	0
	57~70	100±20		7.0	6.5±0.2	0	0
	71~93	100±20		7.0	7.0±0.2	5	5
	94~123	50±10	0.114±0.023	10.5	7.0±0.2	5	5
III	124~160	50±10	0.069±0.013	17.5	7.0±0.2	5	5

1.4 测定方法

每3 d取反应器进出水水样进行常规水质检测, 其中, NH_4^+-N : 纳氏试剂分光光度法, NO_2^--N : $\text{N}-(1-\text{萘基})-\text{乙二胺}$ 光度法, NO_3^--N : 紫外分光光度法, Mn^{2+} : 高碘酸钾氧化光度法, pH: 便携式pH计, MLSS: 滤纸称重法, 温度: 温度计。污泥形态及表面结构通过生物扫描电子显微镜(SEM)观察; 锰元素价态变化通过X射线光电子能谱(XPS)分析; 锰氧化物物相变化通过X射线衍射相分析(XRD)检测, 通过Jade软件分析。

利用高通量测序技术对接种污泥和反应器污泥样品进行分析。样本PCR扩增区域为高变区V4-

V5, 引物为515F和907R, 委托上海美吉生物医药科技有限公司完成DNA提取、PCR扩增、Illumina平台测序。

2 结果与讨论

2.1 脱氮性能

反应器启动过程中脱氮性能的变化见图2。在阶段I的1~21 d, NH_4^+ 平均去除率(ARE)为3.19%, NO_3^- 和 NO_2^- 都有少量累积, 出水 Mn^{2+} 浓度为零, 此时锰氧化物并未参与反应过程。其间, 出水 NH_4^+ 和 NO_3^- 浓度均高于进水, 发生该现象的主要原因是一些不适应新环境的微生物发生了自溶, 使得部分 NH_4^+ 和 NO_3^- 被释放出来。23~29 d, 出水 Mn^{2+} 浓

度为 (3.14 ± 1.55) mg/L,同时 NO_2^- 积累量逐渐增大。

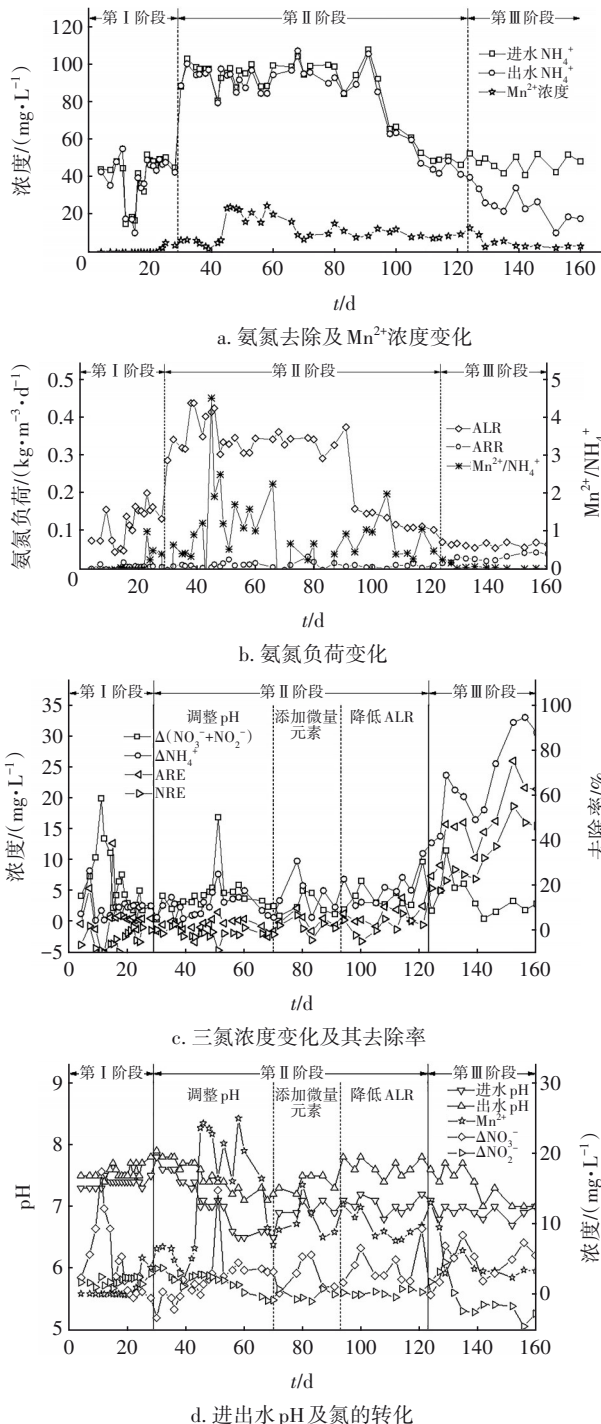


图2 反应器启动过程中脱氮性能的变化

Fig.2 Change of nitrogen removal performance during reactor startup process

第Ⅱ阶段(30~123 d),进行了调整 pH(30~70 d)、添加微量元素(71~93 d)和降低进水氨氮容积负荷(94~123 d)等调控策略,成功实现了锰氧化物介导自养脱氮的过程。在调整 pH 阶段, pH 以 0.5 为

一个梯度,由 7.5 逐步降到 6.5。随着 pH 的降低, NH_4^+ 去除率(ARE)变化不明显,出水 Mn^{2+} 浓度出现了先增高后下降的趋势,其中, pH 为 7.0 ± 0.2 有助于锰氧化物介导氨氮的氧化,增大出水 Mn^{2+} 浓度。 NH_4^+ 平均去除率升高到 3.94%,出水 Mn^{2+} 浓度突然增大至 (22.03 ± 2.64) mg/L, NO_3^- 积累量(ΔNO_3^-)为 (4.02 ± 0.9) mg/L, NO_2^- 积累量(ΔNO_2^-)与上一阶段相比并无明显的变化。反应器内氨氮转化的主要产物为 NO_3^- 和 NO_2^- , 且 $\Delta\text{NO}_3^- > \Delta\text{NO}_2^-$ 。当继续降低 pH 至 6.5 ± 0.2 时,氨氮氧化受到了抑制,且产物以 NO_3^- 为主, NH_4^+ 平均去除率及出水 Mn^{2+} 浓度均降低。

在添加微量元素阶段(71~93 d), NH_4^+ 和 TN 平均去除率(NRE)分别为 4.42% 和 2.17%,氨氮去除负荷(ARR)为 (0.015 ± 0.011) kg/($\text{m}^3 \cdot \text{d}$),出水 Mn^{2+} 浓度为 (10.59 ± 2.48) mg/L, $\text{Mn}^{2+}/\text{NH}_4^+$ 约为 0.60, NO_3^- 积累量降低,且无 NO_2^- 积累。反应器内投加 EDTA 增加了 Mn^{4+} 的溶解度,促进氨氮氧化,出水 Mn^{2+} 与 NO_3^- 浓度降低,活性污泥的脱氮能力开始显现。

在提高进水负荷后,反应器的脱氮效能并没有明显提高,表明低氨氮负荷更利于反应器启动,这与程朗^[15]的研究结果一致。在降低进水氨氮容积负荷阶段(94~123 d), NH_4^+ 和 TN 平均去除率分别为 7.49% 和 2.42%, ARR 为 (0.009 ± 0.004) kg/($\text{m}^3 \cdot \text{d}$)。该阶段氨氮去除率升高,但是 ARR 略有降低,促进了 NO_3^- 和 NO_2^- 的生成。

在第Ⅲ阶段(124~160 d),进水 NH_4^+ 浓度为 (50 ± 10) mg/L、进水氨氮容积负荷(ALR)为 (0.069 ± 0.013) kg/($\text{m}^3 \cdot \text{d}$),延长 HRT 至 17.5 h,进水 pH 为 7.0 ± 0.2 , NH_4^+ 和 TN 去除率分别为 $(47.34 \pm 14.77)\%$ 和 $(32.05 \pm 12.32)\%$, ARR 和 NRR 分别为 (0.031 ± 0.009) 、 (0.025 ± 0.010) kg/($\text{m}^3 \cdot \text{d}$),出水 Mn^{2+} 浓度持续下降至 (5.20 ± 3.14) mg/L, $\text{Mn}^{2+}/\text{NH}_4^+ < 0.08$, NO_3^- 积累量为 (4.63 ± 2.51) mg/L。在此阶段,锰氧化物介导自养脱氮过程逐步提升至稳定,氨氮和总氮最大去除率分别可达 75.38% 和 55.23%。

综上可知,在运行初期,反应器内几乎不发生 MnO_2 和 NH_4^+ 的氧化还原作用。pH 的变化可影响出水 Mn^{2+} 和 NO_x^- 浓度,进而影响 $\text{Mn}^{2+}/\text{NH}_4^+$ 值。pH 为中性偏碱时,氨氮氧化效果最佳。在高 pH 时, Mn^{2+} 容易吸附在锰氧化物或活性污泥颗粒表面,并且容易被 NO_3^- 氧化为 Mn^{4+} 从而生成新的固相锰氧化物;在低 pH 时,吸附的 Mn^{2+} 容易从锰氧化物或活性污泥

表面释放^[16],不利于氨氧化过程。EDTA的投加增加了水中 Mn^{4+} 的溶解度,也增大了微生物与金属离子的接触面积,整体促进了锰氧化物介导自养脱氮过程,但氨氧化速率始终不高。最终通过延长水力停留时间,提高了反应器的脱氮效果,NRR达到 $(0.025 \pm 0.010) \text{ kg}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$,硝化速率大于反硝化速率,氨氮转化的产物以 N_2 和 NO_3^- 为主。

2.2 污泥表征

原始污泥及培养后污泥的SEM照片见图3。初始污泥表面光滑细致,结构紧凑,视野内有杆状、球状细菌,微生物形态和数量较多。与初始污泥相比,培养后(第160天)的污泥表面粗糙,结构松散,这是锰氧化物与氨氮氧化还原的证据。在5 000倍的放大倍数下,许多层状小球结合在一起形成更大的团簇,直径为 $10 \sim 20 \mu\text{m}$,可以清楚地观察到细菌黏附在层状小球表面。微生物介导 $Mn(II)$ 氧化后,生物锰氧化物表面积增大,为细菌生长提供了更好的载体^[17]。在8 000倍的放大倍数下,可以观察到蓬松的层状与珊瑚状结构相结合,呈现“分层”簇^[8]。在30 000倍的放大倍数下,可以观察到由细微片状结构胶连而成的珊瑚状结构,含有丰富的孔隙结构。生物和物理化学过程形成的锰氧化物种类多样,生物过程形成羽毛状、板状的锰氧化物,而物理化学过程形成珊瑚或海绵状结构的锰氧化物。无论是生物还是物理化学过程,经过培养后,锰氧化物的表面积增大,利于微生物的附着和氨氮的吸附,进而促进生物/非生物的氨氧化过程。

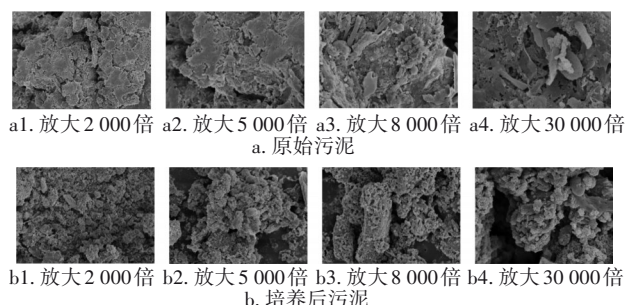


图3 污泥微观表面结构变化

Fig.3 Changes in the microscopic surface structures of sludge during startup period

采用XPS测定初始锰氧化物和培养后(第160天)污泥表面的主要元素组成,分析生物/非生物的氨氧化过程对锰氧化的影响。结果表明,锰氧化物中C、O、Mn的含量分别为38.37%、43.18%、

18.44%,污泥中C、O、Mn、N、P、Ca、Si含量分别为35.46%、46.00%、6.22%、2.70%、5.04%、2.22%、2.36%。与初始添加的化学锰氧化物相比,污泥表面的C、O占比略有减少,Mn占比减少12.22%,P占比略低于Mn,其他元素占比均小于3.00%。C、N和O是构成微生物基本的化学成分,而颗粒污泥的形成需要大量的Ca、P、Si。在整个试验过程中持续消耗Mn元素,结合出水 $Mn(II)$ 浓度分析可知大部分 $Mn(II)$ 又被氧化成 $Mn(IV)$,锰氧化物在整个过程中不仅是基质物质,更可能是一种催化剂。

为研究污泥表面的锰形态,测试了污泥中锰元素的结合能。对 $Mn 2p_{3/2}$ 和 $Mn 2p_{1/2}$ XPS谱图进行分峰处理,在锰氧化物谱图中可以明显看出是 MnO_2 的图谱,且不存在 $Mn(III)$ 。经160 d的培养以后, $Mn 2p_{3/2}$ 和 $Mn 2p_{1/2}$ 之间出现了 $Mn(II)$ 的弱卫星峰,说明 $Mn(IV)$ 向 $Mn(II)$ 转化。此时,污泥表面由三种不同价态的锰组成,结合能为640.28、641.58和643.18 eV的3个 $Mn 2p_{3/2}$ 峰分别对应 $Mn(II)$ 、 $Mn(III)$ 和 $Mn(IV)$ 。结合 $Mn 2p_{1/2}$ 的分峰结果, $Mn(II)$ 、 $Mn(III)$ 和 $Mn(IV)$ 的原子含量分别为11.3%、56.4%和32.3%。由于不同价态锰的含量变化明显,污泥中的锰氧化物从本质上发生了明显变化。随着锰元素的转化, $Mn(III)$ 和 $Mn(II)$ 原子含量增加,且中间价态的 $Mn(III)$ 达到56.4%。由于 $Mn(III)$ 介于 $Mn(IV)$ 和 $Mn(II)$ 之间, $Mn(III)$ 非常活跃,在催化氧化氨氮的反应中发挥重要作用^[18]。因此,不同价态的锰在脱氮过程中也发挥着重要作用。

采用XRD对污泥表面进行物相鉴定,谱图呈现出混合相结构,存在 $KMnO_4$ 、 $(Fe, Mn)SiO_4$ 、 $MnSO_3$ 、 $CaMg(CO_3)_2$ 、 SiO_2 等特征峰,这表明颗粒污泥是多种物质的复合物,成分与XPS元素分析结果相似。污泥中存在 $Mn(II)$ 和 $Mn(III)$ 的低价锰氧化物,例如 $MnSO_3$ 和 $(Fe, Mn)SiO_4$,可能是Mn经历了多次氧化还原过程,与其他元素形成复杂的多相复合物。污泥中不含有细菌氧化 $Mn(II)$ 产生的 MnO_2 和 $MnCO_3$ 形式的锰氧化物^[19],与锰氧化物催化氧化氨氮产生的水钠锰矿也不相同^[6],反映了该反应过程并非单纯生物/非生物过程,与污泥表面生成的锰氧化物种类相对应。

2.3 微生物群落分析

2.3.1 微生物多样性和丰富度

对各污泥(A0;二沉池回流污泥;A1:厌氧段污泥;A2:第70天污泥;A3:第160天污泥)进行微生物分析,α多样性指数见表2。Simpson和Shannon指数用于评估多样性,Simpson指数越小、Shannon指数越大,表明微生物群落的多样性越高。Ace和Chao指数用于评估微生物的丰富度,Ace和Chao指数越大,表明微生物群落的丰富度越高。Coverage指数表征覆盖度,其值越大则样本序列中没有被测出的概率越低。由Simpson和Shannon指数可以看出,A3样品中微生物多样性仅次于A0样品,这表明在启动过程中,微生物多样性逐渐上升。Ace和Chao指数变化趋势相似,A3样品的丰富度最高。结合表2中多项数据来看,反应器内微生物的丰富度和多样性提高,锰氧化物介导的自养脱氮是一种复杂的氧化还原过程,需要多种细菌的协同作用,并不是优势菌种的富集作用。

表2 反应器启动过程中α多样性指数变化
Tab.2 Alpha diversity indexes during reactor startup process

样品	Simpson	Shannon	Ace	Chao	Coverage	OTU
A0	0.008	5.860	1 779	1 800	0.989	1 441
A1	0.018	5.024	1 082	1 072	0.994	899
A2	0.019	5.329	1 838	1 815	0.987	1 407
A3	0.009	5.791	2 575	2 391	0.982	2 212

2.3.2 微生物群落结构

启动过程中门水平上微生物菌群结构的变化见图4。

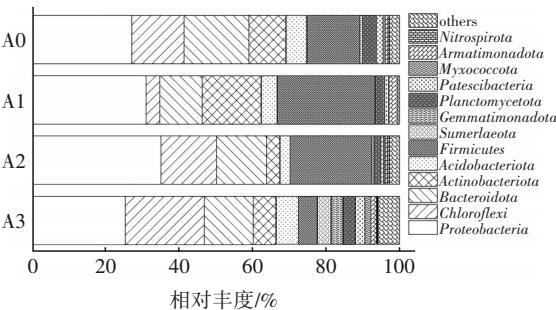


图4 反应器启动过程中门水平上微生物菌群结构的变化
Fig.4 Change of microbial community at phylum during reactor startup process

由图4可知,运行前后反应器内微生物群落结构和均匀度有明显区别。反应器内优势菌门包括

变形菌门(*Proteobacteria*)、绿弯菌门(*Chloroflexi*)、拟杆菌门(*Bacteroidota*)、放线菌门(*Actinobacteriota*)、酸杆菌门(*Acidobacteriota*)和厚壁菌门(*Firmicutes*)。其中,变形菌门(*Proteobacteria*)在三个阶段都是最优势的菌门,包括大部分的反硝化以及金属还原菌,在脱氮除磷及有机物降解过程中起重要作用^[20],是主要脱氮功能菌门,其相对丰度在启动过程中变化不大,在第Ⅲ阶段丰度为25.16%。在第Ⅲ阶段,绿弯菌门(*Chloroflexi*)相对丰度由第Ⅱ阶段的15.08%增加至21.65%,是典型的兼性厌氧微生物,参与脱氮和发酵,此外还有研究显示绿弯菌门含有大量丝状菌,在厌氧污泥中起骨架作用,促进颗粒污泥的形成^[21]。拟杆菌门(*Bacteroidota*)主导短程反硝化,是专性厌氧微生物,对生物脱氮过程起到重要作用^[22],在整个反应过程中,该菌门丰度维持在(13.48±0.15)%。与第Ⅱ阶段相比,放线菌门的相对丰度提高了2.48%。厌氧氨氧化菌属于浮霉菌门(*Planctomycetota*),在启动过程中浮霉菌门相对丰度先降至1.80%,随后逐渐增至3.31%,脱氮性能显著提升。髌骨菌门(*Patescibacteria*)作为寄主放线菌的附生体生长,相对丰度变化与放线菌门相似^[23];装甲菌门(*Armatimonadota*)能以无机氮化合物(NH₄⁺、NO₃⁻)或有机氮化合物作为唯一氮源^[24];硝化菌门(*Nitrospirota*)相对丰度由第Ⅱ阶段的0.56%降低至0.28%。变形菌门和放线菌门分别是与锰还原菌(MRB)和锰氧化菌(MOB)相关的主要菌门,其相对丰度上升证明反应器内微生物逐渐参与锰氧化物和氨氮的氧化还原作用。

反应器内属水平微生物群落结构的变化见图5。在第Ⅲ阶段,反应器中存在大量的norank_f_norank_o_Ardenticatenales和norank_f_Bacteroidetes_vadinHA17菌属,且前者的相对丰度由初期的2.40%逐渐增加至6.45%,该菌属能够利用三价铁和硝酸盐作为末端电子受体在厌氧条件下生长。最主要的锰还原菌属——地发菌属(*Geothrix*)的相对丰度由0.04%富集至0.08%,在锰的还原中发挥着重要作用,其可以分泌两种不同的可溶性氧化还原活性电子穿梭,进行胞外电子传递^[25]。与锰氧化还原相关的不动杆菌属(*Acinetobacter*)、芽孢杆菌属(*Bacillus*)、厌氧杆菌(*Anaeromyxobacter*)和地发菌属(*Geothrix*)的相对丰度都增加。另外,反硝化菌属(*Denitratisoma*)、亚硝酸盐菌属(*Nitrosomonas*)、b-蛋

白细菌(*Ellin6067*)和硝化螺旋菌属(*Nitrospira*)、氨氧化菌 *norank_f__PHOS-HE36* 的相对丰度都先升高后降低。系统中还发现了少量厌氧氨氧化菌属(*Candidatus_Brocadia*)及与 AnAOB 共生的湖杆菌(*Limnobacter*)、*norank_f__norank_o__norank_c__OM190*。系统中还发生了自养反硝化过程,其中的主要功能菌 *norank_f__Steroidobacteraceae* 和 *norank_f__Bacteroidetes_vadinHA17* 的相对丰度较接种污泥分别提高了 1.82% 和 4.30%。前者具有碳固定关键基因,是潜在的自养型细菌,在利用无机碳源进行溴酸盐还原过程中起关键作用^[26];后者则可作为功能性物种降解复杂有机物质,为微生物提供碳源。

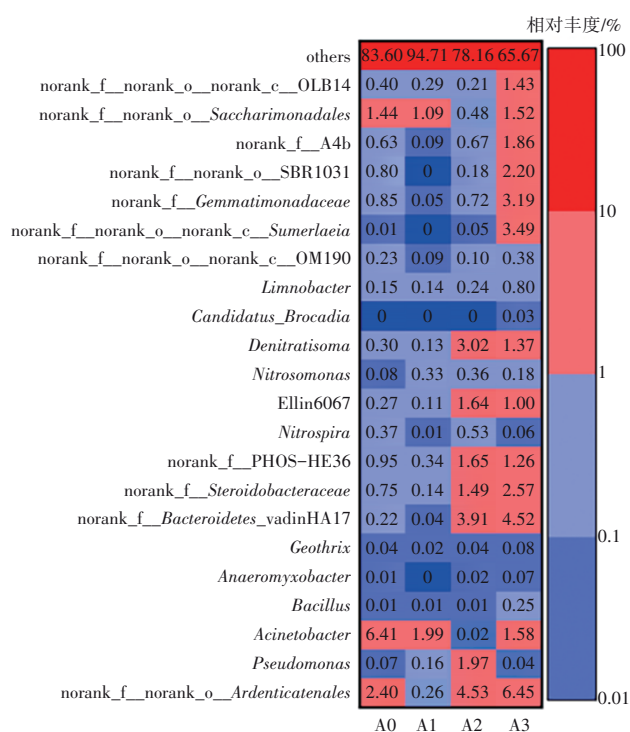


图5 反应器启动过程中属水平上微生物菌群结构的变化

Fig.5 Change of microbial community at genus during reactor startup process

综上所述, MnO_2 和 NH_4^+ 氧化还原过程不是微生物的某种单一途径,是在多种脱氮途径共同协作下,实现了锰氧化物介导自养脱氮过程。

2.4 脱氮机理

将锰氧化物添加至反应器,在进水基质中仅添加氨氮作为氮源,历时 160 d 实现了反应器的自养脱氮。在第Ⅲ阶段,实际检测出的 Mn^{2+} 浓度远小于理论 Mn^{2+} 浓度,且 $\text{Mn}^{2+}/\text{NH}_4^+$ 远低于热力学方程的最

低理论值 1.5,主要有三种可能:①固相锰氧化物对 Mn^{2+} 的吸附作用很大;②存在多种氨氧化途径,锰氧化物不仅是作为底物与氨氮发生氧化还原作用;③ Mn^{2+} 与 NO_x^- 发生了 NDMO 过程,消耗了 Mn^{2+} 。根据热力学方程,pH 影响氧化氨氮产物的种类,同时也是影响 Mn^{2+} 转化的重要因素。在高 pH 时, Mn^{2+} 吸附在锰氧化物或活性污泥颗粒表面减少流失,有利于被 NO_3^- 氧化从而生成新的固相锰氧化物。pH 对氨氮转化产物的种类有影响,但是对出水中 Mn^{2+} 浓度影响更大。高 pH 有利于 NDMO,实现锰氧化物介导的硝化-反硝化过程。络合剂可以增加溶液中金属离子的溶解度。EDTA 作为络合剂还能增大微生物与金属离子的接触面积。同时铁载体是微生物分泌的一种络合剂,铁载体在各种元素的整合和溶解中发挥作用,对于微生物还原 MnO_2 也很重要。在铁受限和还原 MnO_2 的条件下,Cyt c 的转录受到抑制;而铁载体能增加细胞内可溶性铁的含量,缓解 Cyt c 受抑制的情况。铁载体与锰相互影响,锰影响铁载体在水中存在的形态,进而影响其介导的运输;同时,铁载体也影响锰元素的氧化还原过程,在不同的 pH 下,发生还原或非还原的反应^[22]。反应器中污泥表征结果说明,锰氧化物介导了自养脱氮,通过生物或物理化学过程形成了新的锰氧化物,提高了微生物附着和氨氮的吸附作用,促进了 NH_4^+ 的去除。高通量测序结果表明,功能微生物能以 Mn(IV) 为电子受体,将 NH_4^+-N 先氧化为 NO_x^--N ,再通过传统反硝化或者与 Mn^{2+} 耦合的反硝化方式生成氮气。此外,*Candidatus_Brocadia* 的出现证明 Mn(IV) 氧化 NH_4^+-N 或 Mn(II) 还原 NO_3^--N 可以生成 NO_2^--N ,为 Anammox 提供电子供体,使锰的氨氧化与厌氧氨氧化共同作用,实现氨氮的去除。

3 结论

① 经过 160 d 的培养,ARR 和 NRR 分别为 (0.031 ± 0.009) 和 $(0.025 \pm 0.010) \text{ kg}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$,氨氮和总氮最大去除率分别达到 75.38% 和 55.23%。EDTA 和 Fe(II) 是系统脱氮的必要因素。

② 颗粒污泥粒径显著增加,呈现层状与珊瑚状相结合结构,锰氧化物逐渐由 Mn(IV) 向 Mn(II) 转化,经 Mn^{2+} 和 NH_4^+ 氧化还原形成复杂的锰氧化物。

③ 锰氧化物介导自养脱氮存在多种途径,存

在与锰氧化还原相关菌属、硝化-反硝化相关微生物以及厌氧氨氧化菌属。当反应器内 Mn(IV) 浓度高时,主要脱氮途径更倾向于锰氧化物将 NH_4^+ 氧化为 NO_3^- ,微生物利用无机碳或 Mn(II) 通过自养反硝化或 NDMO 进一步还原为 N_2 。

参考文献:

- [1] 王冰,高天一,王丽鑫. 厌氧铁氨氧化的启动运行与脱氮机理[J]. 中国给水排水, 2024, 40(5): 69-74.
WANG Bing, GAO Tianyi, WANG Lixin. Start-up, operation and nitrogen removal mechanism of Feammox [J]. China Water & Wastewater, 2024, 40(5): 69-74 (in Chinese).
- [2] 吴悦溪,曾薇,刘宏,等. Feammox 系统内氮素转化途径的研究[J]. 化工学报, 2020, 71(5): 2265-2272, 1935.
WU Yuexi, ZENG Wei, LIU Hong, *et al.* Exploration of nitrogen transformation pathway in Feammox [J]. CIESC Journal, 2020, 71(5): 2265-2272, 1935 (in Chinese).
- [3] 吴彦成,顾鑫,朱继涛,等. 铁氨氧化污水生物脱氮技术的研究进展[J]. 中国给水排水, 2020, 36(18): 38-44.
WU Yancheng, GU Xin, ZHU Jitao, *et al.* Research advances of biological nitrogen removal from wastewater via Fe(III) reduction coupled to anaerobic ammonium oxidation (Feammox) process [J]. China Water & Wastewater, 2020, 36(18): 38-44 (in Chinese).
- [4] DESIREDDY S, CHACKO S P. A review on metal oxide ($\text{FeO}_x/\text{MnO}_x$) mediated nitrogen removal processes and its application in wastewater treatment[J]. Reviews in Environmental Science and Bio/Technology, 2021, 20: 697-728.
- [5] CHENG Y, HUANG T L, SUN Y K, *et al.* Catalytic oxidation removal of ammonium from groundwater by manganese oxides filter: performance and mechanisms [J]. Chemical Engineering Journal, 2017, 322: 82-89.
- [6] 程亚. 活性复合锰氧化膜催化氧化去除地下水中氨氮/砷机理及性能研究[D]. 西安:西安建筑科技大学, 2018.
CHENG Ya. Catalytic Oxidation Removal of Ammonium and Arsenic from Groundwater by Active Composite Manganese Oxide Film: Mechanisms and Performance [D]. Xi'an: Xi'an University of Architecture and Technology, 2018 (in Chinese).
- [7] TEBO B M, BARGAR J R, CLEMENT B G, *et al.* Biogenic manganese oxides: properties and mechanisms of formation[J]. Annual Review of Earth and Planetary Sciences, 2004, 32(1): 287-328.
- [8] CHENG C, HE Q, ZHANG J, *et al.* New insight into ammonium oxidation processes and mechanisms mediated by manganese oxide in constructed wetlands [J]. Water Research, 2022, 215: 118251.
- [9] LIU Y Y, WANG Y F, SONG X S, *et al.* The evolution of nitrogen transformation microorganism consortium under continued manganese domestication conditions [J]. Science of the Total Environment, 2023, 899: 165656.
- [10] LIU Y Y, SONG X S, WANG Y F, *et al.* Manganese-mediated ammonium removal by a bacterial consortium from wastewater: experimental proof and biochemical mechanisms [J]. Bioresource Technology, 2023, 385: 129353.
- [11] WANG Y F, LI D P, SONG X S, *et al.* Intensifying anoxic ammonium removal by manganese ores and granular active carbon fillings in constructed wetland-microbial fuel cells: metagenomics reveals functional genes and microbial mechanisms [J]. Bioresource Technology, 2022, 352: 127114.
- [12] 卓亿元,刘草葱,姜蕾,等. 铁/锰矿基人工湿地脱氮除磷性能及机理[J]. 环境工程学报, 2023, 17(5): 1441-1450.
ZHUO Yiyuan, LIU Caocong, JIANG Lei, *et al.* Performance and mechanism of nitrogen and phosphorus removal in iron/manganese ore-based constructed wetlands [J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2023, 17(5): 1441-1450 (in Chinese).
- [13] CHEN S, DING B J, QIN Y B, *et al.* Nitrogen loss through anaerobic ammonium oxidation mediated by Mn(IV) -oxide reduction from agricultural drainage ditches into Jiuli River, Taihu Lake Basin [J]. Science of the Total Environment, 2019, 700: 134512.
- [14] 向韬. N_2H_4 促进低氨氮废水自养脱氮系统稳定运行研究[D]. 哈尔滨:哈尔滨工业大学, 2022.
XIANG Tao. N_2H_4 Promoting Stable Operation of Deammonification Process for Low Ammonia Nitrogen Wastewater Treatment [D]. Harbin: Harbin Institute of Technology, 2022 (in Chinese).
- [15] 程朗. $\text{Fe(II)}/\text{Fe(III)}$ 循环驱动的自养脱氮在富营养化水体中的应用[D]. 北京:北京建筑大学, 2023.

- CHENG Lang. Application of Autotrophic Nitrogen Removal Driven by $\text{Fe}(\text{II})/\text{Fe}(\text{III})$ Cycle in Eutrophic Water [D]. Beijing: Beijing University of Civil Engineering and Architecture, 2023 (in Chinese).
- [16] 薛莉娉,唐玉朝,李圭白,等. 水环境中锰的迁移转化机理及其研究进展[J]. 给水排水, 2022, 48(4): 21-28,34.
- XUE Liping, TANG Yuchao, LI Guibai, *et al.* Research progress on migration and transformation mechanism of manganese in water environment [J]. Water & Wastewater Engineering, 2022, 48(4): 21-28,34 (in Chinese).
- [17] BAI Y H, SU J F, WEN Q, *et al.* Characterization and mechanism of $\text{Mn}(\text{II})$ -based mixotrophic denitrifying bacterium (*Cupriavidus* sp. HY129) in remediation of nitrate (NO_3^- -N) and manganese [$\text{Mn}(\text{II})$] contaminated groundwater [J]. Journal of Hazardous Materials, 2021, 408: 124414.
- [18] 程亚,张永志,郑佳慧,等. 催化氧化除氨氮/锰滤料活性恢复方式优化研究[J]. 中国环境科学, 2022, 42(5): 2112-2119.
- CHENG Ya, ZHANG Yongzhi, ZHENG Jiahui, *et al.* Optimization of recovery method for catalytic ammonium/manganese oxidation by active filter media [J]. China Environmental Science, 2022, 42(5): 2112-2119 (in Chinese).
- [19] GAO Z H, SU J F, ALI A, *et al.* Accelerated reduction of nitrate by driving the manganese (Mn) cycle process with dissimilatory Mn reducing bacteria: differential reduction pathways and cycling mechanisms[J]. Process Safety and Environmental Protection, 2022, 165: 728-738.
- [20] NGUYEN H T T, LE V Q, HANSEN A A, *et al.* High diversity and abundance of putative polyphosphate-accumulating tetrasphaera-related bacteria in activated sludge systems[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2011, 76(2): 256-267.
- [21] CHEN J F, YANG Y W, LIU Y Y, *et al.* Bacterial community shift in response to a deep municipal tail wastewater treatment system [J]. Bioresource Technology, 2019, 281: 195-201.
- [22] CAO J, LI N, JIANG J, *et al.* Activated carbon as an insoluble electron shuttle to enhance the anaerobic ammonium oxidation coupled with $\text{Fe}(\text{III})$ reduction process [J]. Environmental Research, 2022, 204: 111972.
- [23] WANG Y X, GALLAGHER L A, ANDRADE P A, *et al.* Genetic manipulation of patescibacteria provides mechanistic insight into microbial dark matter and the epibiotic lifestyle [J]. Cell, 2023, 186(22): 4803-4817.
- [24] DU X R, WANG J J, RAN Q, *et al.* Resources and taxonomy of myxobacteria: a review [J]. Microbiology China, 2023, 50(7): 3104-3121.
- [25] MEHTA-KOLTE M G, BOND D R. Geothrix fermentans secretes two different redox-active compounds to utilize electron acceptors across a wide range of redox potentials[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2012, 78(19): 6987-6995.
- [26] 吕欣悦. 高效溴酸盐还原功能菌群的富集及代谢通路的研究[D]. 深圳:深圳大学, 2020.
- LÜ Xinyue. Study on the Enrichment and Metabolic Pathways of the Functional Bacteria with High Bromate Reducing Efficiency [D]. Shenzhen: Shenzhen University, 2020 (in Chinese).

作者简介:李光蕾(1993-),女,辽宁朝阳人,博士研究生,主要研究方向为污水处理理论与技术。

E-mail:851082926@qq.com

收稿日期:2024-05-31

修回日期:2024-06-26

(编辑:李德强)