



Mn²⁺对 A/O-BAF 系统处理效能和细菌群落多样性的影响

严子春^{1,2*}, 李永波², 彭虎²

1 甘肃省黄河水环境重点实验室, 甘肃 兰州 730070

2 兰州交通大学环境与市政工程学院, 甘肃 兰州 730070

严子春, 李永波, 彭虎. Mn²⁺对 A/O-BAF 系统处理效能和细菌群落多样性的影响. 微生物学报, 2022, 62(1): 176–188.

Yan Zichun, Li Yongbo, Peng Hu. Effects of Mn²⁺ on the removal efficiency and microbial community diversity of A/O-BAF. *Acta Microbiologica Sinica*, 2022, 62(1): 176–188.

摘要:【目的】通过考察 Mn²⁺对 A/O-BAF 系统处理效能及微生物群落多样性的影响, 研究了 15 °C 下不同浓度 Mn²⁺对 A/O-BAF 系统处理效能的影响, 并通过高通量测序考察了细菌群落多样性的变化情况。【方法】在温度 15 °C、水力负荷 0.50 m³/(m²·h)、气水比 10:1 的条件下, 在进水中投加 Mn²⁺, 考察反应器处理效能的变化情况, 并通过高通量测序对 BAF 生物膜样品进行分析。【结果】2.0 mg/L Mn²⁺作用下 A/O-BAF 系统的 COD、NH₄⁺-N、TN、TP 去除率分别提高 3.51%、2.21%、6.26%和 12.13%; 4.0 mg/L Mn²⁺作用下 COD、NH₄⁺-N、TN、TP 去除率分别提高了 4.24%、1.92%、7.75%和 10.73%; Mn²⁺作用下 A/O-BAF 系统内反硝化细菌和亚硝酸菌的数量明显增加, 硝酸菌数量有所减少, 生物膜量和生物膜活性提高。高通量测序结果可知: 2.0 mg/L 和 4.0 mg/L Mn²⁺作用下, 微生物群落多样性大幅增加, 样本 OTU 数量从 4 430 分别提高到 5 659 和 5 556; BAF 柱内变形菌门(*Proteobacteria*)、厚壁菌门(*Firmicutes*)、黄色单胞菌科(*Xanthomonas*)、红环菌科(*Rhodocyclaceae*)、丛毛单胞菌科(*Comamonadaceae*)、丛毛单胞菌属(*Comamonas*)、陶厄式菌属(*Thauera*)、*Denitratisoma*、*Sulfuritalea* 和热单胞菌属(*Thermomonas*)的相对丰度增加。部分微生物丰度[例如 *Denitratisoma*、*Sulfuritalea*、红环菌科(*Rhodocyclaceae*)和丛毛单胞菌科(*Comamonadaceae*)]的增加幅度随着 Mn²⁺浓度的提高有所减少; Mn²⁺作用下硝化螺旋菌门(*Nitrospirae*)和硝化螺菌属(*Nitrosospira*)的相对丰度减少。【结论】一定浓度下 Mn²⁺主要是通过促进 A/O-BAF 系统的亚硝化

基金项目: 甘肃省科技计划(20JR2RA0002); 国家自然科学基金(51568034)

Supported by the Science and Technology Support Plan of Gansu Province (20JR2RA0002) and by the National Natural Science Foundation of China (51568034)

*Corresponding author. E-mail: yanzichun@mail.lzjtu.cn

Received: 18 March 2021; Revised: 17 June 2021; Published online: 8 October 2021

和反硝化作用和除磷微生物的生长提高 A/O-BAF 系统污染物去除效果, 但对硝化的促进效果并不明显, 且硝酸菌更易被 Mn^{2+} 的抑制和毒害作用所影响。

关键词: 污水处理; A/O-曝气生物滤池; 锰离子; 微生物群落结构

Effects of Mn^{2+} on the removal efficiency and microbial community diversity of A/O-BAF

YAN Zichun^{1,2*}, LI Yongbo², PENG Hu²

1 Key Laboratory of Yellow River Water Environment in Gansu Province, Lanzhou 730070, Gansu, China

2 School of Environmental and Municipal Engineering, Lanzhou Jiaotong University, Lanzhou 730070, Gansu, China

Abstract: [Objective] In order to investigate the influence of Mn^{2+} on the removal efficiency and microbial community diversity of A/O-BAF system, the removal efficiency of Anoxic and Aerobic Biological Aerated Filter were analyzed under different concentration of Mn^{2+} at 15 °C. **[Methods]** Manganese ions were added into the influent water to investigate the change of reactor treatment efficiency under the temperature of 15 °C, hydraulic load 0.50 m³/(m²·h), gas water conditions than 10:1. The BAF biofilm samples were analyzed by high-throughput sequencing. **[Results]** The results showed that the removal efficiency of COD, NH₄⁺-N, TN and TP in Anoxic and Aerobic Biological Aerated Filter under concentration of 2.0 mg/L Mn^{2+} were increased by 3.51%, 2.21%, 6.26% and 12.13%. Under the concentration of 4.0 mg/L Mn^{2+} , the removal efficiency of COD, NH₄⁺-N, TN and TP were increased by 4.24%, 1.92%, 7.75% and 10.73%, respectively. The number of denitrifying bacteria and Nitrobacteria increased significantly, and the number of Nitrosomonas decreased. The number and activity of biofilms also increased. The results of high-throughput sequencing showed that the community diversity increased significantly under 2.0 mg/L and 4.0 mg/L Mn^{2+} , and the number of OTU samples increased from 4 430 to 5 659 and 5 556. The relative abundance of *Proteobacteria*, *Firmicutes*, *Xanthomonas*, *Rhodocyclaceae*, *Comamonadacea*, *Comamonas*, *Aedonia*, *Denitratisoma*, *Sulfuritalea* and *Thermomonas* increased in BAF. The relative abundance of some microorganisms, such as *Denitratisoma*, *Sulfuritalea*, and *Thermomonas*, decreases with higher concentrations of manganese ions. The relative abundance of *Nitrosospira* and *Nitrospirae* decreased under the action of manganese ions. **[Conclusion]** Manganese ion can improve the removal effect of pollutants in the Anoxic and Aerobic Biological Aerated Filter mainly by promoting the nitrification and denitrification and the growth of phosphorus removing microorganisms at 15 °C, but the promotion effect on nitrification is not obvious. Nitrosomonas are more susceptible to the toxic effects of manganese ions.

Keywords: sewage treatment; anoxic and aerobic biological aerated filter; manganese ion; bacterial community structure

曝气生物滤池(BAF)是将传统过滤作用与生物作用相结合的一种工艺,具有占地面积少、处理效果好等优点^[1-2],已经被广泛运用于水处

理领域。但是 BAF 的生物除磷效果不理想,低温下反硝化效果有待提高。李东等^[3]采用后置反硝化-BAF 工艺处理污水厂尾水,通过外加碳

源使出水有机物浓度(COD)、氨氮($\text{NH}_4^+\text{-N}$)和总氮(TN)平均浓度达到 20、1、5 mg/L 以下;高欣等^[4]采用前置反硝化-BAF 工艺处理低温生活污水,系统出水 COD、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 TN 浓度达到污染物排放一级 A 标准。以上工艺能够提高 BAF 系统的处理效果,但工艺复杂,成本较高。目前,已有研究表明某些金属离子(如 Fe^{3+} 、 Mg^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Zn^{2+})在一定浓度下能提高活性污泥处理系统的脱氮除磷效果^[5-8]。孟雪征等^[9]首次研究了 Mg^{2+} 、 Mn^{2+} 和 Zn^{2+} 等金属离子对活性污泥的影响,发现一定浓度的金属离子会对污泥活性起促进作用;杨涛^[10]发现当铁、锰离子浓度为 4.51 mg/L 和 0.34 mg/L 时有利于生物膜的形成。本实验考察了水温 15 °C 下 Mn^{2+} 对缺氧/好氧-曝气生物滤池(A/O-BAF)处理效能的影响,以期提高该工艺在较低温度下的脱氮除磷效果,同时了解 A/O-BAF 系统内微生物的群落多样性的变化情况。此外,实验所用的沸石填料能够对出水中残留的 Mn^{2+} 通过离子交换等方式进行去除,有利于避免金属离子二次污染。

1 材料与方 法

1.1 实验装置

如图 1 所示, A/O-BAF 系统是由缺氧柱和 BAF 柱两部分组成。其中,缺氧柱和 BAF 柱的高度分别为 3.0 m 和 2.0 m,缺氧柱和 BAF 柱的内径为 8.0 cm。滤柱的底部设置有缓冲区、内置曝气管和兼做反冲洗的进气管。在缺氧柱和 BAF 柱承托板上分别装填高度为 0.1 m 和 0.2 m 的鹅卵石作为承托层。缺氧柱滤料为陶粒,粒径 5-8 mm,高度 1.2 m;BAF 柱滤料为沸石,粒径 3-5 mm,高度 1.1 m,从承托层顶端开始每隔 0.2 m 处设置一个取样口。实验装置采用连续进水,水温为 15 °C、水力负荷为 $0.50 \text{ m}^3/(\text{m}^2 \cdot \text{h})$ 、气水比为 10:1。

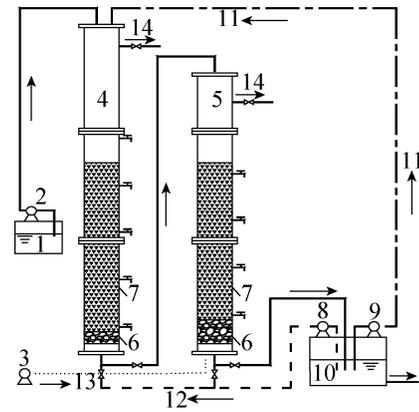


图 1 A/O-BAF 系统示意图

Figure 1 Schematic diagram of A/O-BAF system. 1: feed tank; 2: peristaltic pump; 3: air compressor; 4: anaerobic filter column; 5: BAF filter column; 6: retainer layer; 7: filter material layer; 8: backflush pump; 9: the reflux pump; 10: effluent; 11: reflux pipe; 12: backflush water pipe; 13: air pipe; 14: backflush drain pipe.

1.2 接种污泥和实验用水

反应器接种污泥取自兰州市某污水厂 A²/O 工艺好氧池。实验用水采用兰州交通大学校园生活污水,进水 COD、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、TN、TP 的浓度范围分别为 176.3-423.1、29.3-84.9、37.2-88.8、2.0-10.9 mg/L,平均值分别为 275.2、59.6、62.5、5.5 mg/L。 Mn^{2+} 投加方式:在反应器进水桶投加配置好的 MnCl_2 溶液与原水混合后,使其浓度达到预定值。

1.3 测试项目和分析方法

COD 和 TN 的测定分别采用重铬酸钾比色法和过硫酸钾氧化-紫外分光光度法^[11];TP 和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的测定分别采用钼锑抗分光光度法和纳氏试剂分光光度法^[11];硝酸盐氮和亚硝酸盐氮的测定分别采用麝香草酚分光光度法和 N-(1-萘基)-乙二胺分光光度法^[11]; Mn^{2+} 的测定采用高碘酸钾氧化分光光度法^[11]。COD、TN、硝酸盐氮、亚硝酸盐氮、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 TP 在每个工况内隔 1 d 测定 1 次,单个工况运行时间为

20 d; Mn^{2+} 在每个工况最后一周稳定运行阶段, 隔 1 d 测定 1 次, 共测定 3 次。在 4.0 mg/L 工况运行阶段末, 在 BAF 柱内自上而下 0、55 和 110 cm 处取填料对其表面生物膜好氧速率和生物膜量进行测定; 同时取 A/O-BAF-2 反应器 BAF 柱内自上而下 55 cm 处沸石填料表面和 Mn^{2+} 浓度 2.0 和 4.0 mg/L 时 A/O-BAF-1 反应器 BAF 柱内自上而下 55 cm 处沸石填料表面的生物膜样本, 分别命名为 RO15、MO215 和 MO415, 并委托上海派森诺科技有限公司进行高通量测序。

BAF 柱内硝化细菌和反硝化细菌测定: 采用 MPN 法^[11]进行测定, 称一定质量的填料置于锥形瓶, 振荡使填料上的生物膜脱落, 随后进行梯度稀释接种至不同倍数的培养基中(亚硝酸菌采用改良的 Stephenson 培养基 A, 硝酸菌采用改良的 Stephenson 培养基 B, 反硝化菌采用柠檬酸钠硝酸钾培养基), 每组 5 个培养管。亚硝酸菌: 培养约 20 d, 将培养液滴于陶瓷比色板上, 加入 2 滴格里斯试剂 I 和 II, 如有亚硝酸盐存在, 为红色。硝酸菌: 培养约 20 d, 将培养液滴在陶瓷比色板上, 加入 2 滴格里斯试剂 I 和 II, 如不为红色, 表明亚硝酸盐完全消失; 此时另外的培养液加入二苯胺试剂 2 滴, 若为蓝色, 表示有硝酸菌存在。反硝化菌: 培养 14 d 后观察是否有气泡且变浑浊, 将培养液滴在陶瓷比色板上加入格里斯试剂 I 和 II, 若呈现红色则有反硝化菌; 若不为红色, 则取出培养液滴在陶瓷比色板上, 加入二苯胺试剂, 若有蓝色出, 说明未进行反硝化。

生物膜耗氧速率测定方法: 取一定量带有生物膜的填料以及 300 mL 左右该填料位置的污水, 置于锥形瓶中充氧 10 min, 直至溶解氧达到饱和; 将溶氧仪探头放入锥形瓶内, 密封瓶口, 打开磁力搅拌器, 每 30 s 记录 1 次溶氧仪读数, 记溶解氧的变化为 Δ_1 , 单独测定污水

溶解氧变化 Δ_2 , 耗氧速度 = $\Delta_1 - \Delta_2$ 。最后将用到的填料烘干, 再取反应器中同一位置上的填料, 测出生物膜量, 计算生物膜耗氧速率。

生物膜量测定方法: 取一定量的带有生物膜的填料, 将填料放入 1% 的 NaOH 溶液中, 搅拌至生物膜完全脱落, 用蒸馏水清洗数次, 放入烘箱烘干至恒重, 称得填料的重量 M_1 , 随后将填料放入蒸发皿中, 在烘箱内烘干至恒重, 称出的重量 M_2 为填料+蒸发皿的重量; 最后将蒸发皿洗干净烘干, 称得蒸发皿的重量为 M_3 。生物膜量 = $M_1 / (M_2 - M_3)$ (gVSS/g)。

2 结果与分析

两个反应器均采用活性污泥接种挂膜法启动: 初始阶段反应器水力负荷为 $0.25 \text{ m}^3 / (\text{m}^2 \cdot \text{h})$, 气水比为 10:1, 运行 30 d 后, 将水力负荷提高到 $0.50 \text{ m}^3 / (\text{m}^2 \cdot \text{h})$, 在反应器启动运行 50 d 后缺氧柱内填料出现黑灰色生物膜, 好氧柱内填料表面出现褐色生物膜, 且 COD 和 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 的去除率分别达到 90%。反应器挂膜完成后, 将投加和未投加 Mn^{2+} 的反应器分别作为实验组 (AO-BAF-1) 和对照组 (AO-BAF-2), 在水温 $15 \text{ }^\circ\text{C}$ 、水力负荷 $0.50 \text{ m}^3 / (\text{m}^2 \cdot \text{h})$ 、气水比 10:1 的条件下, 考察不同浓度 Mn^{2+} 对反应器处理效能的影响, 每个工况运行周期为 20 d, 浓度条件分别为 1.0、2.0、4.0 mg/L。

2.1 Mn^{2+} 对污染物去除效能影响与分析

如图 2A 所示, Mn^{2+} 浓度为 1.0、2.0 和 4.0 mg/L 时, A/O-BAF-1 的 COD 去除率相比 A/O-BAF-2 分别提高了 2.56%、3.51% 和 4.24%, 说明一定浓度 Mn^{2+} 对 A/O-BAF 系统的 COD 去除效果有一定的促进作用。这是因为 Mn^{2+} 能够提高生物膜活性, 有助于微生物聚集生长, 增加生物膜量^[12], 从而提高反应器对 COD 的去除效果。

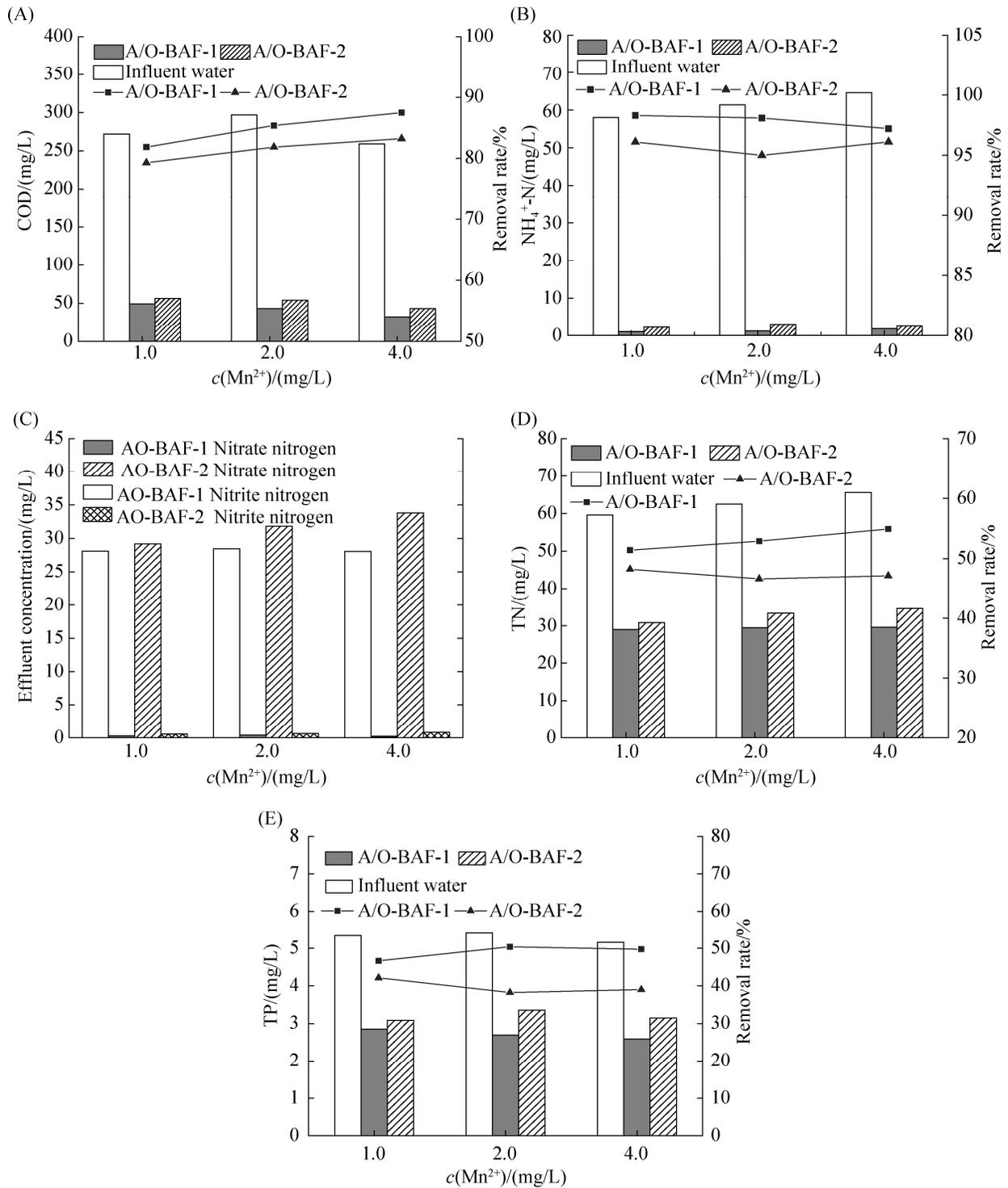


图 2 Mn^{2+} 作用下 BAF 的去除效果

Figure 2 Removal effect of BAF under the action of manganese ions. A: COD removal efficiency; B: NH_4^+-N removal efficiency; C: Nitrate nitrogen and nitrite nitrogen of effluent; D: TN removal efficiency; E: TP removal efficiency.

如图 2B 所示, Mn^{2+} 浓度为 1.0 mg/L 和 2.0 mg/L 时, A/O-BAF-1 的 NH_4^+-N 去除率相比 A/O-BAF-2 分别提高了 2.21% 和 1.92%; Mn^{2+} 浓度为 4.0 mg/L 时, A/O-BAF-1 的 NH_4^+-N 去除率相比 A/O-BAF-2 仅提高了 1.15%, 提升率反而有所下降。原因是低浓度 Mn^{2+} 能够刺激硝化过程中微生物酶的合成和转录, 增强硝化菌活性, 从而提高硝化效果^[13-14], 而过高的 Mn^{2+} 浓度反而对硝化细菌产生了抑制和毒害作用, 不利于硝化作用的进行。如图 2C 所示, 实验组和对照组在不同工况下出水硝态氮都占绝大部分, 说明反应器硝化效果较为完全。

如图 2D 所示, Mn^{2+} 浓度为 1.0、2.0、4.0 mg/L 时, A/O-BAF-1 的 TN 去除率相比 A/O-BAF-2 分别提高了 3.26%、6.26% 和 7.75%。结合图 2B 可知, 反应器对 TN 去除效能的提升远大于氨氮去除效果的提升。这说明 Mn^{2+} 主要是通过增强反硝化效果提高脱氮能力, 这与 Bai 等^[15]的研究相符。其原因一方面是 Mn^{2+} 为微生物体内多种酶的辅助因子(例如丙酮酸歧化酶、多聚酶等), 并且对生物膜活性有促进作用^[16]; 且部分反硝化细菌可以将 Mn(II)氧化为高价 Mn(III/IV)氧化物, 并进行自养反硝化脱氮^[17], 从而同时达到提供电子供体、除锰和反硝化脱氮的目的。

如图 2E 所示, Mn^{2+} 浓度为 1.0 mg/L 时, A/O-BAF-1 的 TP 去除率略微提升; Mn^{2+} 浓度为 2.0 mg/L 和 4.0 mg/L 时, A/O-BAF-1 的 TP 去除率相比 A/O-BAF-2 分别提高了 12.13% 和 10.73%。其原因一方面是污水处理系统中存在适量的 Mn^{2+} 能够促进微生物合成更多的 EPS, 有利于聚磷菌的生长, 从而提高反应器的生物除磷效果^[18-19]; 另一方面, Mn^{2+} 在水中生成的氧化产物(Mn_2O_5 等)能够通过吸附和络合等多种物理化学作用除磷^[20]。随着 Mn^{2+} 浓度的增

加, TP 去除效果逐步提升, 这是因为随着浓度的增加, Mn^{2+} 对生物除磷和物理化学除磷的促进作用也逐步增加。当浓度为 4.0 mg/L 时, TP 去除效果有所下降, 这可能是因为随着 Mn^{2+} 浓度增加, 其对微生物的抑制和毒害作用逐渐显现。

2.2 进水 Mn^{2+} 浓度对 AO-BAF 反应器出水锰含量的影响

图 3 所示为水温 15 °C、水力负荷 0.50 $m^3/(m^2 \cdot h)$ 、气水比 10:1 的条件下, 稳定运行阶段, 各工况下 Mn^{2+} 的平均出水浓度。结果显示当进水 Mn^{2+} 浓度为 1.0、2.0、4.0 mg/L 时, AO-BAF 系统稳定运行时 Mn^{2+} 平均出水浓度分别为 0.13、0.31、1.07 mg/L, 系统出水锰含量均符合要求。

2.3 Mn^{2+} 对微生物特性的影响与分析

2.3.1 硝化菌及反硝化菌 MPN 计数结果

表 1 所示为温度 15 °C、水力负荷 0.50 $m^3/(m^2 \cdot h)$ 、气水比 10:1 的条件下 BAF 柱内硝化及反硝化菌计数结果。结果表明, 亚硝酸菌的数量随着 Mn^{2+} 浓度的提高, 呈现先上升后下降的趋势, 硝酸菌数量有所减少。 Mn^{2+} 浓度为 1.0 mg/L 时, 亚硝酸菌明显增加, 硝酸菌变化不大; Mn^{2+} 浓度为 2.0 mg/L 和 4.0 mg/L 时, 亚硝酸菌的数量

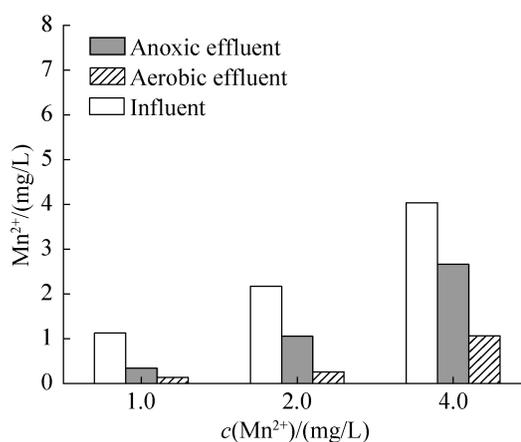


图 3 各阶段 Mn^{2+} 出水浓度

Figure 3 The manganese ion concentration at each stage.

表 1 细菌计数结果

Table 1 Counting results of denitrifying bacteria

Bacteria name	Mn ²⁺ /(mg/L)	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸	Bacteria count/(CFU/mL)
<i>Nitrobacteria</i>	0	5 ⁺	5 ⁺	5 ⁺	2 ⁺	0	0	5.0×10 ⁵
	1.0	5 ⁺	5 ⁺	5 ⁺	4 ⁺	1 ⁺	0	1.7×10 ⁶
	2.0	5 ⁺	5 ⁺	5 ⁺	2 ⁺	3 ⁺	1 ⁺	1.5×10 ⁶
	4.0	5 ⁺	5 ⁺	5 ⁺	4 ⁺	0	0	1.0×10 ⁶
<i>Nitrosomonas</i>	0	5 ⁺	5 ⁺	5 ⁺	2 ⁺	1 ⁺	0	7.0×10 ⁵
	1.0	5 ⁺	5 ⁺	5 ⁺	2 ⁺	2 ⁺	0	9.5×10 ⁵
	2.0	5 ⁺	5 ⁺	5 ⁺	2 ⁺	0	0	5.0×10 ⁵
	4.0	5 ⁺	5 ⁺	5 ⁺	1 ⁺	1 ⁺	0	4.5×10 ⁵
Denitrification	2.0	5 ⁺	5 ⁺	3 ⁺	1 ⁺	0	0	1.1×10 ⁵
	4.0	5 ⁺	5 ⁺	5 ⁺	3 ⁺	3 ⁺	1 ⁺	2.1×10 ⁵

反而有所下降，但实验组亚硝酸菌数量达到空白组的 2.0 倍，硝酸菌数量相比对照组反而有所下降；反硝化菌的数量随着 Mn²⁺浓度的提高呈上升趋势。结合效能数据可以发现，Mn²⁺有利于亚硝酸菌和反硝化菌的生长繁殖从而提高系统亚硝化和反硝化效果，但硝酸菌的生长繁殖易被抑制。

2.3.2 BAF 柱内生物膜耗氧速率

图 4 所示为 4.0 mg/L Mn²⁺浓度下 BAF 柱内自上而下 0、55、110 cm 处填料表面生物膜量耗氧速率测定结果。对比两个反应器，BAF-1 相比 BAF-2 各部分耗氧速率均有所提升。实验测定的 SOUR 的变化情况与孟雪征等^[9]的研究结果相类似，SOUR 是测定最终受氢体——氧的消耗速度，而脱氢酶活性测定^[11]原理为 TTC 氢受体受氢后变红，根据其显色程度反映其结合的氢离子量，测定脱氢酶活性。因此，SOUR 和脱氢酶活性存在不小的相关性，这说明了锰离子对 BAF 内生物膜活性有促进作用。

2.3.3 BAF 柱内生物膜量

图 5 所示为 Mn²⁺浓度为 4.0 mg/L 条件下 BAF 柱内自上而下 0、55、110 cm 处填料表面生物膜量测定结果。生物膜量在 BAF 柱内由上到下呈现递减趋势。对比两个反应器，

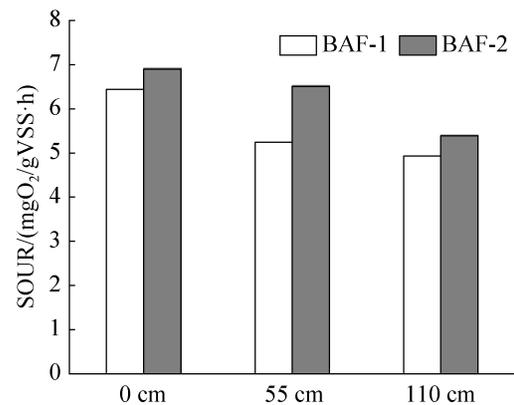


图 4 BAF 柱内生物膜耗氧速率

Figure 4 The biomass SOUR of BAF column.

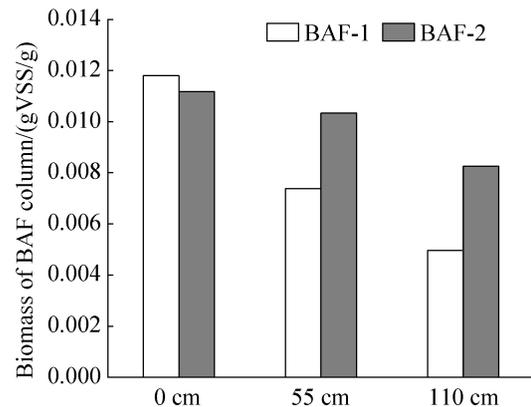


图 5 BAF 柱内生物膜量

Figure 5 The biomass of BAF column.

BAF-1 和 BAF-2 自上而下 0 cm 处的生物膜量较为接近, 但是 BAF-1 自上而下 55 cm 和 110 cm 处填料表面生物膜量比 BAF-2 分别高出 0.002 9 gVSS/g 和 0.003 3 gVSS/g, 生物膜量变化较大。主要原因是 Mn^{2+} 能够促进微生物合成 EPS^[15], 从而加速生物膜的成熟, 有利于微生物聚集生长, 提高生物膜量; 另一方面含锰化合物能够通过载体和诱导核心作用吸引微生物在其表面聚集生长^[19-20]。

2.4 Mn^{2+} 对 A/O-BAF 系统内微生物群落多样性的影响

由表 2 可知, 2.0 mg/L 和 4.0 mg/L Mn^{2+} 作

用下微生物群落多样性大幅增加, 样本 OTU 数量从 4 430 提高到 5 659 和 5 556。结合 ACE 指数可以发现^[21], Mn^{2+} 作用下 BAF 柱内微生物种数明显增加; 由 Simpson 和 Shannon 指数分析可知^[21], Mn^{2+} 作用下微生物群落丰富程度明显增加。但随着 Mn^{2+} 浓度升高增加幅度反而有所下降, 原因是随着 Mn^{2+} 浓度的升高, 其对微生物的抑制和毒害作用逐步显现。

2.4.1 门分类水平下 BAF 柱内微生物群落组成

如图 6 所示, 3 个样本中主要的优势菌门有变形菌门 (*Proteobacteria*)、拟杆菌门 (*Bacteroidetes*)、酸杆菌门 (*Acidobacteria*)、浮霉

表 2 微生物群落丰富度及多样性

Table 2 Index of microbial community richness and diversity

Sample name	OTU number	ACE index	Simpson index	Shannon index	Phylum	Class	Order	Family	Genus
RO15	4 430	1 053	0.894	6.61	1 052	1 034	944	868	508
MO215	5 659	1 324	0.981	8.22	1 322	1 299	1 207	1 108	672
MO415	5 556	1 297	0.903	7.13	1 295	1 269	1 192	1 090	674

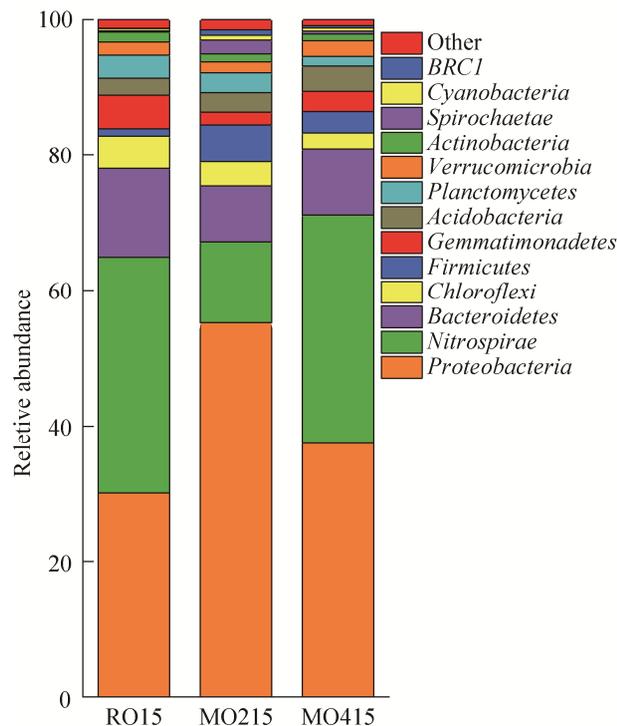


图 6 门水平下微生物群落组成分析

Figure 6 Analysis of the composition of sample bacteria at the phylum level.

菌门 (*Planctomycetes*) 和硝化螺旋菌门 (*Nitrospirae*)。 Mn^{2+} 作用下变形菌门 (*Proteobacteria*) 成为相对丰度最高的优势菌种, 变形菌门是一种常见的革兰氏阴性细菌, 在污水处理过程中对有机物降解和脱氮起重要作用^[22]。2.0 mg/L Mn^{2+} 作用下变形菌门相对丰度提升最为明显, 为 24.9%, 随着 Mn^{2+} 浓度继续增加, 变形菌门 (*Proteobacteria*) 相对丰度提升有所下降; 2.0 mg/L 和 4.0 mg/L Mn^{2+} 作用下厚壁菌门和放线菌门在样本 MO415 和 MO215 中的丰度均高于 RO15, 厚壁菌门和放线菌门具有降解有机物的功能, 且放线菌门的某些细菌能够除磷^[23-25]; Mn^{2+} 作用下样本 MO415 和 MO215 中硝化螺旋菌门 (*Nitrospirae*) 的丰度相比 RO15 均有所减少。 Mn^{2+} 作用下生物膜中具有有机物降解、反硝化和除磷的功能微生物丰度明显增加, 使反应器 COD 去除、反硝化脱氮和除磷能力得到增强。

2.4.2 科分类水平下 BAF 柱内微生物群落组成

如 7 图所示, 3 个样本中主要的优势菌科为硝化螺菌科(*Nitrospiraceae*)、丛毛单胞菌科(*Comamonadaceae*)、芽单胞菌科(*Gemmatimonadaceae*)、*Hyphomonadaceae*、黄色单胞菌科(*Xanthomonadaceae*)和红环菌科(*Rhodocyclaceae*)。2.0 mg/L 和 4.0 mg/L Mn^{2+} 作用下硝化螺菌科的丰度均有所减少, 该菌科的硝化螺旋菌属为硝化细菌, 可将亚硝酸盐氧化成硝酸盐; 丛毛单胞菌科(*Comamonadaceae*)的丰度提高 6.0%和 2.1%, 丛毛单胞菌科对污水中的有机物、氨氮和亚硝氮有一定的降解作用, 且丛毛单胞菌属既能够将氨氮转化为亚硝酸盐氮, 并进行反硝化转化为氮气, 实现短程硝化反硝化, 且易受高浓度重金属离子影响^[26]。2.0 mg/L 和 4.0 mg/L Mn^{2+} 作用下 *Hyphomonadaceae* 的丰度相比 RO15 从 1.9%提高到 3.62%和 3.6%, 该

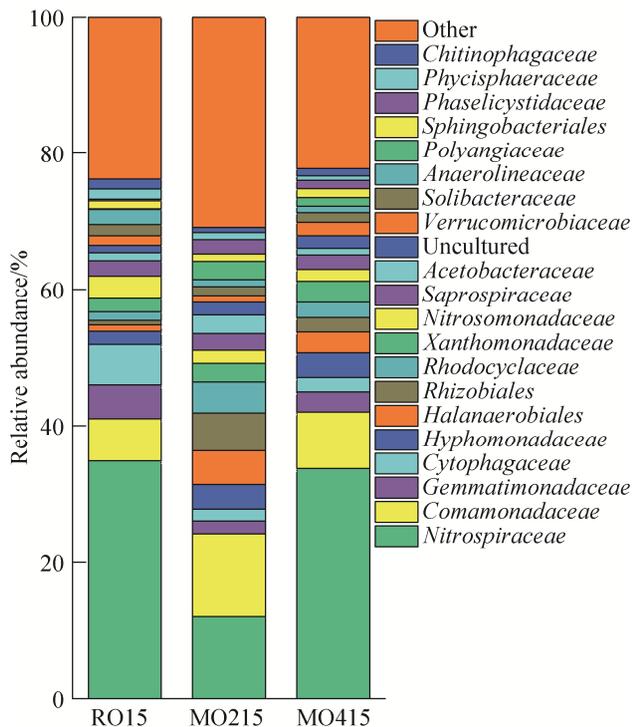


图 7 科水平下微生物群落组成分析

Figure 7 Analysis of the composition of sample bacteria at the family level.

菌科下多个属具备反硝化功能, 通常在贫营养条件下生存^[27]; 红环菌科(*Rhodocyclaceae*)的丰度提高 3.3%和 3.1%, 该菌科有除磷功能^[28]; 黄色单胞菌科(*Xanthomonadaceae*)的丰度提高 0.8%和 1.2%, 黄色单胞菌是一种常见的除磷微生物, 可以去除污水中的有机磷^[29-30]。 Mn^{2+} 作用下 AO-BAF 系统对 TN 和 TP 效果的提升主要是因为 Mn^{2+} 能够促进生物膜中亚硝化、反硝化和除磷微生物的生长。随着进水 Mn^{2+} 浓度的提高, 部分微生物的相对丰度增加幅度有所减少, 这与效能实验中继续提高进水 Mn^{2+} 浓度处理效果变化不明显, 甚至氨氮和 TP 去除效果提升幅度略有下降的现象相符。

2.4.3 属分类水平下热图和聚类分析

图 8 为属分类水平下丰度前 50 位的热图。样本 MO215 中以 NO_3^- -N 作为电子受体进行自养反硝化脱氮的 *Sulfuritalea*^[31], 可进行反硝化脱氮的 *Thermomonas* 和 *Thauera*^[32], 以及能将 NH_4^+ -N 转化成 NO_2^- -N 的亚硝化单胞菌属(*Nitrosomonas*)^[33]; 具有反硝化脱氮能力的 *Denitratisoma* 属^[34], 既能够将氨氮转化为亚硝酸盐氮, 还可进行反硝化转化为氮气; 实现短程硝化反硝化的 *Comamonas* 属^[35], 是样本中相对优势的菌属, 相比 RO15 丰度明显增加。样本 MO415 中 *Nitrosomonas*、*Thermomonas*、*Acidibacter* 和 *Comamonas* 等菌属的相对丰度相比 RO15 有所增加, *Thauera*、*Denitratisoma* 和 *Comamonas* 等的相对丰度相比样本 MO215 有所减少, 但高于样本 RO15。结果表明, 适宜浓度 Mn^{2+} 作用下 BAF 柱内优势菌属变化明显, 反硝化菌属 *Thauera*、*Thermomonas*、*Denitratisoma*、*Sulfuritalea* 和 *Comamonas* 等的相对丰度明显增加, 是生物膜中相对优势的菌属, 从而提高反应器的反硝化脱氮效果。

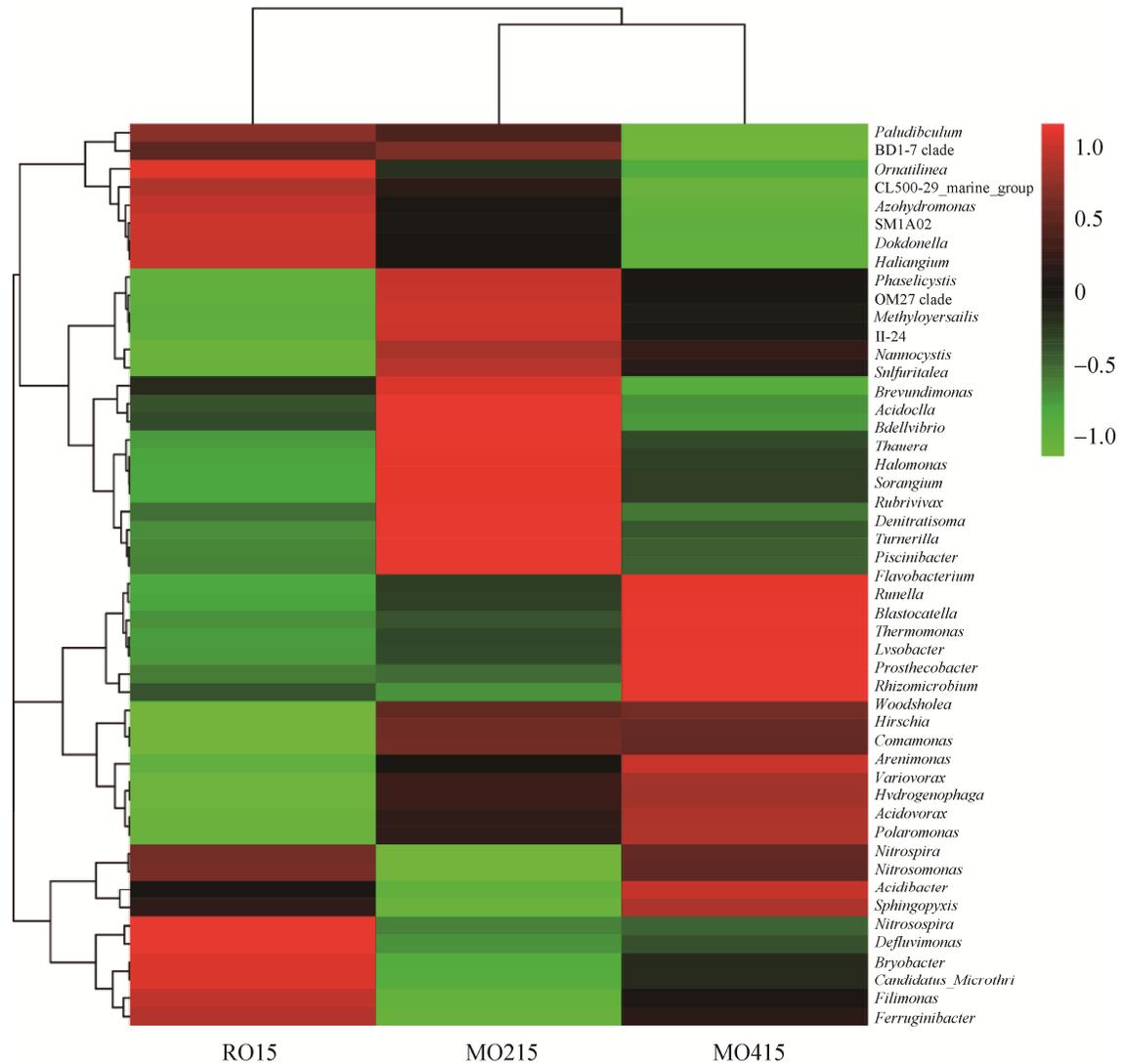


图 8 属水平上的热图和聚类分析
Figure 8 Heatmap and clustering tree analysis of dominant genera.

3 讨论

如图 2 和表 1 所示, 2.0 mg/L Mn^{2+} 作用下反应器 TN 和 TP 去除率明显提高, 当 Mn^{2+} 浓度继续提高到 4.0 mg/L 时 TP 和氨氮的去除率提升幅度有所下降; Mn^{2+} 作用下亚硝酸菌和反硝化菌的数量明显增加, 但硝酸菌的生长繁殖被抑制, 数量有所下降。微生物测定结果表明: Mn^{2+} 作用下微生物群落多样性大幅增加, 样本

OTU 数量大幅提高。BAF 柱内变形菌门、厚壁菌门和放线菌门在实验组样本中的丰度均高于对照组, 变形菌门是常见的革兰氏阴性细菌, 对有机物降解和脱氮起重要作用^[22], 而放线菌门的某些菌种能够进行生物除磷^[23-25]; 黄色单胞菌科 (*Xanthomonadaceae*) 和红环菌科 (*Rhodocyclaceae*) 等具有除磷功能的微生物相对丰度明显增加^[28-31], 说明 Mn^{2+} 在污水中除了能够在水中生成的氧化产物通过吸附、络合和

沉淀等物理化学方式除磷外, Mn^{2+} 还能促进除磷微生物的生长繁殖提高反应器生物除磷效果。此外, Mn^{2+} 作用下反硝化菌属 *Thauera*、热单胞菌属 *Thermomonas*、*Denitratisoma*、*Sulfuritalea*和 *Comamonas*等的相对丰度明显增加, 成为生物膜中较为优势的菌属, 是提高反应器反硝化脱氮能力的基础; 随着进水 Mn^{2+} 浓度继续提高, 这些菌种的提升幅度有所下降, 说明高浓度 Mn^{2+} 反而不利于微生物生长繁殖。 Mn^{2+} 主要是通过促进 BAF 柱内生物膜中的有机物降解、亚硝化、反硝化和除磷微生物的生长来提高反应器 COD 去除、脱氮和生物除磷效果, 但对硝化的促进效果并不明显。此外随着 Mn^{2+} 浓度的进一步提高, 其对微生物的抑制作用也会逐渐显现, 不利于反应器的脱氮除磷。

4 结论

(1) 水温 15 °C 时, 相比对照组, A/O-BAF 系统在 2.0 mg/L Mn^{2+} 作用下 A/O-BAF 系统的 COD、 NH_4^+ -N、TN、TP 去除率分别提高 3.51%、2.21%、6.26%和 12.13%; 4.0 mg/L Mn^{2+} 作用下 COD、 NH_4^+ -N、TN、TP 去除率分别提高了 4.24%、1.92%、7.75%和 10.73%。 Mn^{2+} 对 TN 和 TP 的去除效果促进较为明显, 对 COD 和 NH_4^+ -N 去除效果有一定促进作用。

(2) Mn^{2+} 作用下 A/O-BAF 系统内亚硝酸菌和反硝化菌的数量明显增加; 硝酸菌在 1.0 mg/L Mn^{2+} 作用下数量有所增加, 但随着 Mn^{2+} 浓度继续升高呈下降趋势。 Mn^{2+} 主要是通过促进 A/O-BAF 系统的亚硝化和反硝化作用提高系统脱氮效果, 但对硝化的促进效果并不明显, 且硝酸菌易被 Mn^{2+} 抑制, Mn^{2+} 投加量为 2.0 mg/L 时便会开始抑制 A/O-BAF 系统内硝酸菌的生长。此外, Mn^{2+} 作用下 BAF 柱内生物膜活性和生物膜量明显提高。

(3) Mn^{2+} 作用下 A/O-BAF 系统内不同分类水平优势菌群的相对丰度发生改变, 群落多样性大幅增加。2.0 mg/L 和 4.0 mg/L Mn^{2+} 作用下, 样本 OTU 数量从 4 430 分别提高到 5 659 和 5 556; 系统内变形菌门、厚壁菌门、放线菌门、*Comamonadaceae*、*Hyphomonadaceae*、黄单胞菌科 (*Xanthomonadaceae*)、红环菌科 (*Rhodocyclaceae*)、陶厄式菌属 (*Thauera*)、*Denitratisoma*、*Sulfuritalea*和 *Thermomonas*等在实验组的丰度相比对照组均有所提高, 硝化螺旋菌门 (*Nitrospirae*)和硝化螺旋菌科的相对丰度有所减少。其中, *Thauera*、热单胞菌属 (*Thermomonas*)、*Denitratisoma*、*Sulfuritalea*和 *Comamonas*等为反硝化菌属, *Comamonas*还具有短程硝化反硝化能力; 黄色单胞菌科 (*Xanthomonadaceae*) 和红环菌科 (*Rhodocyclaceae*)等具有除磷功能。 Mn^{2+} 主要是通过促进 BAF 柱内生物膜中的亚硝化、反硝化和除磷微生物的生长来提高反应器脱氮和生物除磷效果。此外随着 Mn^{2+} 浓度的进一步提高, Mn^{2+} 对微生物的抑制作用也会逐渐显现, 不利于反应器的脱氮除磷。

参考文献

- [1] 陈永志, 彭永臻, 王建华, 张良长. A^2/O -曝气生物滤池工艺处理低 C/N 比生活污水脱氮除磷. 环境科学学报, 2010, 30(10): 1957–1963.
Chen YZ, Peng YZ, Wang JH, Zhang LC. Biological phosphorus and nitrogen removal in low C/N ratio domestic sewage treatment by a A^2/O -BAF combined system. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2010, 30(10): 1957–1963. (in Chinese)
- [2] Lu XJ, Yang B, Chen JH, Sun R. Treatment of wastewater containing azo dye reactive brilliant red X-3B using sequential ozonation and upflow biological aerated filter process. *Journal of Hazardous Materials*, 2009, 161(1): 241–245.
- [3] 李东, 刘旭林, 封莉, 王洪杰, 张立秋. 后置反硝化 BAF 除污效能的主要影响因素研究. 中国给水排水,

- 2018, 34(11): 78–83.
- Li D, Liu XL, Feng L, Wang HJ, Zhang LQ. Influence of external carbon source dosage and hydraulic loading on pollutants removal by post-denitrification biological aerated filter. *China Water & Wastewater*, 2018, 34(11): 78–83. (in Chinese)
- [4] 高欣, 高梦国, 周丹丹, 张超凡. 前置反硝化-曝气生物滤池低温脱氮效能中试研究. *水处理技术*, 2018, 44(6): 76–79.
- Gao X, Gao MG, Zhou DD, Zhang CF. Pilot scale study on nitrogen removal efficiency of predenitrification biological aerated filter under low temperature condition. *Technology of Water Treatment*, 2018, 44(6): 76–79. (in Chinese)
- [5] 金铎, 刘爱敏, 李双陆, 李欣, 王晓, 刘芳芳, 周柱荣, 张传贵. MBR 辅助化学除磷深度处理 BAF 出水的研究. *中国给水排水*, 2016, 32(5): 81–84.
- Jin D, Liu AM, Li SL, Li X, Wang X, Liu FF, Zhou ZR, Zhang CG. Advanced chemical phosphorus removal from BAF effluent with MBR. *China Water & Wastewater*, 2016, 32(5): 81–84. (in Chinese)
- [6] 刘绍根, 孙菁, 徐锐. Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 对好氧污泥快速颗粒化的影响研究. *环境科学学报*, 2015, 35(1): 168–176.
- Liu SG, Sun J, Xu R. Effects of Ca^{2+} and Mg^{2+} on rapid granulation of aerobic sludge. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2015, 35(1): 168–176. (in Chinese)
- [7] Ren XM, Chen Y, Guo L, She ZL, Gao MC, Zhao YG, Shao MY. The influence of Fe^{2+} , Fe^{3+} and magnet powder (Fe_3O_4) on aerobic granulation and their mechanisms. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2018, 164: 1–11.
- [8] Liu LY, Yan H, Tan W, Zhu GR. Influence of Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , and Fe^{3+} on filterability and settleability of drilling sludge. *Chinese Journal of Chemical Engineering*, 2017, 25(5): 658–664.
- [9] 孟雪征, 赖震宏, 龙腾锐. 金属离子对好氧活性污泥活性的影响. *安全与环境学报*, 2004, 4(6): 43–45.
- Meng XZ, Lai ZH, Long TR. Effects of metal ions on aerobic activated sludge activity. *Journal of Safety and Environment*, 2004, 4(6): 43–45. (in Chinese)
- [10] 杨涛. 铁锰元素对生化反应器效能以及微生物聚集的促进作用研究. 山东大学学位论文, 2012.
- [11] 国家环保局《水和废水监测分析方法》编委会. 水和废水监测分析方法. 北京: 中国环境科学出版社, 1989.
- [12] 周子寒, 彭绍亮, 伯晓晨, 李非. 基于高通量测序技术的微生物检测数据分析方法. *生物化学与生物物理进展*, 2017, 44(1): 58–69.
- Zhou ZH, Peng SL, Bo XC, Li F. Computational methods in microbe detection using next-generation sequencing. *Progress in Biochemistry and Biophysics*, 2017, 44(1): 58–69. (in Chinese)
- [13] Wang XH, Ren NQ, Wang AJ, et al. Effect of ferrous and manganese ion on nitrification. *Journal of Harbin Institute of Technology*, 2003(1): 122–125
- [14] 赵倩男. Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 对 SBR 工艺污泥硝化性能和微生物群落结构的影响. 东北电力大学学位论文, 2019.
- [15] Bai YH, Su JF, Wen Q, Huang TL, Chang Q, Ali A. Characterization and mechanism of Mn(II)-based mixotrophic denitrifying bacterium (*Cupriavidus* sp. HY129) in remediation of nitrate (NO_3^- -N) and manganese (Mn(II)) contaminated groundwater. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, 408: 124414.
- [16] Chen Kai. Effect of Fe(III)/Mn(II) on biofilms and its extracellular polymeric substances. *Kunming University of Science and Technology*, 2016.
- [17] Su JF, Liang DH, Lian TT. Comparison of denitrification performance by bacterium *Achromobacter* sp. A14 under different electron donor conditions. *Chemical Engineering Journal*, 2018, 333: 320–326.
- [18] 林海, 李萍, 陈月芳, 王倩, 侯瑞荣, 张艳. 低碳源浓度条件下聚磷菌特性. *北京科技大学学报*, 2009, 31(6): 679–683.
- Lin H, Li P, Chen YF, Wang Q, Hou RR, Zhang Y. Characteristics of phosphorus accumulating organisms at low carbon level. *Journal of University of Science and Technology Beijing*, 2009, 31(6): 679–683. (in Chinese)
- [19] 周贵忠, 许硕, 姚倩, 银钗. 不同盐度下活性污泥中微生物群落变化规律及其处理模拟染料废水. *环境科学*, 2017, 38(7): 2972–2977.
- Zhou GZ, Xu S, Yao Q, Yin C. Influence of salinity on microbial community in activated sludge and its application in simulated dye wastewater treatment. *Environmental Science*, 2017, 38(7): 2972–2977. (in Chinese)
- [20] 李海宁, 陈静, 李秋梅, 凤翔, 王卓, 张高生. 铁锰复合氧化物包覆海砂的吸附除磷研究. *环境科学学报*, 2016, 36(3): 880–886.
- Li HN, Chen J, Li QM, Feng X, Wang Z, Zhang GS. Adsorptive removal of phosphate from water using Fe-Mn binary oxide coated sea sand. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2016, 36(3): 880–886. (in Chinese)

- [21] 秦文韬, 张冰, 孙晨翔, 陈湛, 文湘华. 我国南北区域城市污水处理系统内真菌群落的差异. *微生物学通报*, 2019, 46(8): 1876–1885.
Qin WT, Zhang B, Sun CX, Chen Z, Wen XH. Differences of fungal community in wastewater treatment plants between south and North China. *Microbiology China*, 2019, 46(8): 1876–1885. (in Chinese)
- [22] Nguyen HTT, Le VQ, Hansen AA, Nielsen JL, Nielsen PH. High diversity and abundance of putative polyphosphate-accumulating *Tetrasphaera*-related bacteria in activated sludge systems. *FEMS Microbiology Ecology*, 2011, 76(2): 256–267.
- [23] 徐立杰, 郭春艳, 彭永臻, 袁志国. 强化生物除磷系统的微生物学及生化特性研究进展. *应用与环境微生物学报*, 2011, 17(3): 427–434.
Xu LJ, Guo CY, Peng YZ, Yuan ZG. Review on the microbiological and biochemical characteristics of enhanced biological phosphorus removal system. *Chinese Journal of Applied & Environmental Biology*, 2011, 17(3): 427–434. (in Chinese)
- [24] Zhou HX, Xu GR. Biofilm characteristics, microbial community structure and function of an up-flow anaerobic filter-biological aerated filter (UAF-BAF) driven by COD/N ratio. *Science of the Total Environment*, 2020, 708: 134422.
- [25] Lv Z, Leite AF, Harms H, Glaser K, Liebetau J, Kleinstuber S, Nikolausz M. Microbial community shifts in biogas reactors upon complete or partial ammonia inhibition. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2019, 103(1): 519–533.
- [26] 赵燕, 薛林贵, 李琳, 张红光. 丛毛单胞菌在环境污染物降解方面的研究进展. *微生物学通报*, 2012, 39(10): 1471–1478.
Zhao Y, Xue LG, Li L, Zhang HG. Advance in environmental pollutants degradation of *Comamonas*. *Microbiology China*, 2012, 39(10): 1471–1478. (in Chinese)
- [27] Alain K, Tindall BJ, Intertaglia L, Catala P, Lebaron P. *Hellea balneolensis* gen. nov., sp. nov., a prosthecate alphaproteobacterium from the Mediterranean Sea. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2008, 58(11): 2511–2519.
- [28] 李炳堂, 胡智泉, 刘冬啟, 吴丁山. 活性污泥中菌群多样性及其功能调控研究进展. *微生物学通报*, 2019, 46(8): 2009–2019.
Li BT, Hu ZQ, Liu DQ, Wu DS. Research progress of bacterial diversity and functional regulation in activated sludge. *Microbiology China*, 2019, 46(8): 2009–2019. (in Chinese)
- [29] 张居奎, 尹军, 桑磊. 复合生物活性填料对活性污泥生物特性的影响. *环境工程学报*, 2015, 9(8): 3701–3706.
Zhang JK, Yin J, Sang L. Effect of composite bioactive filler on biological characteristics of activated sludge. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 2015, 9(8): 3701–3706. (in Chinese)
- [30] 严子春, 吴大冰, 史凌楠. 石灰石滤柱出水回流曝气生物滤池系统的处理效能及微生物群落多样性. *微生物学通报*, 2021, 48(1): 14–22.
Yan ZC, Wu DB, Shi LN. Treatment efficiency and microbial community diversity in reflux biological aerated filter system of limestone filter column. *Microbiology China*, 2021, 48(1): 14–22. (in Chinese)
- [31] Krustok I, Truu J, Odlare M, Truu M, Ligi T, Tiirik K, Nehrenheim E. Effect of lake water on algal biomass and microbial community structure in municipal wastewater-based lab-scale photobioreactors. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2015, 99(15): 6537–6549.
- [32] Kamei T, Eamrat R, Shinoda K, Tanaka Y, Kazama F. Coupled anaerobic ammonium oxidation and hydrogenotrophic denitrification for simultaneous $\text{NH}_4\text{-N}$ and $\text{NO}_3\text{-N}$ removal. *Water Science and Technology*, 2019, 79(5): 975–984.
- [33] 范鹏宇, 于鲁冀, 柏义生, 李廷梅, 程璐璐. 缓释碳源生态基质对低碳氮比河水脱氮效果研究. *环境科学学报*, 2018, 38(1): 251–258.
Fan PY, Yu LJ, Bo YS, Li TM, Cheng LL. Denitrification performance of low C/N ratio river water with artificial slowrelease carbon source. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2018, 38(1): 251–258. (in Chinese)
- [34] Lyu WL, Huang L, Xiao GQ, Chen YC. Effects of carbon sources and COD/N ratio on N_2O emissions in subsurface flow constructed wetlands. *Bioresource Technology*, 2017, 245: 171–181.
- [35] 赵燕, 薛林贵, 李琳, 张红光. 丛毛单胞菌在环境污染物降解方面的研究进展. *微生物学通报*, 2012, 39(10): 1471–1478.
Zhao Y, Xue LG, Li L, Zhang HG. Advance in environmental pollutants degradation of *Comamonas*. *Microbiology China*, 2012, 39(10): 1471–1478. (in Chinese)

(本文责编 李磊)