



文章栏目: 环境生物技术

DOI 10.12030/j.cjee.202105073

中图分类号 X703.1

文献标识码 A

李峰, 杨宝山, 王惠, 等. 开闭路运行模式下微生物燃料电池型人工湿地处理抗生素废水的效果及微生物群落响应[J]. 环境工程学报, 2021, 15(9): 3038-3048.

LI Feng, YANG Baoshan, WANG Hui, et al. Treatment effect of wastewater containing antibiotic and microbial community response in microbial fuel cell integrated with constructed wetland under different circuit operation mode[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2021, 15(9): 3038-3048.

开闭路运行模式下微生物燃料电池型人工湿地处理抗生素废水的效果及微生物群落响应

李峰¹, 杨宝山^{1,2}, 王惠^{1,2,*}, 袁英睿¹, 孙文¹, 曹鑫磊¹

1. 济南大学水利与环境学院, 济南 250022

2. 山东省高校水资源与水环境工程重点实验室, 济南 250022

第一作者: 李峰(1997—), 男, 硕士研究生。研究方向: 水污染控制。E-mail: 353154200@qq.com

*通信作者: 王惠(1971—), 女, 博士, 教授。研究方向: 水土污染成因及控制技术。E-mail: hwang_118@163.com

摘要 为探究微生物燃料电池型人工湿地处理抗生素废水的效果, 构建了闭路运行 (CW-MFC1) 与开路运行 (CW-MFC2) 的微生物燃料电池型人工湿地, 研究了不同电路运行模式下微生物燃料电池型人工湿地对氮、COD 以及抗生素的去除效果, 并对阳极与阴极的微生物群落及其与污染物去除效果的关系进行了探究。结果表明, 闭路运行模式下 CW-MFC 对 $\text{NH}_4\text{-N}$ 、TN、COD 以及盐酸环丙沙星 (CIPH) 与磺胺甲恶唑 (SMX) 2 种抗生素的去除效果均显著高于开路运行模式 ($P < 0.05$), 对 $\text{NO}_3\text{-N}$ 的去除效果低于开路运行模式。16S rDNA 测序结果表明: 闭路运行模式下 CW-MFC 阳极具有更高的微生物丰富度和多样性; 不同电路运行模式对阳极与阴极水平上的微生物群落结构影响较小, 但对属水平上的微生物组成有显著的影响。冗余分析结果表明, CW-MFC 对污染物的去除率随着绝大多数阳极与阴极的细菌属的相对丰度增加而增加, 但随着阳极的 *Methylobacter* 相对丰度的增加而减少。以上研究结果表明, 闭路运行模式下 CW-MFC 处理高浓度抗生素废水具有更好的潜力。

关键词 微生物燃料电池型人工湿地; 氮去除; 抗生素; 微生物群落

抗生素作为一种抗菌类药物被广泛应用于治疗和预防疾病、促进动物生长以及作物种植和保护等领域^[1-2]。至 2013 年, 我国抗生素的使用量已突破 16×10^4 t, 其中 48% 为人类摄入, 剩余的用于畜禽等动物^[1]。然而, 生物体所摄取抗生素的 30%~90% 不会被代谢, 而是会从体内排出, 最后进入环境中, 从而对生态系统和人类健康造成威胁^[3-4]。同时, 抗生素残留在环境中还会诱导抗生素耐药细菌和抗生素抗性基因 (antibiotics resistance genes, ARGs) 的产生^[5]。

然而, 传统的污水处理厂一般没有针对抗生素的处理工艺, 抗生素与抗性基因在废水和污泥中被频繁检测出来^[6], 导致大量抗生素未经处理进入环境中。有研究^[7]表明, 人工湿地 (constructed wetland, CW) 在抗生素和 ARGs 的处理中具有巨大的潜力。但是, CW 易堵塞、占地面积大、受外部条件影响大等缺点, 影响了其对污染物的去除性能^[8]。微生物燃料电池型人工湿地系统

收稿日期: 2021-05-14; 录用日期: 2021-08-04

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (41877424; 31870606; 32071559); 山东省自然科学基金资助项目 (ZR2018MD002)

(microbial fuel cell integrated with constructed wetland, CW-MFC) 作为一种新型废水处理技术, 其可将微生物燃料电池 (microbial fuel cell, MFC) 嵌入到人工湿地中, 实现废水处理的同时产生电能^[9]。典型的 MFC 需要一个厌氧阳极区和好氧阴极区来提供氧化还原梯度, 以促进电子和质子从厌氧区到好氧区的转移。而 CW 底部为厌氧区, 顶部为有氧区, 因而形成了天然的氧化还原梯度。两者在结构上的相似性, 提供了将两者进行结合的可能性。二者的耦合可更好地提高污染物的去除效率。有研究^[10-12]表明, CW-MFC 对 N、P 等常规污染物以及偶氮染料、硝基苯、药品及个人护理品等难降解有机物都有良好的去除性能。

目前, 关于 CW-MFC 对抗生素废水的处理效果及相关机理的研究还较少。杨可昀等^[13]利用 CW-MFC 处理含四环素和磺胺甲恶唑的废水, 证实了 CW-MFC 相较于传统 CW 可以更有效的去除废水中的抗生素, 但没有明确其去除机理。因此, 构建高效的微生物燃料电池型人工湿地并研究其对抗生素废水处理的效果及机制已成为当前废水处理中的研究热点之一。

生物炭作为吸附剂广泛地应用于污水处理, 其不仅容易获取而且对污染物有良好的吸附效果^[14]。有研究^[15]表明, 利用生物炭作吸附剂可有效吸附去除水中的抗生素。YUAN 等^[16]发现, 生物炭作为基质填充到人工湿地, 可以提高湿地对污染物的去除效果, 因为生物炭不但可以吸附更多的污染物, 同时发达的孔隙结构, 较大的比表面积可以为微生物提供附着场所, 有利于微生物生长。基于此, 本研究建造了以生物炭作为电极基质的 CW-MFC 系统, 开展不同电路运行模式下处理含喹诺酮类抗生素盐酸环丙沙星 (ciprofloxacin hydrochloride, CIPH) 和磺胺类抗生素磺胺甲恶唑 (sulfamethoxazole, SMX) 废水的研究, 通过系统运行, 研究了不同电路运行模式下 CW-MFC 对抗生素的去除效果、抗生素废水中常规污染物的去除效果以及基质微生物对不同运行模式的响应。

1 材料与方法

1.1 实验装置的构建

本实验在济南大学水利与环境学院温室中进行, 温度保持在 $(25 \pm 3)^\circ\text{C}$, 模拟构建了 2 个 CW-MFC 装置模型。如图 1 所示, 闭路运行的 CW-MFC1 与开路运行的 CW-MFC2 的圆柱型池体由有机玻璃制成, 内径 20 cm, 高 50 cm。由下向上依次填充底层基质粗砾石 5 cm, 细砾石 10 cm、阳极层基质生物炭 10 cm、中间层基质沸石 15 cm、阴极层基质生物炭 5 cm。在阳极层中部与阴极层顶部铺设附着在不锈钢网上的碳纤维毡以增强电子的转移。在空气阴极层种植 4 颗菖蒲。其中 CW-MFC1 阴极与阳极之间使用绝缘铜线相连接, 中间连接 $1\ 000\ \Omega$ 电阻形成闭合回路。CW-MFC2 阴极

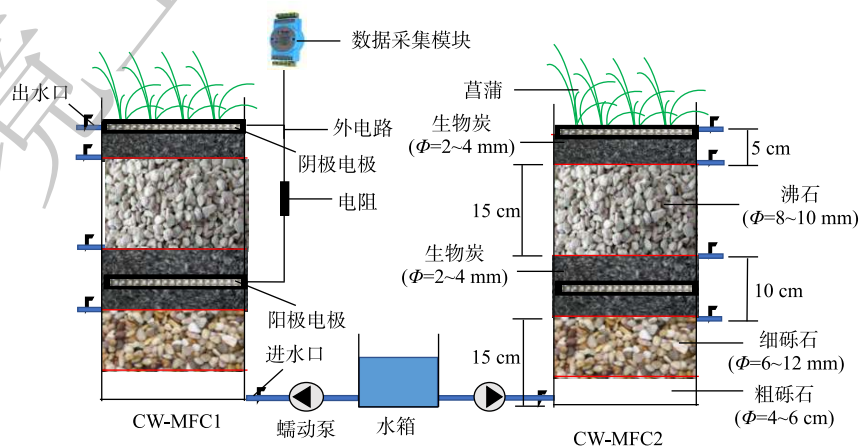


图 1 CW-MFC 装置示意图

Fig. 1 Schematic diagram of CW-MFC installation

与阳极之间不进行连接, 开路模式运行, 本质上是传统人工湿地。使用黑色遮光布对装置与水箱进行遮光处理防止藻类的产生和抗生素的光解。

1.2 系统的接种与运行

受试废水是人工制备的合成废水, 由 $160 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 葡萄糖、 $160 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 乙酸钠、 $89 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NH_4Cl 、 $16 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ KNO_3 、 $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ KH_2PO_4 、 $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ CaCl_2 和 $5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ MgSO_4 组成。在实验装置构建完成后, 使用活性污泥对阳极进行接种, 活性污泥取自济南光大水务二厂; 之后进入培养期, 合成废水使用蠕动泵从底部进水口连续泵入 2 个实验装置, 流量为 $1.190 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, 2 个实验装置的水力停留时间 (hydraulic retention time, HRT) 为 3 d。在 30 d 后, 装置内形成稳定的生物膜, 出水水质稳定, CW-MFC1 输出端电压稳定。系统达到稳定后, 在合成废水中加入目标抗生素磺胺甲恶唑 (SMX) 与盐酸环丙沙星 (CIPH) 各 $2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 该系统运行 90 d。

1.3 采样与指标测定方法

1) 常规水质指标的测定。每 3 d 从装置顶部出水口采集系统出水, 同时获取进水样品。在水样采集当天, 分别按照以下标准方法测定出水水质指标。 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 采用靛酚蓝比色法测定, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 采用紫外分光光度法测定, TN 采用碱性过硫酸钾消解-紫外分光光度法 (HJ 636-2012) 测定, COD 采用快速消解分光光度法 (HJ/T 399-2007) 测定。所有的目标污染物检测均设定 3 个重复。

2) 抗生素检测方法。每 6 d 从装置顶部出水口采集系统出水, 检测抗生素 (CIPH 和 SMX) 的浓度。进出水样品使用 $0.22 \mu\text{m}$ 滤膜过滤后采用高效液相色谱和紫外检测器 (DAD) 测定 SMX 和 CIPH 的质量浓度。采用 C18 反相柱 ($4.6 \text{ mm}\times 250 \text{ mm}$; $5 \mu\text{m}$), 2 种抗生素的注射量均为 $20 \mu\text{L}$, 流动相流速为 $1 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 。CIPH 流动相为 $0.025 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 磷酸:乙腈=75:25, 用三乙胺溶液调节磷酸溶液 pH 至 (3.0 ± 0.1) , 荧光检测波长为 278 nm 。SMX 流动相为水:乙腈=1:1, 荧光检测波长为 272 nm 。

3) 微生物群落分析。装置运行结束后, 采集装置阳极层 (A) 与阴极层 (C) 基质, 探究开路和闭路运行模式下阴极与阳极微生物群落多样性和组成。采集的基质送到杭州 LC-Bio 科技有限公司。使用 E.Z.N.A.®Soil DNA Kit 土壤试剂盒进行 DNA 的提取。针对 16SrRNA 基因 V3~V4 高变区, 选择正向引物 341F(5'-CCTACGGGNGGCWGCAG-3') 和反向引物 805R(5'-GACTACHVGGGTATCTAATCC-3') 作为扩增引物。在 Illumina Novaseq 平台上按照制造商的操作指南进行测序。使用 Vsearch (2.3.4 版本) 筛选高质量的嵌合序列, 利用 DADA2 进行解调, 得到特征表和特征序列。通过 QIIME2 软件获取观测物种、Chao1、Shannon 和 Simpson 指数。

1.4 数据处理与分析

采用 Excel 2019 进行数据的平均值和标准偏差计算, 采用 SPSS 26 进行统计差异与相关性分析, 使用 Origin 2018 软件绘制图形, 使用 Canoco 5 进行冗余分析 (RDA)。

2 结果与讨论

2.1 不同运行模式下 CW-MFC 对常规污染物的去除性能

表 1 所示为 CW-MFC1(闭路) 和 CW-MFC2(开路) 运行期间的进出水污染物平均质量浓度与平均去除率。CW-MFC1 和 CW-MFC2 对 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、TN 和 COD 的平均去除率为 75.86% 和 69.79%、71.96% 和 64.51%、93.25% 和 86.38%, CW-MFC1 比 CW-MFC2 分别高出 6.07%、7.45% 和 6.87%。在闭路运行模式下, CW-MFC 的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、TN 和 COD 平均去除率显著高于开路运行模式下的 CW-MFC ($P < 0.05$)。CW-MFC1 和 CW-MFC2 的对 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 的去除率分别为 55.22% 和 63.54%, 出水质量浓度为 $(1.06\pm 0.11) \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $(0.87\pm 0.10) \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 闭路运行的 CW-MFC 相比开路运行的 CW-MFC, 对 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 去除率低 8.32%, 但出水质量浓度相差不大。上述结果表明, 虽然闭路运行与开路运行的 CW-MFC 对氮与 COD 都有较好的去除率, 但与开路运行的 CW-MFC 相比, 闭路运行的 CW-MFC 表现

表1 开闭路运行模式下微生物燃料电池型人工湿地进出水污染物的平均质量浓度与平均去除率
Table 1 The mean quality concentrations and removal rates of pollutant in influents and effluents of microbial fuel cell integrated with constructed wetlands under open and close circuit operation modes

污染物	进水质量浓度/(mg·L ⁻¹)	出水质量浓度/(mg·L ⁻¹)		去除率/%	
		CW-MFC1	CW-MFC2	CW-MFC1	CW-MFC2
NH ₄ ⁺ -N	24.07±0.43	5.81±0.72	7.27±0.86	75.86±3.14 ^a	69.79±3.76 ^b
NO ₃ ⁻ -N	2.38±0.10	1.06±0.11	0.87±0.10	55.22±5.03 ^b	63.54±4.64 ^a
TN	26.80±0.68	7.50±0.78	9.50±0.90	71.96±3.26 ^a	64.51±3.94 ^b
COD	299.46±4.92	20.21±4.19	40.24±4.43	93.25±1.40 ^a	86.38±1.46 ^b

注: 所有数据均代表平均值±标准差, 同一行中不同小写字母表示显著差异($P<0.05$)。

出更好的去除性能, 表明采用闭路运行模式在人工湿地中形成完整的微生物燃料电池系统, 可以增强废水中氮与 COD 的去除。

有研究表明, 闭路运行模式可以加快电化学细菌在电极上的富集与生长^[17], 而电化学活性细菌对 CW-MFC 中硝化和反硝化过程会有促进作用^[18]。在本研究中, 闭路运行的 CW-MFC 中电化学细菌和氨氧化细菌具有更高的丰度, 可使硝化作用得到增强, 这可能是其中 NH₄⁺-N 去除率较高的主要原因。此外, 较高的微生物活性同样是 COD 去除率高的原因。TEOH 等^[19]对上升流 CW-MFC 中硝酸盐去除的沿程变化进行研究时发现, 废水中的 NO₃⁻-N 进入装置底部厌氧区后得到有效去除, 但在阴极层出水中又有所增加, 这与硝化作用产生 NO₃⁻时 NH₄⁺的减少相对应。由此可推测, 本研究进水中 NO₃⁻-N 在进入装置底部后经过反硝化作用得到有效去除。但污水经过阴极区时, 在有氧条件下经过硝化作用将 NH₄⁺-N 转化为 NO₃⁻-N, 一部分扩散进入厌氧区域通过反硝化作用去除; 另一部分未得到及时去除而随着出水流出。因此, 出水中 NO₃⁻-N 质量浓度又有增加。而本研究合成废水中氮主要以 NH₄⁺-N 存在, 由于形成完整的微生物燃料电池通路, 闭路运行的 CW-MFC 中 NH₄⁺-N 去除效率较高, 硝化作用可产生更多 NO₃⁻-N, 这可能是导致其 NO₃⁻-N 出水质量浓度高于开路运行下 CW-MFC 的主要原因。此外, 本研究进水总氮主要以 NH₄⁺-N 存在, 因此, 较高的 NH₄⁺-N 去除率导致较高的总氮去除率, 这与出水总氮含量的测试结果相互吻合。

运行期间开闭路 2 种运行模式下 CW-MFC 出水中 NH₄⁺-N、NO₃⁻-N、TN 和 COD 的动态变化情况如图 2 所示。结果表明, 开始加入抗生素后, CW-MFC1 与 CW-MFC2 系统中出水 NH₄⁺-N、TN 和 COD 的质量浓度值变化趋势为先升高后降低最后趋于稳定, NO₃⁻-N 质量浓度为先降低后升高但十分不稳定。加入抗生素后, 开路运行模式和闭路运行模式下 CW-MFC 出水 NH₄⁺-N 质量浓度均有所升高, 在第 15 天左右最高可增加到 7.44 mg·L⁻¹ 和 9.25 mg·L⁻¹。有研究表明, 高浓度的抗生素会抑制微生物活性, 改变细菌群落结构, 降低生物多样性^[20-21], 特别是一些参与硝化与反硝化的细菌对抗生素具有很高的敏感性^[22]。在 CW-MFC 系统中, 氮的去除主要由微生物脱氮完成, 加入抗生素后, 系统的微生物群落结构遭到破坏, 硝化反硝化能力会降低。因此, 抗生素加入的初期, NH₄⁺-N 去除率降低, 出水质量浓度也随之升高, 之后随着运行时间的增加, 出水质量浓度逐渐降低, 直到系统运行 45 d 之后出水质量浓度开始趋于稳定。这是因为, 随着系统运行时间的增加, 在抗生素的环境压力诱导下, 抗生素抗性基因逐渐产生, 抗生素耐药性细菌出现, 抗生素对微生物的抑制作用变小, 微生物群落稳定性逐渐增强, 因此, NH₄⁺-N 去除率逐渐升高, 出水质量浓度逐渐降低。NO₃⁻-N 变化趋势总体与 NH₄⁺-N 相反, 但出水质量浓度变化较大。原因可能是: 由于抗生素的加入, 由 NH₄⁺-N 转化的 NO₃⁻-N 减少, 但抗生素同样对反硝化细菌有影响, 从而降低 NO₃⁻-N 的去除效果。同上, 由于本研究总氮主要以 NH₄⁺-N 存在, 出水总氮质量浓度的变化大体与 NH₄⁺-N

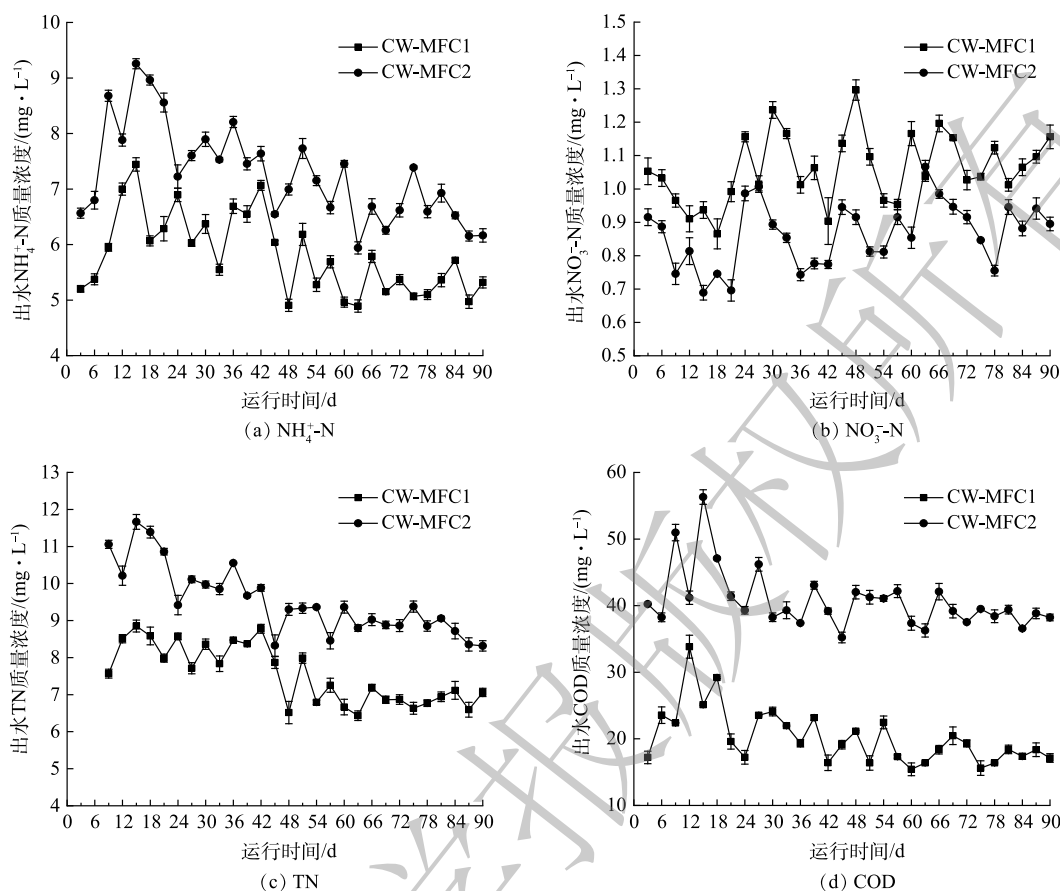


图2 开闭路运行模式下微生物燃料电池型人工湿地出水中 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 、TN和COD的变化

Fig. 2 Variation of $\text{NH}_4^+\text{-N}$, $\text{NO}_3^-\text{-N}$, TN, and COD in the effluent of microbial fuel cell integrated with constructed wetland under open and close circuit operation modes

变化趋势相同。抗生素的出现对微生物群落结构产生影响,随着微生物多样性的减少及其丰度的降低,耗氧有机物(以COD计)消耗随之减少,出水COD值增加,之后系统逐渐稳定,出水COD值降低。在加入抗生素之前,2个装置已形成稳定生物膜,闭路运行模式的CW-MFC具有更好的污染物去除性能和微生物活性,因而即使系统微生物群落受到抗生素的冲击,但闭路运行的CW-MFC比开路运行的CW-MFC具有更好的抵抗力,闭路运行的CW-MFC仍保持更好的处理性能。

2.2 不同运行模式下CW-MFC对抗生素的去除性能

图3为运行期间开闭路2种运行模式下CW-MFC出水中目标抗生素质量浓度的变化。CW-MFC1和CW-MFC2中CIPH的平均出水质量浓度分别为 $4.23 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 与 $7.73 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,平均去除率为99.79%与99.61%,SMX的平均出水质量浓度分别为 $22.43 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 与 $34.96 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,平均去除率为98.89%和98.25%。上述结果表明,闭路运行的CW-MFC与开路运行的CW-

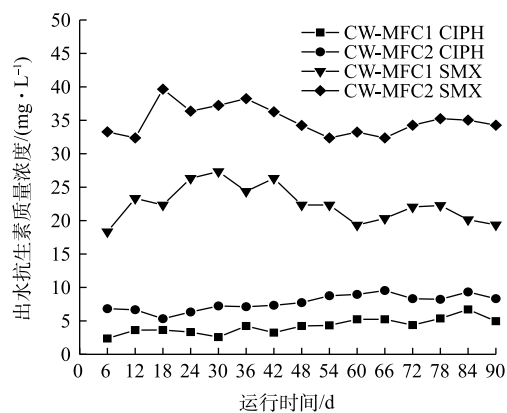


图3 开闭路运行模式下微生物燃料电池型人工湿地出水中抗生素的质量浓度

Fig. 3 Mass concentrations of antibiotics in the effluent of CW-MFCs under open and close circuit operation modes

MFC 对 CIPH 和 SMX 都有较好的去除效果，闭路运行的 CW-MFC 对 CIPH 和 SMX 的出水质量浓度显著低于开路运行的 CW-MFC ($P < 0.05$)，同时，2 个系统中 CIPH 的去除效果显著好于 SMX 的去除效果 ($P < 0.05$)。

CW-MFC 主要通过基质吸附，微生物降解和植物吸收等方式去除废水中的抗生素^[23]。水解与光解也是去除抗生素的途径，CIPH 容易发生光解，SMX 易发生水解^[24-25]。本研究装置的池体使用黑色遮光布覆盖，以此降低 CIPH 的光解作用。本研究中，装置内 pH 保持在 7 左右，此时水解作用十分有限^[25]。因此，本实验不考虑抗生素的光解与水解作用。在 CW-MFC 系统中，阳极微生物会分解葡萄糖以及一些难降解有机物产生电子，而闭路运行模式的 CW-MFC 阳极产生的电子通过外电路到达阴极，为阴极提供了更多的末端电子受体，从而可提高阴极还原速率。因此，闭路运行模式可能具有更高的阳极微生物活性，从而提高了污染物的利用率，可促进抗生素的微生物降解^[26]。同时，YANG 等^[27]的研究表明，电吸附过程可以增强基质对抗生素的吸附能力，闭路运行模式的 CW-MFC 中有弱电流的存在，这可能是其具有更好去除抗生素效率的原因之一。有研究^[28]表明，喹诺酮类抗生素的去除主要靠基质的吸附作用，而磺胺类抗生素的去除则是以微生物作用为主。这可能是 2 种抗生素出水质量浓度差异较大的原因。LIU 等^[29]的研究表明，CW 对喹诺酮类抗生素的去除效果要远高于磺胺类抗生素，这与本研究得到的结果一致。

2.3 不同运行模式下 CW-MFC 的微生物群落响应

表 2 为利用 Illumina Novaseq 测序得到的 Alpha 多样性数据。闭路运行的 CW-MFC 阳极微生物的丰富度 (Chao1) 与多样性 (Shannon、Simpson) 显著高于开路运行的 CW-MFC ($P < 0.05$)。在闭路运行的 CW-MFC 装置中，阳极微生物的丰富度和多样性显著高于阴极微生物 ($P < 0.05$)。而在开路运行的 CW-MFC 装置中则相反，阳极微生物的丰富度和多样性略微低于阴极微生物。以上结果表明，不同运行模式显著改变了微生物的丰富度和多样性。闭路运行的 CW-MFC 由于电流刺激促进了微生物在阳极的富集与生长，这与闭路运行模式的 CW-MFC 对污染物有更好的去除性能相一致。微

表 2 开闭路运行模式下微生物燃料电池型人工湿地阳极与阴极微生物群落的多样性指数

Table 2 Diversity indices of the microbial communities in anode and cathode of CW-MFCs under open and close circuit operation modes

装置	取样点	OUT数	Chao1	Shannon	Simpson	覆盖率/%
CW-MFC1	阳极	2 818	3 075.95 ^a	9.72 ^a	0.9 948 ^a	98
	阴极	2 254	2 423.44 ^c	9.50 ^b	0.9 955 ^a	99
CW-MFC2	阳极	2 200	2 350.18 ^c	9.22 ^c	0.9 945 ^a	99
	阴极	2 426	2 599.68 ^b	9.67 ^a	0.9 950 ^a	99

注：数据为3次采样数据的平均值。同一行中不同小写字母表示显著差异 ($P < 0.05$)。

生物降解是主要的污染物去除途径，因此，更高的微生物丰度会带来更好的处理性能。

图 4(a) 所示为 CW-MFCs 中细菌门水平相对丰度最高的 20 个门。在 2 个 CW-MFC 阳极中，变形菌门 (*Proteobacteria*) 是主要的优势菌门之一，具有最高的相对丰度，分别为 49.71% 和 48.38%，其次是拟杆菌门 (*Bacteroidetes*)、*Patescibacteria*、浮霉菌门 (*Planctomycetes*)、绿弯菌门 (*Chloroflexi*)。在 2 个 CW-MFC 阴极中，变形菌门 (*Proteobacteria*) 同样是主要的优势菌门，且具有更高的相对丰度，分别为 62.56% 和 64.43%，其次是拟杆菌门 (*Bacteroidetes*)、*Patescibacteria*，疣微菌门 (*Verrucomicrobia*) 和硝化螺旋菌门 (*Nitrospirae*)。这些广泛存在于自然界中的菌门，在污染物的去除方面扮演着重要的角色。*Proteobacteria* 可以有效降解污水中营养物质与一些有机污染物，同时在生物电的生产中起着重要的作用^[30]。在本研究中，闭路运行的 CW-MFC 阳极和阴极

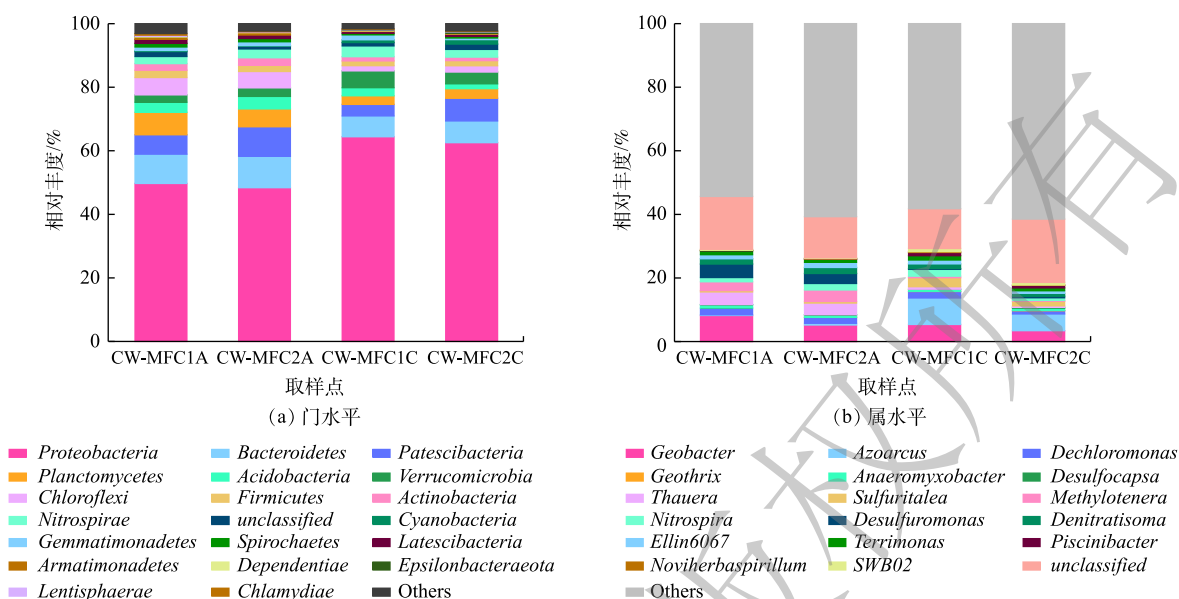


图4 开闭路运行模式下微生物燃料电池型人工湿地阳极与阴极细菌门与属的相对丰度

Fig. 4 Relative abundance of bacterial phyla and genus at the two CW-MFCs anodes and cathodes under open and close circuit operation modes

Proteobacteria 的相对丰度略高于开路运行的 CW-MFC, 但差异不显著 ($P>0.05$), 但 2 个装置阴极 *Proteobacteria* 的相对丰度显著大于阳极 ($P<0.05$)。 *Bacteroidetes* 与 *Chloroflexi* 作产电菌, 在 2 个装置阳极的相对丰度均高于阴极。在 2 个装置的阳极, 闭路运行的 CW-MFC 中 *Patescibacteria* 的相对丰度低于开路运行的 CW-MFC, 但 *Planctomycetes* 的相对丰度高于开路运行的 CW-MFC。属于 *Planctomycetes* 的厌氧氨氧化细菌类群可以在厌氧环境下, 以 NO_2^- 作为电子受体, 直接将 NH_4^+ 转化为 N_2 从而达到脱氮的目的^[31]。因此, 闭路运行的 CW-MFC 阳极 *Planctomycetes* 相对丰度较高可能是其 NH_4^+ -N 去除率高的原因之一。在 2 个装置阴极, 闭路运行模式的 CW-MFC 中 *Verrucomicrobia* 和 *Nitrospirae* 的相对丰度均高于开路运行模式。 *Verrucomicrobia* 中的甲烷营养细菌类群, 可以将 CH_4 转化为 CO_2 ^[32], 而 *Nitrospirae* 中的一些硝化细菌, 可以将 NO_2^- 氧化成 NO_3^- 。这进一步表明: 不同运行模式可以影响 CW-MFC 系统的微生物群落结构, 从而影响系统对氮和抗生素处理性能。

选取相对丰度最高的 30 个属, 将其中未分类的归为一类, 得到图 4(b)。可以看出, 开闭路运行模式对细菌属水平上的结构有明显的影响。在 2 个装置阳极, 主要的菌属为地杆菌属 (*Geobater*)、陶厄氏菌属 (*Thauera*)、甲基娇养杆菌属 (*Methylothera*)、脱氯单胞菌属 (*Dechloromonas*)、脱硫单胞菌属 (*Desulfuromonas*)、*Nitrospira*、*Ellin6067* 等菌属。 *Geobater* 是 CW-MFCs 装置阳极相对丰度最高的属, 这是一种典型的电化学生活性细菌, 属于产电菌中的优势菌属^[33]。闭路运行模式下 CW-MFC 的 *Geobater* 相对丰度的显著高于开路运行模式, 而闭路运行时电子可以通过外电路到达阴极产生电流, 二者结果一致。 *Thauera* 具有反硝化能力, 作为一种反硝化功能菌, 其在 2 个装置阳极的相对丰度为 4.00% 和 3.68%, 远大于其在 2 个装置阴极 0.81% 和 0.48% 的相对丰度, 由此可知, 阳极厌氧区域确实为进行反硝化作用的主要场所。 *Ellin6067* 是一种亚硝化菌属, *Nitrospira* 是常见的硝化细菌, 二者参与硝化作用, 其在 2 个装置的阴极与阳极均有发现, 但 *Nitrospira* 在闭路运行模式的 CW-MFC 阴极丰度最高。由此说明, 在装置阳极与阴极均有硝化作用发生, 但装置阴极发生的硝化作用更强, 而装置阳极发生硝化作用的原因可能是由于进水中含有一定的溶解氧。 *Desulfuromonas* 在参与硫的转化中同样会产生电子, 高丰度的 *Desulfuromonas* 可能会使 SMX 中的 $\text{S}=\text{O}$ 化学键断裂, 从而提高抗生素去除率^[34]。因此, 闭路运行模式下 CW-MFC 更高的产电性能和

抗生素去除效率可能与其更高的 *Desulfuromonas* 相对丰度有关。2 个装置的阴极的主要菌属为地杆菌属 (*Geobacter*)、固氮弧菌属 (*Azoarcus*)、*Sulfuritalea*、*Nitrospira* 等菌属。*Azoarcus* 是 CW-MFCs 系统阴极相对丰度最高的菌属，这是一种广泛存在于自然界中的兼性厌氧菌，是参与污水中的 NO_3^- 去除的重要成员^[35]。闭路运行模式下 CW-MFC 中 *Azoarcus* 相对丰度为 8.34%，显著高于开路运行模式的 5.26% ($P < 0.05$)，这可能是其有更好脱氮效率的原因之一。值得注意的是，对全部细菌属数据进行分析时发现，虽然已知的厌氧氨氧化菌属的相对丰度在闭路运行的 CW-MFC 阳极高于开路运行的 CW-MFC 阳极，与 *Planctomycetes* 结果相一致，但均未达到细菌属前 30 的水平，硝化反硝化仍是脱氮的主要途径。整体上来看，CW-MFC 系统阳极与阴极微生物在群落组成上有显著差异，不同的运行模式显著影响了细菌在属水平上的结构组成。

2.4 不同运行模式下微生物群落与污染物去除之间的关系

分别选取阳极与阴极已归类的相对丰度前 5 的细菌属和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 、TN、COD、SMX 及 CIPH 的去除性能进行 RDA 分析，以探讨微生物群落与污染物去除之间的关系。图 5(a) 为阳极和阴极优势菌属与氮去除率之间的冗余分析结果。结果表明， $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 与 TN 的去除率随着阴极的 5 个细菌属以及阳极 4 个细菌属丰度的升高而升高，随着阳极的 *Methylothera* 丰度的升高而降低。而 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 的去除率则相反，随着大多数细菌属丰度的升高而降低，仅随着阳极的 *Methylothera* 丰度的升高而升高。 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 TN 与优势菌属之间的关系进一步证明了微生物是 CW-MFC 脱氮的主要途径，微生物群落结构是影响脱氮的因素之一。有研究^[16]表明， $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 的去除与高的微生物丰度紧密相关。据此可以推测，本研究中 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 去除受 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 硝化作用转化影响更大。图 5(b) 为阳极和阴极优势菌属与出水耗氧有机物 (以 COD 计) 及抗生素质量浓度之间的冗余分析结果。结果表明，出水 COD 与 2 种目标抗生素 CIPH、SMX 浓度随着阳极 *Methylothera* 丰度的升高而升高，而随着其他阳极和阴极的细菌属丰度的升高而降低，即 COD、CIPH 和 SMX 的去除率随着绝大部分细菌属的升高而升高，这与 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 与 TN 的去除结果一致。同时，在图 5(a) 和图 5(b) 中，闭路运行的 CW-MFC 中绝大部分细菌属的相对丰度更高。RDA 分析结果表明，开闭路运行模式显著影响了

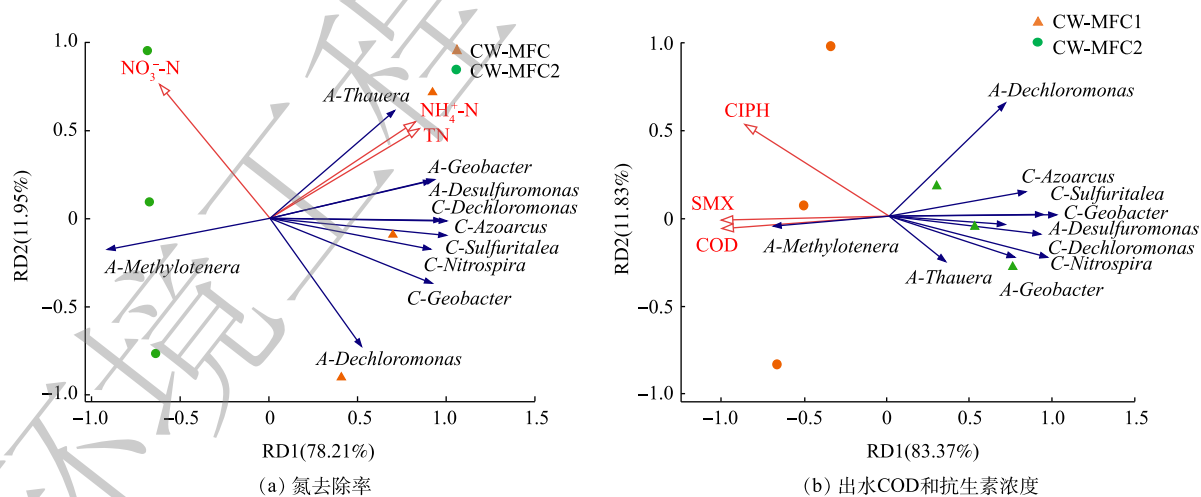


图 5 微生物属与氮去除率以及出水 COD 和抗生素质量浓度间关系的冗余分析 (RDA)

Fig. 5 Redundancy analysis (RDA) of the relationships among the bacterial genus and N removal rate and mass concentration of COD and antibiotic in effluent

CW-MFC 的细菌群落组成，在氮素与抗生素的去除方面起着关键性作用。

3 结论

1) CW-MFC 系统对氮及有机物等污染物有良好的去除性能, 闭路运行模式对 NH_4^+ 、TN 及 COD 有更好的处理效果。

2) 闭路运行与开路运行的 CW-MFC 系统均能够有效去除污水中的抗生素, 去除率大于 99%。闭路运行的 CW-MFC 去除效果更好。

3) 闭路运行模式会提高微生物丰富度与多样性, 同时会对微生物群落结构产生影响, 从而影响废水中污染物的去除能力。

参 考 文 献

- [1] ZHANG Q Q, YING G G, PAN C G, et al. Comprehensive evaluation of antibiotics emission and fate in the river basins of china: Source analysis, multimedia modeling, and linkage to bacterial resistance[J]. *Environmental Science & Technology*, 2015, 49(11): 6772-6782.
- [2] 白亭亭, 杨群辉, 李铭刚, 等. 植保抗生素阿扎霉素对白菜根肿病的防治效果[J]. *植物保护*, 2018, 44(1): 210-214.
- [3] HU X A, ZHOU Q X, LUO Y. Occurrence and source analysis of typical veterinary antibiotics in manure, soil, vegetables and groundwater from organic vegetable bases, northern China[J]. *Environmental Pollution*, 2010, 158(9): 2992-2998.
- [4] BARAN W, ADAMEK E, ZIEMIANSKA J, et al. Effects of the presence of sulfonamides in the environment and their influence on human health[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2011, 196: 1-15.
- [5] BEN Y J, FU C X, HU M, et al. Human health risk assessment of antibiotic resistance associated with antibiotic residues in the environment: A review[J]. *Environmental Research*, 2019, 169: 483-493.
- [6] HU J, ZHOU J, ZHOU S Q, et al. Occurrence and fate of antibiotics in a wastewater treatment plant and their biological effects on receiving waters in Guizhou[J]. *Process Safety and Environmental Protection*, 2018, 113: 483-490.
- [7] LIU X H, GUO X C, LIU Y, et al. A review on removing antibiotics and antibiotic resistance genes from wastewater by constructed wetlands: Performance and microbial response[J]. *Environmental Pollution*, 2019, 254: 112996.
- [8] 黄锦楼, 陈琴, 许连煌. 人工湿地在应用中存在的问题及解决措施[J]. *环境科学*, 2013, 34(1): 401-408.
- [9] 王琳, 李雪, 王丽. 微生物燃料电池-人工湿地耦合系统研究进展[J]. *环境工程*, 2016, 34(10): 11-16.
- [10] FANG Z, SONG H L, CANG N, et al. Electricity production from Azo dye wastewater using a microbial fuel cell coupled constructed wetland operating under different operating conditions[J]. *Biosensors & Bioelectronics*, 2015, 68: 135-141.
- [11] XIE T Y, JING Z Q, HU J, et al. Degradation of nitrobenzene-containing wastewater by a microbial-fuel-cell-coupled constructed wetland[J]. *Ecological Engineering*, 2018, 112: 65-71.
- [12] 陈桐清. 产电型人工湿地对典型PPCPs的去除作用及机理解析[D]. 南京: 东南大学, 2018.
- [13] 杨可昀. 人工湿地耦合微生物燃料电池产电及去除抗生素的效能研究[D]. 南京: 东南大学, 2016.
- [14] 常飞, 程文博, 张天旭. 生物炭吸附去除水中有机污染物的研究进展[J]. *能源研究与信息*, 2018, 34(4): 187-194.
- [15] 陈若霓, 肖坤全. 从废水中吸附去除抗生素的进展研究[J]. *应用化工*, 2021, 50(3): 834-837.
- [16] YUAN Y R, YANG B S, WANG H, et al. The simultaneous antibiotics and nitrogen removal in vertical flow constructed wetlands: Effects of substrates and responses of microbial functions[J]. *Bioresource Technology*, 2020, 310: 123419.
- [17] SONG H L, LI H, ZHANG S, et al. Fate of sulfadiazine and its corresponding resistance genes in up-flow microbial fuel cell coupled constructed wetlands: Effects of circuit operation mode and hydraulic retention time[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2018, 350: 920-929.
- [18] LU L, XING D F, REN Z J. Microbial community structure accompanied with electricity production in a constructed wetland

- plant microbial fuel cell[J]. *Bioresource Technology*, 2015, 195: 115-121.
- [19] TEOH T P, ONG S A, HO L N, et al. Up-flow constructed wetland-microbial fuel cell: Influence of floating plant, aeration and circuit connection on wastewater treatment performance and bioelectricity generation[J]. *Journal of Water Process Engineering*, 2020, 36: 101371.
- [20] DENG Y Q, ZHANG Y, GAO Y X, et al. Microbial Community Compositional Analysis for Series Reactors Treating High Level Antibiotic Wastewater[J]. *Environmental Science & Technology*, 2012, 46(2): 795-801.
- [21] GUO X P, PANG W H, DOUC L, et al. Sulfamethoxazole and COD increase abundance of sulfonamide resistance genes and change bacterial community structures within sequencing batch reactors[J]. *Chemosphere*, 2017, 175: 21-27.
- [22] KATIPOGLU-YAZAN T, UBAY-COKGOR E, ORHON D. Chronic impact of sulfamethoxazole: How does process kinetics relate to metabolic activity and composition of enriched nitrifying microbial culture[J]. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 2018, 93(6): 1722-1732.
- [23] CONKLE J L, WHITE J R, METCALFE C D. Reduction of pharmaceutically active compounds by a lagoon wetland wastewater treatment system in Southeast Louisiana[J]. *Chemosphere*, 2008, 73(11): 1741-1748.
- [24] TURIRL E, BORDIN G, RODRÍGUEZ A R. Study of the evolution and degradation products of ciprofloxacin and oxolinic acid in river water samples by HPLC-UV/MS/MS[J]. *Journal of Environmental Monitoring*, 2005, 7(3): 189-195.
- [25] BIAŁK-BIELIŃSKA A, Stolte S, Matzke M, et al. Hydrolysis of sulphonamides in aqueous solutions[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2012, 221-222: 264-274.
- [26] SONG H L, LI H, ZHANG S, et al. Fate of sulfadiazine and its corresponding resistance genes in up-flow microbial fuel cell coupled constructed wetlands: Effects of circuit operation mode and hydraulic retention time[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2018, 350: 920-929.
- [27] YANG W L, HAN H X, ZHOU M H et al. Simultaneous electricity generation and tetracycline removal in continuous flow electrosorption driven by microbial fuel cells[J]. *RSC Advances*, 2015, 5: 49513.
- [28] GOLET E M, XIFRA I, SIEGRIST H, et al. Environmental exposure assessment of fluoroquinolone antibacterial agents from sewage to soil[J]. *Environmental Science & Technology*, 2003, 37(15): 3243-3249.
- [29] LIU L, LIU C X, ZHENG J Y, et al. Elimination of veterinary antibiotics and antibiotic resistance genes from swine wastewater in the vertical flow constructed wetlands[J]. *Chemosphere*, 2013, 91(8): 1088-1093.
- [30] SHU D T, HE Y L, YUE H, et al. Microbial structures and community functions of anaerobic sludge in six full-scale wastewater treatment plants as revealed by 454 high-throughput pyrosequencing[J]. *Bioresource Technology*, 2015, 186: 163-172.
- [31] 刘兰, 明语真, 吕爱萍, 等. 厌氧氨氧化细菌的研究进展[J]. *微生物学报*, 2021, 61(4): 969-986.
- [32] 郑勇, 郑袁明, 张丽梅, 等. 极端环境下嗜热酸甲烷营养细菌研究进展[J]. *生态学报*, 2009, 29(7): 3864-3871.
- [33] LI H, XU H, YANG Y L, et al. Effects of graphite and Mn ore media on electro-active bacteria enrichment and fate of antibiotic and corresponding resistance gene in up flow microbial fuel cell constructed wetland[J]. *Water Research*, 2019: .114988.
- [34] 温慧洋. 微生物燃料电池耦合人工湿地对典型抗生素的去除特性及强化措施研究[D]. 长春: 中国科学院大学(中国科学院东北地理与农业生态研究所), 2020.
- [35] 马晓丹, 高灵芳, 谭文博, 等. 一株异养脱硫反硝化菌株的筛选及其生物脱硫脱氮特性研究[J]. *微生物学通报*, 2015(5):

853-857.

(责任编辑: 曲娜)

Treatment effect of wastewater containing antibiotic and microbial community response in microbial fuel cell integrated with constructed wetland under different circuit operation mode

LI Feng¹, YANG Baoshan^{1,2}, WANG Hui^{1,2,*}, YUAN Yingrui¹, SUN Wen¹, CAO Xinlei¹

1. School of Water Conservancy and Environment, University of Jinan, Jinan 250022, China

2. Key Laboratory of Water Resources and Environmental Engineering in Universities of Shandong (University of Jinan), Jinan 250022, China

*Corresponding author, E-mail: hwang_118@163.com

Abstract To explore the treating effect of wastewater containing antibiotic by microbial fuel cell integrated with constructed wetland, microbial fuel cell integrated with constructed wetlands were designed to explore the removal effects of nitrogen, COD and antibiotics under different circuit operation modes: the closed circuit operation mode (CW-MFC1) and the open circuit operation mode (CW-MFC2). Meanwhile, the microbial communities of anode and cathode and their correlation with pollutants removal were also explored. The results showed that the removal efficiencies of $\text{NH}_4^+\text{-N}$, TN, COD and ciprofloxacin hydrochloride (CIPH) and sulfamethoxazole (SMX) in the closed circuit operation mode were significantly higher than those in the open circuit operation mode ($P < 0.05$), but the removal efficiency of $\text{NO}_3^-\text{-N}$ in the closed circuit operation mode was lower than that in the open circuit operation mode. The results of 16SrDNA sequencing showed that the anode in CW-MFC had higher microbial richness and diversity in the closed circuit mode. At the same time, different circuit operation mode of CW-MFC had slight effect on the microbial community structure on phylum level at the anode and cathode, but had a significant effect on the microbial community structure on the genus level. Redundancy analysis showed that the removal rate of pollutants by CW-MFC increased with the increase of the relative abundance of most bacteria genera at anodes and cathodes, but decreased only with the increase of the relative abundance of *Methylothera* at the anodes. The results indicated that, CW-MFC in the closed circuit operation mode had better potential in the treatment of wastewater with high concentration of antibiotics.

Keywords microbial fuel cell integrated with constructed wetland; N removal; antibiotics; microbial community