



文章栏目：环境生物技术

DOI 10.12030/j.cjee.202107057

中图分类号 X703.1

文献标识码 A

吕恺, 姚雪薇, 彭党聪. 以城市污水处理厂好氧池生物膜作为接种污泥快速启动两段式亚硝化-厌氧氨氧化反应器的可行性[J]. 环境工程学报, 2021, 15(10): 3368-3377.

LYU Kai, YAO Xuewei, PENG Dangcong. Rapid start-up of a two-stage partial nitrification-ANAMMOX MBBR with inoculated biofilm from aeration tank[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2021, 15(10): 3368-3377.

以城市污水处理厂好氧池生物膜作为接种污泥快速启动两段式亚硝化-厌氧氨氧化反应器的可行性

吕恺¹, 姚雪薇¹, 彭党聪^{1, 2, ✉}

1. 西安建筑科技大学环境与市政工程学院, 西安 710055

2. 西北水资源与环境生态教育部重点实验室, 西安 710055

第一作者: 吕恺(1993—), 男, 博士研究生。研究方向: 污水处理技术。E-mail: lvkai@xauat.edu.cn

✉通信作者: 彭党聪(1957—), 男, 硕士, 教授。研究方向: 废水生物处理技术。E-mail: dcpeng@xauat.edu.cn

摘要 为探讨以城市污水处理厂好氧池生物膜作为接种污泥启动厌氧氨氧化工艺的可行性, 启动了两段式 ANAMMOX 亚硝化-厌氧氨氧化工艺并成功运行。结果表明, 经过 90 d 的启动, 在进水 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 质量浓度为 $750 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的条件下, 亚硝化反应器负荷(以 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 计)可达到 $9\,000 \text{ mg}\cdot(\text{m}^2\cdot\text{d})^{-1}$, 平均出水 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 质量浓度比值为 1.28, 满足厌氧氨氧化的反应要求。经过 180 d 的启动, 在进水 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 质量浓度分别为 $360 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $380 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的条件下, 厌氧氨氧化反应器负荷(以 TN 计)可达到 $13\,875 \text{ mg}\cdot(\text{m}^2\cdot\text{d})^{-1}$, TN 去除率可达 $(84.14\pm 0.66)\%$ 。活性测定结果显示, AOB 和 ANAMMOX 活性(以 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 计)分别可达 $6\,423.84 \text{ mg}\cdot(\text{m}^2\cdot\text{d})^{-1}$ 和 $6\,448.32 \text{ mg}\cdot(\text{m}^2\cdot\text{d})^{-1}$ 且均可维持恒定。高通量测序结果表明, 亚硝化反应器中的 *Nitrosomonas* 占比由 0.02% 增至 20.09%, 为 AOB 的主导菌属; 厌氧氨氧化反应器中, *Ca. Brocadia* 和 *Ca. Jettenia* 为主要的 ANAMMOX 菌, 占比分别达到 11.00% 和 2.07%。采用好氧池生物膜作为接种污泥可快速启动两段式亚硝化厌氧氨氧化工艺。

关键词 接种污泥; 厌氧氨氧化; 部分亚硝化; 移动床生物膜反应器 (MBBR)

厌氧氨氧化 (anaerobic ammonium oxidation, ANAMMOX) 是在缺氧条件下, ANAMMOX 菌利用 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ (电子受体) 将 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ (电子供体) 氧化为 N_2 的反应过程^[1-3]。相较于传统硝化-反硝化脱氮工艺, ANAMMOX 工艺具有曝气量少、不消耗有机物及污泥产量低等特点, 并已被成功应用于城市污水处理厂的污泥消化液及与此类似的含有高浓度氨氮的工业废水处理中^[4]。然而, ANAMMOX 菌生长缓慢且世代周期长^[5], 这成为限制厌氧氨氧化技术广泛应用的主要原因。因此, 寻找合适的接种污泥用于厌氧氨氧化工艺的启动是十分必要的。

ANAMMOX 菌广泛存在于城市污水处理厂中, 但相对丰度较低^[6-7], 对总氮 (total nitrogen, TN) 的去除贡献一般可忽略不计。然而, 在生长环境适合条件下, ANAMMOX 菌或能完成富集并发挥脱氮作用。2013 年, 在新加坡樟宜污水处理厂多级 A/O 工艺中 (活性污泥) 发现了 ANAMMOX

收稿日期: 2021-07-12; 录用日期: 2021-09-22

基金项目: 陕西省 2019 年重点研发计划 (2019ZDLSF06-05)

过程。分子生物技术结果显示，该厂活性污泥中 ANAMMOX 菌的含量达到 $10^6 \sim 10^7 \text{ mL}^{-1}$ ，对 TN 的去除贡献可达 62%^[8]。除活性污泥外，2019 年 LI 等^[9]发现，缺氧池填料生物膜上存在大量的 ANAMMOX 菌。经过分子生物学、同位素标记及物料衡算等技术手段分析，发现生物膜上的 ANAMMOX 菌占比为 0.11%，若以该生物膜启动部分反硝化-厌氧氨氧化工艺 (partial denitrification and ANAMMOX, PD/A)，将极大缩短启动时间。而若以该生物膜为接种污泥启动亚硝化-厌氧氨氧化工艺 (partial nitrification and ANAMMOX, PN/A)，由于其所含硝化菌数量较少，PN/A 工艺的启动或存在一定难度。2020 年，本课题组发现，某城市污水处理厂好氧池生物膜上同时含有氨氧化菌 (ammonium oxidation bacteria, AOB) 和 ANAMMOX 菌，相对丰度分别为 0.01% 和 0.71%，以该生物膜作为接种污泥或可成功快速启动 PN/A 工艺。

综上所述，本文以好氧池生物膜为接种污泥启动两段式 PN/A 移动床生物膜反应器 (moving bed biofilm reactor, MBBR)，通过测定反应器进出水及功能微生物活性，并采用高通量等手段对生物膜上的微生物种群进行了分析，考察了好氧池生物膜作为接种污泥启动两段式亚硝化厌氧氨氧化反应器的特性，探索了适用于厌氧氨氧化技术启动的接种污泥，为厌氧氨氧化工艺的大规模应用提供参考。

1 材料与方法

1.1 MBBR 运行参数及接种污泥

亚硝化和厌氧氨氧化反应器均由有机玻璃制成，其内设置推进器且在侧壁垂直方向设置进出水及取样口 (图 1)。反应器采用水浴加热，温度控制为 $30 \sim 35 \text{ }^\circ\text{C}$ ，pH 控制在 $7.5 \sim 8.1$ 。反应器均以序批式模式运行，进出水等均由自控系统控制。亚硝化反应器有效容积 4.5 L，填充率为 33%，水力停留时间 (hydraulic retention time, HRT) 为 $12 \sim 15 \text{ h}$ ，运行周期为 240 min，其中进水 10 min、反应 220 min 及出水 10 min。该反应器进水采用人工配制，其组分为 $0 \sim 750 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NH}_4^+ \text{-N} (\text{NH}_4\text{Cl})$ 、 $1 \sim 4 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \text{ KHCO}_3$ 、 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、 $180 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 、 $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ KH}_2\text{PO}_4$ ，微量元素为 $1 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$ ^[10]。厌氧氨氧化反应器有效容积为 4.5 L，填充率为 18%，HRT 为 $12 \sim 18 \text{ h}$ 。反应器运行次序和亚硝化反应器相同，进水采用人工配制 (非亚硝化反应器出水)，组分为 $30 \sim 360 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NH}_4^+ \text{-N} (\text{NH}_4\text{Cl})$ 、 $40 \sim 380 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NO}_2^- \text{-N} (\text{NaNO}_2)$ 、 $0.5 \sim 1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \text{ KHCO}_3$ ，其余同亚硝化反应器。

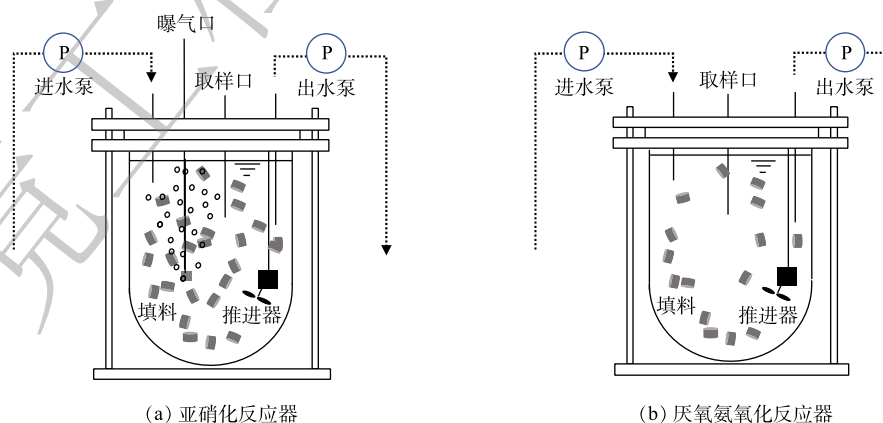


图 1 亚硝化及厌氧氨氧化反应器示意图

Fig. 1 Schematic of the SMBBR

接种生物膜取自某城市污水处理厂好氧区 (图 2)。填料型号为 K3 (比表面积为 $500 \text{ m}^2 \cdot \text{m}^{-3}$ ；填充率为 25%)，填料区占总好氧区体积的 22%，生物膜污泥质量浓度为 $12.05 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2}$ 。

1.2 水质指标测定

$\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的测定采用纳氏试剂分光光度法； $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 的测定采用 *N*-(1-萘基)-乙二胺分光光度法； $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 的测定采用紫外分光光度法^[11]；pH 由在线式 pH 计 (Inpro 4010, 梅特勒) 测定；溶解氧 (DO) 由在线式溶氧仪 (Inpro 6050, 梅特勒) 测定。

1.3 活性的测定

活性测定参考 REGMI 等^[12] 描述的方法进行。在测定硝化活性时, 取出若干填料, 用纯水淘洗 2~3 次后, 置于 600 mL 的反应瓶中, 分别加入 $30 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $40 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 及微量元素等, 然后曝入空气, 控制 DO 质量浓度在 $5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 以上。在测定过程中, 控制温度为 $30\sim 35\text{ }^\circ\text{C}$, 定期从反应瓶中取出水样, 根据所取水样中的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 质量浓度变化确定 AOB 和亚硝酸盐氧化活性 (nitrite oxidation bacteria, NOB) 的基质消耗速率 (L), 根据式 (1) 计算得出 AOB 和 NOB 的表面活性。

$$R = \frac{L}{\varphi} \quad (1)$$

式中: R 为表面活性, $\text{mg}\cdot(\text{m}^2\cdot\text{d})^{-1}$; L 为基质消耗速率, $\text{mg}\cdot(\text{L}\cdot\text{d})^{-1}$; φ 为反应瓶填料面积体积比, $\text{m}^2\cdot\text{L}^{-1}$ 。

ANAMMOX 菌活性测定方法如下: 取出若干填料, 用无氧水淘洗 2~3 次后, 置于 600 mL 的反应瓶中, 同时加入 $30 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $40 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 及微量元素, 然后通入氮气 5 min, 使 DO 降低至 $0.05 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 以下, 最后加入 $0.5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ KHCO_3 。在测定过程中, 反应瓶置于恒温摇床上以保证基质混合均匀, 控制温度为 $30\sim 35\text{ }^\circ\text{C}$, 定期从反应瓶中取出水样, 根据所取水样中的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 质量浓度变化确定 ANAMMOX 的基质消耗速率, 再通过相同的算法得出 ANAMMOX 表面活性。

1.4 高通量测序

从生物填料上取下一定数量的生物膜, 经去离子水淘洗离心后按照试剂盒 E.Z.N.A.® soil DNA Kit (Omega Bio-tek, Norcross GA, U.S.) 规定的方法对 DNA 进行提取。以提取的 DNA 为 PCR 模板, 采用 V3-V4 引物 (序列为: 338F: 5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3'和 806R: 5'-GGACTACHVGGGTWATAAT-3'), 在 ABI Gene Amp® 9700 PCR thermo-cycler (ABI, CA, USA) 上进行 PCR 反应。将同一样本的 PCR 产物混合后使用 2% 琼脂糖凝胶回收 PCR 产物, 利用 AxyPrep DNA Gel Extraction Kit (Axygen Biosciences, Union City, CA, USA) 进行回收产物纯化, 2% 琼脂糖凝胶电泳检测, 并用 Quantus™ Fluorometer (Promega, USA) 对回收产物进行检测定量。使用 NEXTflex™ Rapid DNA-Seq Kit (Bioo Scientific, 美国) 进行建库, 利用 Illumina 公司的 Miseq PE300/NovaSeq PE250 平台进行测序 (上海美吉生物医药科技有限公司, www.majorbio.com)。

1.5 荧光原位杂交

生物膜样品的荧光原位杂交参照 AMANN 等^[13] 描述的方法进行。杂交后的污泥样品通过激光共聚焦显微显微镜 (TCS SP8, 莱卡) 进行观察, 并在 100 倍物镜下采集图像。杂交中所用的 16S rRNA 探针见表 1。

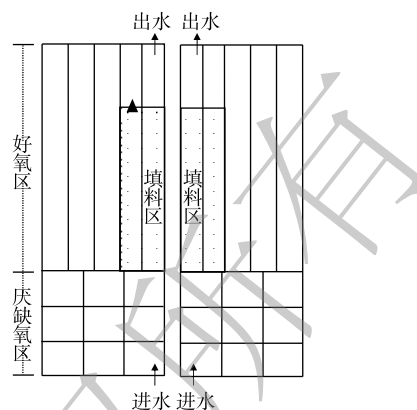


图 2 填料区示意图 (三角为填料取样位置)

Fig. 2 Schematic diagram of aerobic zone added with aerobic-carrier biofilm

表 1 荧光原位杂交所用探针
Table 1 Probes used in FISH

探针名称	RNA序列	标记细菌种属
Eub338	GCTGCCTCCCGTAGAGT	所有微生物
Eub338II	GCAGCCACCCGTAGGTGT	所有微生物
Eub338III	GCTGCCACCCGTAGGTGT	所有微生物
Amx368	CCT TTC GGG CAT TGC GAA	所有厌氧氨氧化菌
Nso1225	CGCCATTGTATTACGTGTGA	β -Proteobacterial ammonia-oxidizing bacteria
Nsm156	TATTAGCACATCTTTCGAT	<i>Nitrosomonas spp</i>
Nsv443	CCGTGACCGTTTCGTCCG	<i>Nitrospira spp</i>
Ntspa662	GGAATTCGCGCTCCTCT	Genus <i>Nitrospira</i>
Nit3	CCTGTGCTCCATGCTCCG	Genus <i>Nitrobacter</i>

2 结果与分析

2.1 MBBR 运行效果

图 3(a) 为亚硝化反应器的运行效果。随着进水 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 质量浓度由 $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 逐步提升至 $750 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ，亚硝化反应器负荷由 $750 \text{ mg}\cdot(\text{m}^2\cdot\text{d})^{-1}$ 增至 $9\,000 \text{ mg}\cdot(\text{m}^2\cdot\text{d})^{-1}$ ，待反应器稳定运行后，平均出水 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 质量浓度为 $(313.85\pm 6.58) \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $(400.2\pm 3.81) \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ，平均出水 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 质量浓度比值为 1.28 ± 0.03 ，满足厌氧氨氧化反应的需求。在亚硝化反应器启动过程中，采用游离氨 (free ammonium, FA) 或游离亚硝酸 (free nitrous acid, FNA) 抑制手段达到抑制淘汰 NOB，使得 AOB 成为优势菌种。由图 3(b) 可知，在 1~10 d，NOB 主要受 FA 抑制，此时段质量浓度为 $(4.57\pm 3.18) \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ，大于 FA 对 NOB 的抑制阈值 $(1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1})^{[14]}$ ，此时平均 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 积累率为 $(36.07\pm 26.14)\%$ 。随着 AOB 的增长及 NOB 被有效抑制 (11~57 d)，反应器内的 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 质量浓度明显升高，使得平均 FNA 质量浓度达到 $0.0699 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ，大于 FNA 对 NOB 的抑制阈值^[15] $(0.023 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1})$ ，此时 NOB 受到 FA 和 FNA 双重抑制，平均 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 积累率为 85.02%。在运行至第 59 天时，将反应器 pH 由 7.39 ± 0.23 升至 8.13 ± 0.07 后，FNA 质量浓度降至 $(0.019\pm 0.004) \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ，此时 NOB 主要受到 FA 抑制，平均 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 积累率 $(88.54\pm 5.52)\%$ 。综上所述，通过 FA 抑制或 FA 和 FNA 双重抑制均可有效抑制 NOB，实现亚硝化过程的快速启动。

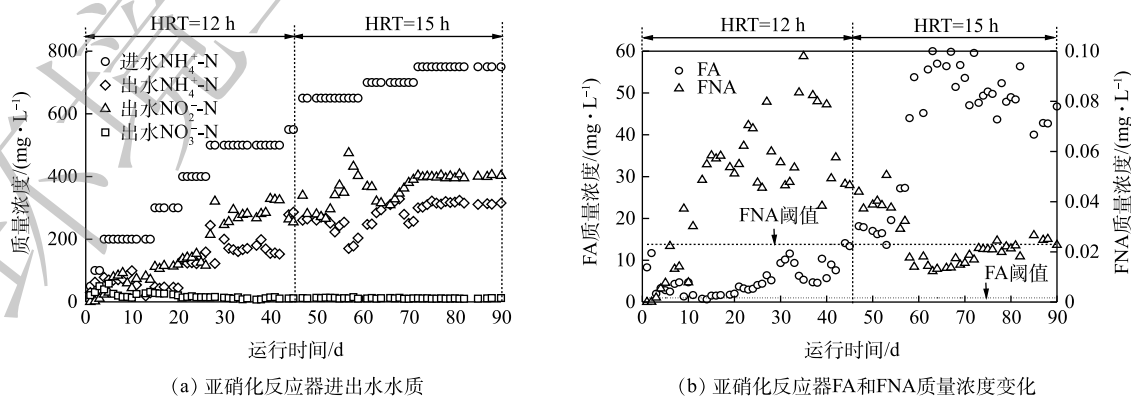


图 3 亚硝化反应器运行效果

Fig. 3 Operating results of PN reactor

图4为厌氧氨氧化反应器运行效果。随着进水 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 质量浓度分别从 $30\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $40\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 增至 $360\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $380\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,反应器负荷从 $1312\text{ mg}\cdot(\text{m}^2\cdot\text{d})^{-1}$ 增至 $13875\text{ mg}\cdot(\text{m}^2\cdot\text{d})^{-1}$ 。待反应器运行稳定后,出水 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 质量浓度分别维持在 $(16.07\pm 4.79)\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $(19.18\pm 3.05)\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,平均TN去除率稳定在 $(84.14\pm 0.66)\%$ 。由于ANAMMOX菌以一定的比例消耗 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 并生成 $\text{NO}_3^-\text{-N}$,因此,反应器的基质消耗比($\Delta\text{NO}_2^-\text{-N}/\Delta\text{NH}_4^+\text{-N}$)和生成比($\Delta\text{NO}_3^-\text{-N}/\Delta\text{NH}_4^+\text{-N}$)可作为厌氧氨氧化反应器运行效果判断的一项性能指标。本实验中,第1天 $\Delta\text{NO}_2^-\text{-N}/\Delta\text{NH}_4^+\text{-N}$ 为2.76, $\Delta\text{NO}_3^-\text{-N}/\Delta\text{NH}_4^+\text{-N}$ 为0.37,其均大于STROUS等^[16]所给出的理论值($\Delta\text{NO}_2^-\text{-N}/\Delta\text{NH}_4^+\text{-N}$ 为1.32, $\Delta\text{NO}_3^-\text{-N}/\Delta\text{NH}_4^+\text{-N}$ 为0.26),说明反应器启动初期存在反硝化和硝化过程。这主要因为生物膜上存在一定数量的异养菌和硝化菌。由于进水中不含有机物,异养菌难以适应新环境而发生细胞自溶,异养菌可利用 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 作为电子受体进行反硝化过程,使得 $\Delta\text{NO}_2^-\text{-N}/\Delta\text{NH}_4^+\text{-N}$ 比值偏大。除反硝化过程外,因反应器未严格密封以及进水中存在部分溶解氧,故接种生物膜上的NOB发生了硝化反应,使得 $\Delta\text{NO}_3^-\text{-N}/\Delta\text{NH}_4^+\text{-N}$ 比值偏大。随着反应器的持续运行,异养菌被逐步淘汰且厌氧氨氧化成为主导反应,基质消耗比和生成比关系趋于稳定, $\Delta\text{NO}_2^-\text{-N}/\Delta\text{NH}_4^+\text{-N}$ 为 1.10 ± 0.07 , $\Delta\text{NO}_3^-\text{-N}/\Delta\text{NH}_4^+\text{-N}$ 为 0.30 ± 0.13 ,该数值和理论值接近,说明厌氧氨氧化反应器成功启动。

2.2 典型周期

图5(a)为亚硝化反应器典型周期氮组分变化情况。当进水结束时, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 质量浓度分别达到最高值和最低值,对应FA和FNA质量浓度也达到最大值和最小值(FA质量浓度为 $47.73\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,FNA质量浓度为 $0.016\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)。随着反应的进行, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 质量浓度从 $431.12\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 降至 $320.45\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 质量浓度从 $291.82\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 升至 $395.45\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,而 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 质量浓度增幅仅为 $3.66\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 积累率为93.54%,表明氧化的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 几乎全部转化为 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 且未被进一步氧化。

在厌氧氨氧化反应器运行前期(1~77 d),采用间歇进水方式运行,在进水 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 质量浓度分别为 $150\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $165\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,FA和FNA质量浓度最大可达 $1.50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $0.012\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。由于此FNA质量浓度已达到文献报道的ANAMMOX菌抑制阈值下限($0.011\sim 0.077\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)^[15-17],

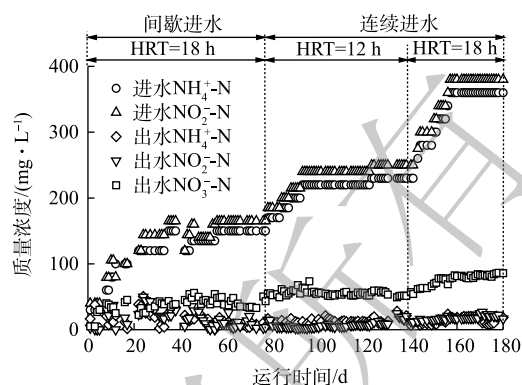
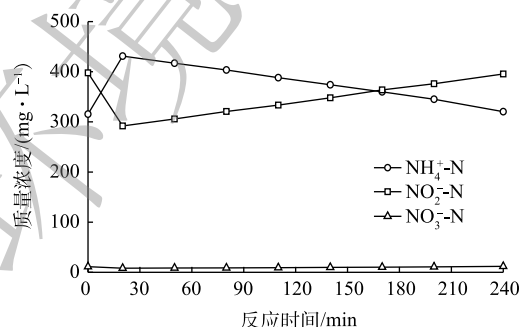
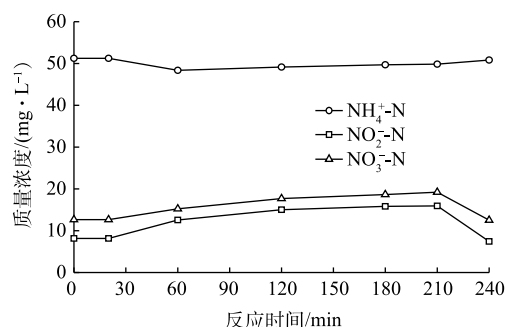


图4 厌氧氨氧化反应器运行效果

Fig. 4 Operating results of ANAMMOX reactor



(a) 亚硝化反应器典型周期



(b) 厌氧氨氧化反应器典型周期

图5 亚硝化及厌氧氨氧化反应器典型周期氮组分变化

Fig. 5 Variations of nitrogen in PN and ANAMMOX reactor

为避免后期进水浓度提高后 FA 和 FNA 对 ANAMMOX 菌产生抑制，在第 77 天后将反应器改为连续进水方式。图 5(b) 为厌氧氨氧化反应器典型周期氮组分变化 (进水 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 质量浓度分别为 $360 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $380 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)。整个周期内 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 质量浓度均维持在较低水平，最大 FA 和 FNA 质量浓度仅为 $1.25 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $0.016 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ，表明连续进水模式能有效避免反应器内基质浓度过高，可保证 ANAMMOX 菌在不受抑制的情况下以最大速率进行增殖。

2.3 生物膜及功能微生物活性变化

接种生物膜呈灰黑色且生物量较少 (图 6(a))，这主要是因为该填料处于好氧池末端， $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和有机物的负荷较低，导致微生物增殖缓慢。随着亚硝化和厌氧氨氧化反应器的运行，接种后的生物膜均发生明显的变化。在亚硝化反应器中，填料上的生物量明显增加且颜色仍呈现灰黑色 (图 6(b))。在厌氧氨氧化反应器中，除生物量明显增加外，生物膜颜色呈红棕色 (图 6(c))，说明 ANAMMOX 菌在生物膜上成功富集。



图 6 培养前后生物膜变化
Fig. 6 Images of biofilm after enrichment

有研究表明，AOB 和 ANAMMOX 菌的世代周期分别为 $0.29\sim 0.33 \text{ d}^{-1}$ ^[18] 和 $11\sim 20 \text{ d}^{-1}$ ^[1,5]，表明厌氧氨氧化反应器的启动需要更长的时间。基于这一考虑，本实验中首先启动厌氧氨氧化反应器，经过 90 d 的启动，ANAMMOX 活性从 $209.86 \text{ mg}\cdot(\text{m}^2\cdot\text{d})^{-1}$ 增至 $6\,448.32 \text{ mg}\cdot(\text{m}^2\cdot\text{d})^{-1}$ ，其后保持不变 (图 7(a))，说明 90 d 时填料上所能容纳的生物量已达到最大。此时，生物膜上 ANAMMOX 菌的增殖量等于脱落和衰减量之和，生物膜上的 ANAMMOX 菌已经达到最大值，说明反应器已经成功启动。但此时反应器的运行负荷尚未达到最大，随着进水基质浓度的不断提高，反应器的负荷也在

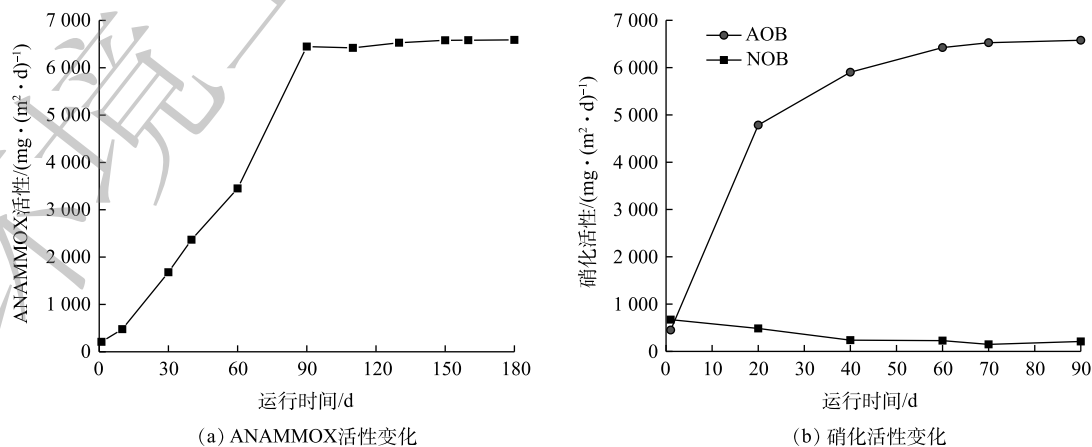


图 7 功能微生物活性变化
Fig. 7 Variations of ANAMMOX and nitrifying activities

逐渐提高,到180 d时,反应器的去除负荷已接近ANAMMOX的最大活性,反应器的潜力完全得到发挥,从这点说,经过180 d反应器成功启动。亚硝化反应器在厌氧氨氧化反应器启动90 d后开始启动,运行期间AOB的活性随时间的变化关系与ANAMMOX相同,在第60天时,AOB活性从 $450.72\text{mg}\cdot(\text{m}^2\cdot\text{d})^{-1}$ 增至 $5902.56\text{mg}\cdot(\text{m}^2\cdot\text{d})^{-1}$,其后维持恒定(图7(b)),说明第60天时,亚硝化菌在生物膜中已达到稳态。NOB由于始终受到FA或FNA的抑制,其活性始终维持在较低水平,可避免亚硝氮被进一步氧化为硝氮,为亚硝化反应器的稳定运行创造了条件。

2.4 微生物种群结构变化

生物膜在不同培养方式下的微生物种群结构可通过荧光原位杂交技术进行检测。由图8(a)和图8(b)可见,在亚硝化反应器中,AOB所占份额由低变高,且基本检测不出NOB,表明在亚硝化反应器通过FA或FNA抑制成功富集AOB的同时也达到了NOB的目的,实现了亚硝化反应器的稳定运行。在厌氧氨氧化反应器中(图8(c)和图8(d)),ANAMMOX菌所占份额明显增加且表现出较强的荧光信号,表明ANAMMOX菌成为厌氧氨氧化反应器中的优势菌种。

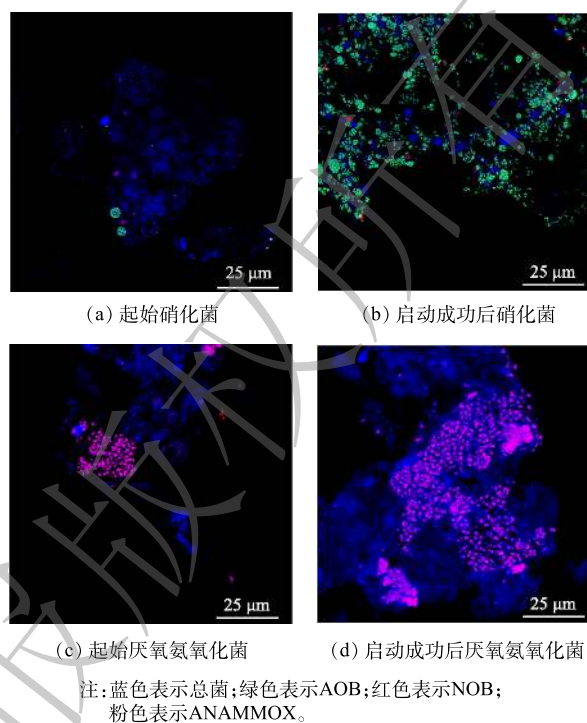


图8 功能微生物荧光原位杂交图

Fig. 8 FISH images of functional bacteria

高通量结果(图9)表明,同一接种生物膜在不同条件下培养前后,*Chloroflexi*, *Proteobacteria*, *Acidobacteria*仍维持较高的相对丰度。*Chloroflexi*菌门起始相对丰度为31.71%,经过2个反应器培养后,相对丰度分别降至18.02%和25.11%。*Proteobacteria*菌门包括异养菌和部分AOB,其在亚硝化和厌氧氨氧化反应器中的增幅分别为18.29%和10.40%。*Planctomycetes*菌门包含现有已知所有ANAMMOX菌^[1,19],其在亚硝化和厌氧氨氧化反应器中的占比为1.26%和4.26%。对*Bacteroidota*菌门而言,其起始相对丰度仅为5.65%,经反应器培养后,其占比分别变为19.71%和2.03%,这与*Planctomycetes*菌门呈现出相反的变化趋势。在属水平上,亚硝化反应器中探明的AOB主要为*Nitrosomonas*,相对丰度从0.02%增至20.09%,该增幅和*Proteobacteria*菌门的增幅接近,表明

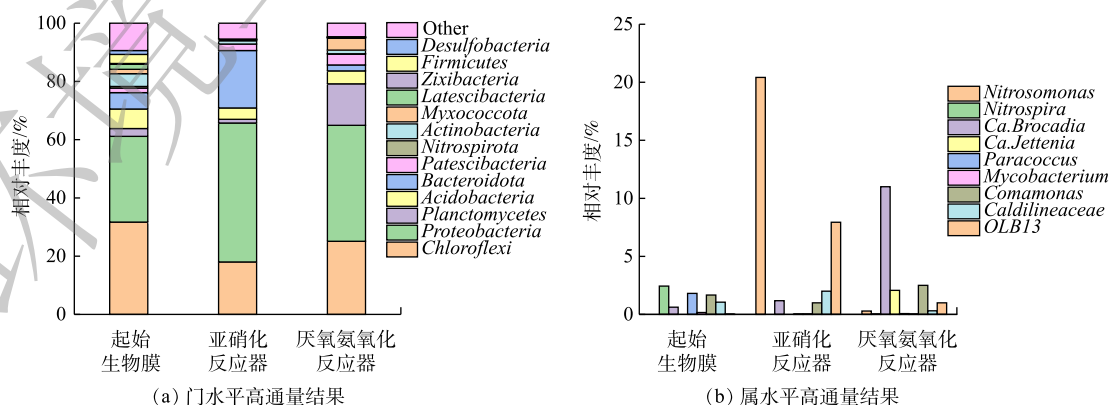


图9 生物膜组成结构变化

Fig. 9 Compositions of bacterial community in biofilm

Proteobacteria 菌门相对丰度的增加主要为 *Nitrosomonas* 增加所致。对 NOB 而言，起始生物膜上探明的主要为 *Nitrospira*，其相对丰度为 0.41%，而在亚硝化反应器中未检测出 *Nitrospira* 的存在，说明通过 FA 或 FNA 抑制成功淘汰了 *Nitrospira*，从而实现了亚硝化反应的稳定进行。在厌氧氨氧化反应器中，探明的 ANAMMOX 菌主要为 *Ca. Brocadia*，此结果和目前主流系统内已探明的典型种属一致^[20-21]，占比由 0.62% 增至 11.00%。除 *Ca. Brocadia* 菌属外，还探明有 *Ca. Jettenia* 菌属，其相对丰度由未检出增至 2.07%。ANAMMOX 菌属总增幅为 12.45%，其和 *Planctomycetes* 菌门增幅接近，表明 *Planctomycetes* 菌门相对丰度的增加主要是由于 ANAMMOX 菌的增加。

硝化菌作为硝化-反硝化过程中的主导微生物而广泛存在于活性污泥，占比可达 1%~10%^[22-23]，以活性污泥作为接种污泥可快速完成亚硝化过程的启动^[24-25]。而 ANAMMOX 菌虽广泛存在于城市污水处理厂中^[6-7]，但其占比远小于硝化菌。若以活性污泥作为接种污泥启动厌氧氨氧化过程，则需要很长的时间才能启动厌氧氨氧化反应器，因此，为加速厌氧氨氧化的启动过程，选取合适的接种污泥就显得尤为重要。不同接种污泥启动厌氧氨氧化反应器特性如表 2 所示。以活性污泥、硝化污泥及厌氧污泥作为接种污泥启动厌氧氨氧化反应器，均可实现 ANAMMOX 反应器的启动。通过对比可发现，以厌氧污泥和硝化污泥为接种污泥所需启动时间较短，而以活性污泥和生物膜为接种污泥所需的启动时间则较长。本实验中，ANAMMOX 反应器的启动时长虽有 180 d，但处理负荷远大于其他研究，表明以好氧池生物膜为接种污泥启动的厌氧氨氧化反应器可达到较高的负荷，且具有数量多及采集运输便利等优势，从而为厌氧氨氧化工艺启动接种污泥的选择提供了便利。

表 2 不同接种污泥启动厌氧氨氧化反应器特性比较

Table 2 Comparison of start-up of ANAMMOX reactor with different inoculated sludges

序号	接种污泥	反应器类型	启动时长/d	HRT/h	NRL/(kg·(m ³ ·d) ⁻¹)	温度/°C	参考文献
1	好氧池生物膜	MBBR	180	18	0.99	30~35	本实验
2	缺氧池生物膜	MBBR	248	18	0.59	13~37	[26]
3	活性污泥	SBR	170	24	1.92	35	[27]
4	活性污泥	USFCWs	105	48	0.058	37	[28]
5	硝化污泥	SBR	61	24	0.14	32	[29]
6	硝化污泥	MBR	70	24	0.098	33	[30]
7	硝化污泥	ABR	111	24	0.089	33	[30]
8	厌氧颗粒污泥	SBR	70	24	0.14	32	[29]
9	厌氧消化污泥	SBR	85	24	0.14	32	[29]

注：USFCWs，人工湿地；SBR，序批式反应器；NRL，氮负荷。

3 结论

1) 以某城市污水处理厂好氧池生物膜为接种污泥可成功启动亚硝化反应器，在进水 NH₄⁺-N 质量浓度为 750 mg·L⁻¹ 的条件下，反应器负荷可达 9 000 mg·(m²·d)⁻¹ (以 NH₄⁺-N 计)，平均出水 NO₂⁻-N 和 NH₄⁺-N 浓度比值为 1.28。

2) 以某城市污水处理厂好氧池生物膜为接种污泥可成功启动厌氧氨氧化反应器，在进水 NH₄⁺-N 和 NO₂⁻-N 质量浓度分别为 360 mg·L⁻¹ 和 380 mg·L⁻¹ 的条件下，厌氧氨氧化反应器负荷 (以 TN 计) 可达 13 875 mg·(m²·d)⁻¹，TN 去除率为 (84.14±0.66)%。

3) 以好氧池生物膜为接种污泥的两段式亚硝化厌氧氨氧化工艺的快速启动为厌氧氨氧化技术接种污泥的选择提供参考。

参考文献

- [1] KUENEN J G. Anammox bacteria: From discovery to application[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2008, 6(4): 320-326.
- [2] SCHMIDT I, SLIEKERS O, SCHMID M, et al. New concepts of microbial treatment processes for the nitrogen removal in wastewater[J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 2003, 27(4): 481-492.
- [3] BAGCHI S, BISWAS R, NANDY T. Autotrophic ammonia removal processes: Ecology to technology[J]. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 2012, 42(13): 1353-1418.
- [4] TERADA A, ZHOU S, HOSOMI M. Presence and detection of anaerobic ammonium-oxidizing (anammox) bacteria and appraisal of anammox process for high-strength nitrogenous wastewater treatment: A review[J]. *Clean Technologies and Environmental Policy*, 2011, 13(6): 759-781.
- [5] LOPEZ H, PUIG S, GANIGUE R, et al. Start-up and enrichment of a granular anammox SBR to treat high nitrogen load wastewaters[J]. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 2008, 83(3): 233-241.
- [6] WANG S, PENG Y, MA B, et al. Anaerobic ammonium oxidation in traditional municipal wastewater treatment plants with low-strength ammonium loading: Widespread but overlooked[J]. *Water Research*, 2015, 84: 66-75.
- [7] NEJIDAT A, DIAZ-RECK D, MASSALHA N, et al. Abundance and diversity of anammox bacteria in a mainstream municipal wastewater treatment plant[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2018, 102(15): 6713-6723.
- [8] YESHI C, HONG K B, LOOSDRECHT M C M V, et al. Mainstream partial nitrification and anammox in a 200,000 m³/day activated sludge process in Singapore: Scale-down by using laboratory fed-batch reactor[J]. *Water Science and Technology*, 2016, 74(1): 48-56.
- [9] LI J, PENG Y, ZHANG L, et al. Quantify the contribution of anammox for enhanced nitrogen removal through metagenomic analysis and mass balance in an anoxic moving bed biofilm reactor[J]. *Water Research*, 2019, 160: 178-187.
- [10] GRAAF A A V D, BRUIJN P D, ROBERTSON L A, et al. Autotrophic growth of anaerobic ammonium-oxidizing micro-organisms in a fluidized bed reactor[J]. *Microbiology*, 1996, 142(8): 2187-2196.
- [11] 国家环境保护局. 水和废水监测分析方法[M]. 4版. 北京: 中国环境科学出版社, 2002.
- [12] REGMI P, HOLTGATE B, MILLER M W. Nitrogen polishing in a fully anoxic anammox MBBR treating mainstream nitrification-denitrification effluent[J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2016, 113(3): 635-642.
- [13] AMANN R, KRUMHOLZ L R, STAHL D A. Fluorescent-oligonucleotide probing of whole cells for determinative, phylogenetic, and environmental studies in microbiology[J]. *Journal of Bacteriology*, 1990, 172(2): 762-770.
- [14] ANTHONISEN A C, LOEHR R C, PRAKASAM T B S, et al. Inhibition of nitrification by ammonia and nitrous-acid[J]. *Water Pollution Control Federation*, 1976, 48(5): 835-852.
- [15] JIN R C, YANG G F, YU J J, et al. The inhibition of the anammox process: A review[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2012, 197: 67-79.
- [16] STROUS M, HEIJNEN J J, KUENEN J G, et al. The sequencing batch reactor as a powerful tool for the study of slowly growing anaerobic ammonium-oxidizing microorganisms[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 1998, 50(5): 589-596.
- [17] TANG C J, ZHENG P, HU B L, et al. Influence of substrates on nitrogen removal performance and microbiology of anaerobic ammonium oxidation by operating two UASB reactors fed with different substrate levels[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2010, 181(1/2/3): 19-26.
- [18] GE S, WANG S, YANG X, et al. Detection of nitrifiers and evaluation of partial nitrification for wastewater treatment: A review[J]. *Chemosphere*, 2015, 140: 85-98.
- [19] CAO S, DU R, PENG Y, et al. Novel two stage partial denitrification (PD)-Anammox process for tertiary nitrogen removal from low carbon/nitrogen (C/N) municipal sewage[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2019, 362: 107-115.
- [20] CLARACREINO, SUÁREZ-OJEDA M E, PÉREZ J, et al. Stable long-term operation of an upflow anammox sludge bed reactor at mainstream conditions[J]. *Water Research*, 2018, 128: 331-340.
- [21] LAURENI M, FALAS P, ROBIN O, et al. Mainstream partial nitrification and anammox: Long-term process stability and effluent quality at low temperatures[J]. *Water Research*, 2016, 101: 628-639.
- [22] YAO Q, PENG D C. Nitrite oxidizing bacteria (NOB) dominating in nitrifying community in full-scale biological nutrient removal wastewater treatment plants[J]. *AMB Express*, 2017, 7(1): 1-11.
- [23] 姚倩. 生物脱氮系统中硝化菌的种群结构、功能及反应动力学研究[D]. 西安: 西安建筑科技大学, 2018.
- [24] 王博, 姚倩, 彭党聪, 等. 双重抑制下亚硝化系统的启动及运行特性[J]. *环境工程学报*, 2017, 11(3): 1525-1532.
- [25] 李惠娟, 彭党聪, 陈国燕, 等. 两种不同抑制策略下部分亚硝化系统运行特性比较[J]. *环境科学*, 2017, 38(5): 267-275.
- [26] 吕恺, 彭党聪, 姚雪薇, 等. 常温MBBR处理低浓度含氮废水的快速启动及运行状况[J]. *环境工程学报*, 2020, 14(10): 146-153.
- [27] 李惠娟, 彭党聪, 陈国燕, 等. ANAMMOX的快速启动及EPS在ANAMMOX颗粒污泥中的空间分布[J]. *环境科学*, 2017, 38(7): 2931-2940.
- [28] LI H, CHI Z, YAN B. Successful start-up of the anammox process in constructed wetland microcosms: Influence of the electron acceptors on performance, microbial community, and functional genes[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2019, 26: 5202-5209.
- [29] 路青, 李秀芬, 华兆哲, 等. 接种污泥源对厌氧氨氧化启动效能的影响[J]. *生态与农村环境学报*, 2009, 25(4): 60-65.
- [30] 周刚, 徐乐中, 沈耀良, 等. 快速启动厌氧氨氧化工艺[J]. *环境科学*, 2017, 38(3): 1116-1121.

(责任编辑: 曲娜)

Rapid start-up of a two-stage partial nitrification-ANAMMOX MBBR with inoculated biofilm from aeration tank

LYU Kai¹, YAO Xuewei¹, PENG Dangcong^{1,2,*}

1. School of Municipal and Environmental Engineering, Xi'an University of Architecture and Technology, Xi'an 710055, China

2. Key Laboratory of Northwest Water Resource, Environment and Ecology, Ministry of Education, Xi'an 710055, China

*Corresponding author, E-mail: dcpeng@xauat.edu.cn

Abstract To investigate the feasibility of aerobic biofilm from a wastewater treatment plant (WWTP) as the inoculated biofilm to conduct the start-up of ANAMMOX process, two bed biofilm reactors (MBBR) were established to start-up two stage partial nitrification-ANAMMOX (PN/A) process. The results showed that, after 90 days of start-up, the nitrogen load of PN reactor could reach $9\,000\text{ mg}\cdot(\text{m}^2\cdot\text{d})^{-1}$ (as $\text{NH}_4^+\text{-N}$) at the influent ammonium concentration of $750\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. The average ratio of mass concentration of nitrite to ammonium in effluent was 1.28, which could meet the stoichiometric of ANAMMOX process. After 180 days of start-up, the TN load could reach $13\,875\text{ mg}\cdot(\text{m}^2\cdot\text{d})^{-1}$ (as TN) at the influent ammonium concentration of $360\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ and nitrite concentration of $380\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ in ANAMMOX reactor, and the average TN removal efficiency could reach $(84.14\pm 0.66)\%$. The activities of AOB and ANAMMOX (as $\text{NH}_4^+\text{-N}$) were $6\,423.84\text{ mg}\cdot(\text{m}^2\cdot\text{d})^{-1}$ and $6\,448.32\text{ mg}\cdot(\text{m}^2\cdot\text{d})^{-1}$, respectively, and were stably maintained. The high-throughput sequencing results showed that *Nitrosomonas* was the predominance for AOB bacteria with relative abundance increased from 0.02% to 20.09% in PN reactor. The *Ca. Brocadia* and *Ca. Jettenia* were the predominance for ANAMMOX bacteria in ANAMMOX reactor, and the relative abundance of *Ca. Brocadia* and *Ca. Jettenia* reached 11.00% and 2.07%, respectively. The successful start-up of two-stage PN/A reactor with aerobic biofilm provided a novel alternative for the selection of inoculated sludge.

Keywords seed sludge; ANAMMOX; partial nitrification; MBBR