



文章栏目：环境生物技术

DOI 10.12030/j.cjee.202110116

中图分类号 X703.1

文献标识码 A

王思琦, 李赞, 陈福明, 等. 低接种量条件下实现厌氧氨氧化快速启动的策略[J]. 环境工程学报, 2022, 16(3): 999-1007. [WANG Siqu, LI Yun, CHEN Fuming, et al. Strategy on fast start-up of anaerobic ammonia oxidation under low inoculation conditions[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2022, 16(3): 999-1007.]

低接种量条件下实现厌氧氨氧化快速启动的策略

王思琦^{1,2,3,*}, 李赞², 陈福明², 刘淑杰², 王伟³

1. 深圳清华大学研究院, 深圳 518057; 2. 清研环境科技股份有限公司, 深圳 518057; 3. 清华大学环境学院, 北京 100084

摘要 厌氧氨氧化 (Anaerobic ammonia oxidation, anammox) 是目前最高效节能的脱氮方式, 可以在不加碳源的情况下实现自养高负荷脱氮。然而, 厌氧氨氧化菌 (Anaerobic ammonia oxidizing bacterial, anAOB) 因其生长缓慢, 会导致污水处理工艺的启动周期较长。因此, 为缩短 anammox 的启动周期, 设置了 3 种不同污泥接种方式 (A: 接种 500 mg·L⁻¹ anAOB; B: 接种 500 mg·L⁻¹ anAOB+5 000 mg·L⁻¹ 反硝化菌; C: 接种 500 mg·L⁻¹ anAOB+5 000 mg·L⁻¹ 硝化菌) 开展 anammox 启动实验, 分析了底物浓度对脱氮效果的影响以及不同接种条件下微生物群落的差异。结果表明, 采用向反应器投加 500 mg·L⁻¹ anAOB+5 000 mg·L⁻¹ 反硝化菌的接种方式, 可以实现 anammox 的快速启动; 启动 30 d 后, 总氮去除效率 (nitrogen removal rate, NRR) 可达 1.41 kg·(m³·d)⁻¹ 以上。微生物群落分析结果表明, 反应器中主要存在的 anAOB 为 *Candidatus Kuenenia*; 与单独接种 anammox 污泥相比, 接种反硝化污泥和 anammox 污泥会使 *Candidatus Kuenenia* 的相对丰度提高了 40.0%, 从而使脱氮效率提高了 31.2%。底物浓度对 anammox 过程的影响结果表明, 进水 NO₂⁻-N 质量浓度达到 500 mg·L⁻¹ 时会导致游离亚硝酸 (FNA) 浓度升高, 而当 FNA 质量超过 0.05 mg·L⁻¹ 时, 会严重影响 anAOB 活性, 导致反应器出水水质波动; 通过降低进水 NO₂⁻-N 浓度, 可以使系统恢复。以上研究结果说明, 通过接种反硝化菌和 anAOB 的方式可实现 anammox 的快速启动, 加速实现 anammox 工艺在污水处理中大规模应用。

关键词 厌氧氨氧化; 快速启动; 接种; 脱氮; 微生物

随着我国餐饮、养殖、制药、食品和皮革等产业的发展, 产生了大量的高氨氮废水, 如果这些废水排入河流湖泊和地下水, 会导致水体富营养化^[1-2]。对于此类高氨氮废水, 传统的硝化反硝化技术需要大量曝气, 在碳氮比较低的情况下还需额外补充大量碳源, 产生大量的经济成本。此外, 传统的硝化反硝化技术脱氮效率较低, 需要较长的水力停留时间 (hydraulic retention time, HRT) 和较大的占地面积, 还会产生大量剩余污泥^[3-4]。因此, 亟需突破传统脱氮技术运行能耗高、脱氮效率低、占地面积大、剩余污泥产量多等技术瓶颈, 开发一种节能、高效、省地和产泥量少的快速脱氮处理技术。厌氧氨氧化 (anammox) 是迄今最高效节能的脱氮方式^[5-6], 可以在不加碳源的情况下实现自养高负荷脱氮, 污泥产量低。然而, 厌氧氨氧化菌 (anAOB) 的自养性和生长缓慢增加了污水处理工艺的启动期^[7]。因此, 加快 anAOB 的生长速率, 实现 anammox 工艺的快速启动及高效脱氮, 对于 anammox 的推广应用及污水处理运行节能减排具有重要的现实意义。

目前文献中报道的 anAOB 的倍增周期为 10~20 d, anAOB 的缓慢生长导致反应器启动时间较长^[8]。全球第一座大规模 anammox 污水处理厂于 2002 年在鹿特丹建成并投入运行, 启动耗时 3.5 a,

收稿日期: 2021-10-25; 录用日期: 2021-12-06

第一作者: 王思琦 (1992—), 男, 博士, 工程师, wangsq@Tsinghua-sz.org; *通信作者

比预期的 2 a 要长^[9]。anAOB 的缓慢生长速度和底物的抑制作用以及控制复杂等使得 anammox 工艺实际应用受到限制^[10]。以前的研究通常在反应器中接种厌氧污泥^[11]、硝化污泥^[12]、反硝化污泥^[13]，甚至 anammox 絮凝污泥^[14]，但由于群落中 anammox 丰度较低，这些策略通常必须在低进水负荷下启动，导致启动时间更长。显然，尽管 anammox 工艺已经研究了 20 多年，但启动周期长仍是其实际应用的主要障碍^[15-16]。

Anammox 颗粒污泥相对于絮体污泥具有较强的环境适应能力和脱氮性能^[17-18]，将其作为接种污泥将有助于 anammox 的启动。此外，贾方旭等^[13]关于 anAOB 与其他细菌之间的协同竞争关系的研究表明，anAOB 与硝化菌和反硝化菌在不同条件下存在竞争和协同关系。然而，利用 anAOB 与其他菌群之间的协同作用加速 anammox 启动的研究则相对较少，同时硝化菌和反硝化菌相对于 anAOB 更容易获得。因此，本研究的重点是接种少量成熟 anammox 颗粒污泥到含有硝化污泥和反硝化污泥的反应器，以验证接种少量 anammox 颗粒污泥，利用菌群协同机制是否可实现 anammox 工艺快速启动，并通过氮素转化和氮平衡的计算分析了 anammox 反应器的脱氮性能，同时采用高通量技术分析了 anammox 反应器中微生物群落丰度的变化规律。

1 材料与方法

1.1 实验原料

采用人工配制的模拟废水作为进水，模拟废水的 $\text{NH}_3\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2\text{-N}$ 和无机碳源使用 NH_4Cl 、 NaNO_2 、 NaHCO_3 按需配置，其他组分包括 $27.2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \text{KH}_2\text{PO}_4$ 、 $135.92 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \text{CaCl}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 、 $300 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、 $570 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \text{KCl}$ 以及 $1 \text{ mL}\cdot\text{L}^{-1}$ 微量元素 I 和微量元素 II。微量元素 I 包括 $5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1} \text{EDTA}$ 和 $5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1} \text{FeSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ；微量元素 II 包括 $15 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1} \text{EDTA}$ 、 $0.014 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1} \text{H}_3\text{BO}_4$ 、 $0.845 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1} \text{MnCl}_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 、 $0.25 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1} \text{CuSO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 、 $0.43 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1} \text{ZnSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、 $0.19 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1} \text{NiCl}_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 、 $0.16 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1} \text{NaSeO}_4\cdot 10\text{H}_2\text{O}$ 、 $0.22 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1} \text{NaMoO}_4\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 、 $0.24 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1} \text{CoCl}_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ^[19]。接种污泥取自实验室培养的 anammox 种泥、反硝化污泥和硝化污泥，其悬浮固体质量浓度为 (mixed liquor suspended solids, MLSS) 分别为 $8\ 553$ 、 $6\ 834$ 和 $6\ 532 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ，挥发性悬浮固体质量浓度 (mixed liquid volatile suspended solids, MLVSS) 分别为 $7\ 095$ 、 $5\ 331$ 和 $5\ 265 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

1.2 实验装置

本研究所用的实验装置如图 1 所示。实验所用的上流式厌氧污泥床反应器 (up-flow anaerobic sludge bed, UASB)，反应器由圆柱形有机玻璃制成，内径为 7 cm ，高为 30 cm ，工作体积为 1 L 。反应器内混合液温度通过外置加热带控制，由底部进水，上部溢流水，底部设置有回流管，部分出水可通过回流管进入反应器内，可通过调整回流液的流量调整反应器回流比 (reflux ration, R)。

1.3 实验方法

本研究设置 3 组实验：A 组只接种 $500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 anammox 污泥，作为空白组；B 组接种 $500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 anammox 污泥和 $5\ 000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的反硝化污泥；C 组接种 $500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 anammox 污泥和 $5\ 000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的硝化污泥 (污泥质量浓度均以 MLSS 计)。在整个实验期间，控制 3 组反应器温度为 $(35\pm 1)^\circ\text{C}$ ，为了消除 pH 对反应器性能的影响，通过投加 $30 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 碳酸氢钠溶液调节系统 pH 至 $7.5\sim 8.0$ 。实验分为 3 个阶段：阶段 I (1~54 d)，主要考察底物质量浓度对反应器脱氮效果的影响；阶段

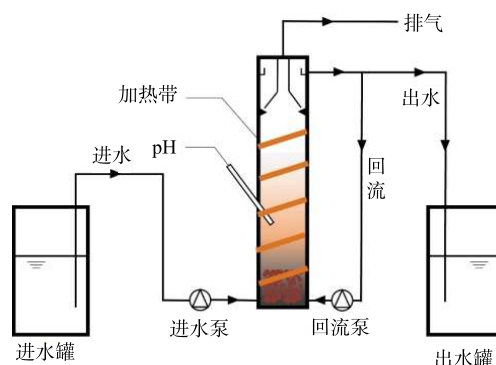


图 1 厌氧氨氧化实验流程图

Fig. 1 Schematic diagram of the anammox experiment

II(55~96 d)，主要考察在高负荷条件下，调整 HRT 和回流比对反应器脱氮效果的影响；阶段 III(97~116 d)，通过降低进水负荷考察其对反应器脱氮性能恢复的影响。不同阶段的运行参数见表 1。每天取进出水水样并检测水质变化。

1.4 分析方法

MLSS、MLVSS、NH₃-N、NO₂⁻-N 和 NO₃⁻-N 用国标法测定^[20]；COD 使用快速测定仪(连华 5B-3C，连华科技)测定；DO 使用便携式溶解氧仪(HACH-HQ30，哈希水质分析仪器(上海)有限公司)测定和 pH 使用 pH 计(FE20K，梅特勒-托利多国际贸易(上海)有限公司)测定；反应器中的游离氨(FA)和游离亚硝酸(FNA)的质量浓度分别按照式(1)和式(2)进行计算^[21]。

表 1 厌氧氨氧化反应器不同阶段的运行参数

Table 1 Operating parameters of different stages of anammox reactor

阶段	运行时间/ d	进水NH ₃ -N 质量浓度/ (mg·L ⁻¹)	进水NO ₂ ⁻ -N 质量浓度/ (mg·L ⁻¹)	R	HRT ^a /h	NLR ^b / (kg·(m ³ ·d) ⁻¹)
I	1~6	100	100	0	12	0.8
	7~28	100	100	0	6	1.6
	29~48	150	150	0	4	1.8
	49~54	300	300	1	5	2.88
II	55~65	500	500	1	8	3
	66~76	500	500	2	9	2.67
	77~96	500	500	2	12	2
III	97~116	400	400	1	8	2.4

注：^a HRT为水力停留时间；^b NLR为总氮负荷。

$$C_{FA} = \frac{17 C_{NH_3-N} \times 10^{pH}}{14 e^{\left(\frac{6344}{273+T}\right)} + 10^{pH}}$$

(1)

$$C_{FNA} = \frac{47}{14} \frac{C_{NO_2-N}}{e^{\left(\frac{2300}{273+T}\right)} \times 10^{pH} + 1}$$

(2)

式中：C_{FA}为游离氨质量浓度，mg·L⁻¹；C_{FNA}为游离亚硝酸质量浓度，mg·L⁻¹；C_{NH₃-N}为氨氮质量浓度，mg·L⁻¹；C_{NO₂-N}为亚硝酸盐质量浓度，mg·L⁻¹；T为温度，℃。

1.5 微生物群落测定

取 3 组反应器中不同阶段混合液各 50 mL，8 000 r·min⁻¹ 下离心去除上清液，剩余固体用于微生物分析。依据 E.Z.N.A.®soil DNA kit 对样品进行 DNA 抽提，并使用凝胶电泳和 NanoDrop2000 检测提取 DNA 的质量和纯度；使用 338F(5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3') 和 806R(5'-GACTACHVGGGTWTCTAAT-3') 对 16S rRNA 基因 V3~V4 可变区进行 PCR 扩增。PCR 扩增程序为：首先在 95 ℃ 预变性 3 min，然后在 95 ℃ 变性 30 s，在 55 ℃ 退火 30 s，在 72 ℃ 延伸 30 s，并执行 27 个循环，然后在 72 ℃ 稳定延伸 10 min，最后在 4 ℃ 进行保存。每个样本 3 个重复。将同一样本的 PCR 扩增产物混合后使用 2% 琼脂糖凝胶回收，利用 AxyPrep DNA Gel Extraction Kit 进行回收产物纯化，2% 琼脂糖凝胶电泳检测，并用 Quantus™ Fluorometer 对回收产物进行检测定量。最后通过 Miseq PE300 平台进行测序。

2 结果与讨论

2.1 反应器的脱氮性能

3 个反应器的进出水氮素变化如图 2 所示。在第 I 阶段，在进水负荷相同的条件下，A 组和 B 组的 TN 去除率随时间延长逐渐升高，在进水总氮质量浓度由 200 mg·L⁻¹ 提高至 600 mg·L⁻¹ 的过程中，2 组的 TN 去除率整体呈现出逐渐升高的趋势。其中，B 组的 TN 去除率最高，平均去除率可达 70% 左右；A 组的 TN 平均去除率约为 60%。这说明反硝化菌的存在有利于促进系统 TN 的去除。图 3 反映了 3 组反应器在脱氮过程中的总氮负荷率和总氮去除效率(NRR)的变化。在第 I 阶段(0~54 d)，在相同的 NLR 下，B 组表现出最高的总氮去除效率，启动 30 d 后，B 组的 NRR 达到了 1.41 kg·(m³·d)⁻¹，相对于 A 组(0.97 kg·(m³·d)⁻¹)提高了 31.2%。这同样说明反硝化菌的存在有利于 TN 的去除。XU 等^[22]关于 anammox 污泥中 anAOB 和其他菌之间关系的研究结果也表明，反硝化

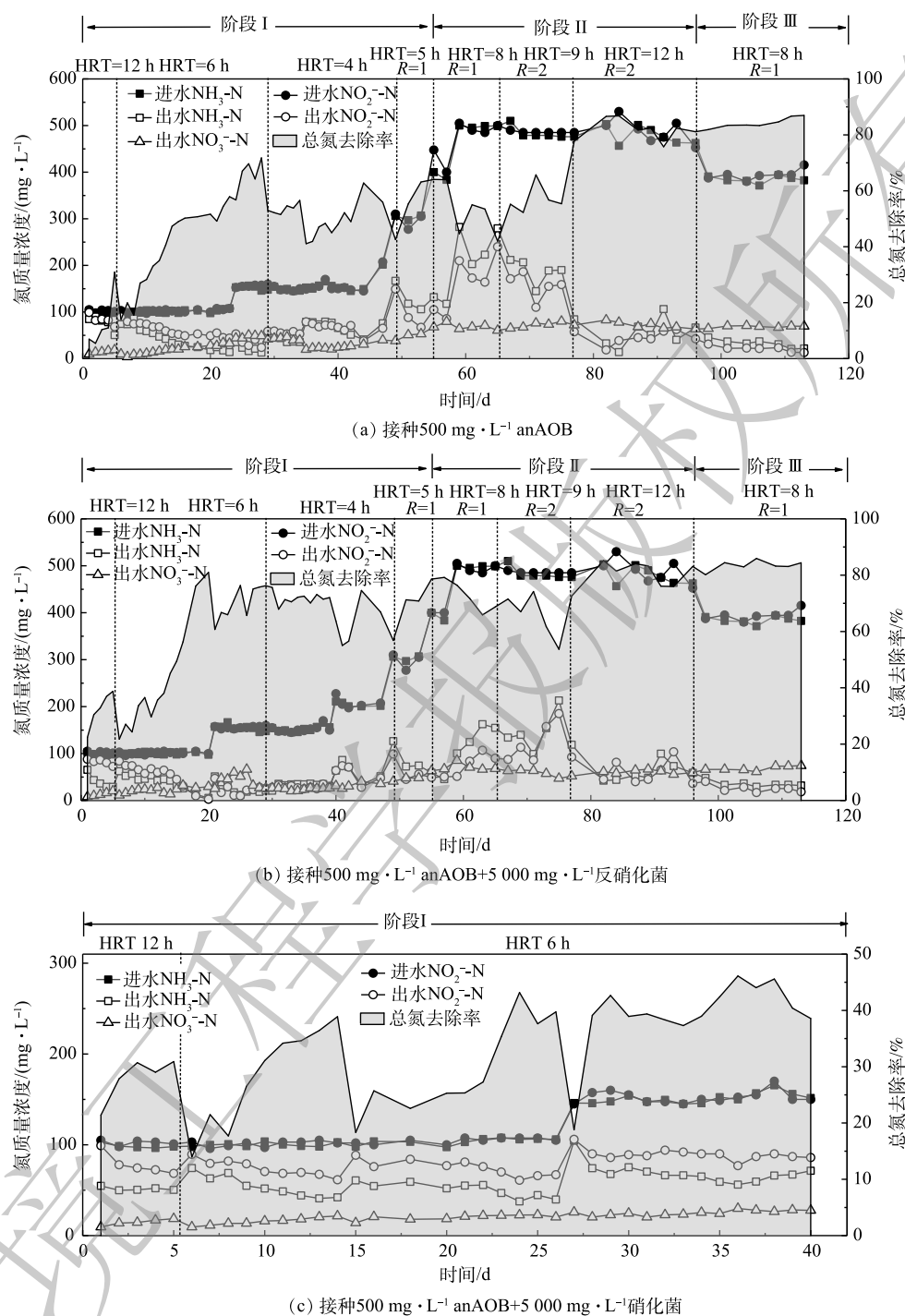


图2 进出水氮质量浓度的变化和总氮去除率

Fig. 2 Variation of influent and effluent nitrogen compounds and total nitrogen removal rate

菌 *Denitratisoma* 的存在可提高 anAOB 活性。由此可推测, 通过接种反硝化菌和 anAOB 可提高 anAOB 的活性。相对于 A 组和 B 组, C 组的 TN 去除率最低 (图 2), 仅有 40% 左右, 且在后期没有升高的趋势, C 组的 NRR 仅有 $0.48 \text{ kg} \cdot (\text{m}^3 \cdot \text{d})^{-1}$, 低于空白组 A 组 (50.5%)。这可能是由于硝化菌与 anAOB 存在底物竞争, 不利于 anAOB 的富集增长, 这与贾方旭等^[8]的研究结果相似。因此, C 组运行 40 d 后停止运行, 第 II 和 III 阶段主要对比 A 组和 B 组的脱氮效果。

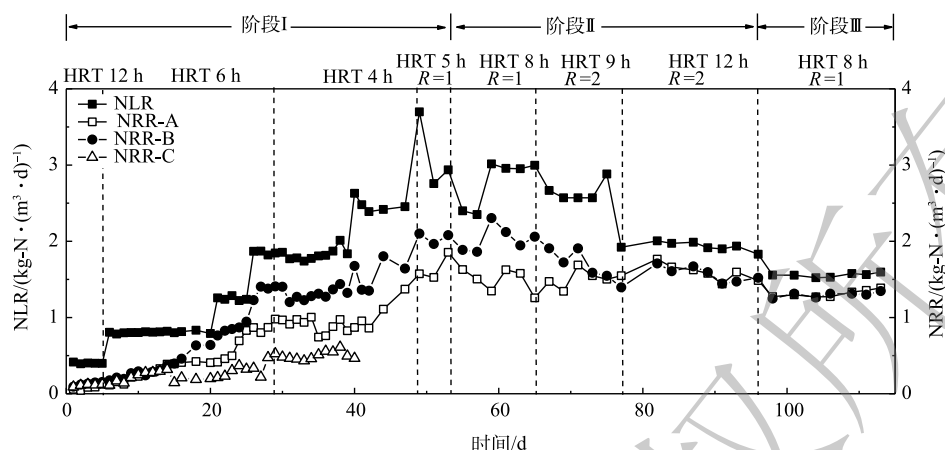


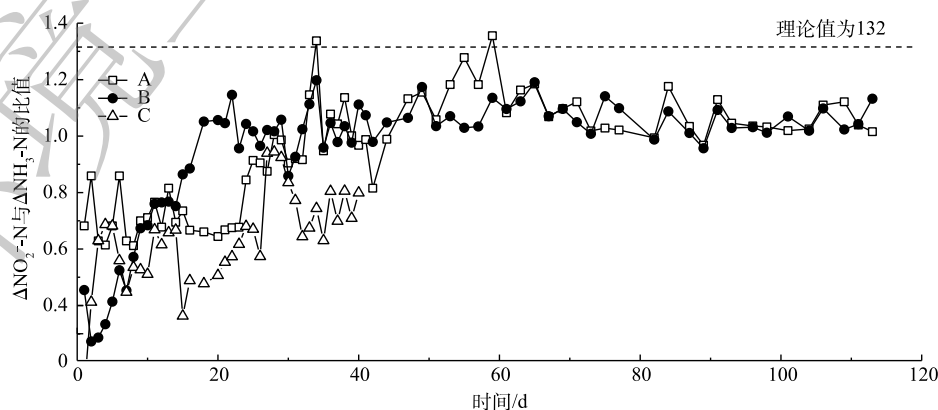
图3 氮去除负荷和去除效率变化

Fig. 3 Variation of nitrogen load rate and nitrogen removal rate

在第II阶段(55~96 d), 升高进水 $\text{NH}_3\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2\text{-N}$ 质量浓度至 $500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, A组和B组的出水 $\text{NH}_3\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2\text{-N}$ 波动较大。将HRT从8 h延长到9 h, 同时升高回流比 R 为2, 然而出水水质依然有波动, B组较A组波动较小; 延长HRT为12 h后, 出水水质有所好转, 但90 d后依然有上升趋势。这充分证明, 当进水总氮质量浓度升至 $1000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 后, 导致系统脱氮效果变差, 也说明过高的进水负荷抑制anAOB活性。李媛^[23]也做了类似的研究, 当进水总氮质量浓度由 $200 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 升高到 $600 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、HRT由8 h缩短到6 h时, NRR迅速下降, NRR由 $1.2 \text{ kg}\cdot(\text{m}^3\cdot\text{d})^{-1}$ 下降到 $1.03 \text{ kg}\cdot(\text{m}^3\cdot\text{d})^{-1}$ 。

在第III阶段(97~116 d), 为了恢复系统的脱氮性能, 提高系统的稳定性, 分别降低进水 $\text{NH}_3\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2\text{-N}$ 质量浓度至 $400 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 系统出水基本稳定, A组和B组的TN去除率稳定在80%以上, NRR维持在 $1.3 \text{ kg}\cdot(\text{m}^3\cdot\text{d})^{-1}$ 左右。这说明通过降低进水负荷能够缓解对anAOB的抑制, 有助于系统脱氮性能的恢复。

图4反映了3组反应器脱氮过程中 $\text{NO}_2\text{-N}$ 去除量 ($\Delta\text{NO}_2\text{-N}$) 与 $\text{NH}_3\text{-N}$ 去除量 ($\Delta\text{NH}_3\text{-N}$) 的比值变化。A、B和C3组反应器中 $\text{NO}_2\text{-N}$ 去除量与 $\text{NH}_3\text{-N}$ 去除量比例开始呈上升趋势, 后续趋于稳定, 基本保持在1.1左右。由厌氧氨氧化反应方程^[24-25]可知, 在厌氧氨氧化稳定运行时, $\text{NO}_2\text{-N}$ 去除量与 $\text{NH}_3\text{-N}$ 去除量的理论比值为1.32。本研究的 $\text{NO}_2\text{-N}$ 去除量与 $\text{NH}_3\text{-N}$ 去除量的比值与理论值差异较小。其原因为: 一是由于进水中含有一定量的溶解氧, 会发生亚硝化和硝化作用, 导致少量 $\text{NH}_3\text{-N}$ 转化为 $\text{NO}_2\text{-N}$ 或者 $\text{NO}_3\text{-N}$; 二是菌群在富集过程中可能会释放氧化剂^[26]。有研究表明, 在

图4 $\Delta\text{NO}_2\text{-N}$ 与 $\Delta\text{NH}_3\text{-N}$ 的比值变化Fig. 4 Variation of the ratio of $\text{NO}_2\text{-N}$ removal to $\text{NH}_3\text{-N}$ removal

低浓度厌氧氨氧化菌培养条件下,系统由于菌群浓度降低会产生氧化剂(超氧化物或羟基自由基),导致中 $\text{NH}_3\text{-N}$ 的消耗量增高^[27]。B组的 $\text{NO}_2\text{-N}$ 去除量与 $\text{NH}_3\text{-N}$ 去除量比例在20 d后基本保持稳定,而A组在30 d后才趋于稳定,C组持续表现出较大波动。这充分说明反硝化菌的存在有利于anammox的启动,使anammox在最短的时间内在反应器内起主导作用,而硝化菌与anAOB存在底物竞争,从而导致C组 $\text{NO}_2\text{-N}$ 去除量与 $\text{NH}_3\text{-N}$ 去除量比例持续处于较低水平,并且有较大波动,对于anammox的启动具有抑制作用。

游离氨(FA)和游离亚硝酸(FNA)的质量浓度对于anammox过程具有很大的影响^[20]。为了评估FNA和FA对anammox过程的影响,本研究计算了A组和B组anammox过程的FA和FNA,探究高负荷进水条件下anammox受抑制的机理。图5反映了A组和B组脱氮过程中FA和FNA的变化。A组和B组在整个anammox脱氮过程中FA的质量浓度低于 $30\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。已有研究^[22]表明,控制FA的质量浓度低于 $50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 对于anammox没有抑制作用。而在第II阶段,FNA的质量浓度已经达到 $0.05\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 以上,甚至超过了 $0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。anammox过程FNA质量浓度超过 $0.05\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 对于anAOB具有明显的抑制作用^[19,28]。这充分说明,当进水 $\text{NO}_2\text{-N}$ 质量浓度达到 $500\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,会导致FNA的质量浓度升高,当FNA的质量浓度超过 $0.05\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,会抑制anAOB的活性。通过降低进水 $\text{NO}_2\text{-N}$ 浓度,可使FNA低于 $0.05\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,进而使系统逐渐恢复。

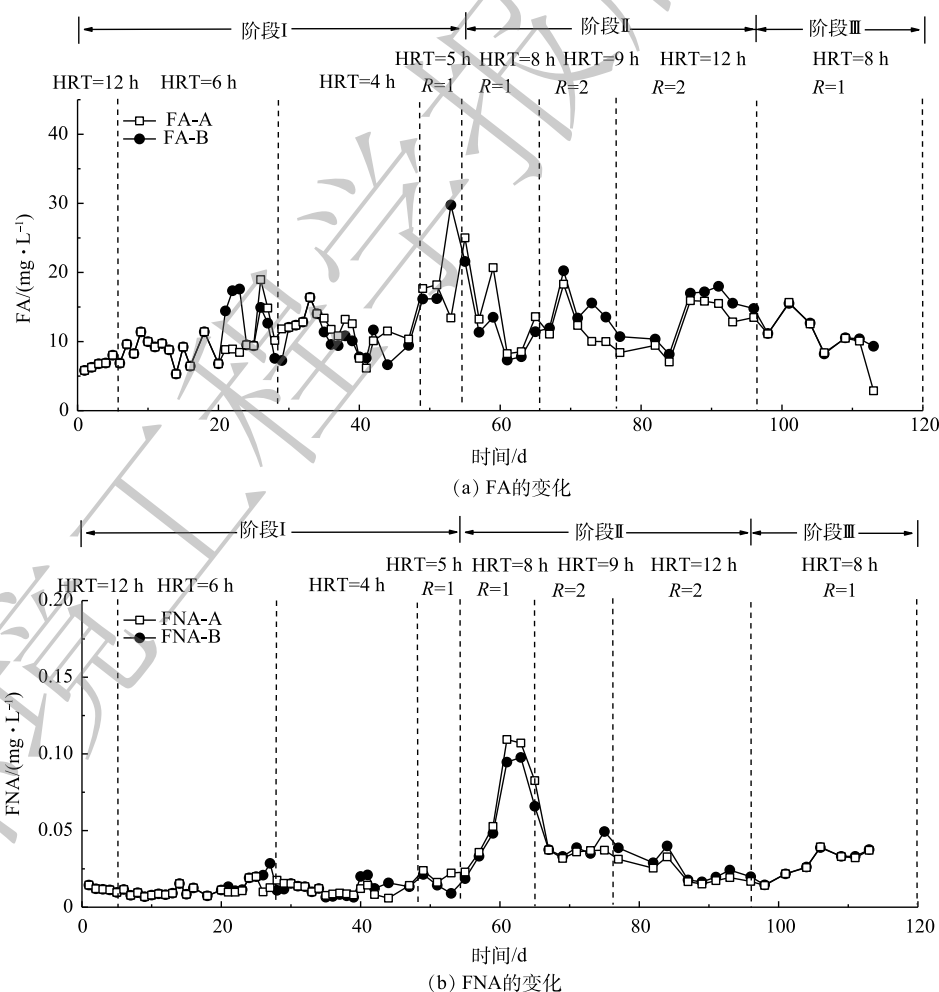


图5 FA和FNA的变化

Fig. 5 Variation of FA and FNA

2.2 脱氮系统中的氮素转化

为了进一步解析 A 组和 B 组 2 种启动方式对 anammox 启动的差异以及氮素转化的规律, 通过对启动 30 d 后 A 组和 B 组的进出水氮素指标核算系统的氮素转化, 结果如图 6 所示。在进水 $\text{NH}_3\text{-N}$ 为 $154.3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 在 $\text{NO}_2\text{-N}$ 为 $155.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的条件下, A 组的总氮去除率达到 52.2%, B 组的总氮去除率达到 76.2%, 2 组的总氮去除均是通过 anammox 实现的, B 组比 A 组提高了 24%。这充分说明, 反硝化菌的存在有利于提高 anAOB 的活性。此结果与已有的研究结果一致^[20]。此外, A 组有 $30.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 $\text{NH}_3\text{-N}$ 被氨氧化菌氧化成 $\text{NO}_2\text{-N}$, 同时有 $23.3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 $\text{NO}_2\text{-N}$ 被亚硝酸盐氧化菌氧化成了 $\text{NO}_3\text{-N}$ 。而 B 组中有仅有 $8.7 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 $\text{NH}_3\text{-N}$ 被氨氧化菌氧化成 $\text{NO}_2\text{-N}$, $0.2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 $\text{NO}_2\text{-N}$ 被亚硝酸盐氧化菌氧化成了 $\text{NO}_3\text{-N}$, 硝化反应的占比远低于 anammox。该结果说明, B 组可为 anAOB 提供较好的启动环境, 更大程度的避免硝化菌等其他杂菌的影响, 使 anAOB 最短的时间在反应器内起主导作用, 实现快速启动。

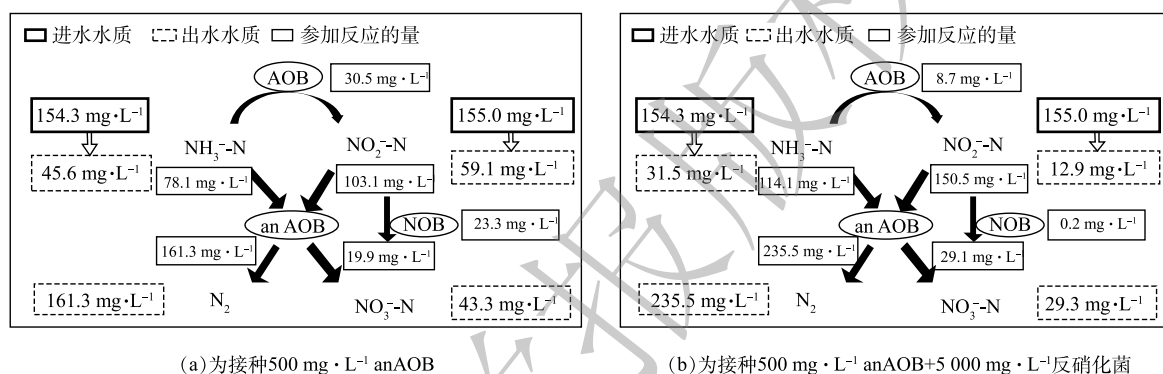


图 6 2 组氮素转化平衡

Fig. 6 Nitrogen conversion and balance of two groups

2.3 微生物的群落分析

反应器 anammox 的启动过程是 anAOB 富集的过程。为了进一步解析 A 组和 B 组接种方式对 anAOB 菌群丰度的影响, 将 A 组和 B 组启动 30 d 后, 取样进行高通量测序。细菌种群在属水平上的相对丰度如图 7 所示。2 组反应器中主要的菌属为 *Candidatus Kuenenia*, *OLB13* 和 *Denitratisoma*。其中 *Candidatus Kuenenia* 是 anAOB, 在 A 组中的丰度占比为 19.8%, 在 B 组中的丰度占比为 28.1%, 相对于 A 组提高了 41%。这说明 B 组的接种方式有利于 anAOB 菌群丰度的提升, 从而促进 anAOB 的活性。这也充分印证了在第 2.1 节中的推测。*Denitratisoma* 是常见的反硝化菌属^[29], 在 A 组和 B 组中的丰度占比分别为 7.3% 和 12.6%。ZHANG 等^[30]的研究表明, *Candidatus Kuenenia* 的相对丰度与 *Denitratisoma* 的相对丰度趋势具有一定的正相关性, 说明 *Candidatus Kuenenia* 与 *Denitratisoma* 有很强的正相互作用, 侧面验证了 *Denitratisoma* 的存在有利于体现 *Candidatus Kuenenia* 的活性。*OLB13* 属于厌氧菌, 是厌氧消化的核心微生物种群之一^[31-32]。已有研究^[12]表明, 脱氮反应系统中 *OLB13* 和 *Denitratisoma* 的存在对于 *Candidatus Kuenenia* 的活性表达具有积极作用。因此, 通过反硝化菌和 anAOB 的同时接种可以为 anAOB 提供一种较好的增殖环境, 从而有利于提高 anAOB 丰度, 促进反应器 anammox

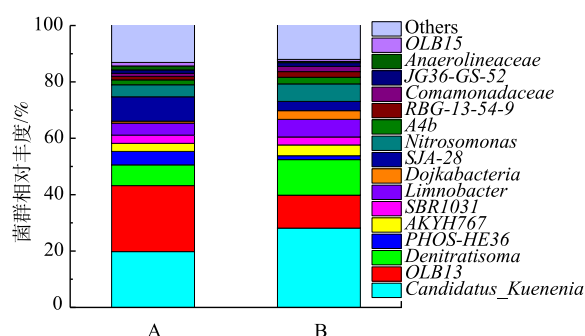


图 7 微生物群落组成对比

Fig. 7 Comparison of the composition of microbial communities

脱氮效率的提升。

3 结论

1) 向反应器中投加 $5\,000\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 反硝化污泥 (以 MLSS 计) 和 $500\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ anammox 污泥 (以 MLSS 计) 进行接种, 可以实现 anammox 的快速启动。启动 30 d 以后, 总氮去除负荷可达 $1.41\text{ kg}\cdot(\text{m}^3\cdot\text{d})^{-1}$ 以上。

2) 进水 $\text{NO}_2\text{-N}$ 质量浓度达到 $500\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 会导致 FNA 质量浓度超过 $0.05\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 从而严重影响 anAOB 的活性, 进而导致反应器出水水质波动; 通过降低进水 $\text{NO}_2\text{-N}$ 质量浓度可以使系统恢复。

3) 本研究所用的脱氮系统中, 主导 anammox 的 anAOB 为 *Candidatus Kuenenia*, 与单独接种 anammox 污泥相比, 接种反硝化污泥和 anammox 污泥可使 *Candidatus Kuenenia* 的丰度提高 40.0%, 从而使反应器脱氮效率提高了 31.2%。

参考文献

- [1] 赵志瑞, 马斌, 张树军, 等. 高氨氮废水与城市生活污水短程硝化系统菌群比较[J]. 环境科学, 2013, 34(4): 1448-1456.
- [2] 闫家望. 高氨氮废水处理技术及研究现状[J]. 中国资源综合利用, 2018, 36(3): 99-101.
- [3] 陈重军, 王建芳, 张海芹, 等. 厌氧氨氧化污水处理工艺及其实际应用研究进展[J]. 生态环境学报, 2014, 23(3): 521-527.
- [4] 徐峥勇. 基于亚硝化、厌氧氨氧化与反硝化的脱氮耦合工艺及其控制策略研究[D]. 长沙: 湖南大学, 2011.
- [5] LI X, LU M Y, HUANG Y, et al. Influence of seasonal temperature change on autotrophic nitrogen removal for mature landfill leachate treatment with high-ammonia by partial nitrification-Anammox process[J]. Journal of Environmental Sciences, 2021, 102: 291-300.
- [6] CHEN G, LI J, DENG H, et al. Study on Anaerobic ammonium oxidation (Anammox) sludge immobilized in different gel carriers and its nitrogen removal performance[J]. Journal of Residuals Science & Technology, 2015, 12: S47-S54.
- [7] WANG J X, LIANG J D, SUN L, et al. Granule-based immobilization and activity enhancement of anammox biomass via PVA/CS and PVA/CS/Fe gel beads[J]. Bioresource Technology, 2020, 309: 123448.
- [8] 贾方旭, 彭永臻, 杨庆. 厌氧氨氧化菌与其他细菌之间的协同竞争关系[J]. 环境科学学报, 2014, 34(6): 1351-1361.
- [9] VAN DER STAR W R L, ABMA W R, BLOMMERS D, et al. Startup of reactors for anoxic ammonium oxidation: Experiences from the first full-scale anammox reactor in Rotterdam[J]. Water Research, 2007, 41(18): 4149-4163.
- [10] HU B L, ZHENG P, TANG C J, et al. Identification and quantification of anammox bacteria in eight nitrogen removal reactors[J]. Water Research, 2010, 44(17): 5014-5020.
- [11] BI Z, QIAO S, ZHOU J T, et al. Fast start-up of Anammox process with appropriate ferrous iron concentration[J]. Bioresource Technology, 2014, 170: 506-512.
- [12] WANG T, ZHANG H M, YANG F L, et al. Start-up of the anammox process from the conventional activated sludge in a membrane bioreactor[J]. Bioresource Technology, 2009, 100: 2501-2506.
- [13] CHEN H, HU H Y, CHEN Q Q, et al. Successful start-up of the anammox process: Influence of the seeding strategy on performance and granule properties[J]. Bioresource Technology, 2016, 211: 594-602.
- [14] 王晓霞. ASBR反应器内厌氧氨氧化的快速启动及其脱氮性能研究[D]. 青岛: 青岛大学, 2012.
- [15] PHAN T N, TRUONG T T V, Ha N B, et al. High rate nitrogen removal by ANAMMOX internal circulation reactor (IC) for old landfill leachate treatment[J]. Bioresource Technology, 2017, 234: 281-288.
- [16] WANG S H, Guo J B, LIAN J, et al. Rapid start-up of the anammox process by denitrifying granular sludge and the mechanism of the anammox electron transport chain[J]. Biochemical Engineering Journal, 2016, 115: 101-107.
- [17] 王朝朝, 冀颖, 闫立娜, 等. 厌氧氨氧化颗粒污泥UASB反应器的快速启动[J]. 中国给水排水, 2019, 35(11): 15-20.
- [18] 许冬冬, 康达, 郭磊艳, 等. 厌氧氨氧化颗粒污泥研究进展[J]. 微生物学通报, 2019, 46(8): 1988-1997.
- [19] ZHANG Y L, HE S L, NIU Q G, et al. Characterization of three types of inhibition and their recovery processes in an anammox UASB reactor[J]. Biochemical Engineering Journal, 2016, 109: 212-221.
- [20] 国家环境保护总局. 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.
- [21] PARK, S, BAE, W. Modeling kinetics of ammonium oxidation and nitrite oxidation under simultaneous inhibition by free ammonia and free nitrous acid[J]. Process Biochemistry, 2009, 44(6): 631-640.
- [22] XU L Z J, ZHANG Q, FU J J, et al. Deciphering the microbial community and functional genes response of anammox sludge to sulfide stress[J]. Bioresource Technology, 2020, 302: 122885.
- [23] 李媛. 厌氧氨氧化工艺启动和运行特性及其受抑机理研究[D]. 无锡: 江南大学, 2014.
- [24] STROUS M, KUENEN J G, JETTEN M S M. Key physiology of anaerobic ammonium oxidation[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1999, 65(7): 3248-3250.
- [25] 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.

- [26] HYOKWAN B, MINKYU C, CHANGSOO L, et al. Enrichment of ANAMMOX bacteria from conventional activated sludge entrapped in poly(vinyl alcohol)/sodium alginate gel[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2015, 281: 531-540.
- [27] ZHANG Z, LIU S. Insight into the overconsumption of ammonium by anammox consortia under anaerobic conditions[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2014, 117(6): 1830-1838.
- [28] NIU Q G, HE S L, ZHANG Y L, et al. Process stability and the recovery control associated with inhibition factors in a UASB-anammox reactor with a long-term operation[J]. *Bioresource Technology*, 2016: 132-141.
- [29] FAHRBACH M, KUEVER J, MEINKE R, et al. *Denitratisoma oestradiolicum* gen. nov., sp. nov., a 17 α -oestradiol-degrading, denitrifying betaproteobacterium[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2006, 56: 1547-1552.
- [30] ZHANG Q, WU J, YE Y Y, et al. Microbial and genetic responses of anammox process to the successive exposure of different antibiotics[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2020: 127576.
- [31] ZHOU S, ZHANG Z, SUN Z L, et al. Responses of simultaneous anammox and denitrification (SAD) process to nitrogen loading variation: Start-up, performance, sludge morphology and microbial community dynamics[J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 795: 148911.
- [32] XIA Y, WANG Y, WANG Y, et al. Cellular adhesiveness and cellulolytic capacity in Anaerolineae revealed by omics-based genome interpretation[J]. *Biotechnology Biofuels*, 2016, 9: 111.

(责任编辑: 曲娜)

Strategy on fast start-up of anaerobic ammonia oxidation under low inoculation conditions

WANG Siqi^{1,2,3,*}, LI Yun², CHEN Fuming², LIU Shujie², WANG Wei³

1. Research Institute of Tsinghua University in Shenzhen, Shenzhen 518057, China; 2. Qingyan Environmental Technology Co. Ltd., Shenzhen 518057, China; 3. School of Environment, Tsinghua University, Beijing 100084, China

*Corresponding author, E-mail: wangsq@Tsinghua-sz.org

Abstract Anaerobic ammonia oxidation (anammox) was by far the most efficient and energy-saving method of nitrogen removal, which achieved autotrophic and high-load nitrogen removal without adding carbon sources. However, the slow growth characteristic of anaerobic ammonia oxidizing bacteria (anAOB) prolonged the start-up period of wastewater treatment process. Therefore, in order to shorten the start-up cycle of anammox, three sludge inoculation methods (A inoculation with 500 mg·L⁻¹ anAOB; B inoculation with 500 mg·L⁻¹ anAOB+5 000 mg·L⁻¹ denitrifying bacteria; C inoculation with 500 mg·L⁻¹ anAOB+5 000 mg·L⁻¹ nitrifying bacteria) were set up to conduct experiment of anammox. The effect of substrate concentration on the nitrogen removal and the difference of microbial community under different inoculation conditions were analyzed. The results indicated that the method of inoculating low-concentration anammox sludge (500 mg·L⁻¹) and denitrification sludge (5 000 mg·L⁻¹) achieved a rapid start of anammox, and the nitrogen removal rate (NRR) exceeded 1.41 kg·(m³·d)⁻¹ after 30 days. The result of microbial analysis showed that the main anammox bacteria in the reactor was *Candidatus Kuenenia*. Comparing with the inoculation with anammox sludge alone, the abundance of *Candidatus Kuenenia* in the inoculation with denitrification sludge and anammox sludge increased by 40.0%, thereby the nitrogen removal efficiency increased by 31.2%. The result of the effect of substrate load showed that when the concentration of NO₂-N reached 500 mg·L⁻¹, the concentration of free nitrous acid (FNA) increased, FNA concentration exceeding 0.05 mg·L⁻¹ would seriously affect the activity of anAOB and caused the unstable quality of effluent. The system could be restored by reducing the nitrite nitrogen concentration of influent. These results indicated the rapid start of anammox could be achieved by inoculating denitrifying bacteria and anAOB, which will accelerate the large-scale application of the anammox process in sewage treatment.

Keywords anaerobic ammonia oxidation (anammox); fast start-up; inoculation; nitrogen removal; microorganism