



文章栏目：环境生物技术

DOI 10.12030/j.cjee.202109011

中图分类号 X703.1

文献标识码 A

樊沈毅, 程子波, 肖付耀, 等. 接种湿地底泥的 Anammox 反应器启动特性[J]. 环境工程学报, 2021, 15(11): 3718-3728.

FAN Shenyi, CHENG Zibo, XIAO Fuyao, et al. Start up characteristics of Anammox reactor inoculated with wetland sediment[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2021, 15(11): 3718-3728.

接种湿地底泥的 Anammox 反应器启动特性

樊沈毅^{1,2}, 程子波^{1,3}, 肖付耀¹, 吴昊¹, 邹华^{1,2,4,✉}

1. 江南大学环境与土木工程学院, 无锡 214122

2. 江苏省厌氧生物技术重点实验室, 无锡 214122

3. 苏州锐诚环保技术有限公司, 苏州 215500

4. 苏州科技大学, 江苏省水处理技术与材料协同创新中心, 苏州 215009

第一作者: 樊沈毅 (1997—), 男, 硕士研究生。研究方向: 水污染控制工程。E-mail: 415179797@qq.com

✉通信作者: 邹华 (1972—), 男, 博士, 教授。研究方向: 水污染控制工程。E-mail: zouhua@jiangnan.edu.cn

摘要 在 3 台 UASB 反应器中分别以厌氧颗粒污泥、湿地底泥以及二者的混合物 (污泥浓度比为 1:1) 为接种污泥启动厌氧氨氧化 (Anaerobic ammonium oxidation, Anammox) 反应器, 考察了以湿地底泥为接种物启动 Anammox 反应器的可行性。结果表明, 接种厌氧颗粒污泥的反应器经过 183 d 启动运行, 仍未出现明显厌氧氨氧化反应特性, 接种混合污泥的反应器于第 125 天开始出现明显厌氧氨氧化反应特性, 短于接种湿地底泥的 155 d。Anammox 反应器启动并稳定运行后, 在进水总氮质量浓度为 $275 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、负荷为 $0.275 \text{ kg} \cdot (\text{m}^3 \cdot \text{d})^{-1}$ 条件下, 出水总氮质量浓度可降至 $90 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 以下, 其中接种湿地底泥和混合污泥的 Anammox 反应器的 TN 去除率分别达到 74.49% 和 67.12%。高通量结果表明, 在接种湿地底泥和混合污泥的反应器中的厌氧氨氧化菌属为 *Candidatus Brocadia*, 其丰度分别达到 9.82% 和 10.70%。

关键词 厌氧氨氧化; 湿地底泥; 启动过程; 微生物群落

厌氧氨氧化作为新型脱氮工艺, 因其具有污泥产量少^[1]、能耗低^[2] 以及不需要额外投加碳源^[3] 等优点, 受到广泛关注。但厌氧氨氧化菌 (anaerobic ammonium oxidation bacteria, AnAOB) 生长缓慢, 对环境因素的变化异常敏感^[4]。温度下降 ($\leq 15 \text{ }^\circ\text{C}$)^[5]、pH 的变化^[6]、COD 值均会对其产生不利影响^[7]。这些因素导致厌氧氨氧化污泥难以富集培养, 限制了该技术的大规模应用^[8]。如何快速有效地富集 AnAOB 是推动该工艺大规模应用的关键, 而接种污泥的选择被认为是影响 Anammox 反应器启动的重要因素之一^[9]。

目前 Anammox 反应器的启动多采用厌氧颗粒污泥^[10]、厌氧消化污泥^[11] 以及反硝化污泥^[12] 作为接种污泥。有大量研究表明, AnAOB 广泛存在于江河湖海的底泥中^[13-15]。赵折红等^[16] 在三峡库区香溪河不同季节的沉积物中均发现了 AnAOB 的存在, 且在 0~10 cm 内 AnAOB 丰度随着沉积物深度的增长呈现先增加后减少的趋势。秦红益^[17] 在富营养湖泊太湖的不同断面的沉积物中也发现了 AnAOB 的存在, 并发现 0~5 cm 处的沉积物是 AnAOB 集中分布的区域, 且氮素水平会强烈影

收稿日期: 2021-09-03; 录用日期: 2021-10-29

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (51808260); 江苏省自然科学基金资助项目 (BK20180632); 江苏省厌氧生物技术重点实验室开放基金资助项目 (JKLAB201710)

响沉积物中 AnAOB 的丰度和垂直分布。沈李东^[18]在各种类型的淡水湿地的表层沉积物中均监测到 AnAOB 的存在，并说明 *Candidatus Brocadia* 和 *Candidatus Kuenenia* 属是淡水湿地系统中的优势 AnAOB。虽然湿地系统广泛存在 AnAOB，但截至目前，采用湿地底泥作为接种污泥启动 Anammox 工艺的研究鲜有报道。

基于上述研究结果，本研究采用 UASB 反应器，通过接种厌氧颗粒污泥、湿地底泥以及二者的混合物启动 Anammox 工艺，对各反应器在启动过程中的脱氮性能进行了监控，并利用高通量测序对污泥的微生物群落结构进行了分析，探讨了以湿地底泥为接种物启动 Anammox 反应器的可行性，以期为 Anammox 工艺的应用提供参考。

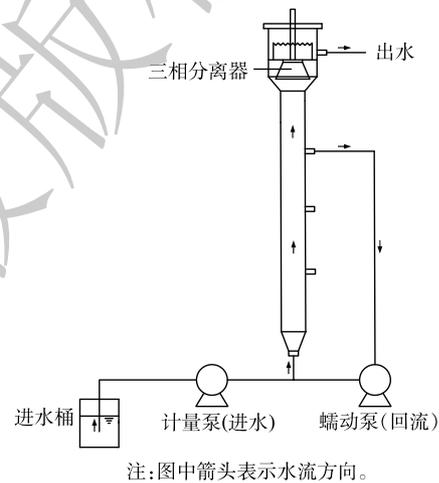
1 材料与方法

1.1 实验装置与运行策略

实验设备为有机玻璃制成的 UASB 反应器 (共 3 台)，反应器内径 5 cm，高 100 cm，有效容积约 2 L，流量为 $0.083 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}$ ，装置外部包裹锡纸以避光，控制运行温度为 $32\sim 35 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ，实验装置如图 1 所示。由于仅靠低溶解氧难以抑制硝化菌的生长^[19-20]，故运行 72 d 后提高进水基质浓度；为改善水力条件，使微生物与底物充分接触^[21-22]，运行 112 d 后设置回流系统，具体运行策略见表 1。

1.2 进水水质

反应器进水采用人工配水， NH_4Cl 和 NaNO_2 分别提供 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ ，其余成分为 $1000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \text{NaHCO}_3$ 、 $20 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \text{KH}_2\text{PO}_4$ 、 $5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \text{CaCl}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 、 $300 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、微量元素 I 和微量元素 II 各 $1 \text{ ml}\cdot\text{L}^{-1}$ 。微量元素 I 组分为 $5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1} \text{EDTA}$ 、 $5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1} \text{FeSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 。微量元素 II 组分为 $15 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1} \text{EDTA}$ 、 $0.99 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1} \text{MnCl}_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 、 $0.25 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1} \text{CuSO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 、 $0.19 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$



注：图中箭头表示水流方向。

图 1 实验装置

Fig. 1 Experimental apparatus

表 1 反应器运行策略

Table 1 Operation strategy in the reactors

反应器名称	运行阶段	时间/d	进水 $\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$	进水 $\text{NO}_2^-\text{-N}/(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$	HRT/h	有无回流
R ₁	I	1~71	40	50	24	无
	II	72~111	60	80	24	无
	III	112~183	60	80	24	有
R ₂	I	1~71	40	50	24	无
	II	72~111	60	80	24	无
	III	112~157	60	80	24	有
	IV	158~221	80~120	100~150	24	有
R ₃	I	1~71	40	50	24	无
	II	72~111	60	80	24	无
	III	112~221	80~120	100~150	24	有

$\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 、 $0.24 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 、 $0.22 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 、 $0.43 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、 $0.014 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \text{H}_3\text{BO}_3$ 、 $0.05 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \text{NaWO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 。采用氮吹，对配水进行脱氧 ($\text{DO} < 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 后进水。

1.3 接种污泥

接种的厌氧颗粒污泥取自处理酶制剂生产废水的厌氧反应器，MLSS 为 $38.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ，MLVSS 为 $18.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。湿地底泥取自无锡市太湖边某湿地表层底泥，MLSS 为 $192.6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ，MLVSS 为 $13.8 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。 R_1 反应器接种 $10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 厌氧颗粒污泥； R_2 反应器接种 $10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 湿地底泥； R_3 反应器接种 $5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 厌氧颗粒污泥和 $5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 湿地底泥。

1.4 测试项目与方法

每 2 d 采集各反应器出水，水样经过 $0.45 \mu\text{m}$ 滤膜过滤后根据《水和废水监测分析方法》测定各项水质指标，其中 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 采用纳氏试剂分光光度法， $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 采用 N-(1-萘基)-乙二胺分光光度法， $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 采用紫外分光光度法，TN 采用碱性过硫酸钾消解紫外分光光度法，COD 采用快速消解分光光度法，MLSS 和 MLVSS 采用重量法，pH 采用在线式 pH 计 (ST3100, 奥豪斯)，温度和 DO 则采用在线式溶解氧仪 (WTW, Multi 3610 IDS)。总氮去除率 (TRE) 和总氮容积负荷 (NLR) 分别根据式 (1) 和式 (2) 进行计算。

$$\eta_{\text{TRE}} = \frac{C(\text{TN})_{\text{inf}} - C(\text{TN})_{\text{eff}}}{C(\text{TN})_{\text{inf}}} \times 100\% \quad (1)$$

$$N_v = \frac{Q_s \cdot C(\text{TN})_{\text{inf}}}{V} \quad (2)$$

式中： η_{TRE} 为总氮去除率，%； $C(\text{TN})_{\text{inf}}$ 为进水总氮质量浓度， $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ； $C(\text{TN})_{\text{eff}}$ 为出水总氮质量浓度， $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ； N_v 为总氮容积负荷， $\text{kg} \cdot (\text{m}^3 \cdot \text{d})^{-1}$ ； Q_s 为进水流量， $\text{m}^3 \cdot \text{d}^{-1}$ ； V 为有效容积， m^3 。

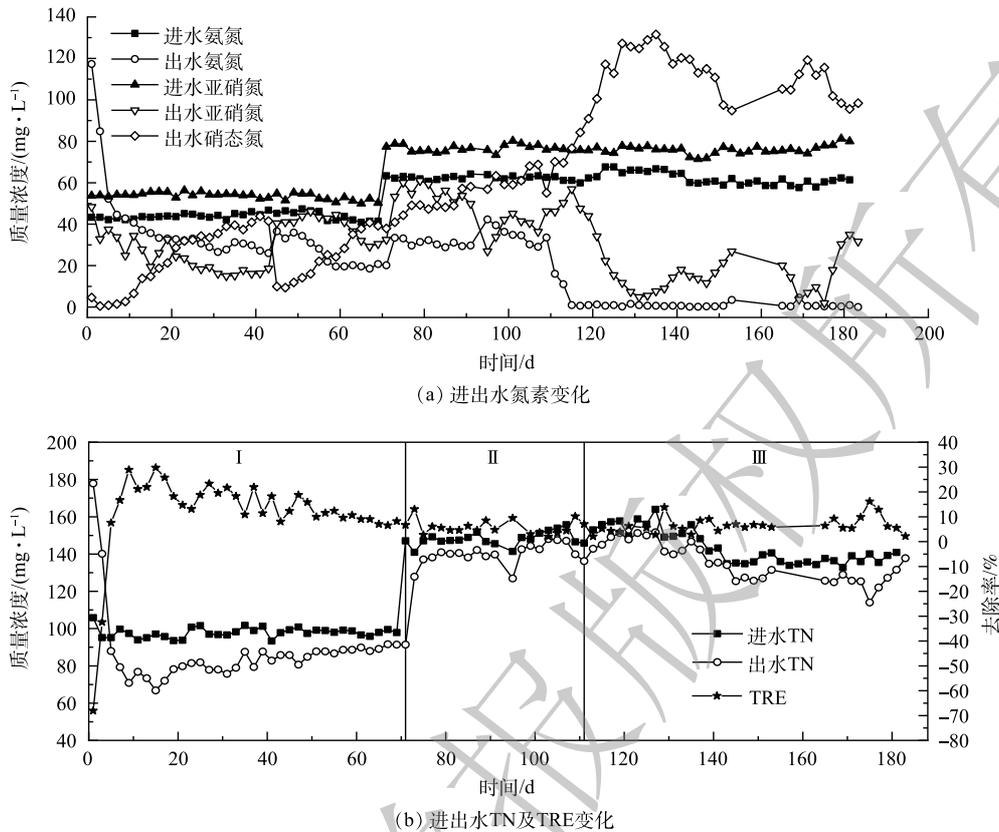
1.5 高通量测序分析

采用 16S rDNA 高通量测序测定接种污泥和培养后污泥的微生物群落结构。污泥提取 DNA 后，选取通用引物 338F (5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3') 和 806R (5'-GGACTACCAGGGTATCTAAT-3') 对 V3~V4 区进行 PCR 扩增。扩增程序为：95 °C 预变性 3 min，27 个循环 (95 °C 变性 30 s，55 °C 退火 30 s，72 °C 延展 45 s)，最后 72 °C 延展 10 min。扩增产物利用 Illumina 公司 Miseq PE300 平台进行测序 (上海美吉生物医药科技有限公司) 测序数据采用 FLASH 和 Trimmomatic 软件进行优化，后采用 UPARSE 软件进行 OTU 聚类分析。

2 结果与讨论

2.1 不同来源种泥的 Anammox 反应器启动

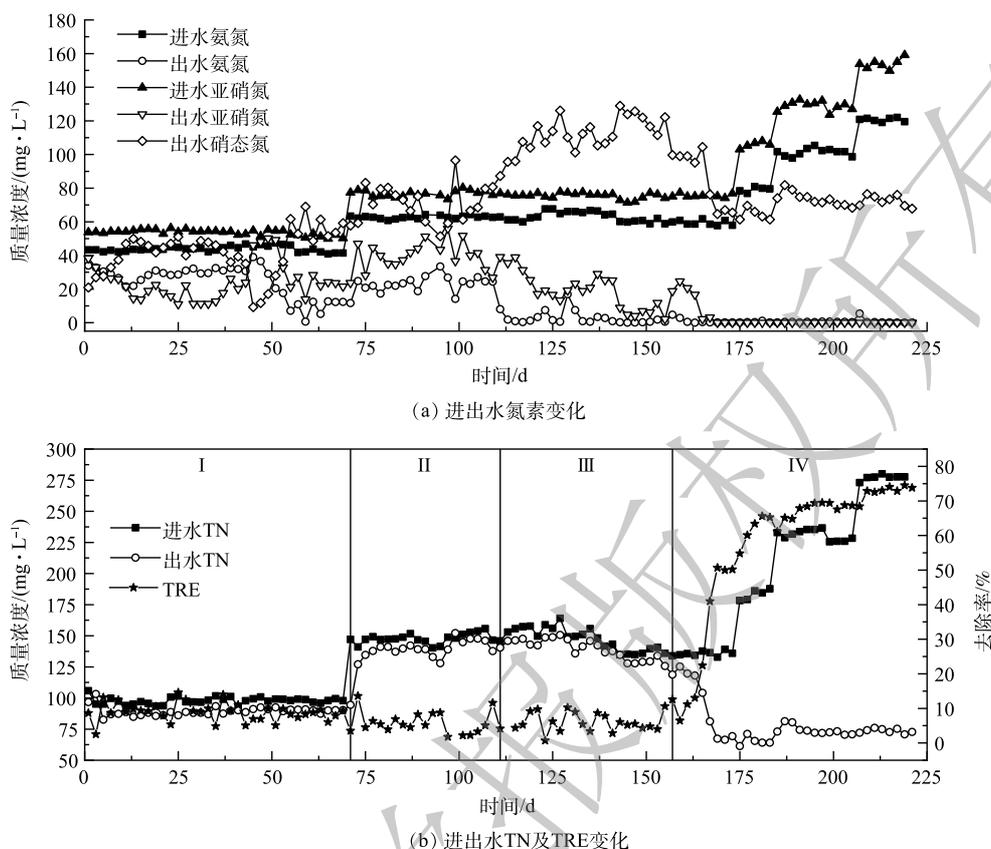
1) 接种厌氧颗粒污泥的 Anammox 反应器启动。接种厌氧颗粒污泥的 R_1 反应器运行期间进出水情况如图 2 所示。在反应器启动初期，出水氨氮及总氮质量浓度不降反升，高于进水。这是由于接种的厌氧颗粒污泥来自处理高浓度有机废水的反应器，其长期处于高 COD 废水环境中，存在大量异养菌，而进水中未添加有机碳源，异养菌因无法获得生长所需的足够底物而进行内源代谢，利用自身的贮藏物质，如酶等部分原生质的分解来获得营养物质，导致菌体自溶。在菌体自溶过程中，蛋白质等含氮有机物的分解导致了反应器中氨氮及总氮的升高。反应器运行至第 13 天，氨氮出水质量浓度开始低于进水，出水 COD 也由最初的 $425.55 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 降低至 $23.42 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ，标志着菌体自溶阶段结束。随着反应器继续运行，氨氮和亚硝氮去除率虽呈上升趋势，但在进水中残余溶解氧的影响下，氨氧化菌 (AOB) 和硝化菌 (NOB) 发挥了主要作用，大部分氮元素被转化为硝态氮，使出水硝态氮质量浓度不断增加。反应器中总氮去除率则呈现下降趋势，于第 67 天降低至 6.51%。这主要是因为：随着菌体自溶现象减弱，水中 COD 下降，异养反硝化菌因缺少底物活性降低。

图 2 R₁ 运行状况Fig. 2 Performance of the R₁

在第 72 天增加进水浓度后，出水硝态氮质量浓度依然上升明显，表明 NOB 活性抑制不明显，AnAOB 在竞争过程中仍然处于劣势。在第 112 天增加回流后，出水氨氮质量浓度下降明显，基本保持在 $0.51 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 左右，出水亚硝氮质量浓度则先减后增，虽然出水硝态氮质量浓度呈现先增后减的趋势，但浓度依然较高，最高时达到 $131.56 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ；与此同时，总氮去除率也无明显上升，在 $2.20\%\sim 16.14\%$ 内波动。这些结果均表明，在 R₁ 中 AOB 和 NOB 发挥主要作用，进水中几乎所有氮元素均在它们的共同作用下转化为硝态氮，反应器内无明显的厌氧氨氧化反应。

2) 接种湿地底泥的 Anammox 反应器启动。接种湿地底泥的 R₂ 反应器运行期间进出水情况如图 3 所示。由于湿地水体中的 COD 和氮元素含量处于较低水平，底泥中的微生物能够较好地适应无机环境，故污泥接种进反应器后直接跳过了菌体自溶阶段而进入活性滞留阶段，总氮去除率维持在较低水平且无显著变化。在运行的前 71 d，氨氮去除率逐步上升，出水亚硝氮质量浓度先减后增，出水硝态氮质量浓度持续增加，并于第 63 天达到最高值 $68.97 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ；而总氮去除率却无明显变化，一直维持在 8.00% 左右。可见，反应器内的氮元素大多通过 AOB 和 NOB 的作用转化为硝态氮，这与 R₁ 情况相似，

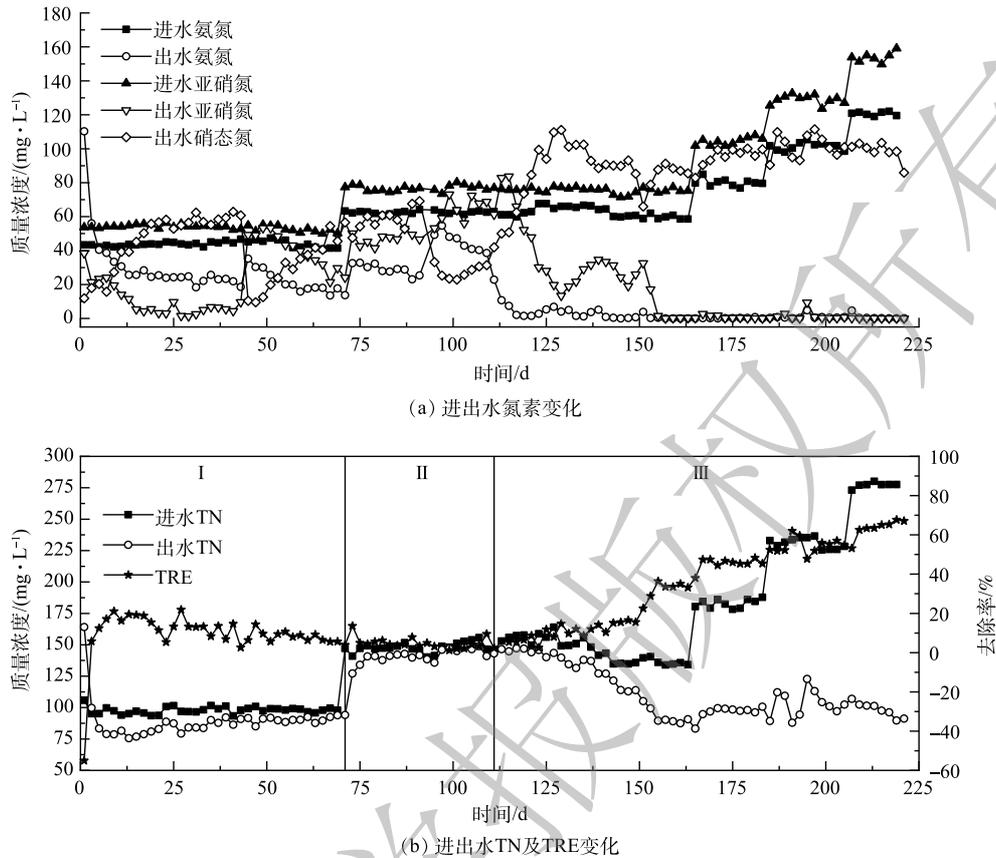
在第 72 天增加进水浓度后，氨氮和亚硝氮去除率均有所降低，出水硝态氮质量浓度也呈现下降趋势，AOB 和 NOB 活性均受到了抑制。但从第 95 天开始，氨氮和亚硝氮去除率升高，出水硝态氮质量浓度上升明显，而总氮去除率则无明显上升，表明 AOB 和 NOB 适应了环境的改变，受到的抑制效果减弱，AnAOB 处于竞争劣势。设置回流系统后的前 40 d 内，出水氨氮和亚硝氮质量浓度逐渐降低，总氮去除率基本不变，在 AOB 和 NOB 的作用下出水硝态氮质量浓度增长迅速，最高时达到 $128.94 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。运行至 157 d 开始，出水硝态氮质量浓度出现明显下降的趋势，并

图3 R₂运行状况Fig. 3 Performance of the R₂

于第173天降低至 $65.48 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ，总氮去除率也迅速上升至 50.19% ，AnAOB开始展现活性且逐渐取代AOB和NOB成为R₂内的优势菌种。由于从第167天起，出水中氨氮和亚硝态氮浓度较低，基本只含有硝态氮，故从第175天起逐步提高进水负荷。随着进水负荷的增加，氨氮和亚硝态氮去除率无明显降低，而出水硝态氮质量浓度却增长不明显，基本保持在 $70 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 左右。这是由于进水浓度的增加抑制了硝化菌的活性，同时刺激了AnAOB的增殖。随着负荷的提高，总氮去除率逐步上升，并于第219天开始在进水总氮质量浓度为 $275.55 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ，在氮负荷为 $0.275 \text{ kg}\cdot(\text{m}^3\cdot\text{d})^{-1}$ 条件下，去除率稳定达到 74.49% 。

从R₁和R₂的启动结果来看，湿地底泥比处理高浓度有机废水的厌氧颗粒污泥更适合作为启动Anammox反应器的种泥。有研究^[23]表明，长期较高负荷的有机物冲击会促进反硝化菌的生长，同时抑制AnAOB的生长。当 $\text{COD}>300 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时，AnAOB将全部灭活，而酶制剂废水的COD值普遍高于 $300 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ，这也导致了接种的厌氧颗粒污泥中几乎不含AnAOB，从而致使反应器启动失败。而有大量研究^[18,24]表明，湿地底泥中存在着AnAOB，且是湿地生态系统氮循环的重要组成部分，其产生的氮气可以占到湿地氮气产生总量的 $1.30\%\sim 42.70\%$ ，这也是采用湿地底泥为接种物成功启动Anammox反应器的重要原因。

3) 接种混合污泥的Anammox反应器启动。接种混合污泥的R₃反应器运行效果如图4所示。在反应器启动初期，由于微生物不能适应环境的改变而自溶，出水氨氮质量浓度高于进水；反应器运行至第7天时，出水氨氮质量浓度首次低于进水，出水COD由最初的 $307.12 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 降低至 $19.84 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ，表明反应器结束菌体自溶阶段。R₃菌体自溶的时间要短于R₁，这是因为反应器接种

图 4 R₃ 运行状况Fig. 4 Performance of the R₃

的是混合污泥，异养菌含量少于纯种厌氧颗粒污泥导致。与 R₁、R₂ 运行初期情况相似，R₃ 运行前 71 d 氨氮去除率逐步上升，出水亚硝氮质量浓度呈现先减后增的趋势，出水硝态氮质量浓度持续增加，最高时达到 62.85 mg·L⁻¹。由于反硝化菌逐渐被淘汰，总氮去除率下降明显，并于第 71 天下降至 3.93%，这与 R₁ 的趋势相同。

在第 72 天增加进水浓度后，出水亚硝氮质量浓度缓慢上升，出水硝态氮质量浓度则呈现先增后减的趋势，但总氮去除率却无明显增长，最高也仅达到 9.51%。这表明，虽然 NOB 的活性受到了一定的抑制，但 AnAOB 仍未展现明显活性。在第 112 天增加回流后，出水硝态氮质量浓度快速增加并于第 129 天达到最高值后开始降低，总氮去除率则自第 125 天起呈现明显的上升趋势。这表明 AnAOB 开始展现活性，并逐渐成为优势菌种。由于从第 155 天开始，出水中几乎只有硝态氮，同时为了提高反应器内的 AnAOB 丰度，自第 165 天起逐步提高进水负荷。提高进水负荷后，出水氨氮、亚硝态氮和硝态氮质量浓度均无明显变化，总氮去除率则上升明显，于第 219 天起在进水总氮质量浓度为 275.55 mg·L⁻¹，在氮负荷为 0.275 kg·(m³·d)⁻¹ 条件下，去除率稳定达到 67.12%。

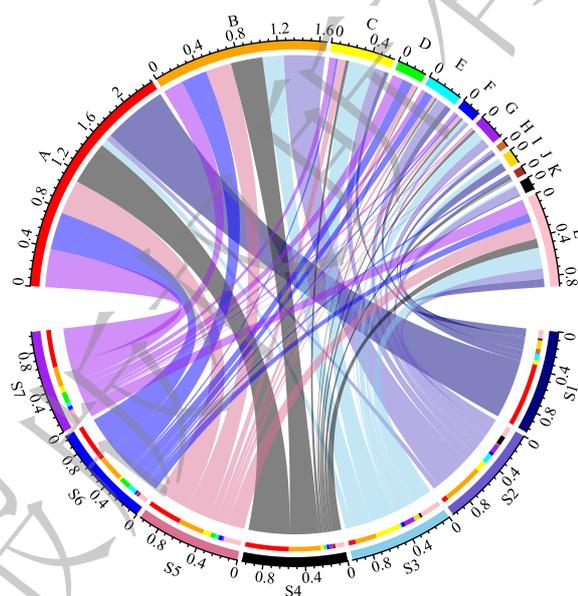
从以往学者的研究结果来看，接种混合污泥的启动时间均短于接种单一类型污泥。张泽文等^[25]分别接种反硝化颗粒污泥和反硝化颗粒污泥与好氧硝化污泥的混合污泥启动 Anammox 反应器，结果显示，接种混合污泥的启动时间短于接种反硝化颗粒污泥。于德爽等^[26]采用好氧硝化污泥和厌氧氨氧化污泥的混合物（比例 2:1）作为接种污泥，较采用好氧硝化污泥作为接种污泥的反应器的启动时间缩短约 1/2。在本研究中，R₃ 出现明显厌氧氨氧化反应特性的时间（125 d）要短于 R₂（155 d），表明混合污泥相较于单一的厌氧颗粒污泥或单一的湿地底泥更适合作为启动种泥，这与之前各学

者研究的结果相类似。在本研究中出现这一结果的主要原因是,混合污泥中的厌氧颗粒污泥在启动过程中可以作为 AnAOB 依附的天然载体,又因其良好的沉降性能,使 AnAOB 不易流失,从而可缩短反应器的启动时间^[27]。而对于混合污泥中 2 种污泥的最佳比例,还有待进一步研究。

2.2 Anammox 反应器中微生物群落结构分析

选取接种厌氧污泥 (S1)、湿地底泥 (S2)、R₁183 d 污泥 (S3)、R₂183 d 污泥 (S4)、R₃183 d (S5) 污泥、R₂221 d 污泥 (S6) 以及 R₃221 d 污泥 (S7) 进行 16S rDNA 高通量测序检测微生物群落结构变化。各时期门分类水平上的微生物组成如图 5 所示。结果表明, S1 中微生物所属的门主要为 *Chloroflexi*(64.71%)、*Actinobacteriota* (6.37%)、*Synergistota*(8.46%)、*Bacteroidota*(4.49%)、*Nitrospirota*(4.01%) 等。S2 中则是由 *Proteobacteria*(41.05%)、*Bacteroidota*(10.66%)、*Actinobacteriota*(9.44%)、*Desulfobacterota*(9.31%)、*Firmicutes* (8.49%)、*Chloroflexi*(5.75%) 等组成,而 AnAOB 所属的 *Planctomycetes* 占比仅为 0.07%。经过 183 d 的培养, S3 中 *Chloroflexi* 门的丰度明显下降,由 64.71% 降低至 7.12%,而 *Bacteroidota* 门和 *Proteobacteria* 门的丰度则分别上升至 26.15% 和 21.50%。有研究^[28]表明, *Proteobacteria* 门几乎涵盖了所有类型的 AOB。这证实了 AOB 为 R₁ 中的优势菌种。NOB 所属的 *Nitrospirota* 门在 S3 中的占比较 S1 中下降明显,但结合 R₁ 的运行状况可知, NOB 依然发挥主要作用,氮元素在其和 AOB 的共同作用下转化为硝态氮。而在 S3 中未能检测出 *Planctomycetes* 门,这也说明 R₁ 中不存在厌氧氨氧化过程。S4 和 S6 中 *Chloroflexi* 门的丰度相较于 S2 增长明显, *Bacteroidota* 门的丰度则有一定程度降低,而二者在 S4 和 S6 中的丰度则无明显差异。据文献报道, *Chloroflexi* 门常存在于 Anammox 系统中,其主要作用是作为 AnAOB 的骨架结构参与生物膜的形成^[29],同时还能降解 AnAOB 死亡后残留下的有机物等物质^[30];此外, *Chloroflexi* 门和 *Bacteroidota* 门被认为在污泥颗粒化的过程中起着重要作用^[31]。S6 中 *Proteobacteria* 门的丰度相较于 S4 降低 5.75%,而 *Planctomycetes* 门的丰度则从 1.14% (S4) 升高至 10.80%(S6),在 R₃ 中也有相似的微生物结构变化, S7 中 *Proteobacteria* 门的丰度相较于 S5 也下降了 5.64%, *Planctomycetes* 门的丰度则从 4.99%(S5) 升高至 11.00%(S7)。这些数据表明,随着反应器的运行,硝化菌逐渐被淘汰, AnAOB 成为 R₂ 和 R₃ 中的优势菌种。

各时期属水平上的微生物组成如图 6 所示。结果显示, *norank_f_norank_o_SBR1031* 在 S1 中处于显著地位,其丰度达到 53.30%,据报道,该菌种属于厌氧微生物具有碳水化合物发酵的能力^[32]。由于湿地底泥处于自然环境中,而厌氧颗粒污泥长期处于特定人工环境中,故 S2 中的微生物种类明显多于 S1,其优势菌种为 *Dechloromonas*。值得指出的是,在 S1 和 S2 中都未能检测出 AnAOB 相关菌属,表明 AnAOB 在接种污泥中的含量低于万分之一,甚至可能不存在 AnAOB。S3 中 *norank_f_norank_o_SBR1031* 的丰度下降至 0.31%,这是由于进水中不含有机物,微生物缺少底物而被淘汰。经过 183 d 的培养, S3 中未能检测出 AnAOB 相关菌属,优势菌种为 *norank_f*



注: A表示*Chloroflexi*; B表示*Proteobacteria*; C表示*Bacteroidota*; D表示*Planctomycetes*; E表示*Actinobacteriota*; F表示*Acidobacteriota*; G表示*Firmicutes*; H表示*Nitrospirota*; I表示*Synergistota*; J表示*Latescibacterota*; K表示*Desulfobacterota*; L表示Others。

图 5 不同时期污泥微生物基于门水平的物种相对丰度
Fig. 5 Relative abundance of sludge microorganisms in different periods at phylum level

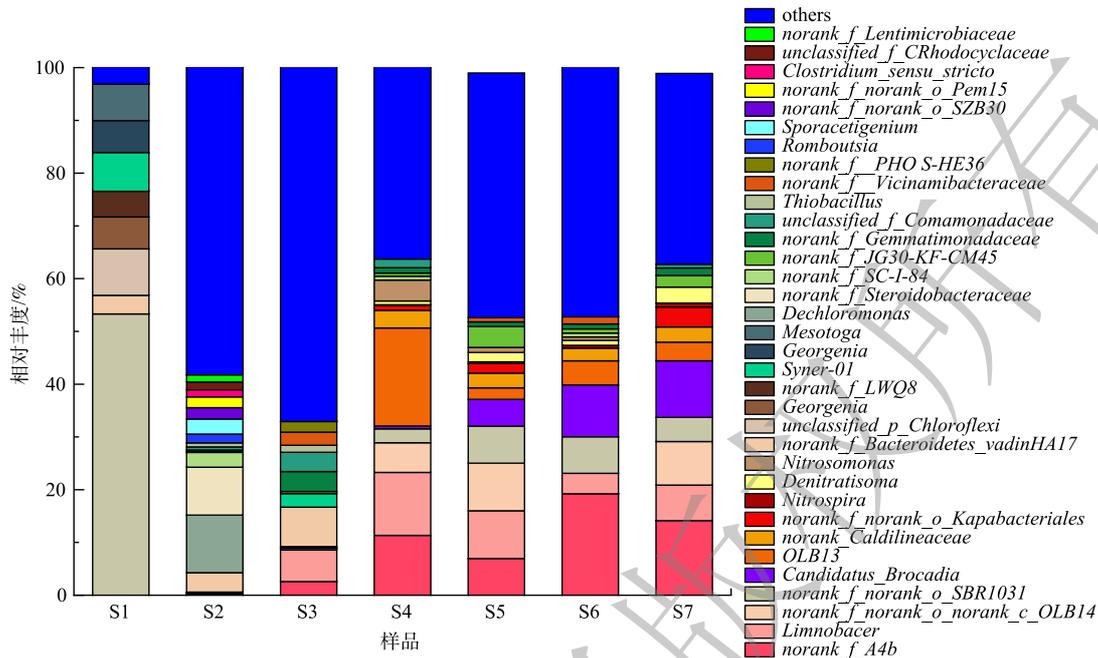


图 6 不同时期污泥微生物基于属水平的物种相对丰度

Fig. 6 Relative abundance of sludge microorganisms in different periods at genus level

Bacteroidetes_vadinHA17 和 *Limnobacter*，其丰度分别达到 7.45% 和 6.00%。其中，前者的主要作用是参与水解酸化^[33]，而后者属于厌氧菌，据报道，该菌属可与 AnAOB 共存，可保护 AnAOB 免受外界干扰^[34]。在 S4-S7 中，也都检测出一定丰度的 *Limnobacter*。

有研究^[35]表明，*Candidatus Brocadia* 作为 AnAOB 的一种菌属经常出现在 Anammox 反应器中。如图 5 所示，S4~S7 样品中均检测到了 *Candidatus Brocadia*，且其丰度随着反应器的运行时间延长而增加，在 R₂ 中 S6 的丰度比 S4 增加了 9.28%，达到了 9.82%；而其在 R₃ 中的丰度也由 5.07%(S5) 增加至 10.70%(S7)。这也进一步证明了反应器内的氮元素主要通过 AnAOB 的作用去除。

R₂ 和 R₃ 中的 *Nitrosomonas* 的丰度随着反应器的运行逐渐减少，其在 S4 中的丰度为 3.97%，而在 S6 中丰度仅为 0.64%，在 S7 中更是未检测出该菌属。有研究^[36]表明，该菌属为 AOB 细菌，这说明随着反应器的运行，AOB 逐渐被淘汰。反应器内还存在着具有硝化作用的 *Nitrospira*，虽然其丰度随着反应器的运行而增加，但仍处于较低水平。在 S4~S7 中，*Nitrospira* 在 S7 中的丰度最高，但也仅为 0.77%，这也从生物学角度解释了为何 R₃ 出水的硝态氮浓度要高于 R₂。在 R₂ 和 R₃ 启动的不同时期均检测到了硝化细菌，这可能是由反应器进水中残留的溶解氧造成的。以往学者也均在研究发现了这一现象。例如，王晓瞳等^[37]在采用上流式生物滤池启动 Anammox 反应器的过程中发现反应器中微生物结构分层明显，底层污泥中主要以硝化菌和异养菌为主；吴珊等^[38]在 Anammox 反应器运行过程中也发现体系中存在硝化细菌。与此同时，S4~S7 中也均检测到了具有反硝化作用的 *Denitratisoma*^[39]，且随着反应器的运行呈现出增加的趋势，其丰度在 S6 和 S7 中分别达到 0.94% 和 3.04%。这可能是由 AOB 等微生物死亡后残留的有机物所导致。总的来说，随着反应器的运行，AnAOB 逐渐在 R₂ 和 R₃ 中富集，而不能适应环境的菌种逐渐被淘汰。

根据不同时期的微生物群落结构并结合 3 台反应器的启动过程，可以看出，进水溶解氧对 Anammox 反应器的启动有着较大影响。由于 AOB 和 NOB 均为自养菌，且两者均能在低溶解氧条件下发挥作用^[21]，这就导致即使进水中溶解氧浓度处于较低水平，氨氮和亚硝氮仍能在二者的作用下被转化为硝态氮，使得 AnAOB 缺少营养基质而难以生长，进而加长启动时间。对此，可通过

适当提高进水基质浓度来抑制硝化菌的活性,故高基质暴露水平培养方式下更有利于 AnAOB 的快速富集培养^[40]。而在高基质暴露水平下, AOB 和 NOB 活性在较高的 FA 和低溶解氧的双重作用下受到抑制^[19,41],减少二者与 AnAOB 对基质的竞争,从而缩短启动时间。

3 结论

1) 采用 UASB 反应器接种湿地底泥和混合污泥(厌氧颗粒污泥与湿地底泥的污泥浓度比值为 1:1)成功启动了 Anammox 反应器,但采用厌氧颗粒污泥启动 Anammox 反应器则失败;接种混合污泥的反应器开始展现厌氧氨氧化反应特性的时间(125 d)明显短于接种湿地底泥的反应器(155 d);反应器启动成功后逐步提高进水负荷,最终在进水 NLR 为 $0.275 \text{ kg} \cdot (\text{m}^3 \cdot \text{d})^{-1}$ 条件下,接种湿地底泥和混合污泥的 Anammox 反应器中的 TN 去除率分别达到 74.49% 和 67.12%。

2) 湿地底泥中的原生 AnAOB 含量高于处理高浓度有机废水的厌氧颗粒污泥;在接种混合污泥的反应器中,厌氧颗粒污泥可作为 AnAOB 的载体,又因其良好的沉降性能,故能够减少 AnAOB 流失,从而缩短 Anammox 反应器启动时间。

3) 培养前后反应器内微生物群落结构发生了较大变化。接种湿地底泥和混合污泥的 Anammox 反应器中 *Planctomycetes* 门的丰度增长明显, *Bacteroidota* 门的丰度则呈现下降趋势,反应器内的 AnAOB 为 *Candidatus_Brocadia*, 其丰度于第 221 天分别达到 9.82% 和 10.70%。

参考文献

- [1] KARTAL B, KUENEN J G, LOOSDRECHT M C M V. Sewage mainstream nitrogen removal from municipal wastewater with anammox-based processes[J]. *Water Environment Research*, 2020, 92(11): 1899-1909.
- [2] LI B J, WANG Y, WANG W H, et al. High-rate nitrogen removal in a continuous biofilter anammox reactor for treating low-concentration nitrogen wastewater at moderate temperature[J]. *Bioresource Technology*, 2021, 337: 125496.
- [3] LIU Y X, LIU W, LI Y Y, et al. Layered inoculation of anaerobic digestion and anammox granular sludges for fast start-up of an anammox reactor[J]. *Bioresource Technology*, 2021, 339: 125573.
- [4] KANG D, LI Y Y, XU D D, et al. Deciphering correlation between chromaticity and activity of anammox sludge[J]. *Water Research*, 2020, 185: 116184.
- [5] KWAK W, ROUT P R, LEE E, et al. Influence of hydraulic retention time and temperature on the performance of an anaerobic ammonium oxidation fluidized bed membrane bioreactor for low-strength ammonia wastewater treatment[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2020, 386: 123992.
- [6] MARIUSZ T, GRZEGORZ C, ALEKSANDRA Z B. Influence of temperature and pH on the anammox process: A review and meta-analysis[J]. *Chemosphere*, 2017, 182: 203-214.
- [7] 汪瑶琪. 有机物对厌氧氨氧化反应的影响及其微生物研究[D]. 苏州: 苏州科技大学, 2018.
- [8] MA W J, LI G F, HUANG B C, et al. Advances and challenges of anammox-based processes[J]. *Water Environment Research*, 2020, 92(11): 1899-1909.
- [9] 陈文静, 陈圣东, 梁佳茵, 等. Anammox 脱氮工艺启动研究进展[J]. *环境科学与技术*, 2019, 42(11): 130-140.
- [10] 程荟瑜. Anammox-EGSB 反应器启动及回流比对脱氮性能影响研究[D]. 成都: 成都理工大学, 2020.
- [11] 朱晓桐, 于冰洁, 林久淑, 等. Anammox-UASB 反应器启动特性[J]. *环境科学与技术*, 2020, 43(12): 143-150.
- [12] 唐崇俭, 郑平, 陈建伟, 等. 不同接种物启动 Anammox 反应器的性能研究[J]. *中国环境科学*, 2008, 28(8): 683-688.
- [13] 姜晓芬. 河口近岸厌氧氨氧化菌群结构、丰度及活性对盐度变化的响应[D]. 上海: 华东师范大学, 2017.
- [14] ZHENG Y L, HOU L J, LIU M, et al. Dynamics and environmental importance of anaerobic ammonium oxidation (anammox) bacteria in urban river networks[J]. *Environmental Pollution*, 2019, 254(PtA): 112998.
- [15] FU L L, CHEN Y Y, LI S Q, et al. Shifts in the anammox bacterial community structure and abundance in sediments from the Changjiang Estuary and its adjacent area[J]. *Systematic and Applied Microbiology*, 2019, 42(3): 383-396.
- [16] 赵折红, 李月秋, 皮海廷, 等. 三峡库区香溪河沉积物厌氧氨氧化菌的时空分布[J]. *生物学杂志*, 2021, 38(2): 70-74.

- [17] 秦红益. 太湖沉积物厌氧氨氧化细菌分布、多样性及其活性研究[D]. 南京: 南京师范大学, 2017.
- [18] 沈李东. 湿地亚硝酸盐型厌氧氨氧化和厌氧甲烷氧化微生物生态学[D]. 杭州: 浙江大学, 2014.
- [19] ANTHONISEN A C, LOEHR R C, PRAKASAM T B S, et al. Inhibition of nitrification by ammonia and nitrous acid[J]. *Journal - Water Pollution Control Federation*, 1976, 48(5): 835-852.
- [20] LIU G Q, WANG J M. Long-term low DO enriches and shifts nitrifier community in activated sludge[J]. *Environmental Science & Technology*, 2013, 47(10): 5109-5117.
- [21] 李祥, 黄勇, 周呈, 等. 增设回流提高厌氧氨氧化反应器脱氮效能[J]. *农业工程学报*, 2013, 29(9): 178-183.
- [22] 付昆明, 苏雪莹, 王会芳, 等. 内回流对厌氧氨氧化UASB反应器脱氮性能的影响[J]. *中国环境科学*, 2016, 36(12): 3560-3566.
- [23] CHAMCHOI N, NITISORAVUTS S, SCHMIDT J E. Inactivation of anammox communities under concurrent operation of anaerobic ammonium oxidation (anammox) and denitrification[J]. *Bioresource Technology*, 2008, 99(9): 3331-3336.
- [24] ZHU G B, WANG S Y, WANG W, et al. Hotspots of anaerobic ammonium oxidation at land-freshwater interfaces[J]. *Nature Geoscience*, 2013, 6(2): 103-107.
- [25] 张泽文, 李冬, 张杰, 等. 接种单一/混合污泥对厌氧氨氧化反应器快速启动的影响[J]. *环境科学*, 2017, 38(12): 5215-5221.
- [26] 于德爽, 赵丹, 李津, 等. 接种不同污泥源条件下厌氧氨氧化菌的特性[J]. *环境工程学报*, 2013, 7(11): 4339-4345.
- [27] 明大成. Anammox反应器的快速启动及有机物影响脱氮性能的研究[D]. 湘潭: 湘潭大学, 2018.
- [28] 郑林雪, 李军, 胡家玮, 等. 同步硝化反硝化系统中反硝化细菌多样性研究[J]. *中国环境科学*, 2015, 35(1): 116-121.
- [29] SPEIRS LACHLAN B M, RICE DANIEL T F, PETROVSKI S, et al. The phylogeny, biodiversity, and ecology of the *chloroflexi* in activated sludge[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10: 2015.
- [30] TOMONORI K, SHOTA Y, NORIATSU O, et al. Ecophysiological role and function of uncultured *chloroflexi* in an anammox reactor[J]. *Water Science and Technology*, 2012, 66(12): 2256-2561.
- [31] BEATRIZ F G, MICHAEL R, MARGARETE S, et al. Ecology of marine bacteroidetes: A comparative genomics approach[J]. *The ISME Journal*, 2013, 7(5): 1026-1037.
- [32] SUN H M, ZHOU Q, ZHAO L, et al. Enhanced simultaneous removal of nitrate and phosphate using novel solid carbon source/zero-valent iron composite[J]. *Journal of Cleaner Production*, 2021, 289: 125757.
- [33] CHEN C, GUO W S, NGO H H, et al. Evaluation of a sponge assisted-granular anaerobic membrane bioreactor (SG-AnMBR) for municipal wastewater treatment[J]. *Renewable Energy*, 2017, 111: 620-627.
- [34] WANG C, LIU S, XU X, et al. Achieving mainstream nitrogen removal through simultaneous partial nitrification, anammox and denitrification process in an integrated fixed film activated sludge reactor[J]. *Chemosphere*, 2018, 203: 457-466.
- [35] DU R, CAO S B, LI B K, et al. Performance and microbial community analysis of a novel DEAMOX based on partial-denitrification and anammox treating ammonia and nitrate wastewaters[J]. *Water Research*, 2017, 108: 46-56.
- [36] ZHAO L, FU G P, WU J F, et al. Bioaugmented constructed wetlands for efficient saline wastewater treatment with multiple denitrification pathways[J]. *Bioresource Technology*, 2021, 335: 125236.
- [37] 王晓曦, 杨宏, 苏杨, 等. 生物滤池快速启动ANAMMOX运行策略及菌群特征[J]. *环境科学*, 2020, 41(7): 3345-3355.
- [38] 吴珊, 王淑雅, 王芬, 等. 温度对ANAMMOX生物膜工艺的脱氮影响与菌群结构分析[J/OL]. *环境科学*, 2021: 1-11[2021-09-01]. <https://doi.org/10.13227/j.hjcx.202105280>.
- [39] ZHANG X J, ZHANG N, CHEN C, et al. Long-term impact of sulfate on an autotrophic nitrogen removal system integrated partial nitrification, anammox and endogenous denitrification (PAED)[J]. *Chemosphere*, 2019, 235: 336-343.
- [40] 陈方敏, 高佳琦, 黄勇, 等. 基质暴露水平对ANAMMOX微生物活性及生物量的影响[J]. *环境科学*, 2019, 40(11): 5066-5072.
- [41] 汪倩, 宋家俊, 郭之晗, 等. 低基质浓度下生物膜亚硝化工艺的快速启动及其运行效能[J]. *环境工程学报*, 2021, 15(7): 2512-2521.

(责任编辑: 曲娜)

Start up characteristics of Anammox reactor inoculated with wetland sediment

FAN Shenyi^{1,2}, CHENG Zibo^{1,3}, XIAO Fuyao¹, WU Hao¹, ZOU Hua^{1,2,4,*}

1. School of Environmental and Civil Engineering, Jiangnan University, Wuxi 214122, China

2. Jiangsu Key Laboratory of Anaerobic Biotechnology, Wuxi 214122, China

3. Co. Ltd. of Suzhou Ruicheng Environmental Technology, Suzhou 215500, China

4. Jiangsu Collaborative Innovation Center of Technology and Material of Water Treatment, Suzhou University of Science and Technology, Suzhou 215009, China

*Corresponding author, E-mail: zouhua@jiangnan.edu.cn

Abstract Anaerobic granular sludge, wetland sediment and their mixture (SS ratio of 1:1) were used as inoculated sludge to start the Anammox reactor in three UASB tanks, and the feasibility of starting Anammox reactor with wetland sediment as inoculum was investigated. The results showed that the USAB inoculated with anaerobic granular sludge didn't present the obvious Anammox reaction characteristics after 183 days of start-up operation. The USAB inoculated with mixed sludge began to show obvious Anammox reaction characteristics on day 125, which was shorter than USAB inoculated with wetland sediment on day 155. After the start-up and stable operation of the Anammox reactor, the total nitrogen concentration in the effluent could be reduced to less than $90 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ under the conditions of the total nitrogen concentration in the influent of $275 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ and the load of $0.275 \text{ kg}\cdot(\text{m}^3\cdot\text{d})^{-1}$. The TN removal rates of the Anammox reactor inoculated with wetland sediments and mixed sludge reached 74.49% and 67.12%, respectively. The high-throughput results showed that the Anammox bacteria in the two reactors were *Candidatus Brocadia*, and their abundances reached 9.82% and 10.70%, respectively.

Keywords Anammox; wetland sediment; start process; microbial community