

DOI:10.19853/j.zgjsps.1000-4602.2025.05.010

厌氧氨氧化膜生物反应器的快速启动和稳定运行

庄彦华¹, 唐燕华², 罗芷瑶², 夏阳光², 陶昱明¹, 杨小丽²

(1. 南京市给排水工程设计院有限公司, 江苏 南京 210036; 2. 东南大学 土木工程学院, 江苏 南京 211189)

摘要: 厌氧氨氧化(Anammox)作为一种节能高效的新型脱氮工艺,启动缓慢和难以稳定运行是限制其工程应用的主要因素。为此,提出了耦合膜生物反应器(MBR)的Anammox快速启动与稳定运行策略,采用以模拟废水为进水的中试规模连续流反应器,接种污水处理厂厌氧池污泥,在温度为 $(32.1\pm 1.6)^\circ\text{C}$ 、 $\text{pH}=7.40\sim 8.75$ 的条件下,通过连续搅拌、提高进水基质浓度,成功缩短启动时间至135 d。系统稳定运行时, NH_4^+-N 、 NO_2^--N 平均去除率分别达到95.61%和92.17%,通过阶梯式提高进水基质浓度和缩短水力停留时间(HRT),TN容积去除负荷(NRR)最高可达 $1.36\text{ kg}/(\text{m}^3\cdot\text{d})$,反应器脱氮性能良好。经驯化培养,系统培育出*Candidatus_Brocadia*、*Candidatus_Jettenia*和*Candidatus_Kuenenia*三种Anammox功能菌,三种细菌在膜组件表面与颗粒污泥中的总丰度分别达到20.78%和22.79%,实现了不同生态位上的高度富集,强化了多种Anammox功能菌的协同脱氮效果。

关键词: 厌氧氨氧化(Anammox); 膜生物反应器(MBR); 快速启动; 酶活性; 微生物群落结构

中图分类号: TU992 文献标识码: A 文章编号: 1000-4602(2025)05-0072-09

Rapid Start-up of Anammox-MBR Process and Its Stable Operation

ZHUANG Yan-hua¹, TANG Yan-hua², LUO Zhi-yao², XIA Yang-guang²,
TAO Yu-ming¹, YANG Xiao-li²

(1. Nanjing Water Supply and Drainage Engineering Design Institute Co. Ltd., Nanjing 210036, China; 2. School of Civil Engineering, Southeast University, Nanjing 211189, China)

Abstract: Anaerobic ammonia oxidation (Anammox) represents an innovative and highly efficient nitrogen removal process that also offers significant energy savings. However, the long start-up time and challenges in achieving stable operation are primary obstacles hindering its widespread engineering application. Therefore, a strategy for the rapid start-up and stable operation of an Anammox process coupled with membrane bioreactor (MBR) was proposed. A pilot-scale continuous-flow reactor was employed, utilizing simulated wastewater as the media. The reactor was seeded with anaerobic sludge from a sewage treatment plant, operating at temperature of $(32.1\pm 1.6)^\circ\text{C}$ and pH range of 7.40 to 8.75. By implementing continuous stirring and gradually increasing the media concentration, the start-up period was successfully reduced to 135 days. When the system operated stably, the average removal rates of NH_4^+-N and NO_2^--N reached 95.61% and 92.17%, respectively. By stepwise increasing the media

通信作者: 庄彦华 E-mail: 13913954712@163.com

concentration and shortening the hydraulic retention time (HRT), the total nitrogen volumetric removal rate (NRR) was enhanced to as high as $1.36 \text{ kg}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$. Consequently, the reactor demonstrated excellent denitrification performance. Three Anammox bacterial genera, namely *Candidatus_Brocadia*, *Candidatus_Jettenia*, and *Candidatus_Kuenenia*, were successfully cultured following a domestication process. The total abundance of the three bacterial genera on the surface of the membrane module and within the granular sludge reached 20.78% and 22.79%, respectively. This significant enrichment in distinct ecological niches enhanced the synergistic nitrogen removal efficiency among various Anammox functional bacteria.

Key words: anaerobic ammonia oxidation (Anammox); membrane bioreactor (MBR); rapid start-up; enzyme activity; microbial community composition

厌氧氨氧化(Anammox)能够在无需外加碳源的情况下实现高效自养脱氮,适用于低碳氮比城镇污水处理^[1]。但厌氧氨氧化细菌(AnAOB)世代周期长、生长速率低,倍增时间为 $10\sim 30 \text{ d}^{[2-3]}$,对环境条件要求严苛,且只有菌种细胞密度高达 10^{10} 个/mL以上时才能显现活性^[4],因此其富集启动十分缓慢,这限制了该工艺的大规模应用^[5]。此外,AnAOB主要以颗粒污泥形式存在,在面对污水水质与水量冲击时会出现颗粒污泥结构松散、破碎等问题^[6]。因此,寻找能够使系统AnAOB快速富集与稳定运行,同时有效维持其生物量的启动方法,对Anammox技术在实际工程中的推广应用具有重要意义。

笔者将Anammox与膜生物反应器(MBR)耦合,构建Anammox-MBR系统,利用MBR的高效截留作用,建立AnAOB颗粒污泥与生物膜复合富集体系;探究在启动与稳定运行阶段梯度提高进水基质浓度与缩短水力停留时间(HRT)等方式对反应器污染物去除特性及AnAOB富集的影响;利用扫描电子显微镜(SEM)观察颗粒污泥形态特征,并通过关键酶活性变化和微生物群落结构解析其反应机理,为工程应用中AnAOB快速富集、系统启动与长期稳定运行提供理论指导。

1 材料与方法

1.1 试验装置与接种污泥

Anammox-MBR为不锈钢圆柱体,有效体积为176.6 L,设有溢流口控制反应器液位,内置加热棒和在线监测仪,试验装置如图1所示。进水自反应器底部由泵泵入,出水经平板膜组件由泵抽出。接种污泥取自南京某污水处理厂UCT(University of Cape Town)工艺生化池厌氧段,污泥浓度约为3 500

mg/L。

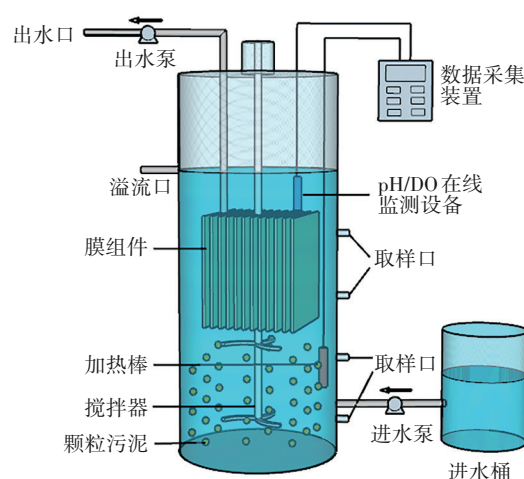


图1 试验装置示意

Fig.1 Schematic diagram of the experimental setup

1.2 试验水质与运行条件

试验采用连续进水方式,以模拟废水为进水。 NH_4^+-N 和 NO_2^--N 分别由 NH_4Cl 和 NaNO_2 提供,基质浓度比例为1:1。无机碳源、缓冲剂、微量元素等成分的组成及浓度参照文献[7]设置。

试验共分为3个阶段,启动期(阶段I),通过搅拌耦合MBR的截留作用,对菌种进行筛选并富集AnAOB;稳定运行期(阶段II和阶段III),停止搅拌,便于形成颗粒污泥。反应器启动期,为使污泥快速适应环境,采用较长HRT和低进水基质浓度;反应器稳定运行期,为促进菌种快速富集,提高其脱氮和抗冲击负荷能力,通过阶梯式循序提高进水基质浓度(阶段II)和缩短HRT(阶段III)的方式提高进水负荷。整个运行阶段,反应器水温通过加热棒控制为 $(32.1 \pm 1.6)^\circ\text{C}$, $\text{pH}=7.40\sim 8.75$,各阶段运行条

件如表1所示。

表1 Anammox-MBR启动和稳定运行各阶段条件

Tab.1 Operating conditions of Anammox-MBR during start-up and stable operation stages

运行阶段		基质浓度/(mg·L ⁻¹)		HRT/h	搅拌转速/(r·min ⁻¹)	运行时间/d
		NH ₄ ⁺ -N	NO ₂ ⁻ -N			
I	I-1	20	20	24	150	1~94
	I-2	40	40	24	150	95~135
II	II-1	60	60	24	—	136~153
	II-2	80	80	24	—	154~212
	II-3	120	120	24	—	213~292
III	III-1	120	120	12	—	293~431
	III-2	120	120	8	—	432~460
	III-3	120	120	4	—	461~480

1.3 分析项目与方法

1.3.1 常规指标分析测试方法

TN、COD、NH₄⁺-N、NO₃⁻-N、NO₂⁻-N、MLSS、MLVSS等参考《水和废水监测分析方法》(第4版)进行检测;pH、溶解氧和温度采用PHG-217C在线监测仪进行检测。

1.3.2 污泥形态表征

取反应器稳定运行第460天的MBR膜表面污泥和系统内颗粒污泥,采用SEM观察分析表面微观形态与结构特征。

1.3.3 关键酶活性测定与微生物群落结构分析

分别取反应器启动初期(第0天)、启动成功(第135天)和各阶段稳定运行期(第292天和第480天)的膜表面污泥和颗粒污泥,对亚硝酸还原酶(NIR)、胍脱氢酶(HDH)、联氨合成酶(HZS)及脱氢酶(DHA)进行检测,按照检测试剂盒标准方法(ZCIBIO,中国)进行测定;采用CTAB或SDS法对样本的基因组DNA进行提取,以带Barcode的特异引物,使用Illumina NovaSeq 6000进行上机测序,测定样品的微生物群落结构。

2 结果与分析

2.1 Anammox-MBR快速启动和运行特征

Anammox-MBR中试系统启动和稳定运行各阶段的氮素转化与去除情况如图2所示。45~76 d与213~255 d因疫情防控需要停止进水,324~338 d与380~404 d因加热棒故障,水温分别为20.6~25.6℃与12.4~15.9℃。其中TN容积去除负荷(NRR)、TN进水负荷(NLR)、TN去除率(NRE)用于表征TN的去除情况。

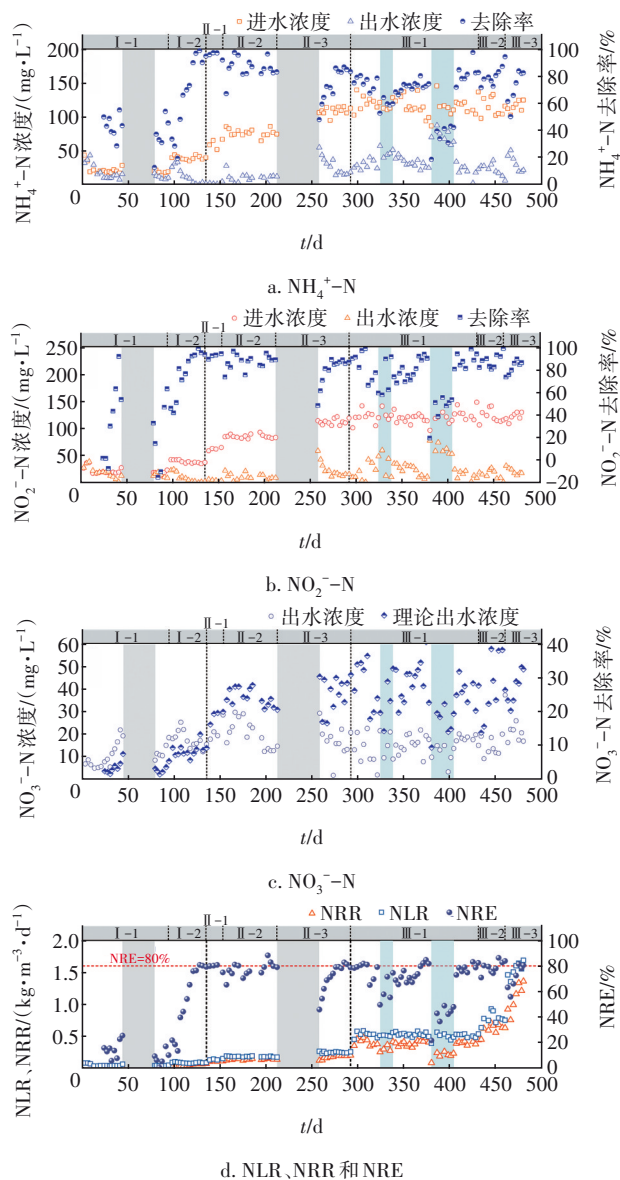


图2 Anammox-MBR启动和稳定运行各阶段的氮素转化与去除

Fig.2 Nitrogen conversion and removal in Anammox-MBR during start-up and stable operation stages

2.1.1 启动期(阶段I)

由图2可知,经过约135 d,Anammox-MBR成功启动,且可分为活性迟滞期、活性展现期和活性提升期3个时期。1~21 d,反应器为活性迟滞期,该阶段出水各项指标呈现明显波动,出水NO₃⁻-N浓度较低且无明显变化,表明此时反应器中没有发生厌氧氨氧化反应。21~94 d,反应器内NH₄⁺-N与NO₂⁻-N去除率开始同步上升,同时NO₃⁻-N生成量呈升高趋势,表明反应器开始出现厌氧氨氧化反应。但出水NO₃⁻-N浓度为(12.83±4.80) mg/L,高于Anammox

反应中的理论值(5.09 ± 2.43) mg/L,分析认为是由于进水DO偏高, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 与 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 通过硝化反应生成 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 。因此,第95天开始,进水投加 Na_2SO_3 进行化学除氧,控制 $\text{DO} < 0.2$ mg/L,与此同时,提高进水氮负荷以促进AnAOB快速富集增殖。受进水氮负荷突升的影响, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 去除率在95~104 d均呈现短暂下降趋势,分别由33.74%和45.91%降至19.57%和41.82%。当AnAOB逐渐适应后,Anammox活性恢复,反应器性能呈现快速提高趋势并在短时间内达到稳定,说明进水基质浓度提升加速了菌种的生长和富集^[8]。活性提升期末, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 去除率分别达到(94.16 ± 3.98)%和(94.43 ± 2.72)%,出水 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 随着Anammox活性增强接近理论值,NRE稳定在(80.08 ± 0.80)%,因此认为Anammox-MBR反应器启动成功。既有研究^[9]表明,AnAOB富集培养通常需200~300 d,本研究的启动时间较之大大缩短。这可能是因为,在启动阶段采用厌氧搅拌与MBR耦合的方式预筛选菌种,一方面,反应器内微生物通过搅拌与底物充分接触,污泥在剪切力作用下以絮状为主,避免形成包裹大量杂菌的颗粒,导致难以筛除;另一方面,MBR可以防止世代周期较长的AnAOB流失。Tao等^[10]发现使用MBR替代SBR启动Anammox,能将Anammox活性提高19倍,进一步说明了MBR可以更好地富集AnAOB,与本研究结论一致。

2.1.2 稳定运行期(阶段II和III)

反应器启动成功后,阶段II(136~292 d)通过阶梯式提高进水基质浓度进一步富集AnAOB。阶段II-1,反应器稳定运行,进水 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 浓度为(60.88 ± 6.86)和(62.28 ± 2.52) mg/L, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 去除率分别达到(95.61 ± 2.48)%和(92.17 ± 2.11)%; $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 出水浓度相较于理论值不断降低,表明反应器内Anammox活性提升的同时,存在其他脱氮途径消耗 $\text{NO}_3^-\text{-N}$,考虑到反应器长期缺乏外源有机物,推测可能发生内源反硝化脱氮^[11-12]。在阶段II-2,将进水 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 浓度提升至(76.35 ± 5.07)和(85.31 ± 3.50) mg/L,此时系统对 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 的去除效果有所下降($p < 0.05$),平均去除率分别降至(87.46 ± 5.56)%和(88.24 ± 4.52)%;与此同时,出水 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 浓度由17.77 mg/L降至14.69 mg/L,说明反硝化作用增强,有利于Anammox反应产生的 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 通过反硝化去除。阶

段II-3,由于进水 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 浓度分别提升至(114.01 ± 4.60)和(114.30 ± 6.23) mg/L,且反应器经过了一段时期的无进水饥饿运行, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 去除率较低,经过18 d的连续运行,反应器性能逐渐恢复, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 去除率最终分别稳定在(85.09 ± 1.68)%和(86.33 ± 1.42)%,与阶段II-2无显著差异;出水 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 浓度稳定在(16.74 ± 3.89) mg/L,低于理论计算值,说明反应器内存在稳定的协同脱氮途径。进一步分析发现,通过阶梯式提高进水基质浓度促进Anammox反应的同时,系统中产生的 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 浓度也相应升高,且始终低于理论出水浓度,反硝化作用增强, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 去除率略有下降并逐渐趋于稳定;但由于进水基质浓度提升,总体上Anammox的污染物去除负荷和去除能力均得到显著提升,AnAOB活性也相应不断增强。

反应器运行阶段III(293~480 d),在进水基质浓度基本不变的情况下阶梯式缩短HRT,提高进水氮负荷,进一步富集纯度更高的AnAOB颗粒污泥。根据反应器HRT梯度,可将其划分为3个时期。此阶段存在两段低温期,在低温期内 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 去除率有所下降,但当温度回升后反应器能迅速从低温抑制中恢复,说明低温条件下Anammox仍保留部分活性,系统具有较强的抗冲击能力。不同HRT下稳定运行时 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 的平均去除率与容积去除负荷如图3所示。

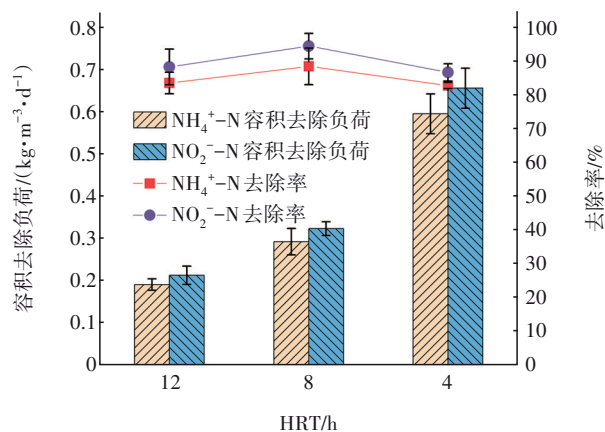


图3 Anammox-MBR在不同HRT下的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 去除率及容积去除负荷

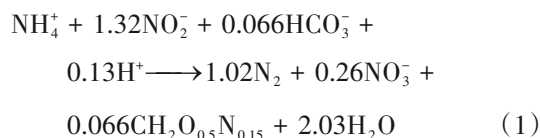
Fig.3 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ and $\text{NO}_2^-\text{-N}$ removal rates and volumetric removal rates of Anammox-MBR under different HRT

由图3可知,随着HRT缩短, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 去除率没有显著性差异($p > 0.05$),但容积去除负荷

显著增加($p < 0.05$)。与HRT=12 h相比,当HRT为8和4 h时, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 容积去除负荷分别增加了52.60%和210.87%,而 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 容积去除负荷分别增加了51.40%和207.52%,TN的NRR最高可达1.36 kg/($\text{m}^3 \cdot \text{d}$)。可见,Anammox-MBR显著提高了系统的脱氮能力,NRR高于普通硝化-反硝化工艺^[13-14]。分析认为,一方面,缩短HRT使反应器内上升流速增大,不仅可以有效促进污泥颗粒化、筛选出活性更强的菌种^[15],而且加速了系统内部的物质传递过程、促进生物反应;另一方面,MBR使得系统在HRT缩短的同时仍可有效截留世代周期较长的AnAOB,进一步保障了脱氮效率^[16]。

2.2 化学计量比分析

Anammox 化学反应方程式如下:



$\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 同时被去除并生成一定比例的 $\text{NO}_3^-\text{-N}$,理论计量比为 $R_1(\Delta\text{NO}_2^-\text{-N}:\Delta\text{NH}_4^+\text{-N})=1.32$ 、 $R_2(\Delta\text{NO}_3^-\text{-N}:\Delta\text{NO}_2^-\text{-N})=0.20$ 。因此, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 以及 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 三者之间的实测值与理论值对比可表征Anammox-MBR系统中厌氧氨氧化反应进展情况,结果如图4所示。

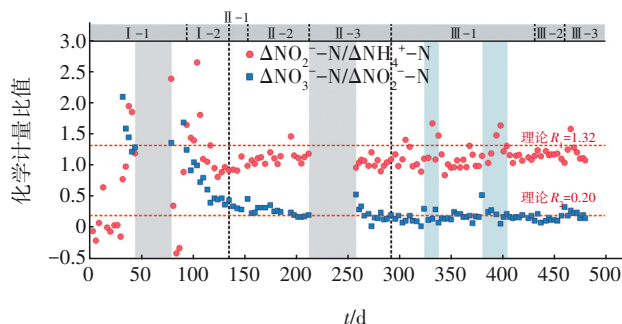


图4 Anammox-MBR启动和运行各阶段氮素化学计量比变化

Fig.4 Change in nitrogen stoichiometric ratio in each stage of start-up and operation of Anammox-MBR

装置启动初期(阶段I-1),反应器内三氮比值变化无明显规律,该阶段反应器处于活性迟滞期,在进水高DO浓度条件下,系统中大部分 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 被氧化为 $\text{NO}_3^-\text{-N}$,AnAOB活性较低。阶段I-2,通过化学除氧并提高进水底物浓度后,促进了AnAOB生长, R_1 和 R_2 逐渐趋于理论值,系统展现出较高的Anammox活性。

反应器进入稳定运行期II和III后,分别通过阶梯式提高进水底物浓度和缩短HRT,AnAOB逐渐富集并占据优势。 R_1 和 R_2 均逐渐趋于稳定,其中 R_2 稳定在理论值(0.20)左右,可见,系统形成稳定的Anammox脱氮效应。值得指出的是,本研究 R_1 一直略低于理论值,这是由于为使 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 得到充分反应,进水 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 比例控制为1:1,原始基质 R_1 小于理论值;此外,进水添加 Na_2SO_3 除氧生成 SO_4^{2-} ,在硫酸盐型还原菌作用下 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 被氧化生成 $\text{NO}_2^-\text{-N}$,进而增加了 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 消耗量。

2.3 污泥微观形态特征分析

取系统稳定运行至第460天的MBR膜表面污泥和系统内颗粒污泥,通过SEM观察污泥表面微观形态,结果见图5。

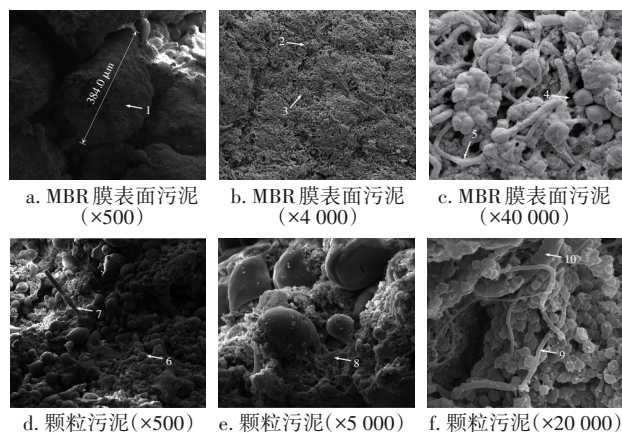


图5 厌氧氨氧化污泥SEM照片

Fig.5 SEM photos of Anammox sludge

由图5(a)可知,MBR膜表面主要由“团簇”状生物聚集体构成。选取某一处长度为384.0 μm的聚集体,将其表面紧密平实处(箭头1处)放大4000倍[图5(b)]及40000倍[图5(c)],可见,膜表面污泥主要由形状大小一致、分布均匀的球菌(箭头2、4处)和丝状菌(箭头3、5处)构成。据文献报道^[17],AnAOB形态多样,多呈不规则的球状、卵状,常聚集生活,可知这些细菌形态和群聚程度符合AnAOB及其共生菌的特点。球菌紧密黏连,呈“团簇”状分布,团状物之间分布着气体孔道,用于传输基质及释放气体,这是因为AnAOB自身能分泌胞外聚合物(EPS),产生黏连作用^[18],同时能帮助细胞表面形成多孔结构,促进微生物聚集。由于膜组件具有良好的截留作用,其表面污泥中球菌聚集度高且结构紧密。膜表面污泥中同样含量较多的是缠绕、包裹着

生物聚集体的丝状菌,它们连接着不同球菌,呈现稳定的共生状态,为细菌进行胞外营养转移或电子传递提供通道,这与苏雪莹等^[19]相关研究一致,认为少量丝状菌有助于其他菌种在填料上的固定,与附在其上的菌胶团细菌形成共生的微生物生态体系。

图5(d)为Anammox系统中颗粒污泥放大500倍的表面形态,对比MBR膜表面污泥发现,颗粒污泥表面形状不规则,球菌大小差异明显,且将杆菌等其他细菌包裹其中(箭头7处);表面分布着较多不规则气道,孔隙较大,更有利于基质传输^[20]。选取图5(d)箭头6处放大5000倍[图5(e)],发现大球菌表面黏连着很多微小球菌。进一步选取箭头8处放大至20000倍[图5(f)],观察到紧密连接、形状均匀的小球菌。此外,颗粒污泥表面含有少量丝状菌(箭头9、10处)。

2.4 脱氮机理解析

在系统启动和稳定运行阶段,对Anammox反应过程中的关键酶活性和微生物群落结构进行采样分析。反应器接种污泥标记为AMX0,启动成功(第135天)和各阶段稳定期(第292天和第480天)的膜表面污泥和颗粒污泥样本,分别标记为AMX11、AMX12、AMX21、AMX22和AMX31、AMX32。

2.4.1 酶活性变化

NIR在Anammox和反硝化代谢过程中将 NO_2^- -N转化为 NO ,其活性表征了AnAOB与反硝化细菌总体活性;HZS和HDH为AnAOB中关键酶,HZS表征Anammox反应中 NO 和 NH_4^+ -N转化成 N_2H_4 的过程,HDH表征 N_2H_4 转化为 N_2 的过程,是Anammox反应的限速步骤,对Anammox活性更具指示性^[21];DHA表征反应器内有机物降解效果。不同阶段的酶活性变化如图6所示。

由图6可知,系统成功启动后,各阶段NIR活性较初始接种污泥变化不大,这是因为初始接种污泥为运行良好的厌氧池活性污泥,其中存在反硝化过程,NIR本身活性已较高。但各阶段HZS和HDH活性与初始接种污泥相比均有所提升, NO_2^- -N还原生成的 NO 和 NH_4^+ -N在HZS作用下生成 N_2H_4 , N_2H_4 在HDH作用下转化为 N_2 脱除, NH_4^+ -N去除率升高,说明Anammox活性稳定提升。由图6还可以看出,各阶段MBR膜表面HZS活性明显高于颗粒污泥($p < 0.05$),HDH活性较颗粒污泥略有提高,说明MBR

膜表面Anammox反应活性高于颗粒污泥,这可能是由于水力剪切作用,不仅促进了膜表面生物膜更新,而且有利于物质传递。结合污泥微观形态分析,稳定运行的膜表面污泥中球菌聚集度较颗粒污泥更高,且结构更紧密,同样证明MBR膜表面Anammox反应活性更高。

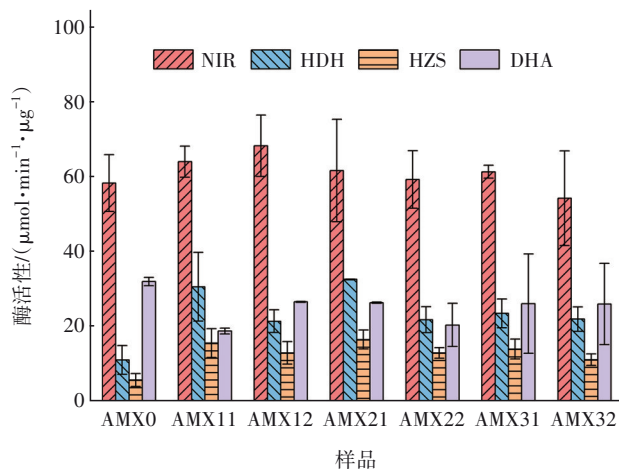


图6 Anammox-MBR不同阶段关键酶活性变化

Fig.6 Change in key enzyme activities in different stages of Anammox-MBR

值得注意的是,相较于阶段I,阶段II的DHA活性在MBR膜表面升高,在颗粒污泥中降低,而MBR膜表面和颗粒污泥的NIR、HZS和HDH活性无明显差异,这说明提高进水基质浓度对MBR膜表面反硝化促进作用更明显。阶段III(293~480 d)运行结束时,MBR膜表面污泥中HDH显著下降($p < 0.05$),而颗粒污泥中仍保持不变,推测HRT对膜表面联氨脱氢过程影响更为显著。最终DHA活性不再有明显变化,可知Anammox和反硝化反应较为稳定,进一步说明反应器内存在稳定的协同脱氮机制。

2.4.2 微生物群落结构分析

通过研究反应器启动和运行过程中微生物群落结构的组成和群落演替过程,推断反应器运行情况,以期探明AnAOB富集过程。

① 菌群丰度及多样性

不同阶段样品 α 多样性指数见表2。可知,Anammox-MBR启动成功后(第135天),与接种污泥相比,膜表面污泥样本的OTUs、Chao1与ACE指数均明显降低,而颗粒污泥样本的指数则大幅上升,说明反应器启动过程提高了颗粒污泥中微生物菌

群的丰度,降低了膜表面污泥中微生物丰度。推测这是由于启动过程中进水条件变化促进了悬浮系统中的多种菌群增殖,而MBR膜表面Anammox反应活性高,对AnAOB的富集程度高,因此微生物丰度较低。

表2 Anammox-MBR中不同阶段样品 α 多样性指数

Tab.2 α diversity index of samples in different stages of Anammox-MBR

样品名称	OTUs	Shannon	Simpson	Chao1	ACE	Coverage
AMX0	1 785	8.185	0.990	2 038.530	2 282.910	0.983
AMX11	1 545	5.316	0.912	1 589.218	1 661.093	0.996
AMX12	3 310	7.504	0.953	3 335.183	3 415.269	0.994
AMX21	1 552	5.837	0.949	1 597.357	1 690.597	0.996
AMX22	1 643	5.875	0.944	1 687.950	1 781.738	0.996
AMX31	784	5.412	0.942	835.782	910.108	0.995
AMX32	1 022	6.260	0.963	1 079.809	1 164.656	0.994

注: OTUs表征直观检测到的物种数目;Shannon表征样品中的分类总数及其占比;Simpson表征群落内物种分布多样性和均匀度;Chao1用于估计群落样品中包含的物种总数;ACE用于估计群落中OTUs数目;Coverage表征样本测序深度指数。

当系统达到稳定后(第292天),膜表面污泥中各项指数未发生明显变化,而颗粒污泥中OTUs、Chao1、ACE与Shannon指数均显著降低,即微生物丰富度和多样性有所下降,这是因为搅拌筛选后的絮状污泥在颗粒化过程中不断富集Anammox菌种、淘汰劣菌,功能菌优势凸显。随着系统运行趋于结束(第480天),膜表面污泥与颗粒污泥中OTUs、Chao1与ACE指数均显著降低,说明系统在不同生态位中均强化了AnAOB富集程度。

由表2还可以看出,各阶段膜表面污泥和颗粒污泥中Shannon指数较接种污泥均明显下降,生物多样性降低,说明MBR在截留富集微生物时能有效缩短菌种筛选时间,提高富集程度。此外,各阶段Simpson指数、Coverage指数无显著差异,表明各阶段样品分布均匀度与测序深度相似,测序结果可以有效反映污泥中微生物菌群分布情况。

② 微生物菌群在属水平的比较

不同样品在属水平上的微生物群落结构分布如图7所示,检测到*Candidatus_Brocadia*、*Candidatus_Jettenia*和*Candidatus_Kuenenia*三种AnAOB。

当系统运行至第292天时,AnAOB丰度达到最高水平,相对丰度从0%上升至20.78%(MBR膜表

面污泥)和22.79%(颗粒污泥),Anammox功能菌高度富集,且丰度显著高于其他相关研究^[22]。在Anammox-MBR运行过程中,AnAOB在系统中总丰度增长幅度差异明显。膜表面污泥在运行至第135天和第292天时,AnAOB丰度分别增长了10.42%和10.36%,而颗粒污泥中AnAOB丰度分别增长了4.77%和18.02%,这是因为随着进水氮负荷的提高,厌氧氨氧化菌群丰度不断上升。在第480天,AnAOB丰度下降,这是因为进水氮负荷不变而HRT减小,AnAOB抗水力冲击负荷能力较弱,导致Anammox功能菌丰度有所下降,而后保持稳定。MBR膜表面较颗粒污泥AnAOB丰度增加较早,与关键酶分析结果一致。

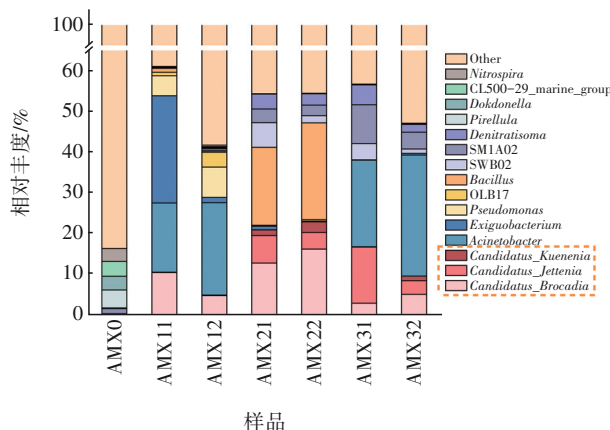


图7 不同样品属水平的微生物群落结构

Fig.7 Microbial community structure at genus level of different samples

占比最高的*Candidatus_Brocadia*偏好于在生物膜中生长,MBR的有效截留使得表面生物膜厚度不断增加,有利于该菌属在其中繁殖。而启动阶段反应器内由于不断进行搅拌并未形成颗粒化污泥,稳定运行后关闭搅拌机,污泥聚集形成颗粒状态后*Candidatus_Brocadia*增殖较快,说明采用MBR和连续搅拌耦合的方式能够大大缩短Anammox启动时间,提高AnAOB富集效果。*Candidatus_Jettenia*在HRT降低后于膜表面的丰度增加,推测其在3种AnAOB中具有较强的抗水力冲击负荷能力,且在膜表面效果更好。一般AnAOB在特定Anammox系统中往往只有一种功能菌占主导地位,而在本研究中MBR表面生物膜与颗粒污泥共存的方式可以富集出多种功能菌,能够有效提高不同条件下的脱氮效率。

值得注意的是,不动杆菌属(*Acinetobacter*)在阶段Ⅰ与阶段Ⅲ结束时的丰度都较高,前者是因为*Acinetobacter*对环境的适应时间较短,后者是因为HRT降低,反硝化作用相对增强,且其在颗粒污泥中丰度高于膜表面污泥,与酶活性分析结果一致。此外,*Bacillus*在第135天并未表现出明显的富集效果,而阶段Ⅱ结束时,在膜表面和颗粒污泥中丰度分别达到19.19%和23.79%。有报道^[23-24]认为*Bacillus*中相关菌种具有硫酸盐型还原功能,能以硫酸盐为电子受体氧化 NH_4^+-N 生成 NO_2^--N ,因此认为该菌属在该阶段的大量富集与进水中投加 Na_2SO_3 除氧生成硫酸盐有关。在第480天,反应体系中未检出*Bacillus*,据研究^[25],HRT越长越有利于*Bacillus*生长,则推测这是由于HRT减小,*Bacillus*菌属生长受到抑制所致。

3 结论

① 采用中试规模的Anammox-MBR,接种污水处理厂厌氧污泥,经过135 d的培养,系统成功启动,有效缩短了Anammox启动时间,并可提升颗粒污泥活性。

② 在480 d的启动和稳定运行过程中,通过阶梯式提高进水底物浓度和缩短HRT,提升反应器运行负荷与脱氮性能,运行结束时NRR最高可达 $1.36 \text{ kg}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$ 。

③ 在MBR膜表面和颗粒污泥中均观察到球状AnAOB,膜表面污泥中“团簇”状球菌聚集度高,表面结构紧密;而颗粒污泥表面形状不规则,且将杆菌等其他细菌包裹其中。

④ Anammox-MBR驯化过程中MBR膜表面污泥和颗粒污泥中AnAOB总丰度分别达到20.78%和22.79%,实现了同一体系不同生态位多种功能菌的高度富集。

参考文献:

[1] KUENEN J G. Anammox bacteria: from discovery to application [J]. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 2008, 6(4): 320-326.

[2] STROUS M, PELLETIER E, MANGENOT S, et al. Deciphering the evolution and metabolism of an anammox bacterium from a community genome [J]. Nature, 2006, 440(7085): 790-794.

[3] 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.

ZHANG Zewen, LI Dong, ZHANG Jie, et al. Effect of seeding single/mixed sludge on rapid start-up of an ANAMMOX reactor [J]. Environmental Science, 2017, 38(12): 5215-5221 (in Chinese).

[4] 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.

LIU Lan, MING Yuzhen, LÜ Aiping, et al. Recent advance on the anaerobic ammonium oxidation bacteria [J]. Acta Microbiologica Sinica, 2021, 61(4): 969-986 (in Chinese).

[5] 蒙小俊, 朱妮. 基于厌氧氨氧化菌特性的富集策略及培养过程分析 [J]. 工业水处理, 2022, 42(8): 34-42.

MENG Xiaojun, ZHU Ni. Enrichment strategy and culture process analysis based on the characteristics of Anammox bacteria [J]. Industrial Water Treatment, 2022, 42(8): 34-42 (in Chinese).

[6] 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.

XU Dongdong, KANG Da, GUO Leiyan, et al. Research progress on Anammox granular sludge [J]. Microbiology China, 2019, 46(8): 1988-1997 (in Chinese).

[7] 傅金祥, 柳溪若, 罗迪, 等. 厌氧活性污泥对闲置厌氧氨氧化污泥再启动影响 [J]. 水处理技术, 2021, 47(12): 87-90, 98.

FU Jinxiang, LIU Xiruo, LUO Di, et al. The influence of anaerobic activated sludge on the restart process of idle Anammox sludge [J]. Technology of Water Treatment, 2021, 47(12): 87-90, 98 (in Chinese).

[8] JIANG H, WANG Z, REN S, et al. Culturing sludge fermentation liquid-driven partial denitrification in two-stage Anammox process to realize advanced nitrogen removal from mature landfill leachate [J]. Journal of Hazardous Materials, 2021, 415: 125568.

[9] 任宏洋, 张代钧, 丛丽影, 等. 一种未见报道的厌氧氨氧化菌分子生物学鉴定 [J]. 环境工程学报, 2008, 2(3): 314-318.

REN Hongyang, ZHANG Daijun, CONG Liying, et al. Identification of an unknown ANAMMOX bacterium by molecular biology [J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2008, 2(3): 314-318 (in Chinese).

[10] TAO Y, GAO D W, FU Y, et al. Impact of reactor

- configuration on anammox process start-up: MBR versus SBR [J]. *Bioresource Technology*, 2012, 104: 73–80.
- [11] XIAO R, NI B J, LIU S T, *et al.* Impacts of organics on the microbial ecology of wastewater anammox processes: recent advances and meta-analysis[J]. *Water Research*, 2021, 191: 116817.
- [12] LI Q, WANG S P, ZHANG P D, *et al.* Influence of temperature on an Anammox sequencing batch reactor (SBR) system under lower nitrogen load [J]. *Bioresource Technology*, 2018, 269: 50–56.
- [13] JIN R C, ZHENG P, HU A H, *et al.* Performance comparison of two anammox reactors: SBR and UBF [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2008, 138(1/3): 224–230.
- [14] 王朝朝, 马骏, 殷春雨, 等. 反硝化颗粒污泥培养及工艺快速启动 [J]. *中国给水排水*, 2021, 37(23): 1–8.
- WANG Zhaozhao, MA Jun, YIN Chunyu, *et al.* Cultivation and fast start-up of denitrifying granular sludge [J]. *China Water & Wastewater*, 2021, 37(23): 1–8 (in Chinese).
- [15] TSUSHIMA I, OGASAWARA Y, KINDAICHI T, *et al.* Development of high-rate anaerobic ammonium-oxidizing (anammox) biofilm reactors [J]. *Water Research*, 2007, 41(8): 1623–1634.
- [16] 刘明辉, 贾秋生, 吴俊康, 等. 厌氧氨氧化工艺启动特性的研究进展 [J]. *应用化工*, 2022, 51(6): 1724–1728.
- LIU Minghui, JIA Qiusheng, WU Junkang, *et al.* Research progress on start-up characteristics of Anammox process [J]. *Applied Chemical Industry*, 2022, 51(6): 1724–1728 (in Chinese).
- [17] RUAN J. Bergey's manual of systematic bacteriology (second edition) volume 5 and the study of actinomycetes systematic in China [J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2013, 53(6): 521–530.
- [18] TANG C J, ZHENG P, WANG C H, *et al.* Performance of high-loaded ANAMMOX UASB reactors containing granular sludge [J]. *Water Research*, 2011, 45(1): 135–144.
- [19] 苏雪莹, 付昆明. 丝状菌在污水处理中的控制与应用 [J]. *水处理技术*, 2015, 41(9): 19–23.
- SU Xueying, FU Kunming. Control and application of filamentous bacteria in wastewater treatment [J]. *Technology of Water Treatment*, 2015, 41(9): 19–23 (in Chinese).
- [20] AN P, XU X C, YANG F L, *et al.* Comparison of the characteristics of anammox granules of different sizes [J]. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 2013, 18(3): 446–454.
- [21] KARTAL B, KELTJENS J T. Anammox biochemistry: a tale of heme c proteins [J]. *Trends in Biochemical Sciences*, 2016, 41(12): 998–1011.
- [22] 马建业, 荣宏伟, 王竞茵, 等. MBR中厌氧氨氧化菌群落结构及膜污染性能研究 [J]. *中国给水排水*, 2021, 37(9): 7–14.
- MA Jianye, RONG Hongwei, WANG Jingyin, *et al.* Microbial community composition and membrane fouling performance of anaerobic ammonia oxidation membrane bioreactor [J]. *China Water & Wastewater*, 2021, 37(9): 7–14 (in Chinese).
- [23] DOMINIKA G, JOANNA M, JACEK M. Sulfate reducing ammonium oxidation (SULFAMMOX) process under anaerobic conditions [J]. *Environmental Technology & Innovation*, 2021, 22: 101416.
- [24] MADANI R M, LIANG J Y, CUI L, *et al.* Novel simultaneous anaerobic ammonium and sulfate removal process: a review [J]. *Environmental Technology & Innovation*, 2021, 23: 101661.
- [25] 杨春璐, 苑美玉, 史荣久, 等. 海域高温油田1株耐高温耐盐硫酸盐还原菌的筛选与生理特性及活性抑制 [J]. *环境科学*, 2018, 39(10): 4783–4792.
- YANG Chunlu, YUAN Meiyu, SHI Rongjiu, *et al.* A thermotolerant and halotolerant sulfate-reducing bacterium in produced water from an offshore high-temperature oilfield in Bohai Bay, China: isolation, phenotypic characterization, and inhibition [J]. *Environmental Science*, 2018, 39(10): 4783–4792 (in Chinese).
-
- 作者简介:** 庄彦华(1983–),男,江西景德镇人,本科,高级工程师,主要从事市政给排水工程设计与研究工作。
- E-mail:** 13913954712@163.com
- 收稿日期:** 2022-10-26
- 修回日期:** 2023-01-24

(编辑: 沈靖怡)