环境科学

ENVIRONMENTAL SCIENCE

ISSN 0250-3301 CODEN HCKHDV
HUANJING KEXUE

■ 主办 中国科学院生态环境研究中心
■ 出版 科学出版社

2019
Vol.40 No.9
第40卷 第9期

环境科学
(HUANJING KEXUE)
ENVIRONMENTAL SCIENCE
第40卷 第9期
2019年9月15日

目 次

Eco-Environmental Knowledge Web
环 境 科 学
Environmental Science
第40卷 第9期 2019年9月
Vol. 40, No. 9 Sep., 2019

厌氧氨氧化颗粒污泥快速培养及其抑制动力学

唐鹏[1], 于德爽[1], 陈光辉[1,2*], 张培玉[1], 王晓霞[1], 吕廷廷[1], 黄硕[1], 刘诚诚[1]
(1. 青岛大学环境科学与工程学院, 青岛 266071; 2. 北京工业大学城镇污水深度处理与资源化利用技术国家工程实验室, 北京 100124)

摘要: 为实现厌氧氨氧化颗粒污泥(ANAMMOX granular sludge, AGS)的快速培养, 采用上流式厌氧污泥床(up-flow anaerobic sludge bed, UASB)工艺, 在添加少量絮状厌氧氨氧化污泥(flocculent ANAMMOX sludge, FAS)的反应器内填充生物流离球作为填料, 对ANAMMOX的启动及FAS的颗粒化进行研究. 同时利用Haldane模型研究AGS的基质抑制动力学特性. 结果表明, 利用生物流离球作为填料, 实现了ANAMMOX的启动, 总氮去除率达85%以上, 总氮容积负荷为0.72 kg·(m^3·d)$^{-1}$, 并在127 d内成功培养出直径1.0~3.0 mm的AGS. 动力学研究表明, 反应器内AGS对氨和亚硝酸盐的最大反应速率分别为1.46 kg·(kg·d)$^{-1}$和1.76 kg·(kg·d)$^{-1}$, 半抑制速率分别是852.2 mmol·L^{-1}和108.2 mmol·L^{-1}. 与絮状污泥相比, AGS能承受更高的氨和亚硝酸盐抑制浓度, 并保持较高的反应速率. 采用含有海绵的生物流离球作为填料, 能有效加速反应器的启动, 加快AGS的形成, 对厌氧氨氧化工艺的实际运行具有积极的意义.

关键词: 厌氧氨氧化(ANAMMOX); 颗粒污泥; 生物流离球; 动力学; 群体感应
中图分类号: X703 **文献标识码**: A **文章编号**: 0250-3301(2019)09-4152-08 **DOI**: 10.13227/j.hjkx.201812091

Rapid Cultivation of Anaerobic Ammonium Oxidation Granular Sludge and Inhibition Kinetics of Granular Sludge

TANG Peng[1], YU De-shuang[1], CHEN Guang-hui[1,2*], ZHANG Pei-yu[1], WANG Xiao-xia[1], LÜ Ting-ting[1], HUANG Shuo[1], LIU Cheng-cheng[1]
(1. School of Environmental Science and Engineering, Qingdao University, Qingdao 266071, China; 2. National Engineering Laboratory for Advanced Municipal Wastewater Treatment and Reuse Technology, Beijing University of Technology, Beijing 100124, China)

Abstract: For the rapid cultivation of anaerobic ammonium oxidation (ANAMMOX) granular sludge (AGS), a small amount of flocculent ANAMMOX sludge (FAS) was taken as the research object, and a bio-flow separate ball was used as the filler in an up-flow anaerobic sludge bed (UASB) to rapidly begin ANAMMOX and to cultivate granular sludge. In addition, the substrate inhibition kinetic characteristics of the AGS were investigated by using the Haldane model. The results showed that start-up of the ANAMMOX was successfully achieved. The total nitrogen removal rate was more than 85%, and the volume load of total nitrogen was 0.72 kg·(m^3·d)$^{-1}$. AGS with diameters of 1.0-3.0 mm were cultured within 127 days using the Bio-flow Separate Ball. The kinetic studies showed that the maximum reaction rates for ammonia and nitrite of granular sludge were 1.46 kg·(kg·d)$^{-1}$ and 1.76 kg·(kg·d)$^{-1}$, with half inhibition constants of ammonia and nitrite at 852.2 mmol·L^{-1} and 108.2 mmol·L^{-1}, respectively. Compared with FAS, AGS can withstand higher concentrations of ammonia and nitrite and can maintain a higher reaction rate. The placement of the filler has positive significance for starting ANAMMOX and rapidly culturing AGS.

Key words: anaerobic ammonium oxidation(ANAMMOX); granular sludge; bio-flow separate ball; kinetics; quorum sensing

氮元素的大量排放所导致的自然水体污染已经日益成为人们关注的重点, 传统生物脱氮工艺能耗高, 并且产生的大量剩余污泥处置困难. 研究人员将目光投向新型生物脱氮工艺技术, 在短程硝化反硝化(short-cut nitrification and denitrification, SNAD)和厌氧氨氧化(anaerobic ammonium oxidation, ANAMMOX)等脱氮技术取得了进展[1,2]. 厌氧氨氧化是指在厌氧或缺氧的条件下, 厌氧氨氧化菌(anaerobic ammonium oxidizing bacteria, AnAOB)以亚硝酸盐为电子受体, 将氨氮转为氮气或少量硝酸盐的过程[3]. 相比于传统工艺, ANAMMOX工艺无需供氧, 无需添加有机碳源, 同时污泥产量减少了90%, 是目前已知的最简洁和最经济的生物脱氮途径之一[1].

AGS具有良好的沉降性能, 抗冲击负荷能力强, 可有效减少细菌流失, 保证反应器高效稳定运行. 但AnAOB作为自养型细菌, 生长缓慢, 世代周期长达11 d, 且对生存环境要求较严格[4], 这给驯化FAS和培养AGS带来极大困难. 因此, 如何加快培养AGS, 成为了国内外研究的热点. López等[5]用高负荷废水培养得到AGS, 但时间较长, 大于

收稿日期: 2018-12-10; **修订日期**: 2019-04-03
基金项目: 中国博士后科学基金项目(2018M630053); 国家自然科学基金项目(51778304); 北京市博士后科学基金项目(2018-ZZ-012); 朝阳区博士后基金项目(2018ZZ-01-24)
作者简介: 唐鹏(1995~), 男, 硕士研究生, 主要研究方向为水污染控制, E-mail: qdutpeng@163.com
* 通信作者, E-mail: ghui0066@163.com

200 d；唐崇俭等[6]通过接种比厌氧氨氧化活性（specific ANAMMOX activity，SAA）为 1.9 kg·(kg·d)$^{-1}$的 FAS，经过 230 d 的稳定培养，得到粒径为 2～4 mm 的 AGS；丛岩等[7]把好氧硝化颗粒污泥与 ANAMMOX 生物膜作为接种污泥，经过 80 d 得到平均直径 0.556 mm 的成熟颗粒污泥，但总氮去除负荷较低；陈光辉等[8]通过包埋固定化技术，以 ANAMMOX 包埋菌颗粒代替 ANAMMOX 污泥，在短时间内成功启动 ANAMMOX；刘晓宇等[9]利用反硝化颗粒污泥掺杂少量 ANAMMOX 污泥，反应器连续运行 60 d，成功培养出 AGS.

这些研究表明通过不同的培养方法，ANAMMOX 污泥均可实现颗粒化，但存在不同的缺陷，如培养过程耗时较长或颗粒污泥杂质和杂菌较多，不利于实际工程的应用. 本研究利用少量 ANAMMOX 污泥为接种污泥，在反应器中放置生物流离球，逐步提高进水基质浓度和缩短水力停留时间（hydraulic retention time，HRT），旨在启动 ANAMMOX 反应器，进一步加快培养 AGS. 同时，为了研究 AGS 的脱氮性能，以基质抑制动力学模型为基础，分析其动力学特性，以期为实际的工程优化提供理论依据.

1　材料与方法

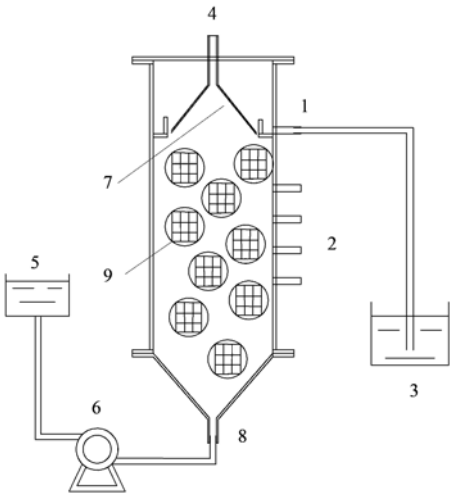
1.1　实验装置及运行方式

采用 UASB 完成主体实验，如图 1 所示. 反应器由有机玻璃制成，上部设有三相分离器，外面用锡纸包裹以避光，底部进水，上部出水. 反应器的有效容积为 8 L，进水 pH 控制在 7.4～8.0，水温控制在 32℃，在不同阶段控制不同 HRT. 本实验所用生物流离球为聚乙烯材质，直径 80 mm，球内填充大孔径黑色长方体海绵，可有效截留微生物，防止菌体流失，加快反应器启动.

本实验主要分为两个阶段：①AnAOB 富集阶段. 启动 UASB 反应器的接种污泥共计 1 L，取自实验室 SBR 反应器内长期稳定运行的 FAS，反应器初始阶段污泥浓度（mixed liquid suspended solids，MLSS）为 750 mg·L^{-1}. ②AnAOB 快速增殖与颗粒化阶段. 生物流离球被放置在 UASB 反应器内，水体可以均匀地从流离球内部经过，从而保证 AnAOB 被流离球截留并附着在流离球内部，实现 AnAOB 的增殖和 AGS 的快速形成.

1.2　实验水质

UASB 反应器和动力学测定的实验用水采用人工模拟配水，主要成分组成见表 1[10]. 同时补充微量元素（微量元素Ⅰ、Ⅱ事先配成浓溶液，配水时



1. 出水口；2. 取样口；3. 出水桶；4. 排气口；5. 进水桶；6. 蠕动泵；7. 三相分离器；8. 进水口；9. 生物流离球

图 1　ANAMMOX UASB 反应器示意

Fig. 1　Schematic diagram of ANAMMOX UASB reactor system

按 1 mg·L^{-1}取用），微量元素Ⅰ的主要成分为（g·L^{-1}）：EDTA 15、$MnCl_2 \cdot 4H_2O$ 0.99、$CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 0.25、$(NH_4)_6MoO \cdot 4H_2O$ 0.16、H_3BO_3 0.011、$NaSeO_3 \cdot 5H_2O$ 0.159 6、$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.43、$NiCl_2 \cdot 6H_2O$ 0.19、$CoCl_2 \cdot 6H_2O$ 0.24；微量元素Ⅱ的主要成分为（g·L^{-1}）：EDTA 5、$FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 5[11]. 由 NH_4Cl 和 $NaNO_2$ 提供NH_4^+-N和NO_2^--N，浓度按需所配，比例为 1∶1.32[12].

表 1　模拟废水的主要成分组成

Table 1　Main components of simulated wastewater

成分	浓度/mg·L^{-1}
KH_2PO_4	0.027
$CaCl_2$	0.136
$KHCO_3$	1.25
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.3
$NaNO_2$	—
NH_4Cl	—

1.3　指标测定方法

NH_4^+-N：纳氏试剂分光光度法[13]；NO_2^--N：*N*-(1-萘基)-乙二胺分光光度法[13]；NO_3^--N：麝香草酚分光光度法[13]；污泥浓度 MLSS：重量法[13]. pH：雷磁 PHS-3C 型 pH 计；温度与溶解氧（dissolved oxygen，DO）值：雷磁便携式溶解氧测定仪；颗粒污泥粒径：奥利巴斯 CX-31 显微镜配合目镜十字标尺；扫描电镜（SEM）：JSM-6390LV.

1.4　动力学测定

从反应器中取适量直径 1～3 mm 的 AGS 分装在两个 300 mL 的锥形瓶中，并将锥形瓶放在 35℃恒温振荡箱中培养，控制摇床转速为 120 r·min^{-1}.

进水NH_4^+-N和NO_2^--N按实验要求调整浓度，其他同表1. 进水之后，用氮气吹脱3 min，以去除锥形瓶内的DO. 定时取样测定水中NH_4^+-N和NO_2^--N浓度，锥形瓶内初始污泥浓度为1 020 mg·L^{-1}. 由于实验时间较短，可假设在实验期间污泥浓度无较大变化，由基质浓度降解曲线，计算出AGS的SAA[6]，单位为kg·(kg·d)$^{-1}$.

2 结果与分析

2.1 ANAMMOX启动

2.1.1 AnAOB富集阶段

反应器接种阶段，加入1 L接种污泥，设置NH_4^+-N和NO_2^--N的初始进水浓度为40 mg·L^{-1}和55 mg·L^{-1}，HRT控制在12 h. 如图2(a)所示，反应器运行20 d，NH_4^+-N和NO_2^--N出水浓度降低至10～20 mg·L^{-1}，提高进水基质浓度，使NH_4^+-N和NO_2^--N的进水浓度分别达到50 mg·L^{-1}和65 mg·L^{-1}，保持较高的负荷，促进AnAOB的生长和繁殖. 当系统运行至第38 d，再次提高进水基质浓度，使NH_4^+-N和NO_2^--N的进水浓度分别达到60 mg·L^{-1}和80 mg·L^{-1}. 当系统运行至第57 d，NH_4^+-N和NO_2^--N的出水浓度降低至10～20 mg·L^{-1}，完成AnAOB的富集. 此时，反应器内的MLSS = 1 723 mg·L^{-1}，较培养初期的750 mg·L^{-1}有大幅度提高. 提高进水基质浓度的初期，出水浓度出现跃升现象，这是由于反应器内微生物量较少，处理能力不足造成的，经过一段时间的运行，系统中微生物增殖，去除负荷增加，NH_4^+-N和NO_2^--N去除率提高.

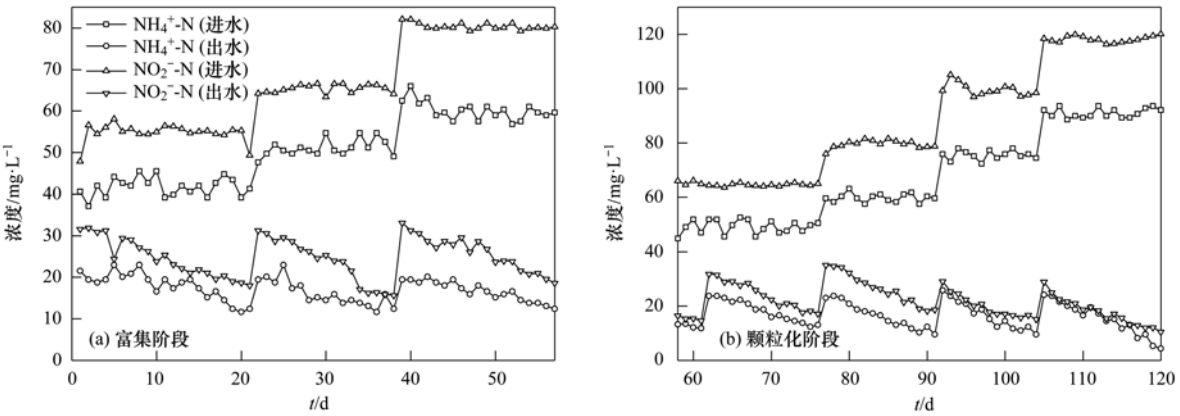


图2 运行过程中NH_4^+-N和NO_2^--N的浓度变化曲线

Fig. 2 Concentration curves of NH_4^+-N and NO_2^--N during operation

2.1.2 AnAOB快速增殖与颗粒化阶段颗粒化阶段

系统运行至第58 d，在反应器内加入生物流离球填料. 由图2(b)可知，反应器运行前4 d，继续保持HRT = 12 h，NH_4^+-N和NO_2^--N的初始浓度分别控制在50 mg·L^{-1}和65 mg·L^{-1}左右，NH_4^+-N和NO_2^--N的出水浓度均在10～15 mg·L^{-1}. 将HRT缩短至6 h，NH_4^+-N和NO_2^--N的出水浓度跃升到23.6 mg·L^{-1}和31.8 mg·L^{-1}. 第76 d，NH_4^+-N和NO_2^--N的出水浓度降低至10～20 mg·L^{-1}时，提高NH_4^+-N和NO_2^--N的进水至60 mg·L^{-1}和80 mg·L^{-1}；第91天，NH_4^+-N和NO_2^--N的出水浓度降低至较低浓度，再次提高NH_4^+-N和NO_2^--N的进水浓度至75 mg·L^{-1}和100 mg·L^{-1}，第104 d，出水浓度分别降低至9.5 mg·L^{-1}和18.6 mg·L^{-1}. 第105 d时，NH_4^+-N和NO_2^--N的进水浓度提高至90 mg·L^{-1}和120 mg·L^{-1}，第120 d，NH_4^+-N的出水浓度为2～3 mg·L^{-1}，NO_2^--N的出水浓度稳定在8～10 mg·L^{-1}，NO_3^--N的出水浓度稳定在15～25 mg·L^{-1}.

流离球加入到反应器之后，每隔两周观察外观和污泥形态. 第71 d[图3(a)]，白色塑料上已经附着了红棕色AnAOB，黑色海绵附着生长不明显；反应器运行至第85 d[图3(b)]，塑料球表面已经大面积附着暗红色AnAOB，形成一层生物膜，黑色海绵上的AnAOB聚集为直径0.2～0.5 mm的圆形颗粒，颜色为暗红色；运行至第99 d[图3(c)]，塑料球表面的AnAOB继续生长，黑色海绵的内部孔隙几乎被AnAOB充满，颗粒直径增长至0.3～0.8 mm；第113 d[图3(d)]，AnAOB的总量明显增多，颗粒直径增长至0.5～1.5 mm，少量颗粒达到2 mm；第127 d[图3(e)]，白色塑料球表面覆盖了厚度0.1～0.3 mm的生物膜，黑色海绵孔隙内充满了AnAOB，颗粒直径达到1.0～3.0 mm.

把黑色海绵部分从流离球中取出，如图4(a)所示，海绵的尖端挂载着红色的AGS；散落在反应器底部的AnAOB也生长为直径1.0～3.0 mm的AGS. AGS预处理[14]之后，做扫描电镜，在5 000和10 000倍条件下得到颗粒污泥电镜图[图4(c)]. 有

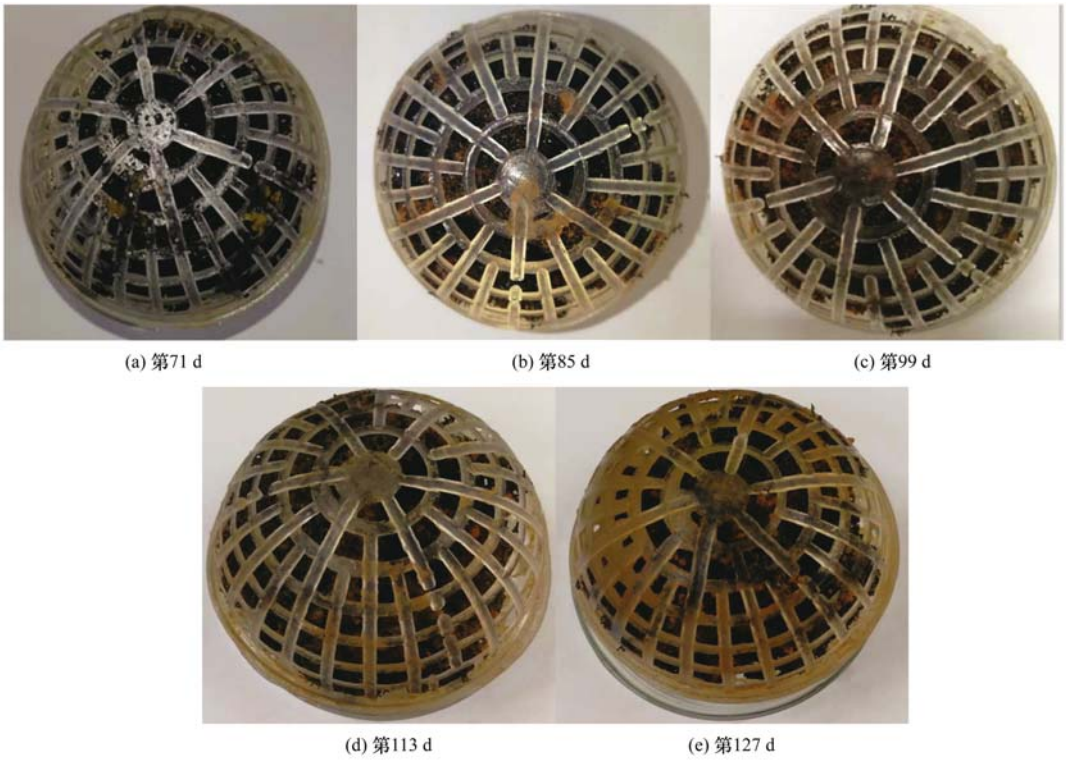
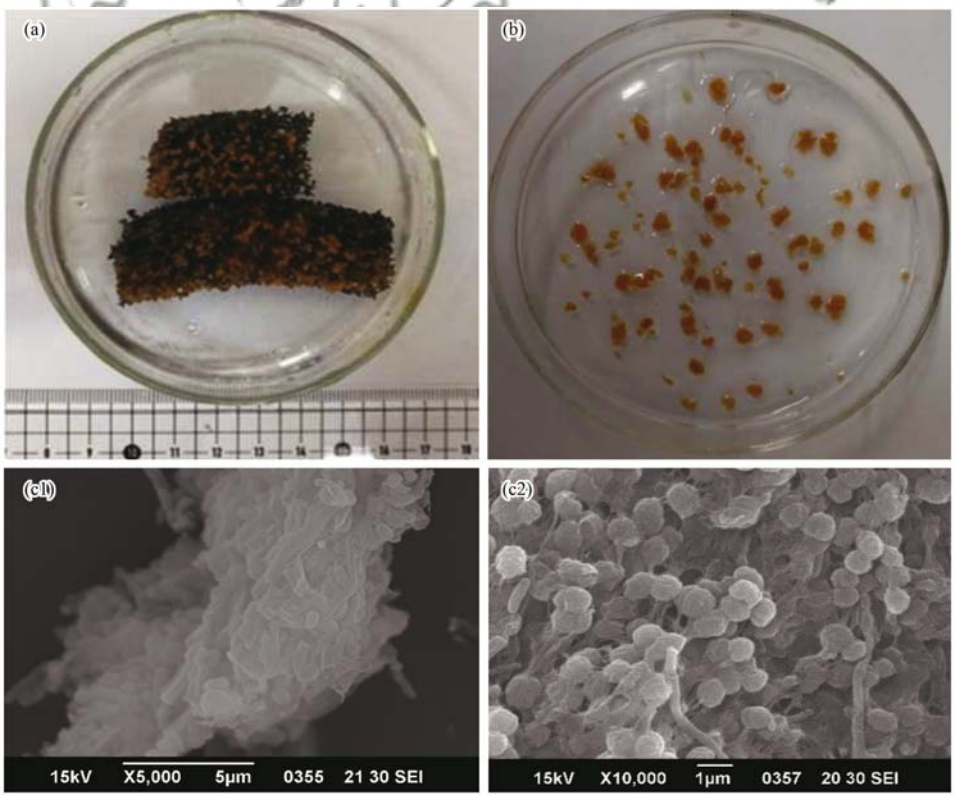


图 3　生物琉璃球外观变化

Fig. 3　Changes in appearance of the filler

研究表明，AnAOB 是具有红色细胞色素的一类细菌，AnAOB 比例越高，AGS 呈现的红色越深[15]. 图 4(b)中，AGS 的颜色呈暗红色，形状近似圆形，颗粒表面光滑；图 4(c)中，球形的细菌占据了绝大多数，细胞壁上有呈“火山口状”的两面凹陷，这是较为典型的 AnAOB[16]. 因此，可以说明颗粒污泥



(a) AGS 附着生长；(b) AGS 外观；(c)生物膜扫描电镜

图 4　AGS 外观图和扫描电镜图

Fig. 4　Appearance diagram and SEM image of AGS

中 AnAOB 已经占据优势地位. AGS 内部布满孔隙和无细胞的通道网络结构, 微小聚集体通过蛋白质和多糖形成的胞外聚合物(extracellular polymeric substances, EPS)[15]、丝状菌[17]等骨架聚合在一起形成球状颗粒污泥.

2.2 AGS 动力学研究

用于动力学测试的 AGS 取自本研究的 UASB 反应器中生长良好的颗粒污泥, 直径 1 ~ 3 mm. 取出的颗粒污泥, 在均匀状态下, 分装在 300 mL 的锥形瓶中, MLSS = 1 020 mg·L^{-1}. 初始NH_4^+-N 和NO_2^--N浓度都为 70 mg·L^{-1}[18], 分别提高NH_4^+-N和NO_2^--N的进水浓度, 用于完成NH_4^+-N和NO_2^--N对 ANAMMOX 反应的影响研究.

ANAMMOX 动力学过程受NH_4^+-N 浓度和NO_2^--N 浓度两个因素的限制, 进水基质浓度过高, 会抑制微生物的生长和代谢. 常用基质抑制动力学模型——Haldane 模型[19, 20]研究 AGS 动力学过程.

$$V = \frac{V_{max}S}{S + K_m + \frac{S^2}{K_i}} \quad (1)$$

式中, V 为反应速率, V_{max}为最大反应速率, 单位为 kg·(kg·d)$^{-1}$; S 为基质浓度, K_m 为半速率常数、K_i 为半抑制常数, 单位为mmol·L^{-1}.

如图 5 所示, 通过 Origin Pro 2017, 以基质浓度为横坐标, 以 SAA 为纵坐标, 对表 2 实验数据进行 Haldane 模型拟合, 得到 AGS 对NH_4^+-N [图 5(a)]和NO_2^--N[图 5(b)]的动力学方程. 拟合常数 R^2 分别为 0.987 和 0.984, 表现出良好的相关性, 说明 Haldane 模型可以较好地描述两种基质对 ANAMMOX 的抑制动力学行为.

表 2 基质浓度对 ANAMMOX 反应的影响

Table 2 Effects of substrate concentration on ANAMMOX

NH_4^+-N /mmol·L^{-1}	SAA /kg·(kg·d)$^{-1}$	NO_2^--N /mmol·L^{-1}	SAA /kg·(kg·d)$^{-1}$
1	0.4	1.07	0.52
2.14	0.7	2.85	1.12
4.28	0.91	5.00	1.25
8.21	1.13	8.92	1.36
18.57	1.28	11.07	1.35
32.14	1.27	15.00	1.32
48.57	1.27	18.57	1.34
63.92	1.26	21.07	1.33
85.71	1.27	22.85	1.32
103.57	1.25	25.00	1.31

由图 5(a)可知, 当NH_4^+-N为抑制剂时, 得到 AGS 的最大氨反应速率(SAA-NH_4^+-N)为 1.46 kg·(kg·d)$^{-1}$, AGS 对氨的半速率常数(K_m)为 1.46 mmol·L^{-1}, 氨对 AGS 的半抑制常数(K_i)为 852.2 mmol·L^{-1}; 由图 5(b)可知, 当NO_2^--N为抑制剂时, 得到 AGS 的最大亚硝酸盐反应速率(SAA-NO_2^--N)为 1.76 kg·(kg·d)$^{-1}$, AGS 对亚硝酸盐的半速率常数(K_m)为 1.45 mmol·L^{-1}, 亚硝酸盐对 AGS 的半抑制常数(K_i)为 108.2 mmol·L^{-1}. 动力学实验结果表明, 低浓度时, NH_4^+-N和NO_2^--N浓度的升高, 能促进厌氧氨氧化的进行; 高浓度时, NH_4^+-N和NO_2^--N浓度的继续升高, 会抑制厌氧氨氧化的反应速率, 且高浓度NO_2^--N更容易对厌氧氨氧化反应产生抑制作用[21, 22].

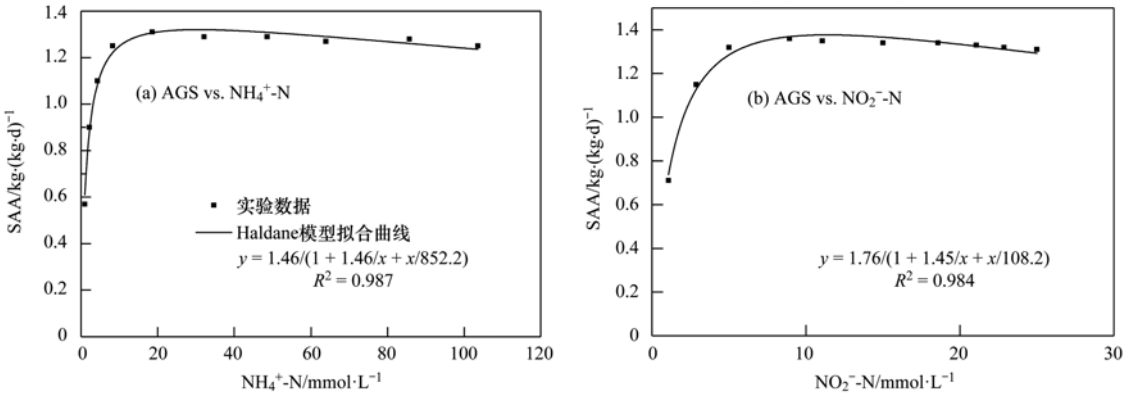


图 5 颗粒污泥的动力学特性

Fig. 5 Kinetic characteristics of AGS

3 讨论

影响厌氧氨氧化颗粒污泥形成的因素有很多, 如运行方式、接种污泥、废水性质、污泥负荷和 HRT 等, 最主要的因素在于 AnAOB 自身缓慢的繁殖速度且对环境较为敏感, 以及在系统中的大量流失. 于鹏飞等[23]考察不同氮负荷及冲击条件下 AGS 可颗粒化程度, 发现保持较高的氮负荷和上升流速, 有助于污泥颗粒化, 但条件较难控制. 李惠娟等接种 A/A/O 系统的活性污泥, 在经历停滞期、提高期和稳定期之后, 用时 160 d 才完成厌氧氨氧化的启动和颗粒污泥的培养[24].

第一阶段少量的 FAS 投加到反应器之后，系统运行前 10 d，出水的NH_4^+-N和NO_2^--N的浓度较不稳定，主要是 AnAOB 处于适应阶段. 在转移到反应器的过程中，AnAOB 接触大量的氧气；进入反应器之后，反应器内存在少量溶解氧，都会抑制 AnAOB 对NH_4^+-N和 NO_2^--N的处理能力. 不稳定的生存条件，导致部分细菌死亡，出现菌体自溶现象[25]，死亡的菌体释放出 NH_4^+-N，也会导致 NH_4^+-N 和 NO_2^--N的出水浓度不稳定. 经过 57 d 的富集培养，反应器出水NH_4^+-N和NO_2^--N的浓度同步降低，去除率分别达到 83.3% 和 75%，去除的NH_4^+-N∶去除的NO_2^--N∶生成的NO_3^--N = 1∶1.2∶0.2，与理论上的 1∶1.32∶0.26 较为接近. 因此可以认为在第一阶段结束时，UASB 反应器内 ANAMMOX 工艺运行良好.

第二阶段，AnAOB 开始在填料上附着生长和繁殖. 加入填料之后，AnAOB 几乎均匀分布在反应器的内部，很大程度上改善了基质的传质速率，使NH_4^+-N和NO_2^--N的去除率迅速升至 78% 左右. 接着将 HRT 缩短为 6 h，NH_4^+-N和NO_2^--N的去除率回落到 50% 左右，说明在 AnAOB 量不足和未形成颗粒污泥的情况下，HRT 对出水水质影响较大. 运行至第 120 d，NH_4^+-N和NO_2^--N的进水浓度分别为 90 mg·L^{-1} 和 120 mg·L^{-1}，去除的NH_4^+-N∶去除的NO_2^--N∶生成的NO_3^--N = 1∶1.23∶0.27. 氨氮的去除率为 97%，亚氮的去除率为 91% ~95%，总氮的去除率达到 85% 以上，总氮容积负荷为 0.72 kg·(m^3·d)$^{-1}$，可以说明 ANAMMOX 工艺成功启动.

AnAOB 在填料上以生物膜形式生长良好，能够均匀地分布在流离球内部，形成红色的生物膜和颗粒污泥杂菌和杂质较少. 于英翠等[26]利用高密度聚乙烯和生物酶作为增强成分的环形填料，启动 ANAMMOX，但形成的生物膜颜色暗黄，推测杂菌和杂质较多，AnAOB 量不足. 相比而言，以填充了大孔径海绵的流离球作为生物膜载体，利用悬浮物在流体的流动中，总是由流速快的一侧向流速慢的一侧集聚的原理，能够让 AnAOB 在流离球内停留聚集[27]. 在菌群生长过程中，细菌会释放出一种被称作自诱导物(auto-inducer，Ai)的胞外信号因子，当信号因子在其微环境中达到一个阈值时，信号被菌群接收并开始调节特定基因的表达，这一过程称为群体感应(quorum sensing，QS)[28, 29]. AnAOB 在流离球内聚集之后，Ai 的浓度迅速升高，诱发群体感应，促进 EPS 的形成，强化菌群的生物聚团行为[30]. 丛岩等[7]和刘晓宇等[9]利用硝化颗粒和反硝化颗粒，在 80 d 和 60 d 内培养出 AGS，虽用时较短，但硝化颗粒和反硝化颗粒本身就很难获得，不利于大规模应用；李海玲等[31]通过调控温度和沉降时间，30 d 就实现了 ANAMMOX 的启动和 AGS 的快速培养，但颗粒的平均直径仅 0.430 mm，总氮容积负荷仅为 0.24 kg·(m^3·d)$^{-1}$，低于本实验的 0.72 kg·(m^3·d)$^{-1}$. 用生物流离球为聚乙烯材料，化学稳定性好，耐酸碱侵蚀，成本低廉，有较好的应用价值. 在反应器中加入生物流离球，能够更好地启动 ANAMMOX，加快 AGS 的形成，提高 AnAOB 的生物活性和脱氮效率.

为考察反应器长期的运行效果，在 AGS 培养成功之后，继续监测反应器的进出水数据，见图 6. 保持反应器NH_4^+-N 和 NO_2^--N 的进水浓度为 90 mg·L^{-1} 和 120 mg·L^{-1}，HRT 为 6 h；NH_4^+-N 和 NO_2^--N的出水浓度为 1 ~2 mg·L^{-1}和 8 ~9 mg·L^{-1}，NO_2^--N的出水浓度较 AGS 培养成功的初期有少量下降，脱氮能力进一步提高.

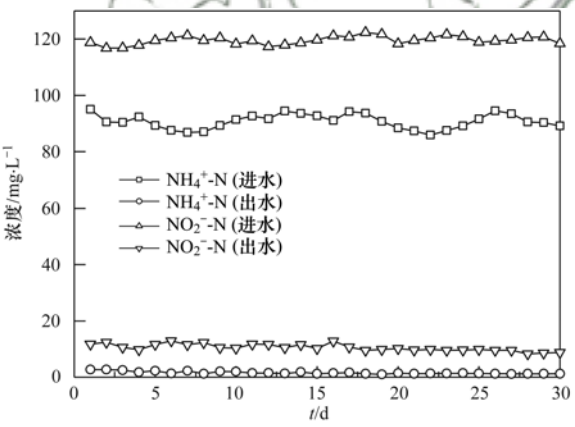


图 6　NH_4^+-N和NO_2^--N的浓度变化曲线

Fig. 6　Concentration curves of NH_4^+-N and NO_2^--N

本实验与其他研究人员对 AGS 和絮状污泥的动力学特性的研究结果相比见表 3，发现动力学特性参数差别较大. Tang 等[32]利用 UASB 工艺，在高负荷条件下，通过缩短 HRT 培育得到 AGS；祖波等[33]利用膨胀颗粒污泥床(EGSB)中培育好的颗粒污泥完成动力学特性的研究，陈光辉等[8]以水性聚氨酯为材料，得到 AnAOB 包埋颗粒. 不同的运行方式和控制条件，会影响颗粒污泥的组成成分，进而影响动力学特性的测定. 本实验的 AGS 最大氨反应速率和最大亚硝酸盐反应速率明显高于 FAS，但和其他 AGS 的最大反应速率略有差异，分析其原因主要是由于颗粒污泥的菌种组分不同，包括胞外聚合物含量不同，影响了 SAA 的测定结果. 较高的反应速率能够促进基质的降解速度，能促进 AnAOB 的生长和繁殖，有利于 ANAMMOX 的进行.

本实验培养的 AGS 对氨和亚硝酸盐的半速率常数低于包埋颗粒和 FAS，高于其他研究中的 AGS. 结合 AGS 电镜图[图 4(c)]，EPS 中有大小不一的孔隙，表明附着在塑料大孔球上生长的 AGS 具有良好的传质效果，对基质的亲和力也相对较大，更容易在竞争环境中竞争基质. 氨对本实验 AGS 的半抑制常数远高于包埋颗粒和 FAS，略高于其他研究中的 AGS；亚硝酸盐对 AGS 的半抑制常数远高于包埋颗粒、FAS 和其他 AGS. 表明本实验培养的 AGS 能承受更高的NH_4^+-N和NO_2^--N浓度，具有更强耐冲击负荷能力，有助于 ANAMMOX 反应器的高效、稳定运行.

表 3 不同 ANAMMOX 污泥的动力学特性

Table 3 Comparison of kinetic parameters of different ANAMMOX sludge contents

污泥	SAA-NH_4^+-N /kg·(kg·d)$^{-1}$	SAA-NO_2^--N /kg·(kg·d)$^{-1}$	K_m/mmol·L^{-1}		K_i/mmol·L^{-1}		文献
			NH_4^+-N	NO_2^--N	NH_4^+-N	NO_2^--N	
AGS	1.92	2.63	1.21	1.39	834.2	52.5	[6, 32]
FAS	0.71	1.11	1.78	1.51	643.9	12.80	[6, 32]
AGS	0.082	0.104	6.22	80.21	1.09	11.39	[33]
Immobilized Granules	1.99	2.55	1.57	1.505	724.2	66.65	[8]
AGS	1.46	1.76	1.46	1.45	852.2	108.2	本研究

4 结论

(1)接种少量 FAS 对加快 ANAMMOX 的启动作用是明显的，可以跳过污泥的驯化阶段，直接进入 AnAOB 的富集阶段，缩短 ANAMMOX 的启动时间. 经过 120 d 的培养，氨氮的去除率为 97% ~ 99%，亚氮的去除率为 91% ~95%，总氮的去除率达 85% 以上，总氮容积负荷为 0.72 kg·(m^3·d)$^{-1}$.

(2)加入生物流离球，为 AnAOB 的生长提供了载体，使其聚集在流离球内. AnAOB 均匀分布在反应器内，提高基质的传质效率，进而提高脱氮效率. 同时，AnAOB 分泌的自我诱导物 Ai 达到一定浓度之后，强化菌群的生物聚团行为，加快颗粒污泥的形成. 经过 127 d，培养出直径 1 ~3 mm 的厌氧氨氧化颗粒污泥，脱氮效率良好.

(3)动力学结果表明，AGS 对氨和亚硝酸盐的最大反应速率分别为 1.46 kg·(kg·d)$^{-1}$ 和 1.76 kg·(kg·d)$^{-1}$，高于 FAS 和大部分 AGS，有更高的脱氮效率. 对氨和亚硝酸盐的半抑制速率(K_i)分别是 852.2 mmol·L^{-1} 和 108.2 mmol·L^{-1}，高于 FAS 和其他 AGS 的对应值，能承受更高的基质浓度，有利于反应器的稳定运行.

参考文献：

[1] Ni L F, Wang Y Y, Lin X M, *et al*. Enhancement of the adaptability of anammox granules to zinc shock by appropriate organic carbon treatment[J]. Bioresource Technology, 2018, **268**: 496-504.

[2] Yang S, Yang F L. Nitrogen removal via short-cut simultaneous nitrification and denitrification in an intermittently aerated moving bed membrane bioreactor[J]. Journal of Hazardous Materials, 2011, **195**: 318-323.

[3] Ma H Y, Niu Q G, Zhang Y L, *et al*. Substrate inhibition and concentration control in an UASB-Anammox process [J]. Bioresource Technology, 2017, **238**: 263-272.

[4] Wang T, Zhang H M, Gao D W, *et al*. Comparison between MBR and SBR on anammox start-up process from the conventional activated sludge [J]. Bioresource Technology, 2012, **122**: 78-82.

[5] López H, Puig S, Ganigué 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] 唐崇俭，熊蕾，王云燕，等. 高效厌氧氨氧化颗粒污泥的动力学特性[J]. 环境科学，2013，**34**(9)：3544-3551.
Tang C J, Xiong L, Wang Y Y, *et al*. Kinetic characteristics of high-rate Anammox granules[J]. Environmental Science, 2013, **34**(9): 3544-3551.

[7] 丛岩，黄晓丽，王小龙，等. 厌氧氨氧化颗粒污泥的快速形成[J]. 化工学报，2014，**65**(2)：664-671.
Cong Y, Huang X L, Wang X L, *et al*. Faster formation of Anammox granular sludge[J]. CIESC Journal, 2014, **65**(2): 664-671.

[8] 陈光辉，李军，邓海亮，等. 包埋菌启动厌氧氨氧化反应器及其动力学性能[J]. 化工学报，2015，**66**(4)：1459-1466.
Chen G H, Li J, Deng H L, *et al*. Performance and kinetic characteristics of immobilized granules on start-up of Anammox bioreactor[J]. CIESC Journal, 2015, **66**(4): 1459-1466.

[9] 刘晓宇，王思慧，薛耀琦，等. 厌氧氨氧化颗粒污泥的快速培养与形成机理[J]. 环境工程学报，2016，**10**(3)：1223-1227.
Liu X Y, Wang S H, Xue Y Q, *et al*. Rapid cultivation and formation mechanism of anammox granular sludge[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2016, **10**(3): 1223-1227.

[10] 冯平，周少奇. 常温下厌氧氨氧化生物膜反应器的启动研究[J]. 环境科学与技术，2010，**33**(6)：19-22，34.
Feng P, Zhou S Q. Experimental study on start-up of UASB-Anammox biofilm reactor at ordinary temperature [J]. Environmental Science & Technology, 2010, **33**(6): 19-22, 34.

[11] Strous M, van Gerven E, Zheng P, *et al*. Ammonium removal from concentrated waste streams with the anaerobic ammonium oxidation (Anammox) process in different reactor configurations [J]. Water Research, 1997, **31**(8): 1955-1962.

[12] 曹天昊，王淑莹，苗蕾，等. 不同基质浓度下 SBR 进水方式对厌氧氨氧化的影响[J]. 中国环境科学，2015，**35**(8)：2334-2341.

Cao T H, Wang S Y, Miao L, *et al*. Influence of feeding modes on anammox under different influent substrate concentration in SBR[J]. China Environmental Science, 2015, **33**(8): 2334-2341.

[13] 国家环境保护总局. 水和废水监测分析方法[M]. (第四版). 北京：中国环境科学出版社, 2002.

[14] Chen G H, Li J, Tabassum S, *et al*. Anaerobic ammonium oxidation (ANAMMOX) sludge immobilized by waterborne polyurethane and its nitrogen removal performance-a lab scale study[J]. RSC Advances, 2015, **5**(32): 25372-25381.

[15] 丁爽, 郑平, 张萌, 等. 厌氧氨氧化菌群体感应系统研究[J]. 生态学报, 2012, **32**(8): 2581-2587.
Ding S, Zheng P, Zhang M, *et al*. Quorum sensing in anaerobic ammonium oxidation bacteria[J]. Acta Ecologica Sinica, 2012, **32**(8): 2581-2587.

[16] 沈冰洁, 王荣昌. 厌氧氨氧化菌富集培养技术关键与影响因素[J]. 工业水处理. 2013, **33**(10): 6-10.
Shen B J, Wang R C. Technical essentials and influencing factors of the enrichment of anaerobic ammonia oxidation (ANAMMOX) bacteria[J]. Industrial Water Treatment, 2013, **33**(10): 6-10.

[17] Fan N S, Wang R F, Qi R, *et al*. Control strategy for filamentous sludge bulking: bench-scale test and full-scale application[J]. Chemosphere, 2018, **210**: 709-716.

[18] 郑照明, 李军, 马静, 等. SNAD 生物膜厌氧氨氧化活性的氨氮抑制动力学研究[J]. 中国环境科学, 2016, **36**(10): 2957-2963.
Zheng Z M, Li J, Ma J, *et al*. The kinetic coefficients of ammonium inhibition on the Anammox activity of SNAD biofilm [J]. China Environmental Science, 2016, **36**(10): 2957-2963.

[19] 李伟刚, 于德爽, 李津. ASBR 反应器厌氧氨氧化脱氮Ⅱ：反应动力学[J]. 中国环境科学, 2013, **33**(12): 2191-2200.
Li W G, Yu D S, Li J. Nitrogen removal in the Anammox sequencing batch reactor II: kinetics characteristics[J]. China Environmental Science, 2013, **33**(12): 2191-2200.

[20] Gee C S, Suidan M T, Pfeffer J T. Modeling of nitrification under substrate-inhibiting conditions [J]. Journal of Environmental Engineering, 1990, **116**(1): 18-31.

[21] Qin Y J, Han B, Cao Y, *et al*. Impact of substrate concentration on anammox-UBF reactors start-up[J]. Bioresource Technology, 2017, **239**: 422-429.

[22] 陈永, 张树德, 张杰, 等. 亚硝酸盐氮浓度对厌氧氨氧化反应的影响[J]. 中国给水排水, 2006, **22**(17): 74-76.
Chen Y, Zhang S D, Zhang J, *et al*. Influence of nitrite nitrogen concentration on ANAMMOX process [J]. China Water & Wastewater, 2006, **22**(17): 74-76.

[23] 于鹏飞, 周明俊, 孙明, 等. 氮负荷对厌氧氨氧化污泥颗粒化的影响[J]. 水处理技术, 2016, **42**(7): 25-29, 34.
Yu P F, Zhou M J, Sun M, *et al*. Nitrogen load effects on anaerobic ammonia oxidation granular sludge[J]. Technology of Water Treatment, 2016, **42**(7): 25-29, 34.

[24] 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.
Li H J, Peng D C, Chen G Y, *et al*. Fast start-up of ANAMMOX and the spatial distribution of EPS in ANAMMOX granules[J]. Environmental Science, 2017, **38**(7): 2931-2940.

[25] Wang Q T, Wang Y L, Lin J B, *et al*. Selection of seeding strategy for fast start-up of Anammox process with low concentration of Anammox sludge inoculum [J]. Bioresource Technology, 2018, **268**: 638-647.

[26] 于英翠, 高大文, 陶彧, 等. 利用序批式生物膜反应器启动厌氧氨氧化研究[J]. 中国环境科学, 2012, **32**(5): 843-849.
Yu C Y, Gao D W, Tao Y, *et al*. Start-up of anammox in a sequencing batch biofilm reactor (SBBR) [J]. China Environmental Science, 2012, **32**(5): 843-849.

[27] Wei L P, Lu Y J, Wei J J. Flow separation from a spherical particle in supercritical water [J]. Chemical Engineering Research and Design, 2014, **92**(11): 2273-2282.

[28] Tang X, Liu S T, Zhang Z T, *et al*. Identification of the release and effects of AHLs in anammox culture for bacteria communication[J]. Chemical Engineering Journal, 2015, **273**: 184-191.

[29] 彭永臻, 张向晖, 马斌, 等. 厌氧氨氧化菌群体感应机制[J]. 北京工业大学学报, 2018, **44**(3): 449-454.
Peng Y Z, Zhang X H, Ma B, *et al*. Mechanism of quorum sensing in anaerobic ammonium oxidation (Anammox) bacteria [J]. Journal of Beijing University of Technology, 2018, **44**(3): 449-454.

[30] Zhao R, Zhang H M, Zhang F, *et al*. Fast start-up anammox process using Acyl-homoserine lactones (AHLs) containing supernatant[J]. Journal of Environmental Sciences, 2018, **65**: 127-132.

[31] 李海玲, 李冬, 张杰, 等. 调控温度和沉降时间实现 ANAMMOX 颗粒快速启动及其稳定运行[J]. 环境科学, 2019, **40**(2): 837-844.
Li H L, Li D, Zhang J, *et al*. Adjusting temperature and settling time to achieve ANAMMOX particles rapid start-up and stable operation[J]. Environmental Science, 2019, **40**(2): 837-844.

[32] 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.

[33] 祖波, 张代钧, 阎青. 颗粒污泥厌氧氨氧化动力学特性及微量 NO_2 的影响[J]. 环境科学, 2008, **29**(3): 683-687.
Zu B, Zhang D J, Yan Q. Effect of trace NO_2 and kinetic characteristics for anaerobic ammonium oxidation of granular sludge[J]. Environmental Science, 2008, **29**(3): 683-687.

HUANJING KEXUE Vol. 40 No. 9
Environmental Science (monthly) Sep. 15, 2019

CONTENTS