



文章栏目：环境生物技术

DOI 10.12030/j.cjee.202211075 中图分类号 X703 文献标识码 A

贺志豪, 李星燃, 王建芳, 等. BC-nZVI 诱导厌氧氨氧化工艺的快速启动及运行特性[J]. 环境工程学报, 2023, 17(3): 1023-1032. [HE Zhihao, LI Xingran, WANG Jianfang, et al. Rapid start-up and the operation characteristics of Anammox process induced by BC-nZVI[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2023, 17(3): 1023-1032.]

# BC-nZVI 诱导厌氧氨氧化工艺的快速启动及运行特性

贺志豪<sup>1</sup>, 李星燃<sup>2</sup>, 王建芳<sup>1,2,3,4,✉</sup>, 骆子琛<sup>1</sup>, 胡俊彤<sup>1</sup>, 蔡云菲<sup>2</sup>

1. 苏州科技大学环境科学与工程学院, 苏州 215009; 2. 苏州科技大学天平学院环境科学与工程系, 苏州 215009; 3. 城市生活污水资源化利用技术国家地方联合工程实验室, 苏州 215009; 4. 江苏高校水处理技术与材料协同创新中心, 苏州 215009

**摘要** 厌氧氨氧化工艺的启动周期和稳定性已成为工程化应用的制约因素, 铁元素可促进厌氧氨氧化菌的生长, BC-nZVI 诱导下厌氧氨氧化工艺的启动与长期稳定运行特性是值得研究的课题。为此, 采用液相还原法制备 BC-nZVI 复合材料, 成功将粒径 100~500 nm 的 nZVI 负载于生物炭表面。在膨胀颗粒污泥床 (expanded granular sludge bed, EGSB) 中, BC-nZVI 的投加大幅缩短了 Anammox 工艺的启动时间, 提高了氮负荷冲击性能以及在弱酸性环境下的适应能力。通过投加 30 mg·L<sup>-1</sup> BC-nZVI, 仅需 43 d 即可快速启动 Anammox 工艺, 总氮去除负荷和去除率稳定在 0.22 kg·d<sup>-1</sup> 和 80% 以上。在 BC-nZVI 强化成熟的污泥体系中, 浮霉菌门 (*Planctomycetota*) 和变形菌门 (*Proteobacteria*) 占主导, 其中 unclassified-Brocadiaceae 作为 AnAOB 优势菌属相对丰度达 22.3%, 成为绝对的优势功能菌。

**关键词** EGSB; Anammox; Feammox; 快速启动; 纳米零价铁; 脱氮效能

自厌氧氨氧化 (anaerobic ammonium oxidation, Anammox) 工艺诞生以来, 凭借其经济、高效与可持续性而成为生物脱氮领域一大研究热点, 并被公认为是时下最具有工程应用前景的新型生物脱氮工艺。然而受制于厌氧氨氧化菌 (anaerobic ammonia oxidant, AnAOB) 的生长速率较慢, 世代周期较长等因素<sup>[1]</sup>, 导致厌氧氨氧化菌富集难, 反应器启动慢, 加上运行不稳定等问题较长, 影响了厌氧氨氧化工艺规模化工程应用。此外 AnAOB 对 pH、O<sub>2</sub> 等生长环境因素极为敏感, 易受到干扰物质的抑制。因此, 学者们围绕厌氧氨氧化反应器的启动及稳定运行开展了相关研究<sup>[2]</sup>。

近些年来, 研究发现 Anammox 中包含了大量以血红素和硫铁蛋白形式存在的细胞铁, 并且铁元素也作为重要的辅助因子参与厌氧氨氧化脱氮的过程中<sup>[3]</sup>。袁欣明等<sup>[4]</sup>利用 Fe(III) 促进血红素的合成强化了 Anammox 工艺, 任立峰等<sup>[5]</sup>利用铁元素历时 84 d 成功启动 Anammox 工艺。铁元素的存在会促进厌氧氨氧化菌的生长<sup>[6]</sup>, 而不同形态和价态的铁离子促进作用也不同。与其他形式的单质铁相比纳米零价铁 (nano zero valent iron, nZVI) 具有更大的比表面积, 更强的还原性, 能够快速

收稿日期: 2022-11-14; 录用日期: 2023-02-27

基金项目: 国家自然科学基金面上基金资助项目 (51878430); 江苏省自然科学基金 (BK20211339); 苏州科技大学天平学院科研基金项目 (自然科学)(2020TKJB-02)

第一作者: 贺志豪 (1997—), 男, 硕士研究生, 1972506785@qq.com; ✉通信作者: 王建芳 (1973—), 女, 博士, 教授, wjf302@163.com

消耗溶解氧,从而降低氧化还原电位,有利于维持厌氧氨氧化需要的厌氧环境<sup>[7]</sup>。有研究表明,合适的 nZVI 投加有利于提高厌氧氨氧化微生物活性<sup>[8]</sup>。nZVI 腐蚀产生的铁离子 (Fe(II)/Fe(III)) 是包括在厌氧氨氧化酶分解代谢中起关键作用的细胞色素 c 蛋白、胍合酶和胍脱氢酶等血红素酶的重要成分<sup>[9]</sup>。

由于 nZVI 易氧化、团聚,难以液相中均匀分布,研究者提出碳基质-nZVI 复合材料,有利于 nZVI 分散和腐蚀<sup>[10]</sup>,使其在生物反应器体系中更好地与微生物接触。同时碳基质-nZVI 可使 Fe(0) 与碳紧密接触,产生原电池反应,在反应器中产生微电流促进氧化还原反应,吸附沉淀等反应,有利于污染物去除,被应用于 Anammox 脱氮研究中<sup>[11]</sup>。

生物炭 (biochar, BC) 来源广泛,价格低廉,多为农林废弃物经加工产生的富碳、多孔的固体物质,并能长期停留在环境介质中<sup>[12]</sup>,可通过物理吸附、离子交换等多种机制降解污染物,此外,适量的 BC 还能改善 AnAOB 性能,加速 Anammox 工艺的启动<sup>[13]</sup>。但单一的生物炭材料物理化学性能稳定,不能满足复杂污染物的处理。因此,目前有研究人员对纳米零价铁进行改性,将纳米零价铁负载在比表面积大、官能团丰富、孔隙率高和稳定性好的生物炭上,构建微电解体系,充分发挥两者的优势。但现有的研究通常将两种材料按照一定比例充分混合,仍存在铁碳负载不均匀的局限性。

基于以上研究现状,本研究改进负载方法,利用液相还原法将 nZVI 充分分散于生物炭孔隙表面,对所制备材料的表面形貌和结构进行了表征。并在 EGSB 反应器中,探究在 BC-nZVI 诱导下 Anammox 工艺的快速启动、长期运行特性,以及氮转化规律,研究不同 pH 条件下复合材料对厌氧氨氧化体系中氮元素转化的影响,分析微生物群落结构的变化特征,探索了 BC-nZVI 对厌氧氨氧化工艺的启动的影响,为 Anammox 工艺的工程应用提供理论支持和技术参数。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验装置与运行工况

实验采用 EGSB 反应器,装置如图 1 所示。该反应器由有机玻璃组成,内径 7 cm,高 57.6 cm,反应器有效反应体积为 2.2 L,通过水浴维持运行温度在  $(30 \pm 1) ^\circ\text{C}$ 。

反应器连续运行 90 d, BC-nZVI 投加量固定为  $30 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,实验分为 3 个阶段,通过改变进水浓度和水力停留时间 (hydraulic retention time, HRT),不断提升负荷,具体运行工况如下表 1 所示。

### 1.2 实验用水和接种污泥

接种污泥取自于城市污水厂厌氧池活性

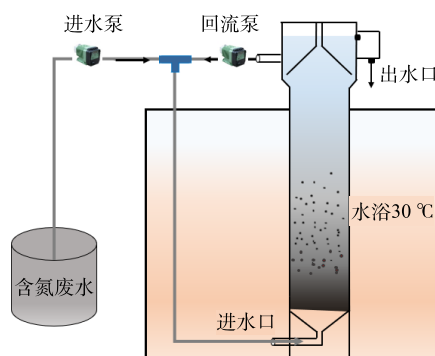


图 1 EGSB 反应器结构图

Fig. 1 Schematic diagram of EGSB reactor

表 1 反应器运行工况  
Table 1 Operating conditions of the reactor

运行阶段	时间/d	进水氨氮质量浓度/ ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )	进水亚硝质量浓度/ ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )	HRT/h	氮负荷/ ( $\text{kg} \cdot \text{d}^{-1}$ )
阶段 I	1~30	50	66	26	0.11
阶段 II	30~60	100	132	26	0.22
阶段 III	60~90	100	132	13	0.42

污泥, 初始反应器内 MLVSS 为  $4.9 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。采用的人工配水, 以氯化铵和亚硝酸钠为原料, 根据实验需要配置相应浓度,  $\text{NaHCO}_3$  用做调节碱度剂和无机碳源, 维持进水 pH 在 7.0~7.5, 配水中投加微生物生长所需要的微量元素<sup>[14]</sup>。

### 1.3 分析方法

利用 pH 计测定 pH 和温度。分别采用 N-(1-萘基)-乙二胺分光光度法、纳氏试剂分光光度法、紫外分光光度法测定  $\text{NO}_2^-$ -N、 $\text{NO}_3^-$ -N 和  $\text{NH}_4^+$ -N 的浓度。

### 1.4 BC-nZVI 材料的制备与表征

以水稻秸秆为原材料, 在马弗炉  $350 \text{ }^\circ\text{C}$  下热解 3 h 得到原始生物炭 (BC)。取 2 g BC 与 8.8 g  $\text{FeCl}_3\cdot 7\text{H}_2\text{O}$  按照 Fe 与 BC 质量比 1:1 配制成悬浮溶液, 并超声 1 h, 形成 BC 颗粒分散均匀的  $\text{FeCl}_3$ -BC 负载体系。将 100 mL  $80 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  的  $\text{NaBH}_4$  溶液以  $1 \text{ 滴}\cdot\text{s}^{-1}$  的速度滴加到上述  $\text{FeCl}_3$  负载体系中, 并不断地搅拌, 直至将铁离子完全还原为  $\text{Fe}(0)$ 。用去离子水和无水乙醇反复洗涤, 在  $\text{N}_2$  气体的保护下干燥, 得到 BC-nZVI。将制备所得材料通过扫描电镜-能量色谱法 (SEM-EDS)<sup>[15]</sup>、表面衍射分析以及比表面积测定等方法对材料进行表面结构分析。

### 1.5 批次实验设计

为探究在不同 pH 条件下 BC-nZVI 对厌氧氨氧化的影响, 设计批次实验, 考察厌氧氨氧化脱氮效能。取第 3 阶段反应器内混合泥样, 初始  $\text{NO}_2^-$ -N 和  $\text{NH}_4^+$ -N 质量浓度分别为  $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  和  $30 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , 用  $1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  的盐酸调节进水初始 pH 分别至 5、6、7。使用纯度为 99% 的氮气, 曝气 15 min 后加入 BC-nZVI, 在摇床内以  $30 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $160 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$  的条件反应, 每隔 1 h 取 3 个水样, 用  $0.45 \text{ }\mu\text{m}$  滤膜过滤后, 测量水样中  $\text{NH}_4^+$ -N、 $\text{NO}_2^-$ -N、 $\text{NO}_3^-$ -N 的浓度, 并取 3 次水样的平均值作为单次有效数据。

### 1.6 微生物群落结构分析

微生物分析分别取接种污泥和反应器运行第 55 天的污泥作为样品分别标记为 R0, R1。采用 Illumina MiSeq 测序平台对样品中的微生物进行高通量测序分析, 包括 DNA 提取、PCR 扩增、MiSeq 文库构建和 MiSeq 测序。16S rRNA 基因在 V3~V4 的高变区测序, 选用细菌通用引物 338F(5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3') 及 806R(5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3')。在优化序列的基础上按照 97% 相似性分析, 得到每个 OTU 对应的物种分类信息, 并在各个水平上统计每个样品的群落组成, 获得样品中微生物门 (phylum) 和属 (genus) 等物种组成及丰度。

## 2 结果与讨论

### 2.1 BC-nZVI 的表征结果分析

1) BC-nZVI 形貌分析。图 2(a) 为生物炭载体的 SEM 图, 图 2(b) 和图 2(c) 为负载纳米铁后的生物炭的 SEM 图。制备的 nZVI 粒径在 100~500 nm, 并已成功负载在生物炭表面。负载在生物炭上的球形链状体为纳米铁, 与相关文献中制备的纳米颗粒材料呈球形链状相似<sup>[16-17]</sup>。

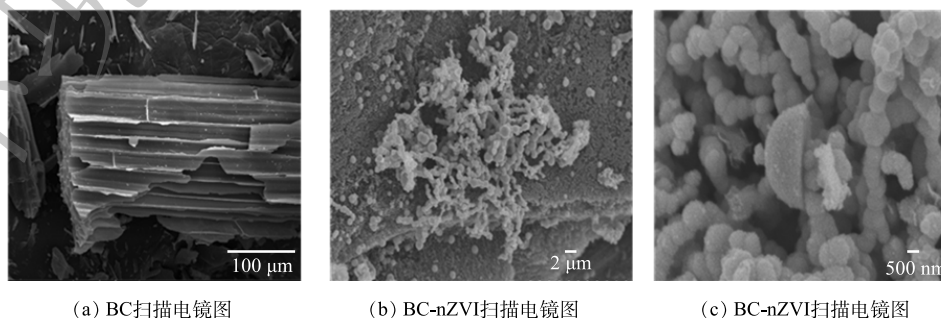


图 2 BC-nZVI 的电镜扫描图 (SEM) 及外观图

Fig. 2 Scanning electron microscope (SEM) images and appearance of BC-nZVI



2) BC-nZVI的表面结构分析。通过X射线衍射对BC-nZVI表面进行分析。如图3所示,在 $2\theta=44.8^\circ$ 为纳米铁的衍射峰,在 $2\theta=24.8^\circ$ 处为BC的特征峰。这说明通过液相还原法制备的BC-nZVI复合材料同时具有铁单质和碳元素。而在 $35^\circ$ 处的吸收峰为 $\text{Fe}_2\text{O}_3$ 和 $\text{Fe}_3\text{O}_4$ 。造成这种现象的原因可能是材料在测试阶段与空气接触产生不同程度的氧化,以至于材料表面形成氧化壳。值得注意的是,谱图中并没有其他杂峰,说明得到的产品纯度较高。

3) 比表面积分析。负载纳米零价铁后,生物炭比表面积由 $37.52 \text{ m}^2\cdot\text{g}^{-1}$ 降至 $21.29 \text{ m}^2\cdot\text{g}^{-1}$ 。这主要是由于在合成nZVI的过程中,nZVI充分进入到生物炭深层的多孔结构中,从而使负载后的BC比表面积小于负载前的比表面积<sup>[18]</sup>。此外,结合图2(b)可知,由于nZVI附着于生物炭表面,可避免nZVI团聚并沉积于污泥中。

## 2.2 Anammox工艺强化启动及稳定运行

Anammox启动过程中氮的转化结果如图4所示。反应器启动运行初期(0~5 d),总氮去除率仅在10%左右, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 质量浓度基本无变化,反应器内溶解氧高达 $0.83 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,无厌氧氨氧化脱氮发生。反应器内的微生物为了抵抗不良生境,出现部分细胞自溶,释放出内源有机物<sup>[19]</sup>。反硝化菌可以利用菌体自溶产生的有机物发生反硝化作用。该阶段总氮损失主要是由于反硝化作用和微生物增殖利用所致。

在第6天以 $30 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 投加BC-nZVI,反应24 h后,总氮快速下降,去除率接近60%, $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 快速消耗,出水中未能检出 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ ,而 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度并没有明显降低。造成 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 和硝态氮降低的原因可能有2点:其一是在非生物作用下,nZVI释放出 $\text{Fe}^{2+}$ , $\text{Fe}^{2+}$ 可以将亚硝酸盐还原为NO和 $\text{N}_2\text{O}$ <sup>[20-21]</sup>,同时,nZVI和硝酸盐发生化学反应生成 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ <sup>[22]</sup>;其二是在微生物作用下,以零价铁或二价铁、内源有机碳作为电子供体,将硝酸盐或亚硝酸盐还原为 $\text{N}_2$ <sup>[23-24]</sup>。综上分析,推测反应器内的氮素转换是多反应(Feammox, NDFO, IC-ME和Anammox)共同参与(图5),相关反应如式(1)~式(4)所示。此外nZVI会消耗水中的溶解氧生成 $\text{Fe}^{2+}$ 和 $\text{Fe}^{3+}$ ,有利于形成厌氧氨氧化菌生长的厌氧环境<sup>[25]</sup>。投加BC-nZVI 3 d后, $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 无明显去除。当第14天再次投加BC-nZVI时,总氮去除率达到75%,出水 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 浓度迅速降低,同时 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度也逐渐下降。在约第20天时, $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的利用比约为1:1, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 生成量与 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的消耗量之比为0.3。除非生物反应外, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的去除可能由Feammox和Anammox共同贡献所致,因为Feammox常伴随着Anammox反应发生,说明AnAOB丰

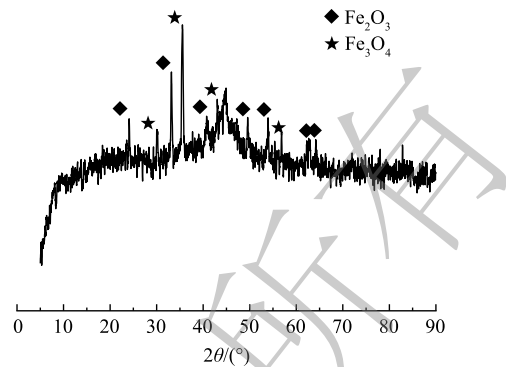
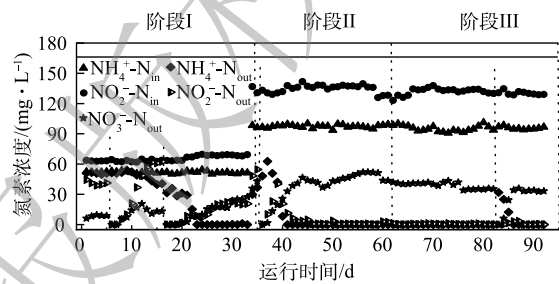
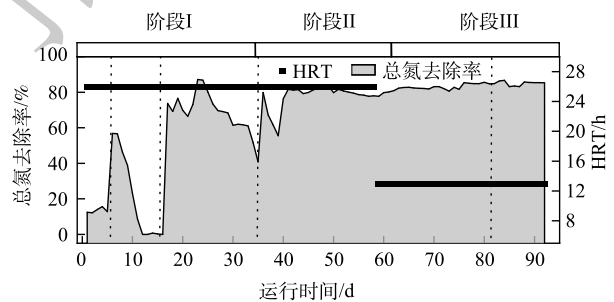


图3 BC-nZVI的X射线衍射

Fig. 3 X-ray diffraction pattern of BC-nZVI



(a) 长期运行氮素浓度变化图



(b) 长期运行总氮去除率及HRT图

·····投加BC-nZVI  $30 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$

图4 启动过程总氮去除性能

Fig. 4 Total nitrogen removal performance during start-up

度也在逐渐上升, 此时的  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  应为 Feammox 与 Anammox 同时利用, 该结果与 ERDIM 研究结果一致<sup>[26]</sup>。综上所述, 第 1 阶段氮的转化是生物反应和非生物反应共同作用的结果。此外, 由于生物炭对于氮素去除的贡献度较低, 对硝酸盐几乎没有吸附作用, 因此, 第 1 阶段氮素下降大部分为 nZVI 参与的非生物反应。反应器运行到第 43 天时,  $\text{NO}_2^-\text{-N}$  与  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  消耗比接近理论值 (1:1.32),  $\text{NO}_2^-\text{-N}$  与  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  的去除率达到 99%, 此时反应器内 Anammox 反应占据主导, 说明反应器已成功启动厌氧氨氧化反应。

在运行阶段 II、III, 进水  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  和  $\text{NO}_2^-\text{-N}$  控制在 1: 1.3 左右, 不断提高进水基质, 反应器运行至第 58 天, 调整 HRT 为 13 h,  $\text{NO}_2^-\text{-N}$  和  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  的去除率依然稳定在 98% 以上, 总氮平均去除率和去除负荷分别为 86% 和  $0.43 \text{ kg}\cdot(\text{m}^3\cdot\text{d})^{-1}$ , 说明此时该系统已具有较稳定的厌氧氨氧化性能。相较于 nZVI, 改性的 BC-nZVI 中铁和生物炭可以起到协同作用, BC 可提供电子强化硝酸盐的还原, 同时为微生物提供大量附着位点, 有利于基质传递给 AnAOB, 从而加速 Anammox 的启动。

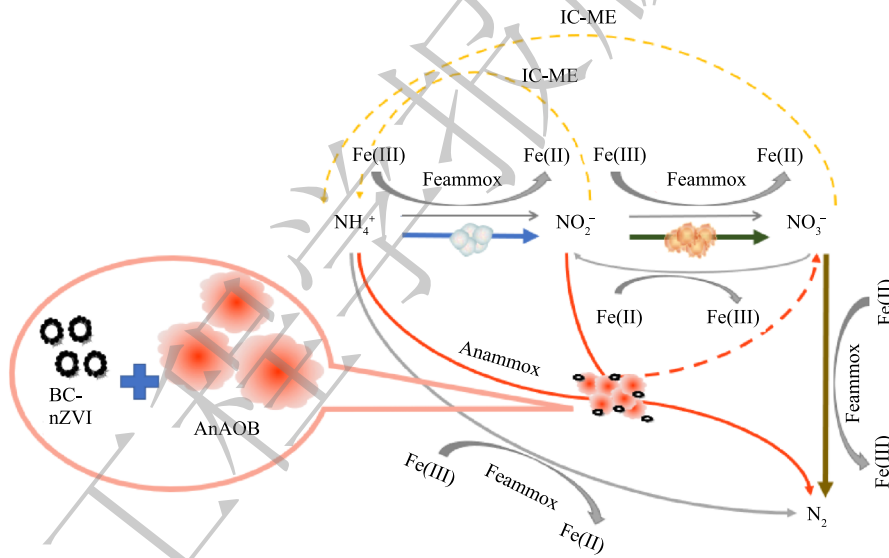
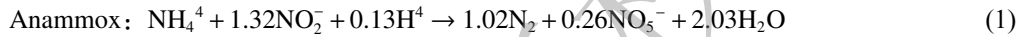


图 5 在 BC-nZVI 作用下 Anammox 的脱氮路径图

Fig. 5 Denitrification pathway diagram of Anammox under BC-nZVI

### 2.3 氮元素的转化规律

为了研究投加 BC-nZVI 对 Anammox 系统的影响, 在系统稳定运行阶段第 34 天和第 82 天分别投加  $30 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  BC-nZVI。如图 6 所示, 在投加 BC-nZVI 初期,  $R_s(\text{NO}_2^-\text{-N}$  消耗量与  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  消耗量之比) 和  $R_p(\text{NO}_3^-\text{-N}$  生成量与  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  消耗量之比) 严重偏离理论值,  $R_s$  高达 2.75, 显著高于理论值 1.32, 此时  $R_p$  值显著低于厌氧氨氧化反应的理论值 (0.26)。Fe(II) 会导致部分  $\text{NO}_2^-\text{-N}$  和  $\text{NO}_3^-\text{-N}$  还原为氨氮, 因此认为,  $R_p$  会随着 Fe(II) 的增多而降低<sup>[27]</sup>。综上分析, 推测反应器内的氮素转换

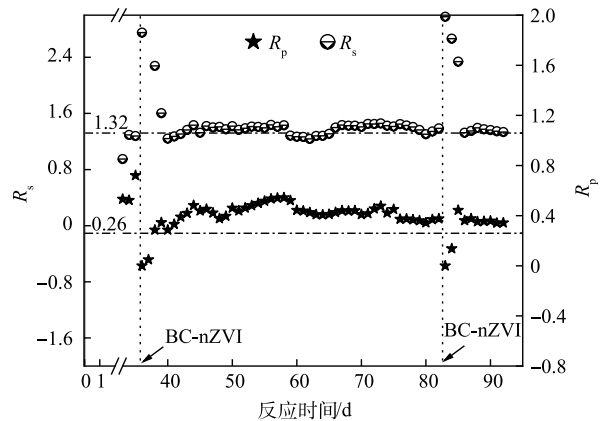


图 6 化学计量比变化

Fig. 6 Change of the stoichiometric ratio

是多反应 (Feammox, NDFO, IC-ME 和 Anammox) 协调作用所致。如图 6 所示, 每次投加 BC-nZVI 后 3 d 内,  $R_s$  与  $R_p$  均会显著偏离理论值, 这可能是由于系统内发生 IC-ME 反应, 大量  $\text{NO}_3^-$ -N 被还原为  $\text{NH}_4^+$ -N, 之后  $\text{NH}_4^+$ -N 被铁氨氧化菌利用, 同时伴随着 Fe(II) 的产生, 而 Fe(II) 浓度的提升促进 NDFO 反应。之后,  $R_s$  和  $R_p$  趋于稳定, 可能零价铁在体系内被钝化, 表面形成了  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  等壳层, 原电池反应难以进行。铁离子浓度趋于稳定。

#### 2.4 铁强化厌氧氨氧化启动效果对比

表 2 为投加不同价态与形态的铁元素对 Anammox 的启动及微生物富集的影响对比。由表 2 可知, nZVI 确实有利于加快 Anammox 的启动, 在氮负荷相近时, 投加 nZVI 的反应器启动时间相对较短。在本研究在 EGSB 反应器投加 BC-nZVI, 历经 43 d 左右成功启动了 Anammox, 总氮去除率达到 80% 以上。在相同负荷条件下, BC-nZVI 投加量仅为  $30 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , 远低于文献研究, 表明 nZVI 负载于 BC 中, 铁炭充分接触, 有利于 nZVI 分散于生物炭表面, 促进铁炭微电解的电子转移和生物厌氧氨氧化。

表 2 铁促进厌氧氨氧化启动时间对比  
Table 2 Comparison of the start-up time of iron-promoted Anammox

材料	投加量	反应器	接种污泥	启动时间/d	氮负荷/( $\text{kg}\cdot\text{d}^{-1}$ )	参考文献
BC-nZVI	$30 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$	EGSB	活性污泥	43	0.42	本研究
nZVI+磁场	$3 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$	UASB	厌氧颗粒污泥	50	0.070.15	[28]
FeS	$3 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$	UASB	厌氧颗粒污泥	56		
nZVI	25 g	UASB	厌氧污泥	84	0.63	[5]
mZVI	25 g	UASB	厌氧污泥	105		
$\text{Fe}^{2+}$ -EDTA	$0.018\sim 0.05 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$	UASB	回流污泥	57	0.11~0.16	[29]
$\text{Fe}^{2+}$	$2.3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$	UASB	活性污泥	100~150	0.22~1.09	[30]
ZVI	$1\ 000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$	UASB	厌氧污泥	87	0.58	[31]

#### 2.5 pH 对 BC-nZVI 厌氧氨氧化系统的脱氮影响

合适的 pH 是微生物发挥高效性能的重要运行条件。图 7 为 pH 对厌氧氨氧化脱氮性能的影响。尽管反应时间 7 h 左右, 不同 pH 下的总氮去除率均在 75% 左右。但 pH 影响反应速率, pH 为 7 时进水的反应速率低于较低的 pH。在不同的 pH 条件下, 前 2 h 内,  $\text{NO}_2^-$ -N 与  $\text{NH}_4^+$ -N 浓度缓慢下降, 而出水 pH 快速上升。造成这种现象的原因可能是 BC-nZVI 原电池反应可消耗混合液中的  $\text{H}^+$  产生 Fe(II) 和 Fe(III)。反应第 2 h,  $\text{NO}_2^-$ -N 与  $\text{NH}_4^+$ -N 浓度快速下降。在 pH=5 和 pH=6 的批次实验中, 在第 4 h  $\text{NO}_2^-$ -N 几乎完全被消耗, 总氮去除率达到 70%。值得注意的是, 在 pH=7 时, 反应进行到第 4 h, 总氮去除率仅达 45%。此外, 在不同 pH 下, 投加 BC-nZVI 后,  $\text{NH}_4^+$ -N 均出现先升后降的趋势, 在 pH=6 时, 相比 pH=5、pH=7,  $\text{NH}_4^+$ -N 峰值在第 3 h 提前出现。这说明在 pH=6 时 BC-nZVI 能够较早参与 IC-ME 反应。而在整个反应过程中均未检测出  $\text{NO}_3^-$ -N。有研究<sup>[32]</sup>表明, 液相中 pH 的降低会加快铁的腐蚀, 导致大量铁离子析出且参与反应, 从而提高  $\text{NO}_3^-$ -N 的还原效率。

厌氧氨氧化反应会产生碱度, IC-ME 反应的存在也会增加 pH。有研究<sup>[33]</sup>表明, 厌氧氨氧化污泥系统的最适 pH 为 7~8, BC-nZVI 的投加有利于提高系统对进水 pH 的适应性, XIE 等研究也证实厌氧氨氧化混合系统将扩大最适 pH 范围<sup>[34-35]</sup>。

#### 2.6 微生物分析

1) 微生物多样性分析。通常, Chaol 和 ACE 指数表示物种丰度, Shannon 和 Simpson 指数表示物种多样性<sup>[36]</sup>, Simpson 指数随着物种多样性的增加而降低, 而 Chaol 和 ACE 指数随着微生物丰富

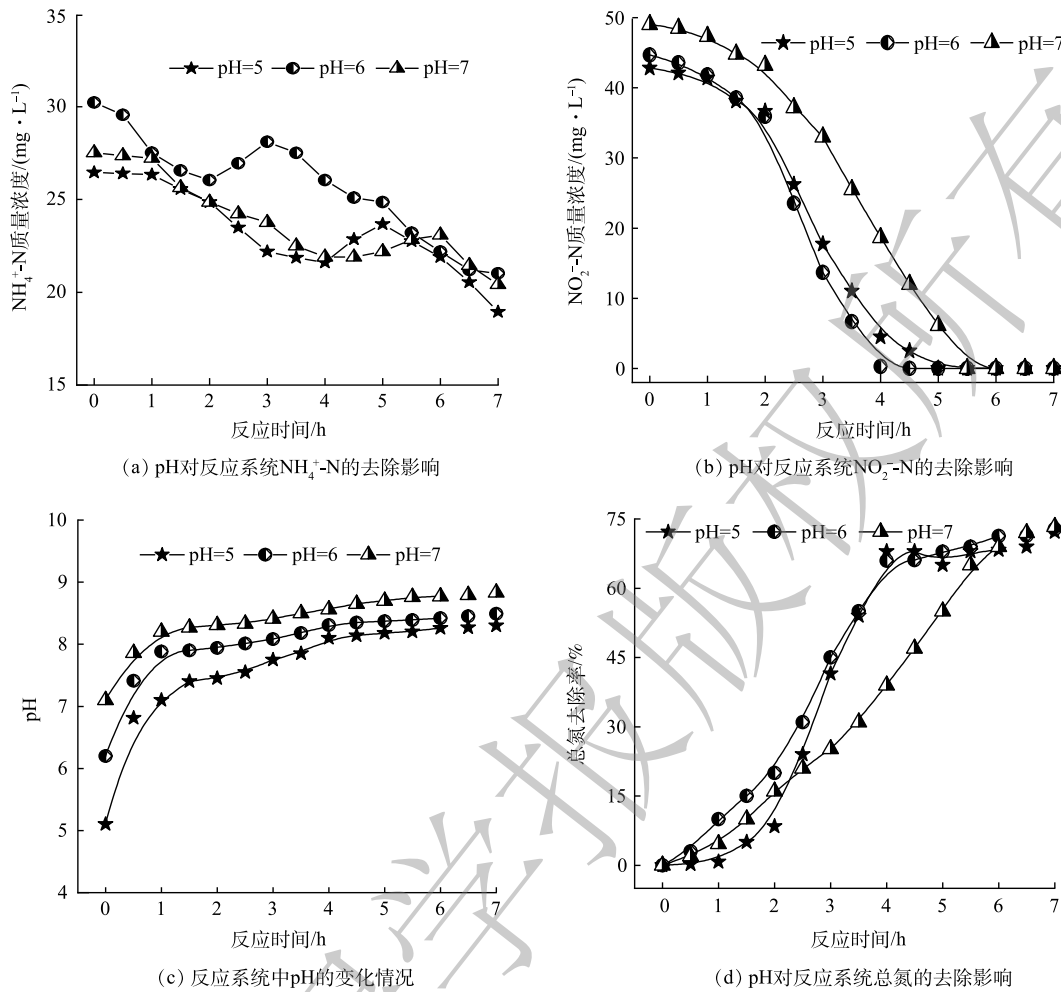


图 7 不同 pH 下混合系统氮素去除速率的变化

Fig. 7 Changes in nitrogen removal rate of the mixed system under different pH

度的增加而增加。微生物群落的多样性特征结果如表 3 所示。Shannon 指数与 Simpson 指数的变化，表明投加 BC-nZVI 的厌氧氨氧化过程性能提升过程中，微生物多样性增加。

2) 微生物群落结构。由图 8 可知，污泥样品中浮霉菌门 (*Planctomycetota*)、变形菌门 (*Proteobacteria*)、绿弯菌门 (*Chloroflexi*)、拟杆菌门 (*Bacteroidota*)、酸杆菌门 (*Acidobacteria*) 作为优势菌门。在第 55 天污泥样品中，包含 AnAOB 的浮霉菌门<sup>[37]</sup> (*Planctomycetota*)、变形菌门 (*Proteobacteria*)，其丰度分别由 2.11% 和 17.15% 升至 25.61% 和 22.70%。其中酸杆菌门属于典型的 Feammox 系统参与到氮循环过程中。变形菌门包含氮循环功能相关的亚硝酸盐氧化菌、氨氧化菌和反硝化菌等，其在促进微生物生长与微生物群落调节中发挥着重要作用<sup>[38]</sup>，在微生物门水平上可支持 BC-nZVI 强化 Anammox 系统脱氮效能。图 8 反映了微生物在属水平上群落结构特征。启动成功后作为 Anammox 菌属的 *unclassified\_Brocadiaceae*，相对丰度由接种污泥的 0.3% 增加到 22.3%，成为绝对的优势功能菌，从微生物的角度证实 EGSB 反应器中脱氮性能的提升主要是由厌氧氨氧化贡献。内源反硝化菌属 *Comamonadaceae* 的丰

表 3 微生物物种多样性指数

Table 3 Microbial species diversity index

样品	物种丰度		群落多样性		覆盖率/%
	ACE指数	Chao指数	Shannon指数	Simpson指数	
R0	1 182	1 168	5.32	0.01	99.81
R1	1 172	1 161	4.75	0.05	99.63



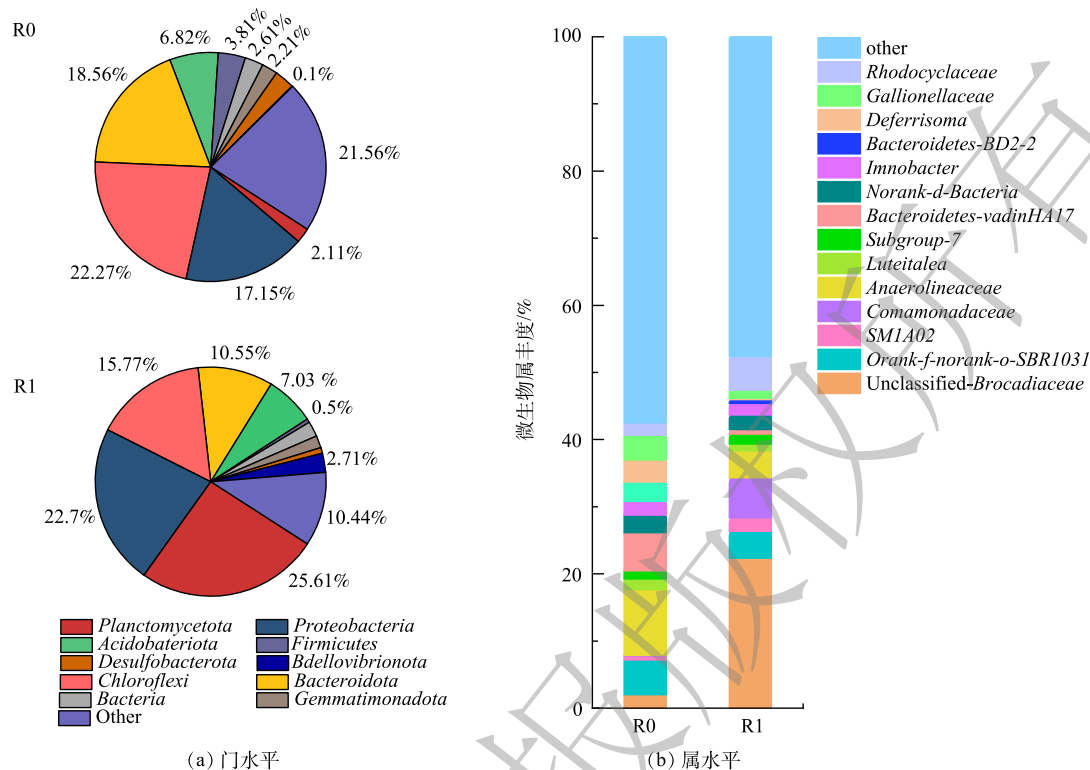


图8 R0和R1污泥系统门水平和属水平微生物群落结构

Fig. 8 Microbial community structure of R0 and R1 sludge systems at phylum and genus levels

度由0.01%上升为0.6%，此外，有研究表明，Anammox细菌 *Brocadia* 可能具有与Feammox相关的厌氧氨氧化潜力<sup>[39]</sup>，这一微生物特征与反应器脱氮特征相吻合。此外，绿弯菌门 *Chloroflexi* 中 *norank\_f\_norank\_o\_SBR1031*、*norank\_f\_Anaerolineaceae* 菌和 *Bacteroidetes\_vadinHA17* 菌是主要的微生物厌氧消化种群<sup>[40-41]</sup>，在接种污泥中相对丰度较高，在成熟的厌氧氨氧化污泥体系中相对丰度分别由5.1%、9.7%、5.7%下降到4.2%、4.1%、0.07%。

### 3 结论

1) 采用液相还原法制备BC-nZVI复合材料，在生物炭表面负载的nZVI为链状球形颗粒，粒径为100~500 nm，比表面积为21.29 m<sup>2</sup>·g<sup>-1</sup>。材料纯度较高，主要为单质铁和碳元素，表面形成Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>和Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>的氧化层。

2) 以城市污水厂厌氧池活性污泥作为接种污泥，投加质量浓度为30 mg·L<sup>-1</sup>的BC-nZVI，43 d即可成功启动厌氧氨氧化，总氮去除负荷和去除率稳定在0.22 kg·d<sup>-1</sup>和80%以上。BC-nZVI投加后3 d左右，氮的转化以铁元素参与的物化反应占主导，随后以Anammox生化脱氮为主。

3) BC-nZVI的投加，可以为AnAOB提供大量附着位点，促进厌氧氨氧化污泥颗粒化，且不同价态的铁离子会被细胞利用合成铁硫蛋白和血红素有利于促进厌氧氨氧化工艺的启动。BC-nZVI提高了厌氧氨氧化系统对进水pH的适应性。

4) 在BC-nZVI强化的成熟污泥体系中，浮霉菌门 (*Planctomycetota*) 和变形菌门 (*Proteobacteria*) 占主导，其丰度可占48%左右。Unclassified\_*Brocadia* 作为AnAOB优势菌属，相对丰度达22.3%，成为绝对的优势功能菌。



## 参考文献

- [1] JETTEN M S M, STROUS M, et al. The anaerobic oxidation of ammonium[J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 1998, 22(5): 421-437.
- [2] REN Z Q, WANG H, ZHANG L G, et al. A review of anammox-based nitrogen removal technology: From microbial diversity to engineering applications[J]. *Bioresource Technology*, 2022, 363: 127896.
- [3] FEROUSI C, LINDHOUD S, BAYMANN F, et al. Iron assimilation and utilization in anaerobic ammonium oxidizing bacteria[J]. *Current Opinion in Chemical Biology*, 2017, 37: 129-136.
- [4] 袁新明, 王电站. 金属离子对厌氧氨氧化污泥脱氮效能影响[J]. *环境污染与防治*, 2019, 41(5): 515-519.
- [5] REN L F, NI S Q, LIU C, et al. Effect of zero-valent iron on the start-up performance of anaerobic ammonium oxidation (anammox) process[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2015, 22(4): 2925-2934.
- [6] 董子阳, 胡宝兰, 韩佳慧. 厌氧氨氧化细菌 *Candidatus Kuenenia stuttgartiensis* 铁的吸收利用研究进展[J]. *微生物学通报*, 2021, 48(5): 1780-1787.
- [7] 马娇, 曾天续, 宋璐, 等. 纳米单质铁对厌氧氨氧化脱氮性能的影响[J]. *中国环境科学*, 2021, 42(6): 2619-2627.
- [8] WANG Z, LIU X, NI S Q, et al. Nano zero-valent iron improves anammox activity by promoting the activity of quorum sensing system[J]. *Water Research*, 2021, 202: 117491.
- [9] BURGESS J E, QUARMBY J, STEPHENSON T. Role of micronutrients in activated sludge-based biotreatment of industrial effluents[J]. *Biotechnology Advances*, 1999, 17(1): 49-70.
- [10] WANG S, ZHAO M, ZHOU M, et al. Biochar-supported nZVI (nZVI/BC) for contaminant removal from soil and water: A critical review[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2019, 373(5): 820-834.
- [11] XIE F, ZHAO B, CUI Y, et al. Enhancing nitrogen removal performance of anammox process after short-term pH and temperature shocks by coupling with iron-carbon micro-electrolysis[J]. *Journal of Cleaner Production*, 2021, 289(20): 125753.
- [12] 席冬冬, 李晓敏, 熊子璇, 等. 生物炭负载纳米零价铁对污染土壤中铜钴镍的协同去除[J]. *环境工程*, 2020, 38(6): 58-66.
- [13] JIN Y, WANG D Q, ZHANG W J. Use of bamboo charcoal reduced the cultivated anammox seed sludge dosage during the start-up period[J]. *Desalination and Water Treatment*, 2016, 57(43): 20248-20253.
- [14] WANG J, SONG J, YIN F, et al. Insight into how high dissolved oxygen favors the startup of nitrification with aerobic granules [J]. *Chemosphere*, 2021, 270(128643).
- [15] 邹义龙. 电增强零价铁厌氧氨氧化处理猪场废水的研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2014.
- [16] 陈西亮. 纳米铁炭微电解去除水中硝酸盐途径及其动力学研究[D]. 成都: 成都理工大学, 2017.
- [17] SUN Y P, LI X Q, CAO J, et al. Characterization of zero-valent iron nanoparticles[J]. *Advances in Colloid and Interface Science*, 2006, 120(1-3): 47-56.
- [18] LIU C M, DIAO Z H, HUO W Y, et al. Simultaneous removal of Cu<sup>2+</sup> and bisphenol A by a novel biochar-supported zero valent iron from aqueous solution: Synthesis, reactivity and mechanism[J]. *Environmental Pollution*, 2018, 239: 698-705.
- [19] CHONG JIAN T, PING Z, QAISAR M, et al. Start-up and inhibition analysis of the Anammox process seeded with anaerobic granular sludge[J]. *Journal of industrial microbiology & biotechnology*, 2009, 36(8): 1093-1100.
- [20] KAMPSCHREUR M J, KLEEREBEZEM R, et al. Reduced iron induced nitric oxide and nitrous oxide emission[J]. *Water Research*, 2011, 45(18): 5945-5952.
- [21] SAMARKIN V A, MADIGAN M T, BOWLES M-W, et al. Abiotic nitrous oxide emission from the hypersaline Don Juan Pond in Antarctica[J]. *Nature Geoscience*, 2010, 3(5): 341-344.
- [22] LIU Y, WANG J. Reduction of nitrate by zero valent iron (ZVI)-based materials: A review[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 671: 388-403.
- [23] 王茹, 赵治国, 郑平, 等. 铁型反硝化: 一种新型废水生物脱氮技术[J]. *化工进展*, 2019, 38(4): 2003-2010.
- [24] LIU H, CHEN Z, GUAN Y, et al. Role and application of iron in water treatment for nitrogen removal: A review[J]. *Chemosphere*, 2018, 204: 51-62.
- [25] TIWARI MANOJ K, SAUMYEN G, et al. Influence of extrinsic factors on granulation in UASB reactor[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2006, 71(2): 145-154.
- [26] ERDIM E, ÖZKAN Z Y, KURT H, et al. Overcoming challenges in mainstream Anammox applications: Utilization of nanoscale zero valent iron (nZVI)[J]. *Science of the Total Environment*, 2018, 651(Pt 2): 3023-3033.
- [27] YAO C, FANGXU J, YINGJIE L, et al. The effects of Fe(III) and Fe(II) on anammox process and the Fe-N metabolism[J]. *Chemosphere*, 2021, 285: 131322.
- [28] 郭蓓蓓. 基于铁元素作用下强化厌氧氨氧化工艺研究[D]. 济南: 山东大学, 2019.
- [29] 唐政坤, 李军, 张硕, 等. Fe<sup>2+</sup>和EDTA对厌氧氨氧化工艺快速启动及菌群特性的影响[J]. *中国环保产业*, 2018, 11: 66-71.
- [30] TANG S M, XU Z H, LIU Y L, et al. Performance, kinetics characteristics and enhancement mechanisms in anammox process under Fe(II) enhanced conditions[J]. *Biodegradation*, 2020, 31(4): 223-234.
- [31] GUO B, CHEN Y, LV L, et al. Transformation of the zero valent iron dosage effect on anammox after long-term culture: From inhibition to promotion[J]. *Process Biochemistry*, 2019, 78: 132-139.
- [32] AO L, XIA F, REN Y, et al. Enhanced nitrate removal by micro-electrolysis using Fe<sup>0</sup> and Surfactant modified activated carbon[J].

- Chemical Engineering Journal, 2018, 357(1): 180-187.
- [33] 杨洋, 左剑恶, 沈平, 等. 温度、pH值和有机物对厌氧氨氧化污泥活性的影响[J]. *环境科学*, 2006(4): 691-695.
- [34] FEI X, BOWEI Z, YING C, et al. Enhancing nitrogen removal performance of anammox process after short-term pH and temperature shocks by coupling with iron-carbon micro-electrolysis[J]. *Journal of Cleaner Production*, 2020, 289(20): 125753.
- [35] EGLI K, FANGER U, ALVAREZ P J, et al. Enrichment and characterization of an anammox bacterium from a rotating biological contactor treating ammonium-rich leachate[J]. *Archives of microbiology*, 2001, 175(3): 198-207.
- [36] XU X, LIU G, WANG Y, et al. Analysis of key microbial community during the start-up of anaerobic ammonium oxidation process with paddy soil as inoculated sludge[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2018, 64(2): 317-27.
- [37] GUIS K J. Anammox bacteria: from discovery to application[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2008, 6(4): 320-326.
- [38] LAWSON CHRISTOPHER E, WU S, et al. Metabolic network analysis reveals microbial community interactions in anammox granules[J]. *Nature Communications*, 2017, 8(1): 15416.
- [39] RU Y X, HU L, QIANG S J, et al. Anammox bacteria are potentially involved in anaerobic ammonium oxidation coupled to iron(III) reduction in the wastewater treatment system[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2021, 12: 717249.
- [40] NELSON M C, MORRISON M, YU Z. A meta-analysis of the microbial diversity observed in anaerobic digesters[J]. *Bioresource Technology*, 2011, 102(4): 3730-3739.
- [41] YANYAN J, KUMAR K S, LINWAN Y, et al. Influence of ibuprofen and its biotransformation products on different biological sludge systems and ecosystem[J]. *Environment International*, 2021, 146: 106265.

(责任编辑: 曲娜)

## Rapid start-up and the operation characteristics of Anammox process induced by BC-nZVI

HE Zhihao<sup>1</sup>, LI Xingran<sup>2</sup>, WANG Jianfang<sup>1,2,3,4,\*</sup>, LUO Zichen<sup>1</sup>, HU Juntong<sup>1</sup>, CAI Yunfei<sup>2</sup>

1. School of Environmental Science and Engineering, Suzhou University of Science and Technology, Suzhou 215009, China; 2. School of Environmental Science and Engineering, Tianping College of Suzhou University of Science and Technology, Suzhou 215009, China; 3. Jiangsu High Education Collaborative Innovation Center of Water Treatment Technology and Material, Suzhou 215009, China; 4. Jiangsu University Water Treatment Technology and Materials Collaborative Innovation Center, Suzhou, 215009, China

\*Corresponding author, E-mail: wjf302@163.com

**Abstract** The start-up period and stability of the Anammox process have become the limiting factors of its engineering applications. Iron can promote the growth of Anammox bacteria. The start-up and long-term stable operation characteristics of the Anammox process induced by BC-nZVI are the topics worthy of study. In this study, BC-nZVI composites were prepared by a liquid-phase reduction method, and nZVI with particle size of 100-500 nm was successfully loaded on the surface of biochar. In EGSB(Expanded Granular Sludge Bed), the addition of BC-nZVI significantly shortened the start-up time of the Anammox process, and improved the resistance to the nitrogen shock loads, as well as the adaptability in weakly acidic environments. By adding 30 mg·L<sup>-1</sup> BC-nZVI, the Anammox process could be quickly started only after 43 days, and the total nitrogen removal load and removal rate were stable at 0.22 kgTN·d<sup>-1</sup> and above 80%, respectively. In the mature sludge system enhanced by BC-nZVI, *Planctomycetota* and *Proteobacteria* dominated. Of them, unclassified *Brocadiaceae* as the dominant AnAOB genus, had a relative abundance of 22.3%, becoming the absolute dominant functional bacteria.

**Keywords** EGSB; Anammox; Feammox; fast start-up; nano zero-valent iron(nZVI); nitrogen removal efficiency.