



文章栏目：厌氧氨氧化生物脱氮理论与技术发展

DOI 10.12030/j.cjee.202108148 中图分类号 X523 文献标识码 A

冯帆, 柴立元, 熊鑫, 等. 填充矿化状垃圾填埋物的短程反硝化-厌氧氨氧化反应器处理低 C/N 氨氮废水[J]. 环境工程学报, 2022, 16(2): 409-420. [FENG Fan, CHAI Liyuan, XIONG Xin, et al. Short-cut denitrification and anammox reactor inoculated with aged refuse improves nitrogen removal performance in the low C/N ammonia-rich wastewater treatment[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2022, 16(2): 409-420.]

填充矿化状垃圾填埋物的短程反硝化-厌氧氨氧化反应器处理低 C/N 氨氮废水

冯帆^{1,2}, 柴立元^{1,2}, 熊鑫^{1,2}, 唐溪^{1,2}, 柴喜林^{1,3}, 唐崇俭^{1,2,✉}

1. 中南大学冶金与环境学院, 长沙 410083; 2. 国家重金属污染防治工程技术研究中心, 长沙 410083; 3. 江西盖亚环保科技有限公司, 上饶 334100

摘要 矿化状垃圾填埋物在长期厌氧稳定化过程中形成了一些独特的理化性质和微生物学特性, 使其可用于水处理工艺。以矿化状垃圾填埋物为填充物, 研究其在短程反硝化和厌氧氨氧化工艺中对系统性能的影响。结果表明: 矿化状垃圾填埋物可通过短程反硝化实现亚硝酸盐积累, 当进水 C/N 为 2 时 NO_2^- -N 积累达 50%, 可为后续与厌氧氨氧化耦合脱氮提供基质; 批次实验表明矿化状垃圾填埋物对厌氧氨氧化具有促进作用, 使 NH_4^+ -N 和 NO_2^- -N 去除率分别由 62% 和 90% 增至 68% 和 96%; 连续流实验表明, 填充矿化状垃圾填埋物可通过强化厌氧氨氧化工艺实现废水高效脱氮, 反应器容积负荷达 $0.63 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$, NH_4^+ -N 和 NO_2^- -N 的去除率分别为 81% 和 91%。本研究结果可为矿化状垃圾填埋物应用于氨氮废水处理工艺, 进而实现垃圾填埋物资源化利用并有效处理氨氮废水提供参考。

关键词 矿化状垃圾填埋物; 氨氮废水; 低 C/N; 厌氧氨氧化; 短程反硝化

随着经济社会的发展和城市化进程的加快, 城市生活垃圾产生量与日俱增。预计到 2030 年, 我国垃圾填埋物数量将达到峰值^[1-2], 其资源化利用已成为研究热点。在填埋场封闭的环境条件下, 生活垃圾经过长期的物理、化学和生物稳定化过程后, 由散发出恶臭气体的原生垃圾逐渐转变为性质和组分相对稳定、具有泥土气味的类土壤物质^[3], 呈现出矿化状特性。在长期厌氧、高盐、高毒等填埋稳定化过程中, 矿化状垃圾填埋物中大部分可降解有机物已被去除, 存留的微生物菌群理论上具有更强的环境适应性与污染物降解/转化性能; 另外, 矿化状垃圾填埋物的比表面积可达 $5.46 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$, 具有良好的污染吸附能力及微生物附着能力^[4]。因此, 可考虑将其用作水处理填料并开发矿化垃圾填料床处理工艺, 发挥其对污染物的微生物降解/转化能力和吸附能力。

厌氧氨氧化 (anammox) 工艺具有无需曝气和外加碳源、操作成本低且剩余污泥少等优势, 已成为最具发展潜力的生物脱氮技术^[5]。Anammox 需要 NO_2^- 作为电子受体, 且反应产生 NO_3^- , 而短程反硝化则将 NO_3^- 还原为 NO_2^- , 可为 anammox 提供 NO_2^- , 同时可节省 NO_2^- 继续还原所需的碳源, 故短程

收稿日期: 2021-08-24; 录用日期: 2021-10-29

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (U21A20294, 51878662); 湖南省科技计划重点项目 (2017SK2420); 中南大学基础科研业务费专项资金 (2017zzts599)

第一作者: 冯帆 (1993—), 女, 博士研究生, 664580557@qq.com; ✉通信作者: 唐崇俭 (1984—), 男, 博士, 教授, chjtang@csu.edu.cn

反硝化和厌氧氨氧化受到广泛关注。低 C/N 氨氮废水中的 NH_4^+ 极易氧化为 NO_3^- , 导致 NO_2^- 积累难, anammox 工艺易受影响。矿化填料中的亚硝酸盐氧化菌 (NOB) 以 *Nitrospira* sp. 为主, 这类菌株对氧气的亲和力很强^[6], 且当 NH_4^+ 转化为 NO_2^- 后, *Nitrospira* sp. 会随即利用多余氧气将 NO_2^- 进一步氧化为 NO_3^- , 很难通过短程硝化作用实现 NO_2^- 的积累。短程反硝化则可将 NO_3^- 转化为 NO_2^- , 同时消耗水中有机物, 避免其对后续 anammox 细菌发生抑制。综上所述, 将短程反硝化耦合厌氧氨氧化工艺是低浓度、低 C/N 氨氮废水高效处理的重要选择^[7]。

本研究阐明了矿化状垃圾填埋物的理化性质, 并以矿化状垃圾填埋物为填充物, 分别研究了其短程反硝化性能和厌氧氨氧化反应器的性能, 以期为其应用于低 C/N 氨氮废水的处理提供参考。

1 材料及方法

1.1 矿化状垃圾填埋物的来源

本研究所用的垃圾填埋物取自江西某填埋场的不同填埋单元, 经 8 a 以上厌氧填埋, 呈矿化状。自填埋场表面向下, 每隔 1 m 设置 1 个取样点, 最大深度为 4 m。每个取样点采集 50 kg 样品, 4 个填埋单元, 共计 16 个样品, 并将这些样品混合均匀。取出填埋物质中大块的颗粒, 如石块、玻璃、无纺布等。经过风干处理后的矿化状垃圾填埋物手动过筛 (2 mm 孔径) 待用。

1.2 模拟废水

实验用水为模拟废水。 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 和 NaNO_2 分别为厌氧氨氧化过程提供相同质量浓度的 NH_4^+ -N 和 NO_2^- -N, 碳源由 $1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 NaHCO_3 或 KHCO_3 提供。 NaNO_3 为短程反硝化过程提供 NO_3^- -N, 碳源由 CH_3COONa 提供, 其 COD 为 $50\sim 400 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。用 $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的盐酸溶液将 pH 调节为 (7.0 ± 0.2) 。

1.3 实验装置

反应器均由有机玻璃制成, 其结构如图 1 所示。其中, 短程反硝化反应器 (R1) 分滴滤式和上流式两种进水方式, 厌氧氨氧化反应器为 R2。反应器外部由恒温水浴管包裹, 温度控制为 $(35\pm 1)^\circ\text{C}$ 。进水流量由蠕动泵控制。短程反硝化反应器 (R1) 内径为 100 mm, 高 410 mm, 总体积为 3.4 L, 有效容积为 1.2 L, 填料质量为 3.7 kg。其中, 滴滤式反应器 (R1) 从上到下包括进水口、海绵状布水层、矿化状垃圾填埋物、石英砂承托层、出水口。

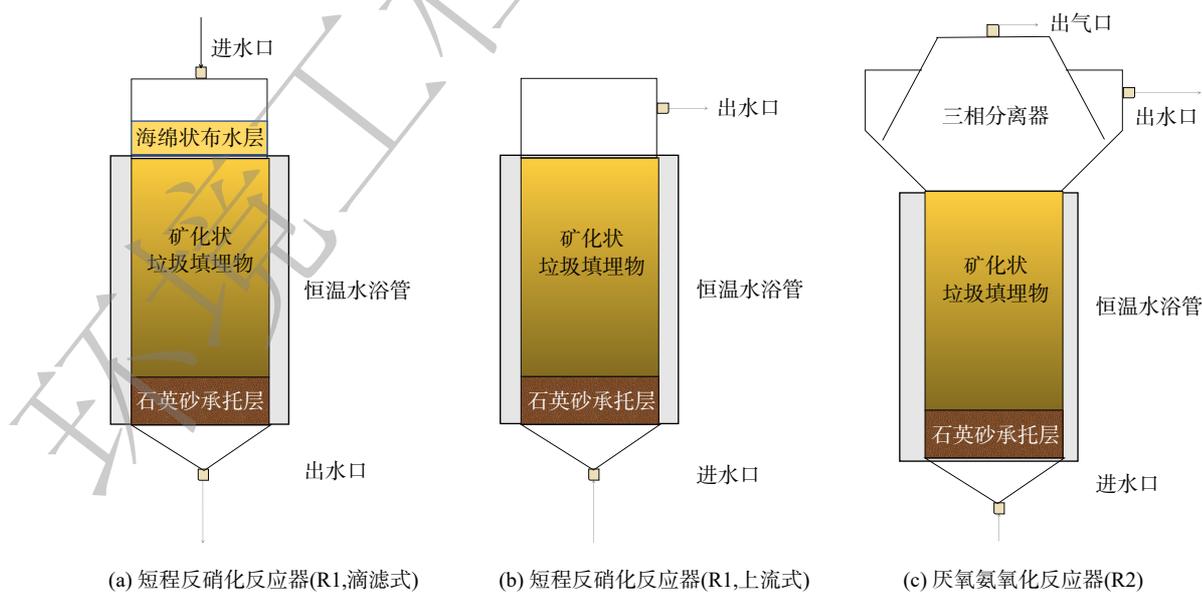


图 1 实验装置示意图

Fig. 1 Schematic diagram of experimental set-up

绵状布水层、矿化垃圾填埋物、石英砂承托层及出水口；上流式反应器 (R1)，从上到下包括出水口、矿化垃圾填埋物、石英砂承托层及进水口。厌氧氨氧化反应器 (R2)，内径为 150 mm，高 500 mm，总体积为 7.7 L，有效容积为 3.8 L，填料质量为 8.3 kg。反应器从上到下包括三相分离器、填料层、石英砂承托层及进水口。

1.4 实验设计

1) 矿化垃圾填埋物在反硝化体系中的长期实验。反硝化的有机碳源为 CH_3COONa 、氮源为 NaNO_3 ，通过考察不同 C/N 条件下反应器的长期运行效果，确定反硝化过程中利于亚硝酸盐积累的最佳 C/N；对比 R1 长期运行过程中两种不同进水方式 (第 1~50 天以滴滤式运行；第 55~100 天以上流式运行) 下，亚硝酸盐的累积情况，确定最佳进水方式，为 R2 提供亚硝酸盐。

2) 矿化垃圾填埋物在厌氧氨氧化体系中的批次实验 (2 组平行)。配制 1 L 所需基质，其 $[\text{NH}_4^+\text{-N}]$ 为 $25 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $[\text{NO}_2^-\text{-N}]$ 为 $25 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ，并包含一定比例的 KHCO_3 、 $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{NaH}_2\text{PO}_4\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 及微量元素。准备 3 个 200 mL 血清瓶，分别编号为 1、2、3 号，加入 150 mL 上述基质。其中，1 号中加入 2 g 矿化垃圾填埋物；2 号中加入 2 g 实验室培育成熟的厌氧氨氧化污泥；3 号中加入 2 g 矿化垃圾填埋物和 2 g 厌氧氨氧化污泥。充 N_2 (气体) 30 min 以提供厌氧环境，用橡胶塞及铝盖将血清瓶密封后，置于恒温振荡器中，于 37°C 、 $170 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 的条件下避光振荡。用 2.5 mL 注射器于 1、2、4、8 和 24 h 时取样，过 $0.45 \mu\text{m}$ 的无机滤膜，滤液置于 4°C 冰箱中冷藏保存待测。检测各时间间隔下三氮 (氨氮、亚硝酸盐和硝酸盐) 的浓度变化，以考察 anammox 系统性能，并通过对比各血清瓶中的脱氮性能，分析矿化垃圾填埋物在 anammox 过程中的作用。

3) 矿化垃圾填埋物在厌氧氨氧化体系中的长期运行实验。在 R2 中接入 100 mL 的 anammox 悬浮污泥 (*Candidatus Jettenia* 丰度为 60.47%，*Candidatus Brocadia* 丰度为 0.9%)，悬浮固体质量浓度 (SS) 为 $0.13 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ，污泥活性即挥发性悬浮固体浓度/悬浮固体浓度 (VSS/SS) 为 37.8%，污泥沉降比 (SV) 为 0.5%。进水 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 比例为 1:1，每天测定三氮浓度变化，通过基质去除率和化学计量比 (R_s ，即亚硝氮消耗量/氨氮消耗量； R_p ，即硝态氮生成量/氨氮消耗量) 判断 R2 运行情况。长期运行过程中，经历了为期 20 d 的饥饿期，以确定矿化垃圾填埋物厌氧氨氧化生物体系的稳健性；选取长期实验结束后的矿化垃圾填埋物进行生物群落结构分析，分析厌氧氨氧化细菌与矿化垃圾填埋物的相互作用。

1.5 测定项目及方法

$\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 的测定参考美国公共卫生协会 (APHA) 的水质检测标准方法。其中， $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 采用苯酚-次氯酸盐光度法，于 623 nm 波长处测定吸光度； $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 采用 N-(1-萘基)-乙二胺盐酸盐光度法，于 540 nm 波长处测定吸光度； $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 采用紫外分光光度法，于 275 nm 和 220 nm 波长处测定吸光度。

本研究中采用高通量测序方法检测微生物群落结构的演替，该检测由美吉生物公司承担。用磷酸盐缓冲溶液清洗矿化垃圾填埋物 3 次。根据操作指南，用细菌 DNA 分离试剂盒组件提取样品 DNA。利用引物对 (338f 和 806r) 扩增 V3~V4 区细菌 16S rRNA 基因。

2 结果与讨论

2.1 矿化垃圾填埋物的理化性质

2.1.1 用作水处理填料的安全性评估

矿化垃圾填埋物来源于垃圾填埋场，含有重金属，将其应用于水处理过程，应考虑重金属的溶出问题。以《土壤环境质量标准》(GB 15618-2008) 土壤无机污染物环境质量二级标准值中居住用地限值为基准，评价了所试矿化垃圾填埋物中典型重金属的含量，结果如图 2(a) 所示。以《污水

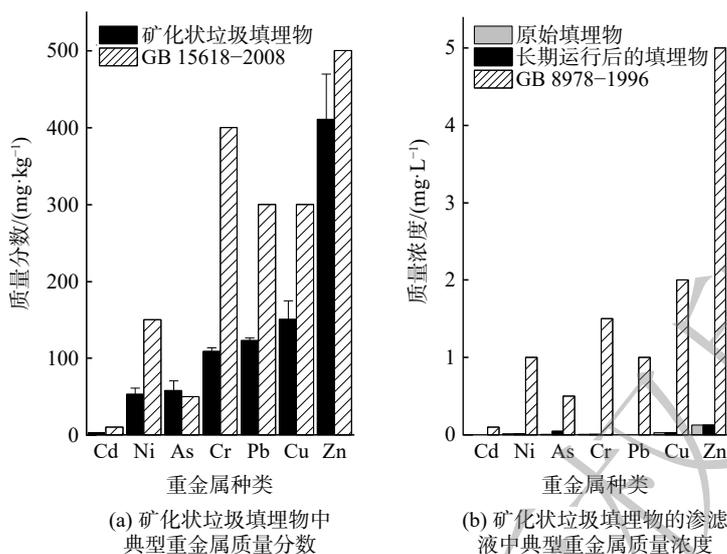


图2 矿化状垃圾填埋物及其渗滤液中典型重金属含量

Fig. 2 Concentrations of typical heavy metals in aged refuse and its leachate

综合排放标准》(GB 8978-1996)中污染物最高允许排放浓度限值为基准,评价其用作水处理填料时重金属的长期溶出状况,结果如图2(b)所示。由于矿化状垃圾填埋物中重金属含量极少,如镉(Cd)、镍(Ni)、砷(As)、铬(Cr)、铅(Pb)、铜(Cu)和锌(Zn),其平均质量分数分别为2.7、53.1、58.0、109.1、123.3、150.7和410.7 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,将其长期(280 d)用作水处理填料时,浸出液中重金属质量浓度极低(均低于 $0.13\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$),远低于排放标准。因此,使用矿化状垃圾填埋物作为废水处理的填料理论上是安全可靠的。

2.1.2 矿化状垃圾填埋物的理化特性

供试矿化状垃圾填埋物表面粗糙,含有大量微米级孔隙,可为污染物的吸附去除和微生物的附着生长提供良好条件。其理化特性为:1)元素组成主要有碳(C)、氧(O)、铝(Al)、硅(Si),部分含有镁(Mg)、钙(Ca)、钾(K)或铁(Fe)等,可能存在与沸石粉组成相似的铝硅酸盐成分,故可通过化学吸附、静电引力有效去除氨氮;2)主要物相组成为二氧化硅(SiO_2),具有很强的吸附性能,对前期污染物去除及整个运行过程中微生物的固定起到关键作用;3)孔径为12.03 nm, BET比表面积为 $6.90\text{ m}^2\cdot\text{g}^{-1}$,高于文献报道的其他矿化状垃圾填埋物($5.46\text{ m}^2\cdot\text{g}^{-1}$)^[8],表明其具有良好的吸附能力,有利于污染物去除;4)粒径主要分布在3~70 μm ,其中,累计粒度分布数达到10%、50%及90%时所对应粒径分别为4.05、4.72和70.60 μm ,平均粒径为33.5 μm 。

2.1.3 微生物群落组成

为进一步探明矿化状垃圾填埋物中的微生物群落结构,特取样进行了高通量测序,属水平的检测结果如图3所示。值得注意的是,原始矿化状垃圾填埋物中检测到通常生活在极端自然环境下的古菌(1.05%),如*Euryarchaeota*^[9]及氨氧化古菌*Candidatus Nitrososphaera*(0.21%),表明长期厌氧填埋条件下的矿化状垃圾填埋物具有生物脱氮的潜能。同时,也检测到一些耐受性极佳的微生物如隶属于*Pseudomonas*(1.57%)

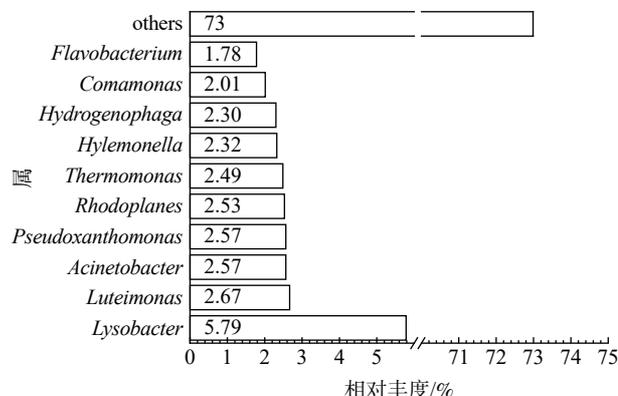


图3 属水平的矿化状垃圾填埋物生物群落结构图

Fig. 3 Microbial community structure of aged refuse at genus level

的 *thermotolerans*，其最优的生长温度为 50℃。*Novosphingobium* (0.60%) 可降解芳香族化合物如苯酚、苯胺、硝基苯和菲等^[10]。此外，检测到对于芳香族化合物的矿化起着重要作用的革兰氏阴性菌 *Acinetobacter* (2.57%)。

2.2 填充矿化状垃圾填埋物反应器的短程反硝化工艺性能

2.2.1 短程反硝化反应器的运行效果

加入矿化状垃圾填埋物后，分别采用滴滤式和上流式 2 种进水方式研究了短程反硝化反应器对 $\text{NO}_2\text{-N}$ 的累积性能。保持进水硝酸盐质量浓度 $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 不变，通过改变进水 COD，探究了 C/N 对 $\text{NO}_2\text{-N}$ 积累的影响 (见图 4)。结果表明：与滴滤式进水方式相比，上流式进水方式下的 $\text{NO}_2\text{-N}$ 积累效果更佳； $\text{NO}_2\text{-N}$ 随 C/N 的增加而逐渐增加，当 C/N 为 2 时， $\text{NO}_2\text{-N}$ 积累达到峰值，约为 $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ；而随着 C/N 的继续提升，出水 $\text{NO}_2\text{-N}$ 则下降。这是由于：多余的耗氧有机物 (以 COD 计) 将 $\text{NO}_2\text{-N}$ 进一步反硝化为 N_2 ，当 C/N 为 4 时，出水 $\text{NO}_2\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3\text{-N}$ 均低于 $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。采用滴滤式进水方式时，系统出水 $\text{NO}_2\text{-N}$ 在 C/N 为 2~4 时最高积累量为 $30 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ，且出水不稳定，难以实现 $\text{NO}_2\text{-N}$ 的有效积累。因此，上流式进水可更好实现反硝化过程中的 $\text{NO}_2\text{-N}$ 积累，为后续厌氧氨氧化过程提供基质，从而实现低 C/N 条件下的高效脱氮。这是由于滴滤式进水过程难以保证相对缺氧的环境条件，氧气会消耗进水中的有机物，导致参与反硝化的有机物 (以 COD 表征) 降低。而上流式进水方式可有效避免氧气进入反应体系，保证足够有机物参与反硝化过程。由于过多的有机物会将亚硝酸盐进一步反硝化为氮气，故在这 2 种进水方式下，即使 C/N 为 4，反应体系都难以实现亚硝酸盐的积累。

2.2.2 短程反硝化体系中微生物群落结构的变化

采用高通量测序对 R1 长期运行过程中微生物群落结构进行了分析。在反硝化运行前，填料中共有 8 门，经过长期反硝化后仅剩 5 门。二者共有门类包括 Proteobacteria、Bacteroidetes、Chloroflexi 和 Chlorobi。其中，Proteobacteria 为主要门类，运行前后占比分别为 44.4% 和 63.8%。而在运行前相对丰度较高的 Firmicutes、Acidobacteria、Gemmatimonadetes、Actinobacteria 和 Deinococcus-Thermus 则被 Planctomycetes 等门类取代。Planctomycetes 是浮霉菌，厌氧氨氧化细菌即为其属分支^[11]。这表明在上流式进水、C/N 为 2 的条件下，反硝化有利于矿化状垃圾填埋物生物体系中 anammox 菌的生长，该工艺参数的控制利于“短程反硝化-厌氧氨氧化”组合工艺的实现。

阿尔法多样性分析结果如表 1 所示。在反应器长期运行后，矿化状垃圾填埋物中微生物的物种丰富度略微下降，但群落多样性未发生显著变化。

反硝化前检测到的相对丰度较高的反硝化菌有：*Pseudomonas* 0.51%、*Bradyrhizobium* 0.33%、

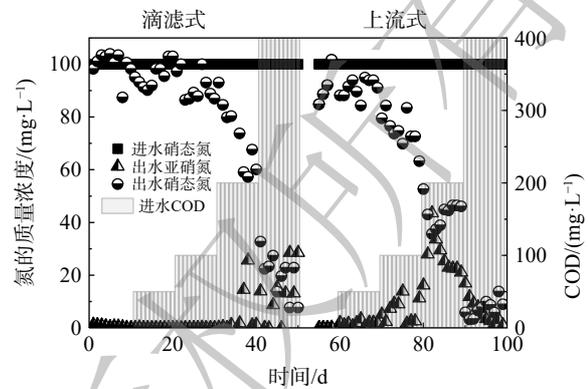


图 4 矿化状垃圾填埋物反硝化体系长期运行中进水方式及 C/N 的影响

Fig. 4 Influence of feeding mode and C/N ratio on the denitrification system amended with aged refuse during the long-term operation

表 1 反硝化体系 (R1) 中矿化状垃圾填埋物的阿尔法多样性分析

Table 1 Alpha diversity of aged refuse in denitrification system (R1)

| 样品来源 | Chao | Shannon | PD |
|------------|------|---------|----|
| 反硝化前的反应体系 | 598 | 5 | 45 |
| C/N为4时反应体系 | 543 | 4 | 46 |

Bacillus 0.157%、*Flavobacterium* 0.144%；而经过长期运行后的填料中反硝化菌的种类数量下降，但相对丰度明显增加。其中，*Denitratisoma* 具有完全反硝化能力，能将 $\text{NO}_3\text{-N}$ 还原为 N_2 ^[12]。这也从微生物组成的角度解释了R1长期运行中，当C/N为4时，反硝化出水 $\text{NO}_2\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3\text{-N}$ 均低于 $10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。此外，*Pseudomonas*是一种常见的异养反硝化菌^[13]，其相对丰度高达18.92%。这是由于其缺乏亚硝酸盐还原酶的基因编码而有利于反硝化过程中的亚硝酸盐积累^[14]，如*Pseudomonas fluorescens*，*Pseudomonas stutzeri*的反硝化产物为 NO_2^- ^[12]。为探明该体系中*Pseudomonas*的主要种，进一步分析其种水平的相对丰度变化，结果如表2所示。

反硝化菌为序列片段精确度导致的未分类类群 *g_Pseudomonas | s_*，经过反硝化处理后相对丰度达到18.78%。为探明该菌的功能，获取OTU间的进化关系，进行了系统发育分析，结果如图5

表2 *Pseudomonas* 种水平相对丰度的变化
Table 2 Relative abundance of *Pseudomonas* at species level

| 种名称 | 反硝化前 | 反硝化后 |
|--|-------|-------|
| <i>g_Pseudomonas s_uncultured</i> | 0.315 | 0.079 |
| <i>g_Pseudomonas s_Pseudomonas putida</i> | 0.182 | ND |
| <i>g_Pseudomonas s_</i> | 0.012 | 18.78 |
| <i>g_Pseudomonas s_Pseudomonas monteilii</i> | ND | 0.062 |

注：ND表示未检测到。

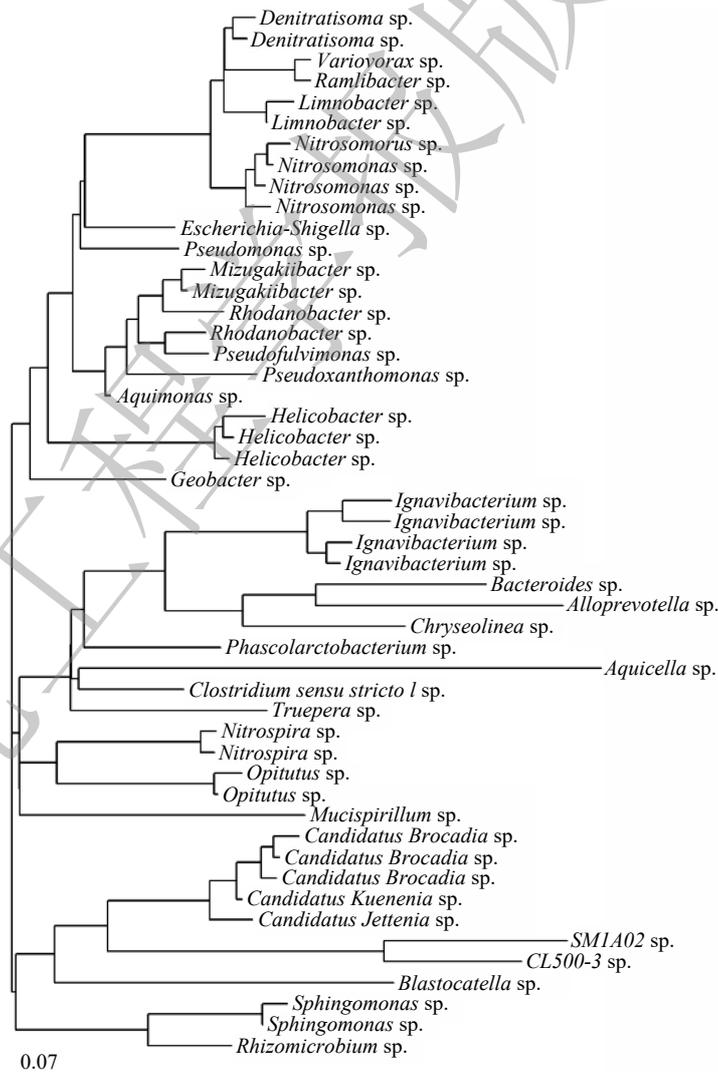


图5 高丰度 OTU 的进化树展示

Fig. 5 Phylogenetic tree of high-abundance OTUs

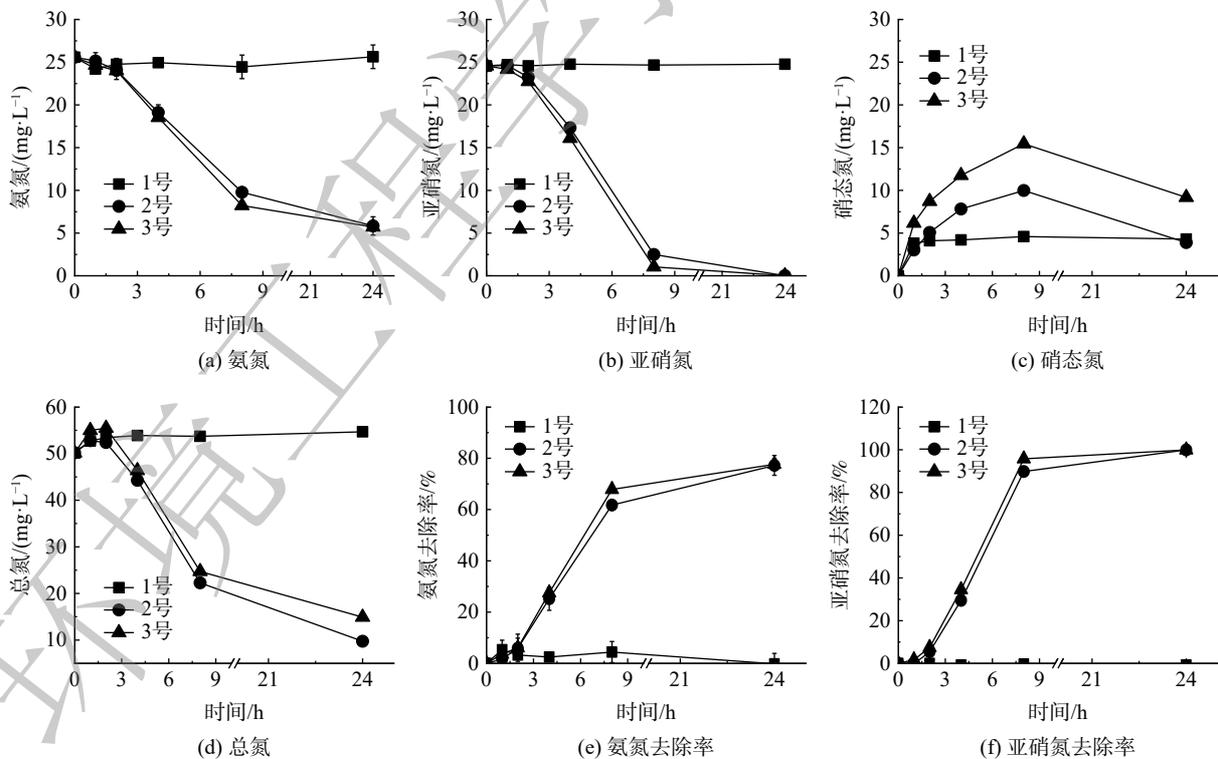
所示。系统发育分析的基础是进行进化树的重构建，即通过序列比对，根据序列间的碱基差异和序列特点选取合适的进化模型和重构建方法构建进化树。使用进化树对高丰度的 OTU 进行图形化展示，选取最大丰度排名前 50 的 OTU。*Pseudomonas* sp. 与生物脱氮的相关细菌如反硝化菌 *Denitratissima* sp.、硝化细菌 *Nitrosomonas* sp. 等的亲缘关系较近，验证了其在生物脱氮领域的重要地位。此外，将这一菌种的碱基序列输入至 NCBI，经 BLAST 进一步鉴定菌种为 *Pseudomonas stutzeri*。*Pseudomonas stutzeri* 是一种反硝化产物为 NO_2^- 的微生物^[12]，这也进一步解释了反硝化过程中亚硝酸盐盐积累的现象。以上结果表明，本研究的反应器中可实现反硝化过程中的亚硝酸盐盐积累，为后续 anammox 过程提供了必要基质，并为实现耦合脱氮奠定基础。

2.3 填充矿化状垃圾填埋物反应器的厌氧氨氧化体系的运行性能

2.3.1 批次实验的结果

采用批次实验研究了加入矿化状垃圾填埋物的厌氧氨氧化体系的性能，结果如图 6 所示。在反应进行的前 2 h 内，基质消耗尚不明显，3 组实验中 NH_4^+-N 和 NO_2^--N 的去除率均维持在 10% 以内；从第 4 h 起，2 号、3 号的基质去除率明显提高， NH_4^+-N 和 NO_2^--N 的去除率分别达到 25%、30% 以上；第 8 h， NH_4^+-N 去除率达到峰值，2、3 号分别为 62% 和 68%， NO_2^--N 去除率分别为 90% 和 96%。与此同时， NO_3^--N 的积累达到峰值。在 8 h 内， NO_2^--N 基本消耗完全，anammox 过程由于基质的缺乏而终止；在 8~24 h 时，积累的 NO_3^--N 可通过内源反硝化被消耗。

1 号中 24 h 内 $[\text{NH}_4^+-\text{N}]$ 和 $[\text{NO}_2^--\text{N}]$ 维持不变，说明加入的矿化状垃圾填埋物并没有厌氧氨氧化性能；2、3 号发生了明显的 anammox 过程，且加入了矿化状垃圾填埋物的对照组 3 号中，无论是 NH_4^+-N 还是 NO_2^--N 的去除率均高于仅加入 anammox 污泥的 2 号，表明矿化状垃圾填埋物对 anammox



注：1号为加入 2 g 矿化状垃圾填埋物的变化；2号为加入 2 g 实验室培育成熟的厌氧氨氧化污泥的变化；3号为加入 2 g 矿化状垃圾填埋物和 2 g 厌氧氨氧化污泥的变化。

图 6 添加矿化状垃圾填埋物后厌氧氨氧化反应器中氮元素的变化

Fig. 6 Influence of aged refuse on anammox system

过程可起到促进作用。

由于矿化垃圾填埋物经过渗滤液的洗沥、浸泡,以及微生物和其他生物体的生命活动等诸多因素的长期交互作用,导致其富含腐殖质^[15]。矿化垃圾填埋物中有机质含量为4.65%,其中低分子量有机质能被微生物吸收利用,可作为电子供体;而大分子腐殖质无法进入细胞内部,可充当电子穿梭体^[16]。实验检测到可降解芳香族化合物的 *Novosphingobium* 和对于芳香族化合物的矿化起着重要作用的 *Acinetobacter*。醌类化合物是电子转移的氧化还原活性组分,腐殖质因富含醌类物质而具有氧化还原活性,可加速微生物呼吸^[17]。因此,矿化垃圾填埋物对 anammox 过程的促进作用可能与其中富含的腐殖质有关。

2.3.2 厌氧氨氧化反应器的长期运行性能

加入矿化垃圾填埋物的厌氧氨氧化反应器的运行性能如图7所示。根据反应器运行情况,将运行期分为启动期(第1~58天)、饥饿期(第59~82天)、恢复期(第83~180天)和性能提升期(第181~375天)。

反应器的启动期分为2个阶段:第1阶段(第1~23天)未接种成熟 anammox 污泥;第2阶段(第24~58天)接种少量 anammox 污泥。运行初期(第1~16天)控制水力停留时间(HRT)为1.8 d,进水氨氮、亚硝氮均为40~80 mg·L⁻¹,氨氮和亚硝氮去除率分别低于40%和20%,化学计量比波动大且无规律。第17天起分别降低进水 [NH₄⁺-N] 和 [NO₂⁻-N] 至30 mg·L⁻¹,维持7 d。至第23天,运行性能仍未改善,表明加入的矿化垃圾填埋物难以在短时间内直接参与厌氧氨氧化过程。第24天,向反应器内接种100 mL 悬浮厌氧氨氧化污泥(主要菌种为 *Candidatus Jettenia*)。接种后(第24~58天),

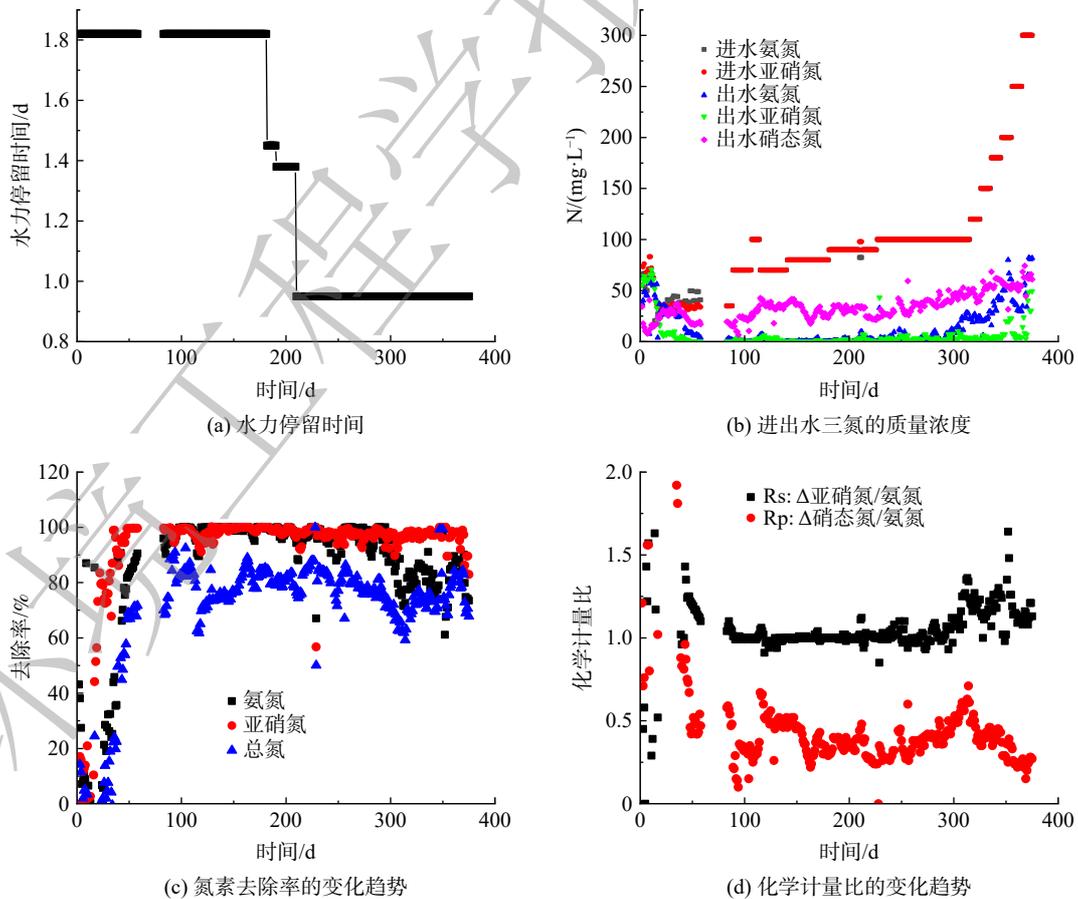


图7 矿化垃圾填埋物厌氧氨氧化体系(R2)长期运行情况

Fig. 7 Long-term performance of the anammox system (R2)

$\text{NH}_4^+\text{-N}$ 去除效果得到明显改善, 出水 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 保持在 $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 以内, 化学计量比也逐渐趋于稳定。第 58 天, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 去除率分别为 90.55% 和 99.63%, R_s 和 R_p 分别趋于 1.1 和 0.5, 接近理论值 1.32 和 0.26, 表明 anammox 菌代谢已趋于正常。

因疫情影响, 实验停滞了一段时间, 刚启动成功的厌氧氨氧化反应器不得不进入饥饿期(第 59~82 天)。这段时间没有监测反应器的运行性能。

第 83 天起反应器进入恢复期。将进水 $[\text{NH}_4^+\text{-N}]$ 和 $[\text{NO}_2^-\text{-N}]$ 控制为 $35 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 反应器稳定运行 7 d, 基质去除率均保持在 95% 以上, R_s 在 1.0~1.1 波动, R_p 则由 0.58 降至 0.48。历经饥饿期后, 污泥为黑褐色, 但经过 1 d 的基质补充后, 大部分污泥呈现深红色, 仅少部分为浅褐色; 恢复 30 d 后污泥恢复至砖红色, 表明以垃圾填埋物成功启动的厌氧氨氧化体系具有较好的饥饿适应性。第 89~106 天, 进水 $[\text{NH}_4^+\text{-N}]$ 和 $[\text{NO}_2^-\text{-N}]$ 控制为 $70 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 反应器运行性能良好, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 的平均去除率分别 98.7% 和 98.5%, R_s 和 R_p 分别为 1.0 和 0.27, 逐渐接近理论值(1.32 和 0.26), anammox 的主导地位日渐明显。第 107~114 天, 为使 anammox 充分发挥其脱氮效能, 继续提升 $[\text{NH}_4^+\text{-N}]$ 和 $[\text{NO}_2^-\text{-N}]$ 均达 $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 但在为期 7 d 的运行中, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 去除率由 99.8% 降至 95.1%, $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 去除率变化趋势相同, 由 99.5% 降至 96.9%。 R_p 也表现出明显上升趋势, 由 0.27 增加至 0.41, 表明 anammox 系统出现紊乱。第 115~140 天, 为保证反应器的长期稳定高效运行, 维持原 HRT(1.82 d), 将 $[\text{NH}_4^+\text{-N}]$ 和 $[\text{NO}_2^-\text{-N}]$ 均降为 $70 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 待基质去除率完全恢复(99% 以上), 并稳定运行数日后, 以 $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的梯度将 $[\text{NH}_4^+\text{-N}]$ 和 $[\text{NO}_2^-\text{-N}]$ 分别增至 $80 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (第 141~180 天), 反应器性能始终保持稳定, 出水 $[\text{NH}_4^+\text{-N}]$ 和 $[\text{NO}_2^-\text{-N}]$ 低于 4.0 和 $1.4 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 基质去除率均高于 99%, R_s 稳定于 1.0, 而 R_p 则由于出水硝酸盐质量浓度较高($30.5\pm 6.9 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), 所以稍高于理论值, 为 (0.38 ± 0.09) 。

反应器性能提升期为第 181~375 天。第一步(第 181~225 天)维持进水基质质量浓度($\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 均为 $90 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)不变, 降低 HRT(由 1.82 逐步降至 1.45、1.38、0.95 d)。这一阶段 $[\text{NH}_4^+\text{-N}]$ 和 $[\text{NO}_2^-\text{-N}]$ 平均去除率均高于 98%, R_s 始终维持 1.0, 而 R_p 则由 (0.36 ± 0.04) 降至 (0.32 ± 0.08) , 接近理论值 0.26。以上结果表明, 通过降低 HRT 提升总氮负荷未对 anammox 运行性能造成影响, anammox 对水力冲击有较好的适应性。性能提升第二步维持 HRT(0.95 d), 提升进水 $[\text{NH}_4^+\text{-N}]$ 、 $[\text{NO}_2^-\text{-N}]$ 均为 120、150、180、200、250 和 $300 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 每个阶段保持 10 d。在提升负荷的过程中, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 的去除率分别维持在 75%、85% 以上。同时, 随着 $[\text{NH}_4^+\text{-N}]$ 和 $[\text{NO}_2^-\text{-N}]$ 的提高, R_s 和 R_p 逐渐逼近理论值, anammox 作用日渐明显, 直至 $[\text{NH}_4^+\text{-N}]$ 和 $[\text{NO}_2^-\text{-N}]$ 均提升至 $300 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 此时, 氮负荷达到 $0.63 \text{ kg}\cdot(\text{m}^3\cdot\text{d})^{-1}$, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 的去除率分别为 81% 和 91%, R_s 为 (1.13 ± 0.05) , R_p 为 (0.24 ± 0.04) , 反应器表现出稳定高效的运行效果。因此, 填充矿化状垃圾填埋物的反应器可实现厌氧氨氧化, 且保持高效稳定运行。

2.3.3 厌氧氨氧化体系中微生物群落结构的变化

利用高通量测序对 R2 中微生物群落结构进行分析, 厌氧氨氧化前后反应器的填料中分别检测到 23 门和 22 门。其中, 相对丰度大于 2% 的微生物群落结构分别为 Proteobacteria、Firmicutes、Actinobacteria、Chloroflexi、Acidobacteria、Bacteroidetes 和 Gemmatimonadetes。Actinobacteria 和 Chloroflexi 能够利用细胞衰竭产生的微生物产物, 经过长期运行后, 相对丰度显著降低^[18], 分别由 14.7% 和 13.2% 降低为 2.2% 和 10.7%。经过长期厌氧填埋的恶劣环境, 部分耐受性较差的微生物失去生命力而水解死亡, 因而有大量 Actinobacteria 来将这些微生物分解。而经过长期定向富集培育, 微生物群落发生更替, 不适应环境变化的微生物被淘汰, 功能微生物则得到富集。例如, 厌氧氨氧化菌所属的浮霉菌 Planctomycetes, 由反应前的 0.5% 增加至 1.2%。为进一步探明在厌氧氨氧化过程中起到关键作用的微生物种类, 分析了垃圾填埋物在属水平的微生物群落结构变化, 相对丰度大于 2% 的微生物如图 8 所示。

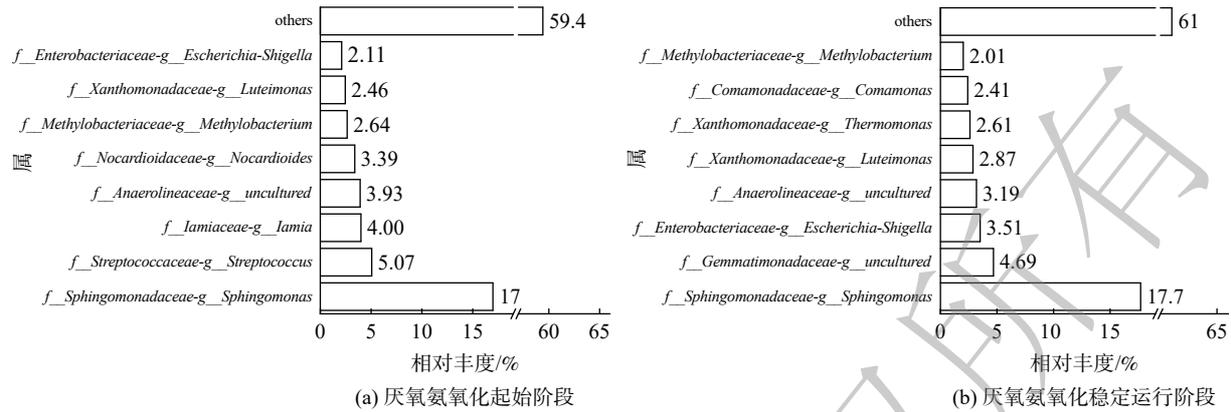


图8 属水平的微生物群落演替

Fig. 8 Evolution of the microbial community structure at genus level

经富集培养后,在矿化状垃圾填埋物中仅检测到 *Candidatus Kuenenia* 和 *Candidatus Brocadia* 这2种污水处理系统中常见的菌属^[19]。其中, *Candidatus Kuenenia* 的相对丰度上升了24%, *Candidatus Brocadia* 的相对丰度从0增加至0.46%。有研究者利用相关性网络分析,探索了anammox细菌的共现模式^[20],与 *Candidatus Brocadia* 密切相关的纲分别为 Acidobacteria、Gemmatimonadetes 及 Anaerolineae,4种科分别为 Comamonadaceae、Caldilineaceae、Patulibacteraceae 和 Rhodospirillaceae,均与 anammox 菌的相对丰度呈现正相关性。其中, Anaerolineaceae 广泛地分布在厌氧反应器中,降解糖类和一些细胞组织^[21]; Rhodospirillaceae 是一种具有多种生物功能的兼性好氧菌,可能参与了 anammox 过程中磷和铁的代谢^[22],通过对底物、溶解氧和代谢产物的协同竞争,这些微生物与 anammox 菌共同构成了稳定的微生物群落。综上所述,矿化状垃圾填埋物能够富集 anammox 菌,可应用于 anammox 工艺为低 C/N 氨氮废水耦合脱氮提供参考。

表3中的阿尔法多样性分析结果表明,经过稳定运行,反应器中垃圾填埋物的物种丰富度和群落多样性均有所下降。

3 结论

1) 矿化状垃圾填埋物表面粗糙多孔,粒径为3~70 μm,孔径为12.03 nm,主要物相组成为 SiO₂,可为矿化状垃圾填埋物去除氨氮提供便利条件。矿化状垃圾填埋物中检测到种类繁多的微生物,包括对不利环境耐受性极佳的微生物,如具有氨氧化能力的古菌 *Candidatus Nitrososphaera*,表明长期厌氧填埋条件下的矿化状垃圾填埋物具有潜在的生物脱氮能力。

2) 当系统以上流式进水、污水 C/N 为2时,反硝化过程中 NO₂-N 积累达到峰值,可实现近50%的 NO₂-N 积累。通过高通量测序及 BLAST 分析确定反硝化过程中亚硝酸盐积累的主要功能微生物为 *Pseudomonas stutzeri*,其相对丰度为18.78%。亚硝酸盐的积累可为 anammox 提供基质,为耦合脱氮提供基础。

3) 以矿化状垃圾填埋物成功实现了 anammox,且随着基质浓度的提高,anammox 作用日渐明显。直至 [NH₄⁺-N] 和 [NO₂⁻-N] 均提升至 300 mg·L⁻¹ 时,氮负荷达到 0.63 kg·(m³·d)⁻¹, NH₄⁺-N 和 NO₂⁻-N 的去除率分别为81%和91%,总氮去除率为75%,Rs 和 Rp 分别为 (1.13±0.05) 和 (0.24±0.04),逼近理论值 (1.32 和 0.26),说明反应器能实现高效稳定运行。

表3 厌氧氨氧化体系中矿化状垃圾填埋物阿尔法多样性变化

Table 3 Alpha diversity of aged refuse in anammox system

| 样品来源 | Chao | Observed species | Shannon | PD |
|-------------|------|------------------|---------|----|
| 反应体系的起始阶段 | 610 | 556 | 5 | 46 |
| 反应体系的稳定运行阶段 | 560 | 528 | 5 | 44 |

参 考 文 献

- [1] World Bank. What a Waste: A Global Review of Solid Waste Management[J]. Washington:World Bank, 2012: 1-95.
- [2] ZHENG L, SONG J, LI C, et al. Preferential policies promote municipal solid waste (MSW) to energy in China: Current status and prospects[J]. *Renewable & Sustainable Energy Reviews*, 2014, 36: 135-148.
- [3] 赵由才, 柴晓利, 牛冬杰. 矿化垃圾基本特性研究[J]. *同济大学学报(自然科学版)*, 2006, 34(10): 1360-1364.
- [4] 聂发辉, 李文婷, 鲁秀国, 等. 矿化垃圾对渗滤液的吸附试验及其动力学研究[J]. *环境污染与防治*, 2014, 36(11): 36-39.
- [5] TAN H, WANG Y Y, TANG X, et al. Quantitative determination of cavitation formation and sludge flotation in Anammox granules by using a new diffusion-reaction integrated mathematical model[J]. *Water Research*, 2020, 174: 115632.
- [6] DYTCAK M A, LONDY K L, OLESZKIEWICZ J A. Activated sludge operational regime has significant impact on the type of nitrifying community and its nitrification rates[J]. *Water Research*, 2008, 42(8/9): 2320-2328.
- [7] 田夏迪, 茹临锋, 吕心涛, 等. 短程反硝化工艺的研究进展与展望[J]. *中国给水排水*, 2020, 36(2): 7-15.
- [8] LI M, ZHAO Y, GUO Q, et al. Bio-hydrogen production from food waste and sewage sludge in the presence of aged refuse excavated from refuse landfill[J]. *Renewable Energy*, 2008, 33(12): 2573-2579.
- [9] MA Q, QU Y, SHEN W, et al. Bacterial community compositions of coking wastewater treatment plants in steel industry revealed by Illumina high-throughput sequencing[J]. *Bioresour Technol*, 2015, 179: 436-443.
- [10] SHA S, ZHONG J, CHEN B, et al. *Novosphingobium guangzhouense* sp. nov., with the ability to degrade 1-methylphenanthrene[J]. *International Journal of Systematic & Evolutionary Microbiology*, 2016, 67(2): 489-497.
- [11] YUE X, YU G, LIU Z, et al. Start-up of the completely autotrophic nitrogen removal over nitrite process with a submerged aerated biological filter and the effect of inorganic carbon on nitrogen removal and microbial activity[J]. *Bioresour Technol*, 2018, 254: 347-352.
- [12] DU R, CAO S, LI B, 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.
- [13] RIJN J, TAL Y, SCHREIER H J. Denitrification in recirculating systems: Theory and applications[J]. *Aquacultural Engineering*, 2006, 34(3): 364-376.
- [14] LI W, LI H, LIU Y, et al. Salinity-Aided Selection of Progressive Onset Denitrifiers as a Means of Providing Nitrite for Anammox[J]. *Environmental Science & Technology*, 2018, 52(18): 10665-10672.
- [15] 石磊, 张全, 牛冬杰, 等. 矿化垃圾反应床处理渗滤液的微生物学特性[J]. *同济大学学报(自然科学版)*, 2007, 35(8): 1085-1089.
- [16] 吴云当, 李芳柏, 刘同旭. 土壤微生物—腐殖质—矿物间的胞外电子传递机制研究进展[J]. *土壤学报*, 2016, 53(2): 277-291.
- [17] LIU D, ZHANG Q, LINGLING W, et al. Humic acid-enhanced illite and talc formation associated with microbial reduction of Fe(III) in nontronite[J]. *Chemical Geology*, 2016, 447: 199-207.
- [18] OKABE S, KINDAICHI T, ITO T. Fate of ^{14}C -labeled microbial products derived from nitrifying bacteria in autotrophic nitrifying biofilms[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, 71(7): 3987-3994.
- [19] HU B, ZHENG P, TANG C, et al. Identification and quantification of anammox bacteria in eight nitrogen removal reactors[J]. *Water Research*, 2010, 44(17): 5014-5020.
- [20] ZHU G, WANG S, MA B, et al. Anammox granular sludge in low-ammonium sewage treatment: Not bigger size driving better performance[J]. *Water Research*, 2018, 142: 147-158.
- [21] MIAO L, WANG S, LI B, et al. Effect of carbon source type on intracellular stored polymers during endogenous denitrification (ED) treating landfill leachate[J]. *Water Research*, 2016, 100: 405-412.
- [22] CHUA A S M, ONUKI M, SATOH H, et al. Examining substrate uptake patterns of Rhodocyclus-related PAO in full-scale EBPR plants by using the MAR-FISH technique[J]. *Water Science & Technology A Journal of the International Association on Water Pollution Research*, 2006, 54(1): 63-70.

(责任编辑: 靳炜)

Short-cut denitrification and anammox reactor inoculated with aged refuse improves nitrogen removal performance in the low C/N ammonia-rich wastewater treatment

FENG Fan^{1,2}, CHAI Liyuan^{1,2}, XIONG Xin^{1,2}, TANG Xi^{1,2}, CHAI Xilin^{1,3}, TANG Chongjian^{1,2,*}

1. School of Metallurgy and Environment, Central South University, Changsha 410083, China; 2. National Engineering Research Centre for Control and Treatment of Heavy Metal Pollution, Changsha 410083, China; 3. Jiangxi Gaia Environmental Protection Technology Co. Ltd, Shangrao 334100, China

*Corresponding author, E-mail: chjtang@csu.edu.cn

Abstract Distinctive physio-chemical and microbial properties have emerged over the long-term anaerobic stabilization of organics in landfill, which makes the aged refuse a promising additive for wastewater treatment. This study investigated the long-term performance of denitrification and anammox with the addition of aged refuse. The results showed that nitrite accumulated through shortcut denitrification with aged refuse. At influent C/N of 2, nearly 50% NO_2^- -N was accumulated, providing the substrate for the subsequent anammox. Batch tests indicated that aged refuse improved anammox performance, with the removal efficiencies of NH_4^+ -N and NO_2^- -N increased from 62% and 90% to 68% and 96%, respectively. The continuous experiment showed that an enhanced anammox process could achieve efficient nitrogen removal. The reactor volumetric loading rate was $0.63 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$. The removal efficiencies of NH_4^+ -N and NO_2^- -N were 81% and 91%, respectively. It is a promising way to treat the ammonium-rich wastewater by addition of aged refuse.

Keywords aged refuse; ammonium-rich wastewater; low C/N; anammox; shortcut denitrification