



文章栏目：环境生物技术

DOI 10.12030/j.cjee.202303004

中图分类号 X703

文献标识码 A

关威, 梁慧宇, 陈奔, 等. 污泥接种策略与联氨促进垃圾渗滤液厌氧氨氧化工艺快速启动及其运行效果[J]. 环境工程学报, 2023, 17(8): 2745-2757. [GUAN Wei, LIANG Huiyu, CHEN Ben, et al. Sludge inoculation strategy and hydrazine promoting rapid start-up and operational effectiveness of anaerobic ammonia oxidation process for landfill leachate[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2023, 17(8): 2745-2757.]

污泥接种策略与联氨促进垃圾渗滤液厌氧氨氧化工艺快速启动及其运行效果

关威^{1,2}, 梁慧宇¹, 陈奔¹, 陈之均², 郭五珍³, 郭敬宜⁴, 赵欣⁴, 孙连鹏¹, 吕慧^{1,✉}

1. 中山大学环境科学与工程学院, 广州 510006; 2. 桂林理工大学环境科学与工程学院, 桂林 541006; 3. 佛山市水业集团有限公司, 佛山 528000; 4. 中山公用事业集团股份有限公司, 中山 528400

摘要 针对厌氧氨氧化工艺启动速度慢及在垃圾渗滤液中脱氮效率低的问题, 探究了厌氧氨氧化工艺在处理高氨氮、低 C/N 比垃圾渗滤液中的快速启动及稳定运行策略。结果表明, 厌氧氨氧化工艺接种反硝化污泥:anammox 颗粒污泥=9:1 的启动效果最佳, 100 d 时 TN 去除率可达 75.1%。但由于垃圾渗滤液中 COD 较高, 异养反硝化菌生长迅速且严重影响厌氧氨氧化菌活性。通过投加 $6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 N_2H_4 之后, 异养反硝化菌活性受到抑制, 反应器内厌氧氨氧化菌占据主导地位, *Candidatus Kuenenia* 菌相对丰度由 0.2% 提升到 10.6%, TN 去除率及氮去除速率分别达 90.6% 和 $0.143 \text{ kg} \cdot (\text{kg} \cdot \text{d})^{-1}$ 以上。在厌氧氨氧化工艺中投加适量 N_2H_4 可实现垃圾渗滤液的稳定高效自养脱氮。

关键词 自养脱氮; 厌氧氨氧化; 垃圾渗滤液; 联氨

厌氧氨氧化 (anaerobic ammonium oxidation bacteria, anammox) 自养生物脱氮工艺是以氨氮 ($\text{NH}_4^+\text{-N}$) 为电子供体, 亚硝氮 ($\text{NO}_2^-\text{-N}$) 为电子受体的自养脱氮工艺^[1], 因其具有脱氮效率高、无需额外补充碳源等优点, 在老龄垃圾渗滤液为代表的低 C/N 比污水脱氮处理中受到广泛关注^[2,3]。但 anammox 菌生长和富集速度缓慢, 环境敏感性强^[4], 且垃圾渗滤液含有高浓度氨氮、有机物及重金属等污染物对 anammox 菌具有强烈抑制作用, 使得 anammox 工艺在垃圾渗滤液脱氮应用中受到极大的制约。因此, 寻找一种快速启动 anammox 的污泥接种策略, 及实现 anammox 自养脱氮工艺在垃圾渗滤液处理过程中稳定运行的方法, 对该自养工艺的工程化应用具有重大意义。

Anammox 工艺的启动是淘汰劣势菌种, 富集 anammox 菌的过程。有研究表明, 混合接种反硝化污泥与 anammox 污泥能减少反应器启动所需时间, CHEN 等^[5]将接种反硝化污泥与接种 Anammox 污泥:反硝化污泥=1:3 的混合污泥启动效果进行比较, 发现接种反硝化污泥反应器氮去除速率达 $0.54 \text{ kg} \cdot (\text{m}^3 \cdot \text{d})^{-1}$ 需 98 d, 而后者氮去除速率达到 $0.55 \text{ kg} \cdot (\text{m}^3 \cdot \text{d})^{-1}$ 仅需 40 d。但 WANG 等^[6]接种厌氧颗粒污泥:anammox 污泥=20:1 启动反应器却未能成功, 这可能与 anammox 污泥接种比例有关。因此, 其他污泥与 anammox 污泥混合接种的比例对 anammox 反应器启动影响还有待深入探

收稿日期: 2023-03-01; 录用日期: 2023-05-08

基金项目: 2021 年佛山市社会领域科技攻关专项 (2120001008746)

第一作者: 关威 (1995—), 男, 硕士研究生, 576638971@qq.com; ✉通信作者: 吕慧 (1982—), 男, 博士, 教授, lvhui3@mail.sysu.edu.cn

究。本研究将垃圾渗滤液常规处理中的短程硝化污泥、反硝化污泥以及实验室前期培养的 anammox 污泥为接种对象,探究一种最优的污泥接种策略来减少 anammox 工艺启动时间。此外,由于 anammox 工艺在实际处理垃圾渗滤液时,往往受到渗滤液中 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 和有机污染物浓度变化影响,导致 anammox 脱氮效果降低^[7,8]。其中,垃圾渗滤液中 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 对 anammox 活性的影响主要源于游离氨 (free ammonium, FA), JUNG 等^{[9]a} 研究中发现当进水 FA 达到 $1.7 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 以上时开始对 anammox 产生抑制,当 FA 达到 $32 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时 anammox 会完全停止反应。而垃圾渗滤液中 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 本身具有一定的生物毒性,STROUS 等^[10] 发现当 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 质量浓度超过 $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时 anammox 反应会受到抑制,且在该浓度下持续 12 h 会完全失活。高浓度有机污染物会造成反应器 anammox 种群丰度下降, TANG 等^[11] 探究有机物对 anammox 长期运行影响中发现当进水中 COD 达 $800 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,有机环境中的 anammox 活性仅为无机环境的 1/4,反应器内异养菌丰度大幅度提高。因此,在 anammox 自养脱氮工艺实际应用中,需要一种能维持 anammox 高效脱氮性能,保证 anammox 菌在反应器中始终占据主导地位的方法。联氨 (N_2H_4) 是 anammox 反应过程的中间产物,可在联氨脱氢酶的作用下转化为 N_2 ,该过程中释放的部分电子会用于 ATP 的合成^[12],适量投加 N_2H_4 可强化 anammox 脱氮性能^[13],但 N_2H_4 也是一种强还原剂,具有生物毒性,过量投加反而会抑制 Anammox 反应^[14]。目前对 N_2H_4 研究主要集中在污染物浓度较低的水体(如模拟废水或城市污水)中 anammox 的反应过程和活性恢复方面。如 MIODONSKI 等^[15] 在污泥消化废水中通过投加 N_2H_4 促进 Anammox 活性,投加 N_2H_4 反应器的氮去除速率较未添加 N_2H_4 的对照组高出 $0.256 \text{ kg}\cdot(\text{m}^3\cdot\text{d})^{-1}$ 。而如何通过 N_2H_4 促进 anammox 菌快速适应高污染及生物抑制性强的垃圾渗滤液,以及其对渗滤液中脱氮菌群活性变化的影响研究却鲜有报道。

鉴于此,本研究在选择出 anammox 工艺最优污泥接种启动策略的基础上,讨论 N_2H_4 在 anammox 工艺中对垃圾渗滤液脱氮的影响,通过对比运行中的脱氮性能、比厌氧氨氧化活性、胞外聚合物以及微生物群落结构变化等,以确定促进 anammox 运行的最适 N_2H_4 浓度。结合最优污泥接种策略与适合的 N_2H_4 浓度实现 anammox 在垃圾渗滤液中的快速启动以及长期稳定运行,解决 anammox 工艺受垃圾渗滤液抑制脱氮性能不佳的困扰,为该工艺在实际工程运用中提供科学的技术支持。

1 材料与方法

1.1 实验装置

实验一:采用序批式反应器 (sequencing batch reactor, SBR) 对 anammox 快速启动最优污泥接种策略进行研究,如装置图 1(a) 所示。反应器采用容积为 1 L 的柱状玻璃瓶,外缠遮光布,内置磁力转子,顶口由橡胶塞密封,橡胶塞顶部设进/出水口。运行周期为 24 h,其中进水 0.5 h、搅拌 22 h、沉淀 1 h、排水 0.5 h,搅拌速度 $90 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$,水浴保温在 $(30\pm 1)^\circ\text{C}$ 下运行。

实验二:采用升流式厌氧污泥床反应器 (up-flow anaerobic sludge bed reactor, UASBR) 探究不同 N_2H_4 浓度对 anammox 工艺垃圾渗滤液脱氮稳定性的影响,装置如图 1(b) 所示。反应器内径 6 cm,高 45 cm,有效容积为 1.2 L,外设水浴保温层调节温度为 $(30\pm 1)^\circ\text{C}$,水力停留时间为 24 h。

1.2 实验用水

实验一:进水采用模拟废水, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 来自 NH_4Cl 及 NaNO_2 ,质量浓度分别为 $(35\pm 5) \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $(45\pm 5) \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,其他主要成分: $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ($0.3 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$)、 CaCl_2 ($0.0056 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) 和 KH_2PO_4 ($0.01 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$);微量元素 I ($1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 和微量元素 II ($1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)^[16]。

实验二: anammox 无法独立处理仅含氨氮的垃圾渗滤液,需要与短程硝化工艺耦合,将 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 部分转化为 $\text{NO}_2^-\text{-N}$,以满足 anammox 工艺对进水中 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 与 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 比例要求。因此,本实验

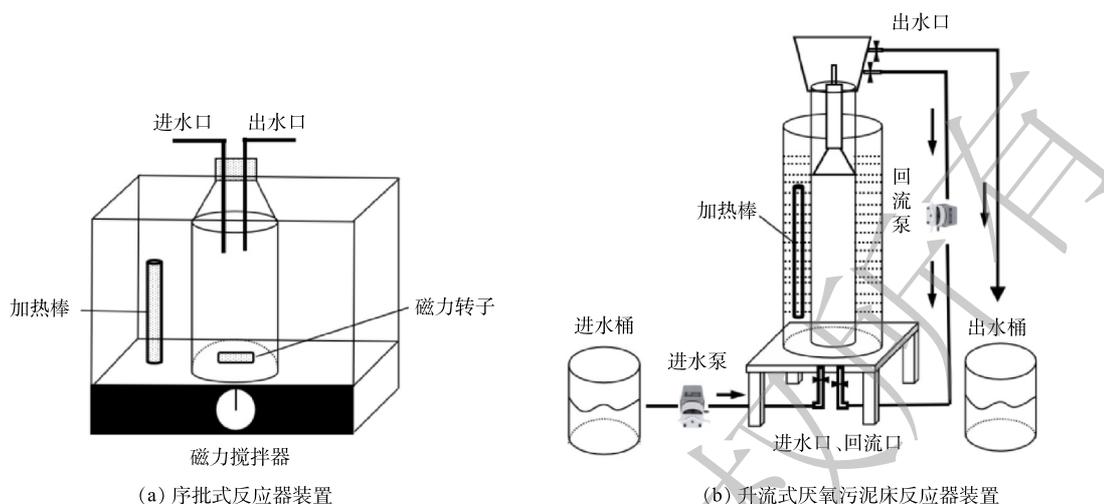


图 1 实验反应器装置图

Fig. 1 Experimental reactor installation diagram

将经短程硝化反应后的渗滤液作为处理对象。采用模拟废水与短程硝化出水渗滤液混合并逐步提高渗滤液占比的进水方式，最后完全以短程硝化出水渗滤液为进水。其中短程硝化出水渗滤液来自于佛山市某中试短程硝化反应器。

1.3 实验方法

Anammox 工艺快速启动最优污泥接种策略，所接种短程硝化污泥与反硝化污泥均来自于广东省佛山市某中试工程硝化池与反硝化池；anammox 颗粒污泥由实验室前期培养，污泥颜色呈红棕色。实验采用 5 个反应器分别接种短程硝化污泥；反硝化污泥；短程硝化污泥:anammox 颗粒污泥 (W:W)=9:1；反硝化污泥:anammox 颗粒污泥 (W:W)=9:1；短程硝化污泥:反硝化污泥:anammox 颗粒污泥 (W:W)=4.5:4.5:1，其中 W 表示接种污泥浓度 (MLVSS)，反应器 MLVSS 为 $(3\ 000\pm 100)\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ，反应器命名为 A1、A2、A3、A4、A5。

探究不同 N_2H_4 浓度对 anammox 工艺垃圾渗滤液脱氮稳定性的影响，采用反硝化污泥:anammox 颗粒污泥 (W:W)=9:1 的接种策略，根据 N_2H_4 浓度将反应器命名为 B1、B2、B3、B4、B5。各反应器进水条件相同，设置独立进水桶，进水桶中 N_2H_4 浓度每日根据实验要求进行配置，分别为 0、3、6、9、12 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ，反应器 MLVSS 均为 $(10\ 000\pm 800)\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

1.4 分析项目与方法

$\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 、MLSS、MLVSS 根据《水和废水监测方法》标准方法测定^[17]，pH 和 DO 采用便携式水质多参数测定仪 (上海 SANXIN-SX825) 测定。

比厌氧氨氧化活性 (Specific anammox activity, SAA) 分析方法：当每阶段连续 7 d 过程中 TN 去除率波动在 $\pm 5\%$ 以内时，认为该阶段已达到稳定，通过批次实验测定 SAA，测定前反应器污泥用 0.1 M 磷酸盐缓冲溶液清洗 3 次，随后加入相应阶段渗滤液进水，pH 调节至 7.5，温度为 $(30\pm 1)\text{ }^\circ\text{C}$ ，反应器关闭进水仅开启内循环。间隔取样分析，根据式 (1) 计算 SAA。

$$k = \frac{d_{ci}}{d_t} \cdot \frac{1}{w} \quad (1)$$

式中： k 为厌氧氨氧化菌的厌氧氨氧化活性， $\text{kg}\cdot(\text{kg}\cdot\text{d})^{-1}$ ； c_i 为氮浓度变化 ($\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$)， $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ； w 为污泥浓度 (MLVSS)， $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

污泥胞外聚合物 (extracellular polymeric substance, EPS) 采用热提法提取，EPS 中的多糖和蛋白质分别用考马斯亮蓝法和蒽酮—硫酸法测定^[18-19]，污泥 EPS 中的有机物变化通过三维激发发射矩

阵 (three-dimensional fluorescence spectrum, 3D-EEM) 荧光光谱法测定。

微生物群落结构分析, DNA 提取由北京百迈克生物公司完成, 选用 16S rRNA 高可变区 V3~V4 进行扩增, 用通用引物 27F(5'-AGRGTGGATYNTGGCTCAG-3') 和 1492R(5'-TASGGHTACC TTGTTASGACTT-3') 进行 PCR 扩增, 最后采用 PacBio 测序平台完成测序, 并将微生物 DNA 序列上传至 NCBI, BioProject accession number : PRJNA948566。

2 结果与讨论

2.1 Anammox 工艺快速启动最优污泥接种策略分析

A1~A5 脱氮效果如图 2 所示, 本实验中根据 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 的进/出水质量浓度变化将启动过程分为菌体自溶期、活性迟滞期、活性提升期等 3 个时期^[20]。首先, 菌体自溶期的主要表现为出水 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度增加甚至高于进水。由图 2(a) 可见, A1、A2、A5 接种污泥启动初期出现明显菌种自溶现象, 即出水 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 质量浓度高于进水。而 A3、A4 接种污泥菌种自溶程度较低, 出水 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 质量浓度虽然有升高趋势, 但始终低于进水。汪瑶琪等^[21]的研究也发现反应器接种污泥启动初期存在菌体自溶现象, 出水中 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度高于进水。这是因为接种污泥中不能适应自养环境的菌体死亡后溶解释放一部分 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ ^[22], 导致反应器中出水 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 质量浓度高于进水。当接种污泥适应环境后, 菌体结束自溶进入活性迟滞期, 表现为出水 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 质量浓度低于进水且缓慢降低, 并

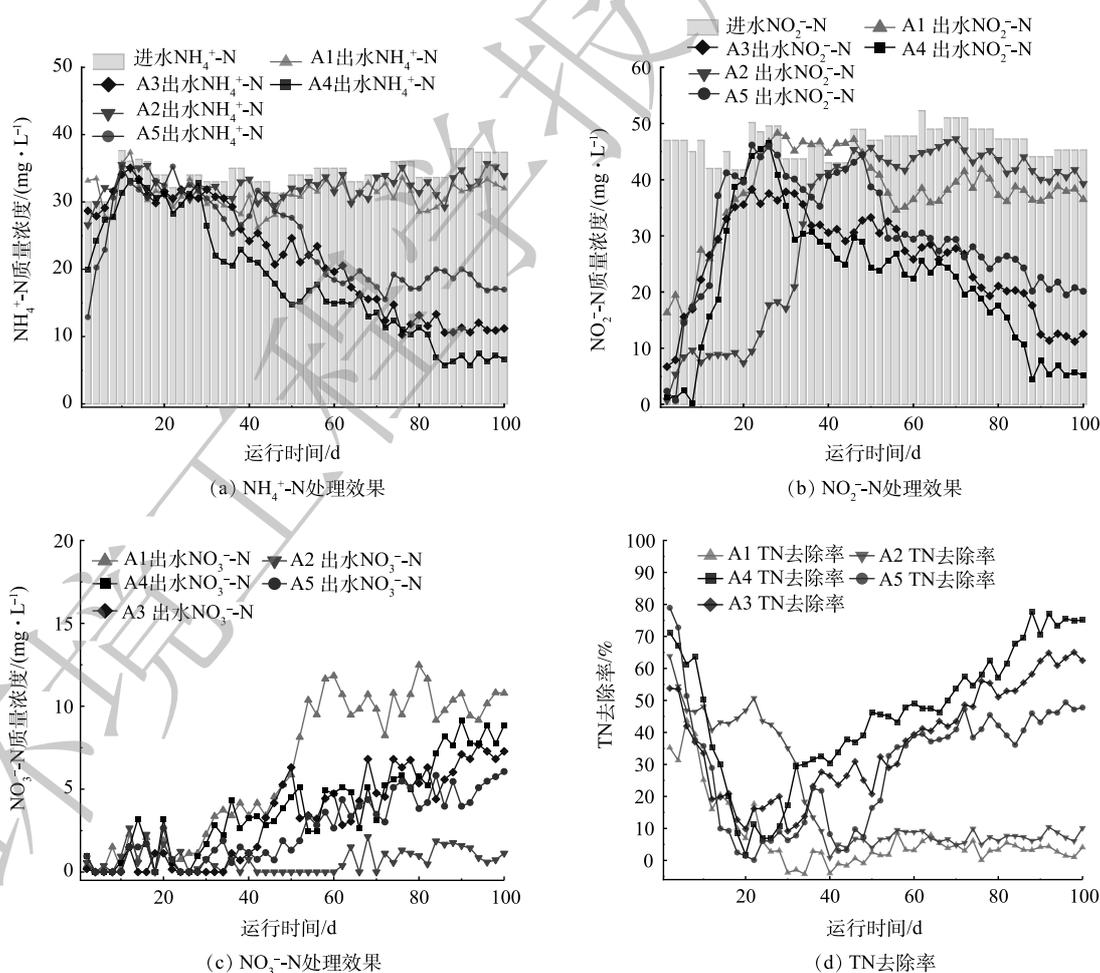


图 2 A1~A5 反应器脱氮性能

Fig. 2 Denitrification performance of A1~A5 reactors

伴有 NO_2^- -N 的少量去除。关于 anammox 的启动研究中菌体自溶期、活性迟滞期普遍出现, 如何快速度过这 2 个关键时期是 anammox 快速启动的关键^[23,24]。

A1(短程硝化污泥)、A2(反硝化污泥) 采用单一污泥来源接种启动的菌种自溶期时长分别为 25 d、39 d。A1 在第 26 天进入活性迟滞期, 出水中 NH_4^+ -N 较之前有所下降, 但 NO_2^- -N、 NO_3^- -N 持续增长, 直至实验运行结束, A1 未见有明显厌氧氨氧化反应, TN 去除率仅为 4.1%。而 A2 在第 40 天进入活性迟滞期, 直至运行结束时也未能进入活性提升阶段, 运行末期的 TN 去除率保持在 8% 左右。上述结果表明, A1 与 A2 采用单一短程硝化或反硝化污泥的接种策略无效。与 A1、A2 相比, 接种少量 anammox 颗粒污泥 A3、A4、A5 均能进入活性提升期, 菌体自溶期和活性迟滞期总耗时长顺序为 A5(42 d)>A3(30 d)>A4(28 d)。这一结果表明, 接种 10% 的 anammox 颗粒污泥能快速度过菌体自溶和活性迟滞阶段, 加速 anammox 启动。这是因为 anammox 菌较其他菌种更适应无机环境, 在接种初期可快速富集, 反应器能更快表达厌氧氨氧化活性。

A3、A4、A5 进入活性提升期后, 微生物已经适应环境, 厌氧氨氧化活性逐渐增强, 活性提升期的表现为出水 NH_4^+ -N、 NO_2^- -N 快速降低, TN 去除率逐渐升高。在运行 100 d 后发现, A3、A4、A5 的 TN 去除率分别提升至 62.5%、75.1%、47.8%。其中采用反硝化污泥:anammox 颗粒污泥 (W:W)=9:1 接种策略的 A4 不仅菌体自溶期和活性迟滞期总耗时最短 (28 d), 较 A3、A5 分别少 2 d、14 d, 而且进入活性提升期后 A4 的 TN 去除效果最佳, 比 A3、A5 分别高出 12.6%、27.3%。这是因为 A4 接种污泥中反硝化菌的存在极大的促进了 anammox 活性表达^[25]。

2.2 不同 N_2H_4 浓度对 anammox 工艺垃圾渗滤液脱氮稳定性的影响

实验一结果表明, 反硝化污泥:anammox 颗粒污泥 (W:W)=9:1 为最优污泥接种策略, 基于此结果进行不同浓度 (0、3、6、9、12 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) N_2H_4 对垃圾渗滤液中 anammox 脱氮稳定性的影响研究, 实验共分 5 个阶段 (表 1)。阶段 I 进水方式采用模拟废水与垃圾渗滤液混合, 通过逐步提高进水 NH_4^+ -N、 NO_2^- -N 浓度, 考察不同浓度 N_2H_4 对 anammox 的耐氮负荷冲击能力的影响。阶段 II~IV 逐步提高进水中垃圾渗滤液的占比, 探究不同浓度 N_2H_4 对 anammox 垃圾渗滤液脱氮稳定性的影响。阶段 V 停止投加 N_2H_4 , 观察无 N_2H_4 影响下的脱氮性能变化。

表 1 B1~B5 反应器各阶段进水水质

Table 1 Influent water quality of B1~B5 reactors during different phases.

阶段	渗滤液占比/%	COD/($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	NH_4^+ -N/($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	NO_2^- -N/($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	NO_3^- -N/($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)
I (第1~116天)	25	497~728	58.5~156.6	76.5~201.2	0~13.0
II (第117~144天)	50	1 226~1 422	168.4~189.5	232.0~252.3	1.3~9.6
III (第145~184天)	75	2 184~2 316	147.4~168.4	183.3~249.5	ND
IV (第185~222天)	100	2 510~2 632	167.1~185.5	191.5~264.1	0~0.9
V (第223~252天)	100	2 504~2 892	163.2~165.8	210.4~214.4	2.0~8.1

如图 3 所示, 阶段 I 第 1~12 天进水 TN 平均质量浓度为 $140.1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 各反应器运行稳定, TN 平均去除率均在 90% 以上, 表明该阶段中垃圾渗滤液未对 anammox 产生明显抑制。但在第 13~24 天, 进水 TN 质量浓度提高到 $200.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 以上时, 各反应器脱氮性能骤降, 第 18 天 B1~B5 反应器的 TN 去除率分别降至 32.5%、33.6%、41.7%、37.9%、39.0%, 表明该阶段的 anammox 脱氮性能主要受到进水基质浓度变化的影响。其中, 未添加 N_2H_4 的 anammox 反应器 B1 的 TN 去除率降幅明显, 且活性恢复缓慢, 直到第 24 天的 TN 去除率仅恢复至 60.6%。同期投加 N_2H_4 的反应器均已恢复至 80% 以上, 特别是添加 $3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 N_2H_4 反应器表现最佳, TN 去除率由 33.6% 恢复至 83.2%。第 42 天后, 进水 TN 质量浓度达 $230.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 以上, 未添加 N_2H_4 的 B1 及

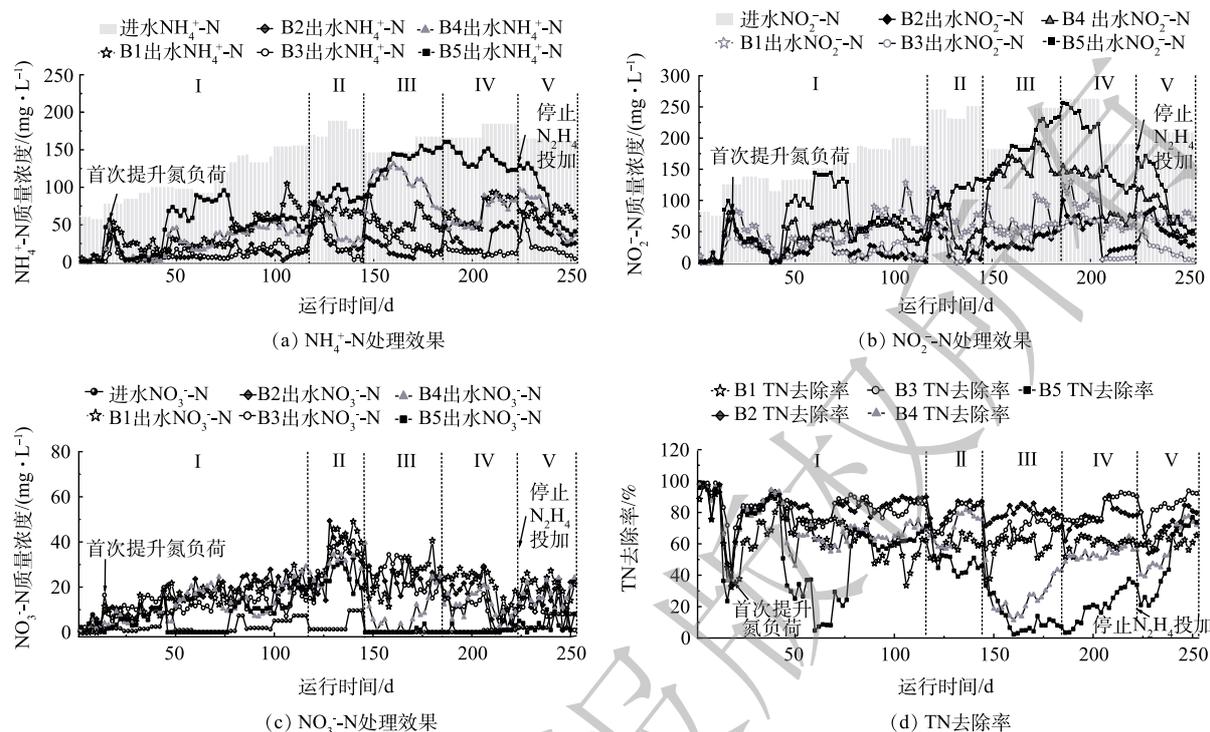


图3 B1~B5反应器脱氮性能

Fig. 3 Denitrification performance of B1~B5 reactors

添加高浓度 N_2H_4 的 B4 与 B5 脱氮效果随进水总氮浓度提升而下降，TN 平均去除率为 62.8%、65.2% 和 44.9%。而添加低浓度 N_2H_4 的 B2 和 B3 脱氮效果则较为稳定，后续 TN 平均去除率为 83.4% 和 81.7%，较未添加 N_2H_4 的 B1 高出 20.6% 和 18.9%。上述结果表明，适量 N_2H_4 ($3、6 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 能削弱进水基质的抑制，加速活性恢复，保证运行稳定，而高浓度 N_2H_4 对微生物有明显的抑制效果，会阻碍 anammox 反应的进行，降低脱氮效果。

阶段 II~IV 提高进水中垃圾渗滤液比例时，有机物和毒性物质浓度激增，微生物受到抑制，导致阶段 II~IV 初期各反应器脱氮效果短期下降。未添加 N_2H_4 的 B1 在阶段 II~IV 稳定运行时的 TN 平均去除率为 61.8%、62.5%、61.7%，与阶段 I (61.9%) 相差不大，表明 B1 已适应垃圾渗滤液水质，但未能有良好脱氮效果。添加高浓度 N_2H_4 的 B4 与 B5 受较高 N_2H_4 浓度与垃圾渗滤液的共同抑制，脱氮效果低于未投加 N_2H_4 的 B1，阶段 II~IV 的 TN 平均去除率分别为 69.8%、26.3%、53.9% 与 48.6%、12.2%、20.8%。而添加低浓度 N_2H_4 的 B2 与 B3 较同阶段未添加 N_2H_4 的 B1 有更良好的脱氮性能，阶段 II~IV 的 TN 平均去除率分别达到 85.9%、81.6%、75.5% 和 84.4%、82.1%、90.6%。值得一提的是， N_2H_4 质量浓度为 $6 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 anammox 反应器能在完全以垃圾渗滤液为进水，TN 负荷为 $338.3 \text{ g}\cdot(\text{m}^3\cdot\text{d})^{-1}$ 时，TN 平均去除率达 90.6%，较杨盈盈等^[26] 在相似渗滤液水质中的 anammox 脱氮效果有显著提升 (TN 负荷为 $15.4 \text{ g}\cdot(\text{m}^3\cdot\text{d})^{-1}$ 时，TN 平均去除率为 67.7%)。上述结果表明 $6 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 N_2H_4 可较好地削弱渗滤液抑制效果，能促进 anammox 在垃圾渗滤液中稳定脱氮。

本研究中，适宜 N_2H_4 浓度对 anammox 脱氮性能产生较好的促进作用，而 $12 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 N_2H_4 对 anammox 产生明显的抑制效果，其原因在于以下 3 点：1) 外源 N_2H_4 能通过式 (2) 所示反应被 anammox 菌氧化利用^[27]，从而释放电子参与 ATP 的合成，为 anammox 菌的代谢提供能量，强化 anammox 菌对 NH_4^+-N 、 NO_2^--N 去除；2) N_2H_4 具有一定的生物毒性，但由于 N_2H_4 是 anammox 菌脱氮过程的中间产物，因此，与其他菌种相比，anammox 菌对 N_2H_4 毒性有更强耐受性，适宜浓度的

N_2H_4 可实现强化 anammox 菌的同时抑制其他异养微生物的生长, 减少底物竞争; 3) 但 anammox 菌对 N_2H_4 毒性耐受能力有限, 超过阈值水平会抑制 anammox 过程。不少学者^[28-29] 已对 N_2H_4 浓度影响 anammox 动力学进行分析。蔡庆等^[30] 研究发现 anammox 反应中 N_2H_4 的半饱和质量浓度为 $0.68 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 抑制质量浓度为 $26.96 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。而本实验中, 由图 4 中的拟合结果可知, N_2H_4 促进 anammox 的半饱和质量浓度约为 $1.4 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, N_2H_4 的半抑制质量浓度在 $8\sim 12 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 因此, N_2H_4 质量浓度为 $12 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 anammox 反应器受抑制效果显著。这与鲍林林等^[31] 的研究结果相似, 当 N_2H_4 质量浓度由 $4 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 提升至 $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 后, 反应器 TN 平均去除率由 60% 降至 35%。

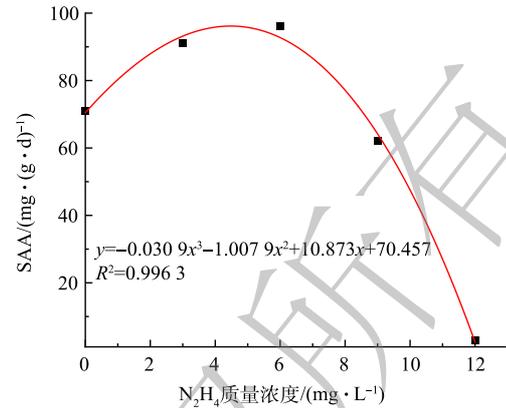


图 4 N_2H_4 影响厌氧氨氧化动力学方程拟合曲线
Fig. 4 Fitting curve of kinetic equation of N_2H_4 impact on ANAMMOX

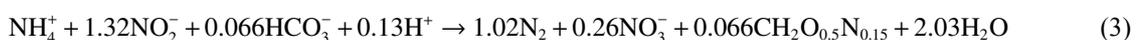


阶段 V 停止投加 N_2H_4 后, 添加 N_2H_4 的 B2~B5 反应器脱氮性能出现明显下降, 但随后脱氮效果均有所恢复。特别是 N_2H_4 浓度为 $6 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 B3 反应器脱氮性能恢复较快, 仅历时 4 d, TN 去除率由 64.2% 恢复到了 81.3%, 且后续阶段 V 第 230~252 天内反应器脱氮性能稳定, TN 平均去除率为 87.0%, 较阶段 IV 时的 90.6% 仅下降了 3.6%。而添加高浓度 N_2H_4 的 B4 与 B5 停止投加 N_2H_4 后, 厌氧氨氧化活性恢复较慢, 直至第 252 天, TN 去除率分别由 39.3% 和 20.7% 升至 71.9% 和 73.7%。 N_2H_4 质量浓度为 $6 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的反应器停止投加 N_2H_4 后依然能达到 85% 以上的脱氮率。这是由于 anammox 反应器在阶段 I~IV 内, 微生物在 N_2H_4 影响下, 已经适应高毒性的垃圾渗滤液水质, 并通过 N_2H_4 确保反应器中 anammox 菌占据优势地位。因此, 停止投加 N_2H_4 后反应器仍具有较高 anammox 活性可实现垃圾渗滤液 NH_4^+-N 与 NO_2^--N 的同步去除。

上述结果表明, 通过结合最优污泥接种策略及适量投加 N_2H_4 可实现垃圾渗滤液 anammox 工艺的快速启动及稳定运行, 因此, 本研究对 anammox 在高生物抑制性的垃圾渗滤液及低 C/N 废水自养脱氮处理中具有较高的实际工程应用价值。但本研究也存在一定不足, 未对反应过程中的 N_2H_4 浓度实时检测。这是由于本实验开展于中试工程现场, 实验设备条件有限, 仅可通过紫外可见分光光度计测量 N_2H_4 浓度, 但渗滤液的较高色度会对 N_2H_4 浓度测定结果准确性有较大影响, 不利于对反应过程中 N_2H_4 的消耗及生成进行分析。未来研究中可通过联氨探针或联氨分析仪等设备探索适宜垃圾渗滤液中的 N_2H_4 浓度测试方法, 进一步揭示渗滤液中 N_2H_4 对 anammox 的促进或抑制机理。

2.3 N_2H_4 影响下厌氧氨氧化反应的化学计量变化

垃圾渗滤液中的有机物会促使反硝化菌快速繁殖, 其细胞产率高于厌氧氨氧化菌, 大量繁殖后会与 anammox 菌争夺基质, 影响 anammox 脱氮效果, 并出现 NO_2^--N 去除量、 NO_3^--N 生成量偏离 anammox 理论值的情况^[32]。 N_2H_4 对亚硝酸盐氧化菌和反硝化菌有一定抑制效果, 能提高 anammox 活性的同时减少 NO_3^--N 生成, 影响 anammox 氮素转化比例, 其对渗滤液中 anammox 反应化学计量比影响如表 2 所示。



根据式 (3) 可知, anammox 过程中 $\Delta NO_2^--N/\Delta NH_4^+-N$ 的理论值为 1.32, $\Delta NO_3^--N/\Delta NH_4^+-N$ 为

表2 B1~B5反应器各阶段化学计量变化

Table 2 The stoichiometric change of B1~B5 reactors during different phases

反应器	阶段 I		阶段 II		阶段 III		阶段 IV		阶段 V	
	$\Delta\text{NO}_2^-/\text{N}/\Delta\text{NH}_4^+/\text{N}$	$\Delta\text{NO}_3^-/\text{N}/\Delta\text{NH}_4^+/\text{N}$								
B1	1.37	0.13	1.53	0.24	1.44	0.26	1.40	0.08	1.43	0.05
B2	1.31	0.12	1.46	0.18	1.27	0.17	1.28	0.10	1.37	0.08
B3	1.32	0.11	1.44	0.21	1.24	0.20	1.20	0.13	1.34	0.11
B4	1.31	0.11	1.46	0.18	1.21	0.15	1.08	0.10	1.34	0.13
B5	1.30	0.04	1.44	0.22	1.20	0.02	1.21	0.11	1.28	0

0.26, 但实际运行中会因为反硝化去除部分 NO_2^-/N 、 NO_3^-/N 而导致 $\Delta\text{NO}_2^-/\text{N}/\Delta\text{NH}_4^+/\text{N}$ 及 $\Delta\text{NO}_3^-/\text{N}/\Delta\text{NH}_4^+/\text{N}$ 与理论值出现偏差, 根据偏差情况可以判断各反应器中反硝化的脱氮贡献占比大小。由表(2)可知, 未添加 N_2H_4 的 anammox 反应器 B1 在阶段 I~V 的 $\Delta\text{NO}_2^-/\text{N}/\Delta\text{NH}_4^+/\text{N}$ 均大于理论值 1.32, $\Delta\text{NO}_3^-/\text{N}/\Delta\text{NH}_4^+/\text{N}$ 低于理论值 0.26, 而阶段 I~IV 投加 N_2H_4 反应器的 $\Delta\text{NO}_2^-/\text{N}/\Delta\text{NH}_4^+/\text{N}$ 均低于未添加 N_2H_4 的 anammox 反应器, 表明添加 N_2H_4 的 anammox 反应器 B2~B5 中反硝化的脱氮贡献占比低于未投加 N_2H_4 的 B1, 而阶段 V 停止投加 N_2H_4 后, B2~B5 的 $\Delta\text{NO}_2^-/\text{N}/\Delta\text{NH}_4^+/\text{N}$ 有所升高, 最终高于理论值 1.32, 表明无 N_2H_4 抑制的情况下, 反硝化活性有所提升, 消耗了更多的 NO_2^-/N 。而 $\Delta\text{NO}_3^-/\text{N}/\Delta\text{NH}_4^+/\text{N}$ 在 N_2H_4 投加时期(阶段 I~IV) 低于理论值 0.26, 这是因为投加 N_2H_4 减少 NO_3^-/N 的生成。已有研究^[33]证实外源 N_2H_4 可直接参与 anammox 反应过程, 外源 N_2H_4 在联氨脱氢酶的作用下释放电子强化 anammox 菌的增殖; 同时外源 N_2H_4 可对 anammox 菌合成代谢消耗电子进行补充, 减少 anammox 副产物 NO_3^-/N 生成。由图 3(c) 可知, 本研究也出现相似变化, 添加外源 N_2H_4 的反应器出水 NO_3^-/N 质量浓度低于未添加 N_2H_4 的对照组 B1。各反应器的化学计量比变化表明, 长期运行中投加 N_2H_4 对反硝化菌有一定抑制效果, 可以保证 anammox 的主导地位, 并减少 NO_3^-/N 的生成量。

2.4 N_2H_4 对比厌氧氨氧化活性(SAA)的影响

各阶段不同 N_2H_4 浓度的 anammox 反应器 SAA 变化情况如图 5 所示。受垃圾渗滤液影响, 未添加 N_2H_4 的 Anammox 反应器 B1 的 SAA 整体呈下降趋势, 由阶段 I 的 $0.071 \text{ kg}\cdot(\text{kg}\cdot\text{d})^{-1}$ (以 VSS 计) 降至阶段 V 的 $0.059 \text{ kg}\cdot(\text{kg}\cdot\text{d})^{-1}$ 。受高浓度 N_2H_4 影响, N_2H_4 质量浓度分别为 $9 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $12 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 anammox 反应器各阶段 SAA 均低于未添加 N_2H_4 的 anammox 反应器, 阶段 V 停止 N_2H_4 投加后, $9 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $12 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 anammox 反应器的 SAA 由阶段 IV 的 $0.031 \text{ kg}\cdot(\text{kg}\cdot\text{d})^{-1}$ 和 $0.008 \text{ kg}\cdot(\text{kg}\cdot\text{d})^{-1}$ 快速恢复到 $0.054 \text{ kg}\cdot(\text{kg}\cdot\text{d})^{-1}$ 和 $0.029 \text{ kg}\cdot(\text{kg}\cdot\text{d})^{-1}$, 表明高浓度 N_2H_4 对 anammox 活性抑制效果显著。但 N_2H_4 质量浓度为 $3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $6 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的反应器在阶段 I~IV 的 anammox 活性明显提高, SAA 均高于未添加 N_2H_4 的 anammox 反应器。其中 N_2H_4 浓度为 $6 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 anammox 反应器的 SAA 在各阶段均高于其他反应器, 且始终保持增长趋势, 由从阶段 I 时 $0.096 \text{ kg}\cdot(\text{kg}\cdot\text{d})^{-1}$ 提升到阶段

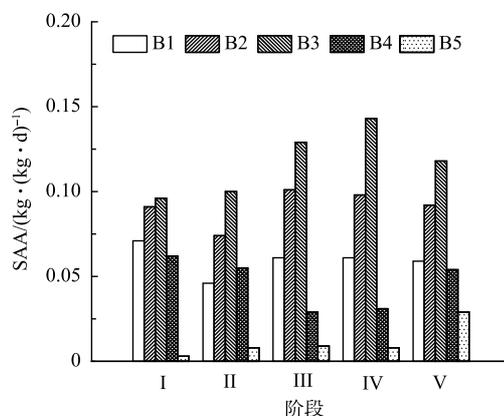


图5 B1~B5反应器不同阶段SAA

Fig. 5 Specific anammox activity of B1~B5 reactors during different phases

IV的 $0.143 \text{ kg} \cdot (\text{kg} \cdot \text{d})^{-1}$, 较同阶段未添加 N_2H_4 的 anammox 反应器高出 134.4%, 停止投加 N_2H_4 后也能保持最高活性, 阶段V的 SAA 达 $0.118 \text{ kg} \cdot (\text{kg} \cdot \text{d})^{-1}$ 。上述结果表明, 适量 N_2H_4 可有效提高 anammox 反应器的 SAA, 其中以 $6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 N_2H_4 对 anammox 反应器的 SAA 提升效果最为显著, 同时高浓度 N_2H_4 (9、 $12 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 对 SAA 的抑制是可逆的。鲍林林等^[31] 研究中发现向 HABR-CANON 反应器中投加 $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 N_2H_4 后 TN 去除率降至 35%, 停止投加 N_2H_4 3 d 后, TN 去除率恢复至 84.7%, 实现高浓度 N_2H_4 抑制后的活性恢复。

2.5 N_2H_4 影响下的 anammox 污泥 EPS 变化及 3D-EEM 分析

接种污泥中的 EPS 含量为 $12.8 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ (以 VSS 计), PN 和 PS 分别为 $7.2 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 和 $5.6 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, PN/PS 为 1.29。由图 6 可见, 阶段 V 不同 N_2H_4 浓度的 anammox 反应器污泥 EPS 浓度较接种污泥有显著增长, 分别提高了 107.0%、142.9%、164.8%、92.2%、61.7%, 其中 N_2H_4 质量浓度为 $6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 anammox 反应器中 EPS 提升最大。同时, anammox 污泥的 EPS 提高主要以 PN 含量增长为主, B1~B5 的 anammox 反应器中 PN 含量分别增长至 15.5、18.3、21.5、16.9、 $15.5 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

PN 携带正电荷, 可有效减少污泥表面负电荷, 降低静电斥力, 使增加细胞表面的疏水性, 有利于微生物的聚集, 因此 PN 含量提高表明各反应器 anammox 污泥颗粒化程度增强^[34]。然而, B1~B5 的 anammox 反应器相较于 PN 含量增长, PS 含量增长较少。其中 B1~B4 的 PS 含量由 $5.6 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 分别增长至阶段 V 的 11、12.8、12.4、 $7.7 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, B5 反应器 PS 含量先上升后下降, 最高在阶段 II 达到 $7.6 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 最后降至阶段 V 的 $5.2 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。PN 为疏水性物质, PS 为亲水性物质, anammox 污泥 EPS 中 PN/PS 上升说明污泥相对疏水性提高, anammox 污泥颗粒化程度得到了增强^[35], 本实验不同 N_2H_4 浓度的 anammox 反应器污泥 EPS 中 PN/PS 的比值随 N_2H_4 浓度增加而增加, N_2H_4 质量浓度分别为 0、3、6、9 及 $12 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, PN/PS 为 1.41、1.43、1.73、2.19 及 2.98。上述结果表明, N_2H_4 的补充不仅能促进 anammox 污泥 EPS 中 PN 含量的增加, 且能有效提高 PN/PS 的比值, 从而促进反应器中污泥的颗粒化, 使污泥沉降性能逐渐增强^[36]。

由于 anammox 菌分泌的 EPS 含有荧光特性, 可以利用三维荧光法分析 EPS 的组成, 接种污泥和不同 N_2H_4 浓度的 anammox 反应器阶段 V 的三维荧光光谱如图 7 所示。荧光光谱图中主要包含 4 个特征峰: A 峰 Ex/Em 位于 $280\text{--}290 \text{ nm}/335\text{--}370 \text{ nm}$, 为溶解性微生物副产物; B 峰 Ex/Em 位于 $300\text{--}320 \text{ nm}/425\text{--}455 \text{ nm}$ 和 C 峰 Ex/Em 位于 $340\text{--}360 \text{ nm}/435\text{--}455 \text{ nm}$, 为腐殖酸类; D 峰 Ex/Em 位于 $220\text{--}235 \text{ nm}/290\text{--}325 \text{ nm}$, 为酪氨酸蛋白类物质^[37]。

由图 7 可观察到 B1~B5 的 anammox 反应器污泥 EPS 中 A 峰荧光强度均为最强, 表明溶解性微

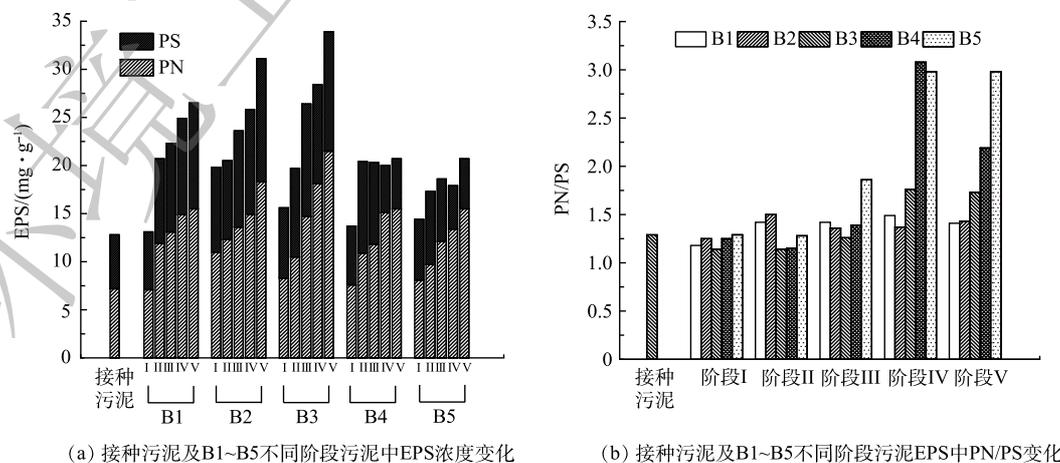


图 6 接种污泥及 B1~B5 不同阶段污泥 EPS 特征变化

Fig. 6 Changes in EPS characteristics of the inoculated sludge and B1~B5 reactors in different phases

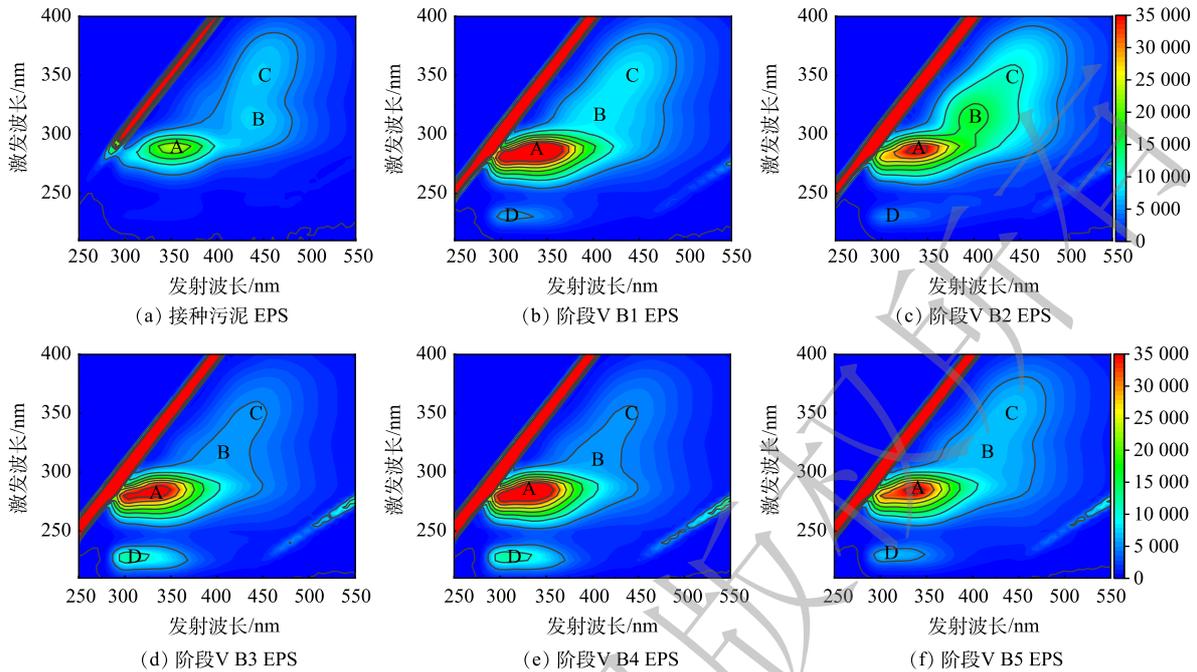


图 7 接种污泥及阶段 V B1~B5 中 EPS 三维荧光变化情况

Fig. 7 Change in three-dimensional fluorescence of inoculated sludge and B1~B5 reactors in phase V

生物副产物为 EPS 的主要成分。B 峰和 C 峰为腐殖酸，可能来源于 EPS 对垃圾渗滤液中有有机物的吸附，长期处理垃圾渗滤液后，各 anammox 反应器中的 B 峰和 C 峰荧光强度均有所增加。而 anammox 反应器污泥 EPS 中新出现的酪氨酸蛋白类物质 (D 峰)，该物质有利于污泥聚集^[38]，各反应器 D 峰荧光强度较接种污泥均有显著增强，表明较接种污泥各反应器的污泥颗粒化程度有所增强。其中 N_2H_4 质量浓度为 $6\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 anammox 反应器中的 D 峰荧光强度最高，表明此浓度下的 N_2H_4 对促进 EPS 及酪氨酸蛋白类物质分泌效果最佳^[39]。

2.6 微生物群落结构变化

由表 3 结果可知，生物样品中的覆盖率 (coverage) 均大于 98%。B1~B5 反应器相较于接种污泥，operational taxonomic units (OTUs) 数明显增长。此外，Simpson 指数、Shannon 指数、Ace 指数和 Chao1 指数在处理垃圾渗滤液后均增长。上述结果表明，垃圾渗滤液的复杂水质对微生物群落多样性有一定促进作用，可构成更适应垃圾渗滤液水质的脱氮微生物种群体系。

图 8(a) 为接种污泥和阶段 V 时不同 N_2H_4 浓度的 anammox 反应器门水平上微生物群落结构分布。结果表明，接种污泥门水平的微生物主要包括变形菌门 (*Proteobacteria*)、栖热菌门 (*Deinococcota*)、

表 3 接种污泥及阶段 V B1~B5 的 Alpha 多样性指数

Table 3 Alpha diversity index of inoculation sludge and B1~B5 reactors in phase V

样品	OTUs	Shannon	Simpson	Ace	Chao 1	谱系多样性	覆盖率
接种污泥	86	2.933	0.770 5	126.224 3	119.214 3	10.862	0.996 8
B1	310	4.753 7	0.889 4	432.124 9	419	31.741 2	0.985 9
B2	460	5.516 3	0.927 7	579.214 7	568.370 4	40.487 8	0.986 1
B3	375	4.954 6	0.918 2	521.858 9	537.018 2	36.746 8	0.988 8
B4	500	5.573	0.923 5	602.091 5	603.2	42.287 2	0.988 4
B5	366	4.621 7	0.878 2	489.403 9	467.283 6	33.491	0.989 0

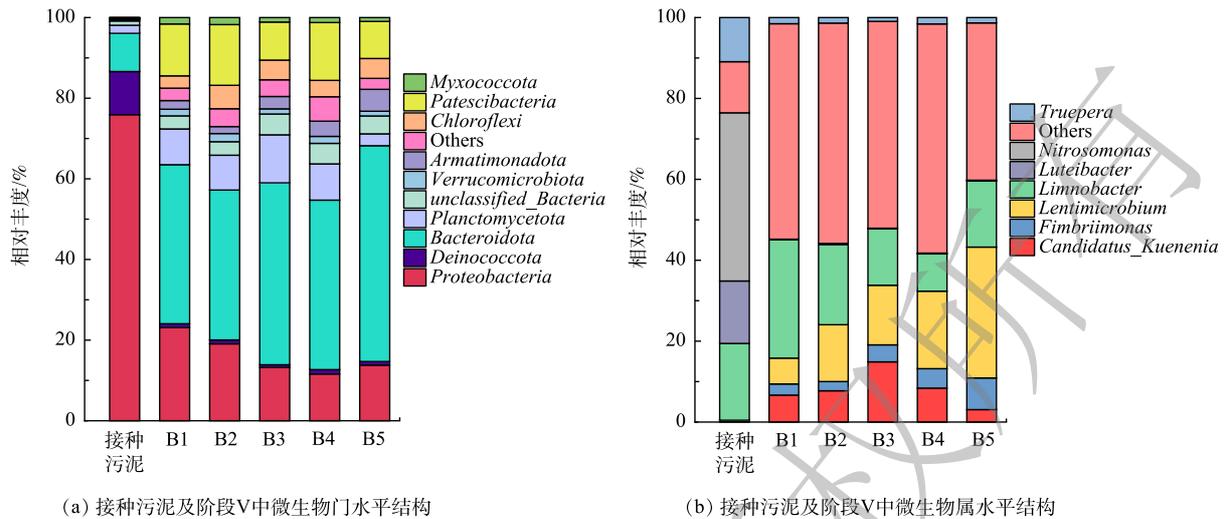


图 8 接种污泥及阶段 V B1~B5 中微生物群落结构分布

Fig. 8 Microbial community structure of inoculated sludge and B1~B5 reactors in phase V

拟杆菌门 (*Bacteroidota*)、浮霉菌门 (*Planctomycetes*), 相对丰度分别为 75.9%、10.7%、9.5%、2.0%。而在阶段 V 时, 不同 N_2H_4 浓度的 anammox 反应器中的浮霉菌门及拟杆菌门相对丰度有显著提高, B1~B5 的浮霉菌门相对丰度由接种污泥的 2% 分别提高至 8%、8.6%、11.9%、9.0% 和 2.9%, 拟杆菌门由 9.5% 分别提升至 39.4% 和 37.1%、45.1%、42.0% 和 53.5%。但 B1~B5 反应器中的变形菌门相对丰度大幅下降, 由接种污泥的 75.9% 分别降至 23.1%、19.1%、13.2%、11.6% 和 13.8%。上述结果表明, $6 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 N_2H_4 能更好的提高浮霉菌门的相对丰度^[40]。此外, 与接种污泥相比, 不同 N_2H_4 浓度的 anammox 反应器中新检测出了髌骨菌门 (*Patescibacteria*) 及绿弯菌门 (*Chloroflexi*)。髌骨菌门在 B1~B5 中的相对丰度分别为 12.9%、15.1%、9.4%、14.3% 和 9.2%, 髌骨菌门在 anammox 系统中为共存细菌提供乳酸盐和甲酸盐, 促进厌氧氨氧化菌生长, 对 anammox 系统稳定起到重要作用^[41]。而绿弯菌多为丝状菌可以增强 anammox 菌的聚集, 且绿弯菌会利用死亡细胞作为碳源, 减轻凋亡细胞组织对 anammox 菌的影响, 在 anammox 菌与异养菌之间产生负相互作用时保持 anammox 系统功能稳定^[42]。

属水平菌群结构分析, 图 8(b) 为接种污泥和阶段 V 时不同 N_2H_4 浓度的 anammox 反应器属水平上微生物群落结构分布。各反应器浮霉菌门中的 *Candidatus Kuenenia* 成为优势菌, 其为 anammox 反应器中最常见菌属^[43]。有研究表明该菌属为淡水中最嗜盐菌属, 一定程度上的盐度提升有利于其丰度增长^[44], 本研究中逐步提升垃圾渗滤液浓度的过程致使盐度增加, 这可能是该菌属占比较大的原因, 其在 B1~B5 的相对丰度为 4.2%、5.5%、10.6%、5.8% 和 2.1%, 较接种污泥中的 0.2% 有显著提升, N_2H_4 浓度 $6 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的条件下, *Candidatus Kuenenia* 丰度提升最为明显, 表明 $6 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 N_2H_4 促进 anammox 的生长效果最佳。而 $12 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 N_2H_4 浓度的 *Candidatus Kuenenia* 丰度最低, 可能是过量 N_2H_4 抑制 anammox 菌的增殖。

3 结论

1) 以不同污泥接种策略启动 anammox 反应器运行 100 d, 发现少量投加 anammox 颗粒污泥能够实现反应器快速启动, 以反硝化污泥:anammox 颗粒污泥=9:1 的接种组合为最佳污泥接种策略, 其菌体自溶和活性迟滞阶段耗时最短, 运行 100 d 后 TN 去除率可达 75.1%。

2) Anammox 工艺中 $6 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 N_2H_4 浓度能削弱高浓度进水基质和垃圾渗滤液对 anammox 的不利影响, 抑制异养反硝化菌的活性。 N_2H_4 质量浓度为 $6 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 anammox 反应器在完全以垃圾渗

滤液为进水时的TN平均去除率可达90.6%，较未添加 N_2H_4 的anammox反应器高出28.9%。

3) 适量 N_2H_4 浓度对SAA、EPS的分泌及anammox菌繁殖有较好的促进作用，在 N_2H_4 质量浓度 $6\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时，anammox反应器的SAA最高达到 $0.143\text{ kg}\cdot(\text{kg}\cdot\text{d})^{-1}$ ，EPS总含量由 $12.8\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 增长到 $33.9\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ，*Candidatus Kuenenia*相对丰度由0.2%提升到10.6%。

参考文献

- [1] KARTAL B, MAALCKE W J, DE ALMEIDA N M, et al. Molecular mechanism of anaerobic ammonium oxidation[J]. *Nature*, 2011, 479(7371): 127-130.
- [2] DENG W, WANG L, CHENG L, et al. Nitrogen removal from mature landfill leachate via anammox based processes: A Review[J]. *Sustainability*, 2022, 14(2): 995.
- [3] REN S, ZHANG L, ZHANG Q, et al. Anammox-mediated municipal solid waste leachate treatment: A critical review[J]. *Bioresource Technology*, 2022, 361: 127715.
- [4] 宋韶华, 刘永军, 杨璐, 等. 厌氧氨氧化技术在废水处理中的研究与应用进展[J]. *水处理技术*, 2022, 48(10): 6-12.
- [5] CHEN H, HU H, CHEN Q, et al. Successful start-up of the anammox process: Influence of the seeding strategy on performance and granule properties[J]. *Bioresource Technology*, 2016, 211: 594-602.
- [6] WANG Q, WANG Y, LIN J, 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.
- [7] WANG Y, XIE H, WANG D, et al. Insight into the response of anammox granule rheological intensity and size evolution to decreasing temperature and influent substrate concentration[J]. *Water Research*, 2019, 162: 258-268.
- [8] NI S Q, NI J Y, HU D L, et al. Effect of organic matter on the performance of granular anammox process[J]. *Bioresource Technology*, 2012, 110: 701-705.
- [9] KIM J, GUO X, PARK H. Comparison study of the effects of temperature and free ammonia concentration on nitrification and nitrite accumulation[J]. *Process biochemistry*, 2008, 43(2): 154-160.
- [10] STROUS M, KUENEN J G, JETTEN M S. Key physiology of anaerobic ammonium oxidation[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1999, 65(7): 3248-3250.
- [11] TANG C J, ZHENG P, WANG C H, et al. Suppression of anaerobic ammonium oxidizers under high organic content in high-rate Anammox UASB reactor[J]. *Bioresource Technology*, 2010, 101(6): 1762-1768.
- [12] VAN DER STAR W R L, DIJKEMA C, DE WAARD P, et al. An intracellular pH gradient in the anammox bacterium *Kuenenia stuttgartiensis* as evaluated by ^{31}P NMR[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2010, 86(1): 311-317.
- [13] XIANG T, GAO D, WANG X. Performance and microbial community analysis of two sludge type reactors in achieving mainstream deammonification with hydrazine addition[J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 715(C): 136377.
- [14] ZEKKER I, ARTEMCHUK O, RIKMANN E, et al. Start-Up of anammox SBR from non-specific inoculum and process Acceleration Methods by Hydrazine[J]. *Water*, 2021, 13(3): 350.
- [15] Miodoński S, Muszyński-Huhajło M, Zięba B, et al. Fast start-up of anammox process with hydrazine addition[J]. *SN Applied Sciences*, 2019.
- [16] van de Graaf A A, de Bruijn P, Robertson L A, et al. Autotrophic growth of anaerobic ammonium-oxidizing micro-organisms in a fluidized bed reactor[J]. *Microbiology*, 1996, 142(8): 2187-2196.
- [17] 编委会国家环境保护总局水和废水监测分析方法. 水和废水监测分析方法(第四版)[M]. 水和废水监测分析方法(第四版), 2002.
- [18] BRADFORD M. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding[J]. *Analytical Biochemistry*, 1976, 72(1/2): 248-254.
- [19] GAUDY A F. Colorimetric determination of protein and carbohydrate[J]. *Water Wastes*, 1962, 7(1): 17-22.
- [20] 唐崇俭. 厌氧氨氧化工艺特性与控制技术的研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2011.
- [21] 汪瑶琪, 张敏, 姜滢, 等. 厌氧氨氧化启动过程及微生物群落结构特征[J]. *环境科学*, 2017, 38(12): 5184-5191.
- [22] CHAMCHOI N, NITISORAVUT S. Anammox enrichment from different conventional sludges[J]. *Chemosphere (Oxford)*, 2007, 66(11): 2225-2232.
- [23] 丁爽, 郑平, 唐崇俭, 等. 三种接种物启动Anammox-EGSB反应器的性能[J]. *生物工程学报*, 2011, 27(4): 629-636.
- [24] 阎刚, 李田, 徐乐中, 等. 基于不同接种污泥复合型厌氧氨氧化反应器的快速启动特征[J]. *环境科学*, 2017, 38(10): 4324-4331.
- [25] XU L Z, ZHANG Q, FU J J, et al. Deciphering the microbial community and functional genes response of anammox sludge to sulfide stress[J]. *Bioresource Technology*, 2020, 302(C): 122885.
- [26] 杨盈盈, 陈奕, 李明杰, 等. 进水渗滤液总氮和 BOD_5/TN 对填埋场反应器反硝化和厌氧氨氧化协同脱氮的影响[J]. *环境科学*, 2015, 36(4): 1412-1416.
- [27] 姚宗豹. Anammox新体系: 外加 N_2H_4 的影响、NO的脱出和 Fe(III) 氧化 NH_4^+ [D]. 重庆: 重庆大学, 2015.
- [28] XIANG T, LIANG H, GAO D. Effect of exogenous hydrazine on metabolic process of anammox bacteria[J]. *Journal of Environmental Management*, 2022, 317: 115398.
- [29] YAO Z, LU P, ZHANG D, et al. Stoichiometry and kinetics of the anaerobic ammonium oxidation (Anammox) with trace hydrazine addition[J]. *Bioresource Technology*, 2015, 198: 70-76.
- [30] 蔡庆, 丁佳佳. N_2H_4 强化厌氧氨氧化机理及动力学特性[J]. *水处理技术*, 2015, 41(5): 73-77.
- [31] 鲍林林, 李晓珍, 李孙林, 等. 联氨对HABR全程自养脱氮系统的影响[J]. *中国给水排水*, 2020, 36(5): 26-32.
- [32] 陈佼, 陆一新, 李滨伶, 等. CRI系统厌氧氨氧化协同反硝化脱氮的启动及性能[J]. *环境科学与技术*, 2021, 44(9): 86-92.

- [33] MA J, YAO H, YU H, et al. Hydrazine addition enhances the nitrogen removal capacity in an anaerobic ammonium oxidation system through accelerating ammonium and nitrite degradation and reducing nitrate production[J]. *Chemical engineering journal* (Lausanne, Switzerland:1996), 2018, 335: 401-408.
- [34] 范丹, 李冬, 梁瑜海, 等. 生活污水SNAD颗粒污泥快速启动及脱氮性能研究[J]. *中国环境科学*, 2016, 36(11): 3321-3328.
- [35] 杨明明, 刘子涵, 周杨, 等. 厌氧氨氧化颗粒污泥EPS及其对污泥表面特性的影响[J]. *环境科学*, 2019, 40(5): 2341-2348.
- [36] 高梦佳, 王淑莹, 王衫允, 等. 生活污水对成熟厌氧氨氧化颗粒污泥的影响[J]. *化工学报*, 2017, 68(5): 2066-2073.
- [37] MIAO L, ZHANG Q, WANG S, et al. Characterization of EPS compositions and microbial community in an Anammox SBBR system treating landfill leachate[J]. *Bioresour Technol*, 2018, 249: 108-116.
- [38] LIU S, LIN C, DIAO X, et al. Interactions between tetracycline and extracellular polymeric substances in anammox granular sludge[J]. *Bioresour Technol*, 2019, 293: 122069.
- [39] CHEN Z, ZHOU S, WANG J, et al. Recovery of anaerobic ammonium oxidation via hydrazine following sulfate inhibition[J]. *Environmental Science: Water Research & Technology*, 2022.
- [40] FUERST J A, SAGULENKO E. Beyond the bacterium: Planctomycetes challenge our concepts of microbial structure and function[J]. *Nature Review Microbiology*, 2011, 9(6): 403-413.
- [41] HOSOKAWA S, KURODA K, NARIHIRO T, et al. Cometabolism of the *superphylum patescibacteria* with anammox bacteria in a long-term freshwater anammox column reactor[J]. *Water* (Basel), 2021, 13(2): 208.
- [42] HE S, CHEN Y, QIN M, et al. Effects of temperature on anammox performance and community structure[J]. *Bioresour Technol*, 2018, 260: 186-195.
- [43] HU B L, ZHENG P, TANG C J, et al. Identification and quantification of anammox bacteria in eight nitrogen removal reactors[J]. *Water Research*, 2010, 44(17): 5014-5020.
- [44] JIANG X, HOU L, ZHENG Y, et al. Salinity-driven shifts in the activity, diversity, and abundance of anammox bacteria of estuarine and coastal wetlands[J]. *Physics and chemistry of the earth. Parts A/B/C*, 2017, 97: 46-53.
- (责任编辑: 曲娜)

Sludge inoculation strategy and hydrazine promoting rapid start-up and operational effectiveness of anaerobic ammonia oxidation process for landfill leachate

GUAN Wei^{1,2}, LIANG Huiyu¹, CHEN Ben¹, CHEN Zhijun², GUO Wuzhen³, GUO Jingyi⁴, ZHAO Xin⁴, SUN Lianpeng¹, LYU Hui^{1,*}

1. School of Environmental Science and Engineering, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510006, China; 2. School of Environmental Science and Engineering, Guilin university of technology, Guilin 541006, China; 3. Foshan Water Industry Group Co. Ltd., Foshan 528000, China; 4. Zhongshan Public Utilities Group Co. Ltd., Zhongshan 528400, China

*Corresponding author, E-mail: lvhui3@mail.sysu.edu.cn

Abstract Aiming at the problems of slow start-up and low denitrification efficiency of anammox process in landfill leachate, the strategy of rapid start-up and steady operation of anammox process in treating landfill leachate with high ammonia nitrogen and low C/N ratio was investigated. The results showed that the anammox process inoculated with denitrifying sludge: anammox granular sludge = 9:1 had the optimal start-up effect, and TN removal rate could reach 75.1% at 100 d. However, due to the high COD in landfill leachate, heterotrophic denitrifying bacteria grew rapidly and seriously affected the activity of anammox bacteria. After the addition of $6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ N}_2\text{H}_4$, the activity of heterotrophic denitrifying bacteria was inhibited and the abundance of anammox bacteria dominated. The relative abundance of *Candidatus Kuenenia* increased from 0.2% to 10.6%, and TN removal rate and nitrogen removal rate reached over 90.6% and $0.143 \text{ kg} \cdot (\text{kg} \cdot \text{d})^{-1}$, respectively. The stable and efficient autotrophic denitrification of landfill leachate could be achieved by adding an appropriate amount of N_2H_4 to the anammox process.

Keywords autotrophic denitrification; anammox; landfill leachate; N_2H_4