



文章栏目：环境生物技术

DOI 10.12030/j.cjee.202201087 中图分类号 X703.1 文献标识码 A

付昆明, 杨帆, 杨宗玥, 等. CANON 工艺中短程硝化恢复及 ANAMMOX 强化策略[J]. 环境工程学报, 2022, 16(6): 1991-2000. [FUKUNMING, YANG Fan, YANG Zongyue, et al. Short-cut nitrification recovery and ANAMMOX enhancement strategy in CANON process[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2022, 16(6): 1991-2000.]

CANON 工艺中短程硝化恢复及 ANAMMOX 强化策略

付昆明^{1,✉}, 杨帆¹, 杨宗玥¹, 曹秀芹¹, 仇付国¹, 吴青², 刘永剑², 李飞²

1. 北京建筑大学环境与能源工程学院, 北京建筑大学雨水系统与水环境教育部重点实验室, 中-荷污水处理技术研发中心, 北京 100044; 2. 水发规划设计有限公司, 济南 250000

摘要 为了对 CANON 工艺中遭破坏的短程硝化进行恢复, 并对 ANAMMOX 菌的活性进行强化, 在第 1 阶段(抑制期)采用连续流反应器, 限制 DO 质量浓度为 $0.1\sim 0.4\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 利用限氧条件对 NOB 活性进行抑制, 投加 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$, 经过 73 d 运行, ANAMMOX 菌活性由 $0.08\text{ kg}\cdot(\text{kg}\cdot\text{d})^{-1}$ (以 VSS 计)上升至 $0.34\text{ kg}\cdot(\text{kg}\cdot\text{d})^{-1}$; NOB 比耗氧速率(SOUR)由 $1.68\text{ kg}\cdot(\text{kg}\cdot\text{d})^{-1}$ (以 VSS 计)降低至 $0.79\text{ kg}\cdot(\text{kg}\cdot\text{d})^{-1}$, 活性显著降低, 系统 TN 去除率由 42.7% 升高至 88.6%, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 同步去除, $\Delta\text{NO}_3^-\text{-N}/\Delta\text{TN}$ 值向理论值 0.127 趋近。第 2 阶段(过渡期)、第 3 阶段(好氧期)采用 SBR 进行, 分别将 DO 维持在 $0.4\sim 0.7\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $0.7\sim 1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 至第 130 天, NOB 活性降低至 $0.57\text{ kg}\cdot(\text{kg}\cdot\text{d})^{-1}$, TN 去除负荷达到 $0.86\text{ kg}\cdot(\text{m}^3\cdot\text{d})^{-1}$, $\Delta\text{NO}_3^-\text{-N}/\Delta\text{TN}$ 值由抑制前的 0.318 降低至 0.136, 短程硝化基本恢复。在短程硝化恢复过程中, ANAMMOX 菌优势菌属 *Candidatus Kuenenia* 的相对丰度由 7.91% 增长至 13.12%, 但 NOB 的主要菌属 *Nitrospira* 的相对丰度由低于 0.01% 增至 1.03%, 表明在后续长期运行过程中, 依然存在短程硝化遭到破坏的风险。

关键词 全程自养脱氮; 短程硝化; 厌氧氨氧化; 亚硝酸盐氧化菌; 溶解氧

全程自养脱氮 (completely autotrophic nitrogen removal over nitrite, CANON) 工艺将短程硝化和厌氧氨氧化 (anaerobic ammonium oxidation, ANAMMOX) 2 个过程置于同一反应器内进行^[1]。相对于传统生物脱氮技术, CANON 工艺具有无需外部碳源、节省曝气量和污泥产率低的显著优势^[2]。在 CANON 工艺中, 氨氧化细菌 (ammonia oxidizing bacteria, AOB) 与 ANAMMOX 菌起主要作用, AOB 以 O_2 为电子受体, 将 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 氧化成 $\text{NO}_2^-\text{-N}$; ANAMMOX 菌以 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 为电子受体, 将剩余 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 氧化成 N_2 , 并生成少量的 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ ^[3]。由于 ANAMMOX 所需要的 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 是由短程硝化提供的, 因此, 稳定的短程硝化是 CANON 工艺稳定运行的必要条件。然而, 由于亚硝酸盐氧化菌 (nitrite oxidizing bacteria, NOB) 与 AOB 生长所需的环境条件较为相似, 系统中往往同时存在有 AOB 与 NOB, 若 NOB 过量增殖, $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 被氧化为 $\text{NO}_3^-\text{-N}$, 则会导致短程硝化被破坏。

有诸多因素会对短程硝化造成影响, 如 pH、温度、溶解氧 (dissolved oxygen, DO) 和游离氨 (free ammonia, FA) 等^[4]。其中, DO 是控制 CANON 工艺中短程硝化和 ANAMMOX 稳定实现的关键参数。曝气过量使得 DO 质量浓度偏高, 则会造成 NOB 的增殖和对 ANAMMOX 菌的抑制作用; 曝

收稿日期: 2022-01-11; 录用日期: 2022-04-24

基金项目: 北京建筑大学市属高校基本科研业务费专项 (X20136)

第一作者: 付昆明 (1981—), 男, 博士, 副教授, fukunming@163.com; ✉通信作者

气不足使得 DO 质量浓度偏低, 则会使 AOB 活性受到抑制, 氨氧化速率随之下降, ANAMMOX 菌无法获得充足的 NO_2^- -N 基质进而导致脱氮效率降低^[5-6]。李冬等^[7]在序批式反应器 (sequencing batch reactor, SBR) 内构建了 CANON 工艺, 结果表明, 在 DO 为 $0.05\sim 0.10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的反应器中, ANAMMOX 菌的活性不受影响, 并在 DO 为 $0\sim 0.40\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 内通过增大曝气量提高总氮去除率; 当 DO 达到 $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, ANAMMOX 菌的活性受到抑制, 导致 CANON 工艺被破坏, 但却实现了稳定的短程硝化, 亚氮积累率达到 93.35%。王会芳等^[8]在以陶粒作为填料, 研究了 DO 对生物膜 CANON 反应器的影响时发现, 当 DO 超过 $1.75\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 反应器中 ΔNO_3^- -N/ ΔTN 值为 0.239, 严重偏离了理论值 0.127, 表明短程硝化遭到了严重破坏。JOSS 等^[9]在采用 CANON 工艺的污水处理厂中发现, 由于 2 h 的过量曝气, DO 质量浓度达到 $1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 以上, 造成了对 ANAMMOX 菌活性的抑制, NO_2^- -N 也开始积累, DO 和 NO_2^- -N 质量浓度同时升高使得 NOB 在反应器内大量增殖, CANON 反应器出水 NO_3^- -N 质量浓度从低于 $15\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 升高到 $200\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 以上, 短程硝化和 ANAMMOX 均被破坏。

上述研究主要针对的是 DO 质量浓度对 CANON 工艺中短程硝化和 ANAMMOX 运行稳定性的破坏, 但就 CANON 反应器中短程硝化运行失稳后调控恢复的相关报道较少。其中短程硝化过程的破坏主要表现为系统 ΔNO_3^- -N/ ΔTN 值与理论值 0.127 的偏离, 即系统中 NOB 开始发挥作用, ΔNO_3^- -N 增加的同时, ΔTN 也会由于 NOB 与 ANAMMOX 菌对 NO_2^- -N 底物的竞争而减少, 导致 ΔNO_3^- -N/ ΔTN 值偏大。且由于采用的反应器形式不同以及污泥特性等方面的差异, 研究者们对于 CANON 工艺中最佳 DO 质量浓度以及 DO 对 CANON 工艺中功能菌活性的影响还并未形成统一认识。本研究以 CANON 工艺中遭破坏的短程硝化为主要研究对象, 通过限氧的方式对 NOB 活性进行抑制, 从而恢复短程硝化, 同步考察了 NOB 与 ANAMMOX 菌活性的变化, 探究了 DO 质量浓度对 CANON 工艺中短程硝化恢复过程的影响。

1 材料与方法

1.1 实验装置

实验的不同阶段在不同的反应器中进行。其中, 在连续流反应器 R1 中进行抑制期短程硝化恢复实验, 而后, 为保证曝气阶段的活性污泥混合反应完全, 并避免污泥流失, 改用序批式反应器 R2 进行过渡期和好氧期的短程硝化恢复实验。

连续流反应器 R1 由圆柱状有机玻璃制成, 其内径为 10 cm, 高度为 1.2 m, 有效容积为 8 L。反应器采用底部进水, 上部出水的形式; R2 反应器由圆柱状有机玻璃制成, 其内径和高度分别为 20 cm 和 27 cm, 有效容积为 5 L。反应器内部设有曝气及搅拌装置, 外部通过水浴放置加热棒维持温度恒定。反应器每日运行 6 个周期, 每周期总时长为 4 h, 其中进水 10 min, 反应 200 min, 沉淀 20 min, 出水 10 min, 由定时器自动控制各个装置的开关运行。排水比为 50%。装置如图 1 所示。

1.2 实验用水与接种污泥

各反应器进水均为无机人工配水, 采用自来水进行配制, 并采用 NH_4Cl 、 NaNO_2 或二者以一定比例混合作为主要氮源, 添加适量的 NaHCO_3 、 NaH_2PO_4 以及 $1\text{ mL}\cdot\text{L}^{-1}$ 微量元素浓缩液 I 和 II^[10]。

反应器 R1、R2 中污泥均接种自课题组现有中试 MBBR 中短程硝化遭破坏的 CANON 工艺污泥。中试 MBBR 运行期间的 ΔNO_3^- -N/ ΔTN 平均值为 0.274, 该值反映的是 CANON 工艺中的短程硝化效果^[11], 显著大于理论值, 表明短程硝化性能较差。

1.3 实验方法

取课题组现有中试 MBBR 当中的絮状污泥至反应器 R1 中, 1~73 d 内按照 1:1.32 的比例在进水中添加 NH_4^+ -N 与 NO_2^- -N 强化 ANAMMOX 菌活性, 初始进水流量设定为 $0.22\text{ L}\cdot\text{h}^{-1}$, 即水力停留时

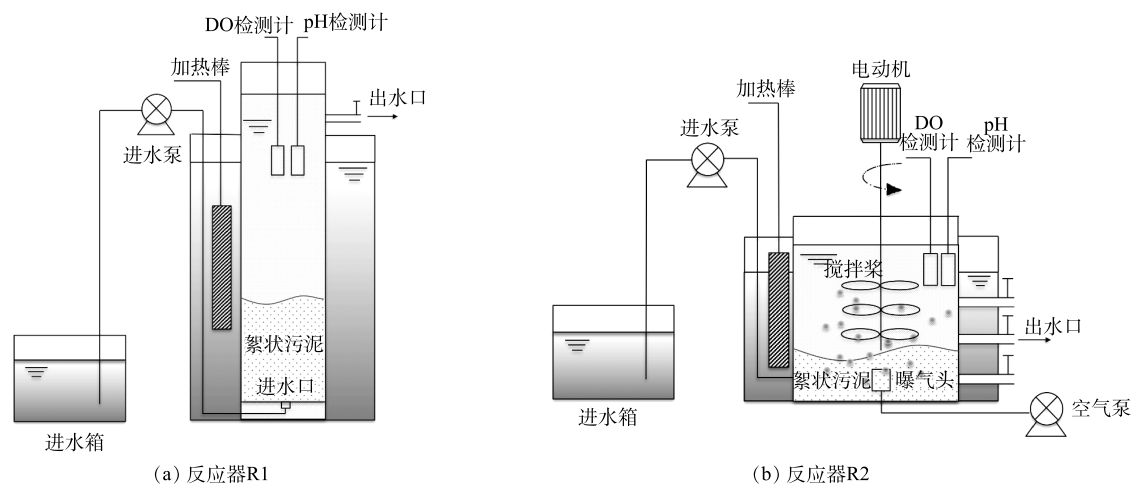


图 1 实验装置图

Fig. 1 Diagram of experimental apparatus

间 (hydraulic retention time, HRT) 约为 36 h，在实验初期采用较长的 HRT 有利于 ANAMMOX 菌的增长和持留^[12]。同时采取密封措施，减少空气中的氧气进入，营造 ANAMMOX 菌的适宜生长环境，并对 NOB 的活性进行抑制。第 74 天时将反应器 R1 中污泥转移至反应器 R2 中，该过程中未对反应器中的污泥进行淘洗，尽量保持了污泥的原有形态和数量，避免了对实验的影响，并在此阶段逐步增加曝气量以及减少进水 NO₂⁻-N 质量浓度以强化 AOB 的活性，使反应器由 ANAMMOX 工艺逐步转化为 CANON 工艺。反应器共连续运行 130 d，运行工况如表 1 所示。

表 1 反应器连续运行工况

Table 1 Continuous operating conditions of oxygen-limited aeration reactor

反应器	阶段	运行 时间/d	进水流量/ (L·h ⁻¹)	NH ₄ ⁺ -N/ (mg·L ⁻¹)	NO ₂ ⁻ -N/ (mg·L ⁻¹)	NO ₃ ⁻ -N/ (mg·L ⁻¹)	PO ₄ ³⁻ -P/ (mg·L ⁻¹)	温度/℃	pH	曝气量/ (mL·min ⁻¹)	DO/ (mg·L ⁻¹)
R1	抑制期	1~73	0.22	150	200	0~10	10	20±5	7.3~7.5	0	0.1~0.4
R2	过渡期	74~91	—	125	50	0~10	10	25	7.8~8.0	100	0.4~0.7
	好氧期	92~130	—	200	0	0~10	10	25	7.5~8.0	200	0.7~1.0

分别对连续运行第 1 天和第 80 天的污泥进行高通量测序，考察微生物群落结构的变化规律，并在连续运行的第 1、28、36、48、58、90 以及 110 天进行批次实验测定 ANAMMOX 菌以及 NOB 活性。

1.4 监测指标及测定方法

1) NH₄⁺-N 使用纳氏试剂分光光度法检测；NO₂⁻-N 使用 N-(1-萘基)-乙二铵光度法检测；NO₃⁻-N 使用紫外分光光度法检测；pH 使用 METTLER TOLEDO F2 基础型便携式 pH 计检测；温度和 DO 使用 METTLER TOLEDO FG4 基础型便携式溶氧仪检测。TN= NH₄⁺-N+NO₂⁻-N+NO₃⁻-N^[8]。FA 质量浓度按式 (1) 计算。

$$C_{FA} = \frac{17}{14} \times \frac{C_{NH_4^+-N} \times 10^{pH}}{e^{6344/(273+T)} + 10^{pH}}$$

(1)

式中：C_{NH₄⁺-N} 为混合液中 NH₄⁺-N 质量浓度，mg·L⁻¹；T 为混合液温度，℃。

2) 活性测定。以 TN 比降解速率 q 作为 ANAMMOX 活性指标，根据式 (2) 进行计算。

$$q = \frac{TN}{tM} \times 24$$

(2)

式中： ΔTN 为反应过程中TN质量浓度变化量， $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ； t 为反应时间，h； M 为混合液挥发性悬浮固体质量浓度， $\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ 。

采用NOB的比耗氧速率(specific oxygen uptake rate, SOUR) r 表征NOB活性^[14]，根据式(3)进行计算。

$$r = \frac{D_2 - D_1}{M} \times 24 \quad (3)$$

式中： D_1 为不添加底物时单位实验时间的DO质量浓度差， $\text{mg}\cdot(\text{L}\cdot\text{h})^{-1}$ ； D_2 为添加 NO_2^- -N底物时单位实验时间的DO质量浓度差， $\text{mg}\cdot(\text{L}\cdot\text{h})^{-1}$ 。

3) 微生物分析。委托上海生工生物工程有限公司进行高通量测序，对污泥样品进行宏基因组16S rDNA测序，分析微生物群落结构^[15]。

2 结果与分析

2.1 连续运行阶段

1) 抑制期。反应器共连续运行130 d。如图2(a)所示，在抑制初期0~3 d， NH_4^+ -N去除率下

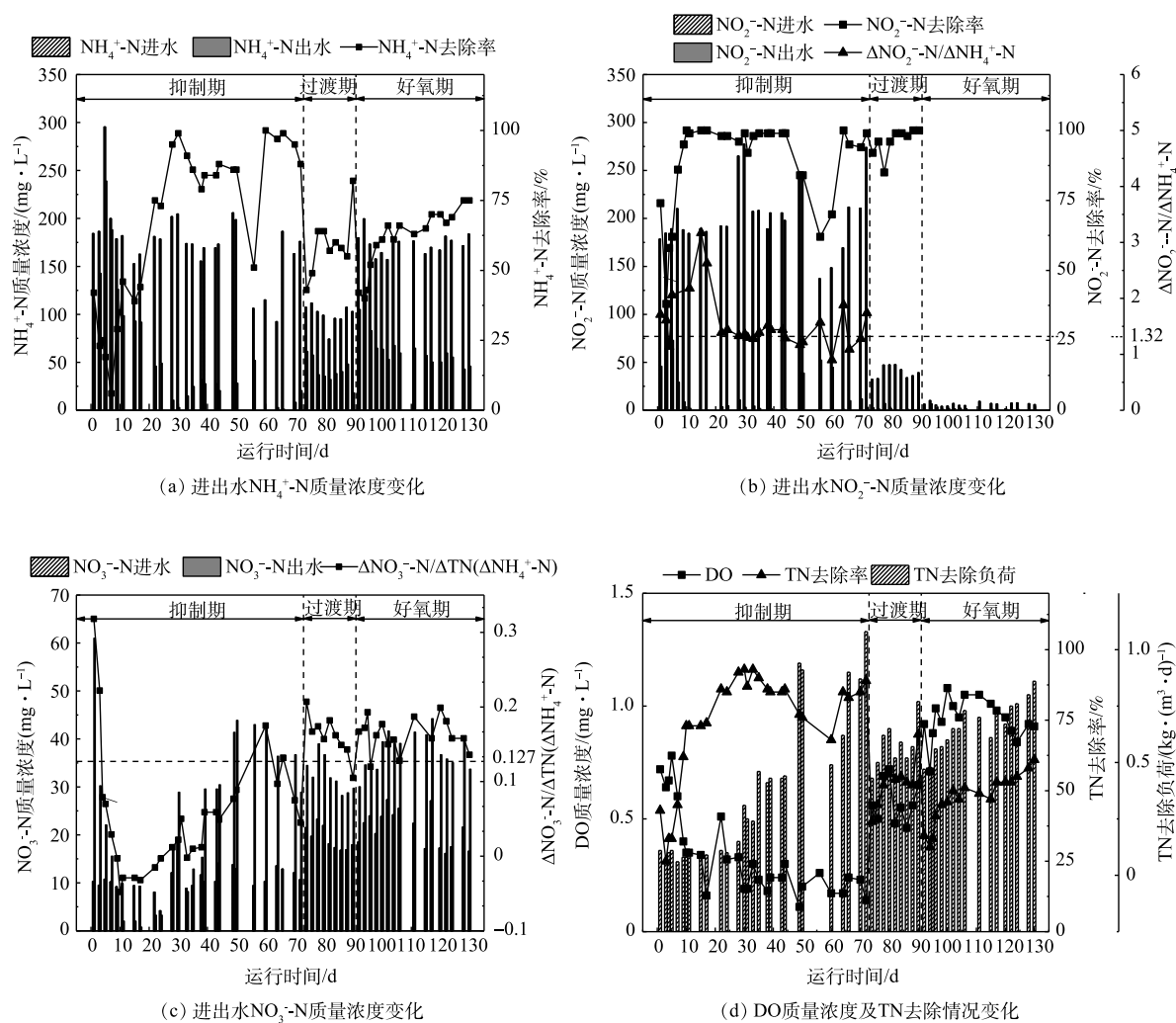


图2 反应器连续运行期间各氮素质量浓度变化

Fig. 2 Variation of nitrogen concentration during continuous operation of the reactor

降, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的平均出水质量浓度为 $124.6 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。由图 2(b) 可见, $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 去除率由 74.3% 降低至 38.1%, $\Delta\text{NO}_2^-\text{-N}/\Delta\text{NH}_4^+\text{-N}$ 值大于 ANAMMOX 特征理论值 1.32^[8]。这表明此时 ANAMMOX 作用不明显。由于运行初期的进水流量相对较大, 初始进水流量为 $0.22 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}$, 且未对进水中的 DO 进行吹脱, 反应器内 DO 高于 $0.6 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 超过了 ANAMMOX 菌对 DO 的最适质量浓度 $0.15\sim 0.30 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ^[16]。此外, 如图 3 所示, 运行初期 FA 质量浓度接近 $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。有研究表明, 该水平 FA 质量浓度会对 ANAMMOX 菌的活性存在一定的抑制作用^[17]。如图 2(c) 和图 2(d) 所示, 0~3 d 内的 $\Delta\text{NO}_3^-\text{-N}/\Delta\text{TN}$ 值均高于理论值 0.127, 出水 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 质量浓度偏高, TN 去除率由 42.7% 下降至 24.5%。这表明此时短程硝化效果不理想, 反应器内主要进行的是 AOB 以及 NOB 利用进水中的 DO 进行氨氧化以及亚硝酸盐氧化反应。

在第 7 天将进水流量减半至 $0.11 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}$, 由于 AOB 和 NOB 持续消耗进水中的 DO 进行硝化反应, 导致 DO 质量浓度在第 28 天下降至 $0.33 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。在此阶段, 由图 2(a) 和图 2(b) 可见, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 虽均有不同程度的去除, 但 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 平均去除率仅为 49.0%, $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 去除率则稳定在 95.0% 以上, $\Delta\text{NO}_2^-\text{-N}/\Delta\text{NH}_4^+\text{-N}$ 平均值为 2.02, 远高于 ANAMMOX 反应计量理论值 1.32。这表明 ANAMMOX 尚未成为反应器内的主要反应。此外, 如图 2(c) 所示, $\Delta\text{NO}_3^-\text{-N}/\Delta\text{TN}$ 值小于 0, 远低于 ANAMMOX 反应计量理论值 0.127。由图 2(d) 可见, TN 去除率有所上升。由于本研究采用的是无机配水, 排除了反硝化细菌利用外源有机物进行反硝化脱氮的因素。其原因可能为, DO 缺乏导致部分好氧菌因底物匮乏死亡, 之后转化为可降解有机物, 反硝化菌利用其作为碳源进行内源呼吸代谢^[18]。

在第 30 天, 将进水流量还原至初始进水流量 $0.22 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}$ 。如图 2(a)~(d) 所示, 当反应器内 DO 质量浓度降低至 $0.19 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 去除率分别升高至 98.7% 和 98.9%, $\Delta\text{NO}_3^-\text{-N}/\Delta\text{TN}$ 由负值开始升高, TN 去除率达到 93.1%, 此时的 $\Delta\text{NO}_2^-\text{-N}/\Delta\text{NH}_4^+\text{-N}$ 值为 1.36, 与理论值 1.32 相比稍有偏高。这表明 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 与 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 基本实现同步去除, ANAMMOX 作用得到提升, 但反应器内依然存在硝化反硝化作用。

在 31~73 d, 分别于第 35 天以及第 49 天将进水流量提高至初始进水流量的 2 倍 ($0.44 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}$) 和 4 倍 ($0.88 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}$)。如图 2(b) 和图 2(d) 可知, $\Delta\text{NO}_2^-\text{-N}/\Delta\text{NH}_4^+\text{-N}$ 平均值为 1.37, TN 去除负荷升高至 $1.08 \text{ kg}\cdot(\text{m}^3\cdot\text{d})^{-1}$ 。这表明 ANAMMOX 菌活性得到提升, ANAMMOX 占主导作用, 但偏高的 $\Delta\text{NO}_2^-\text{-N}/\Delta\text{NH}_4^+\text{-N}$ 值说明系统中依旧存在 NOB 参与的亚硝酸盐氧化, 本阶段较低的 DO 并不能完全抑制 NOB, 若要进一步淘汰系统中的 NOB, 可能需要更严格的限氧条件。同时, 由图 2(c) 可以看出, $\Delta\text{NO}_3^-\text{-N}/\Delta\text{TN}$ 值继续升高向理论值趋近, 但仍低于 0.127。这表明仍有死亡微生物作为可生物降解有机物参与反硝化过程, 异养菌同 NOB 对 DO 的竞争, 使得 NOB 难以利用有限的 DO 进行亚硝酸盐氧化反应, 有利于对短程硝化的进一步恢复。

2) 过渡期。在此阶段, 进水 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 质量浓度由 $150 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 降低至 $125 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$; 进水 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 质量浓度由 $200 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 降低至 $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。因 ANAMMOX 反应基质 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 减少, 第 74 天时, 由图 2(a) 和图 2(d) 可见, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 TN 去除率偏低, 分别为 42.8% 和 39.9%。通过过渡期恢复曝气, AOB 活

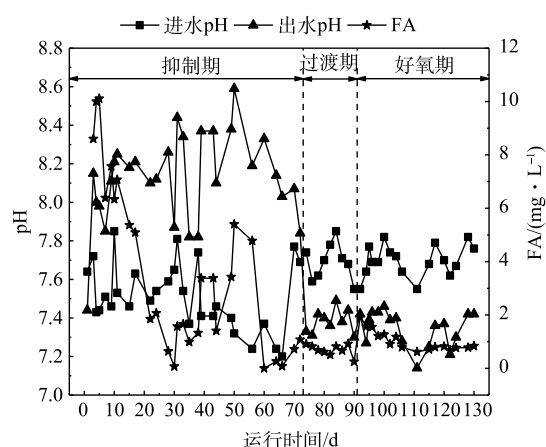


图 3 反应器连续运行期间 pH 和 FA 质量浓度变化

Fig. 3 Variation of pH and FA concentrations during continuous operation of the reactor

性预期可逐步恢复,以保证 NO_2^- -N来源,第91天时, NH_4^+ -N和TN去除率分别上升至82.4%和70.0%。此外,由于 ΔNH_4^+ -N和 ΔNO_2^- -N反映的是AOB与ANAMMOX菌共同作用的结果,不宜继续采用 ΔNO_2^- -N/ ΔNH_4^+ -N作为衡量指标^[11]。由图2(c)可见,过渡期的出水 NO_3^- -N质量浓度增长量较抑制期减小,同时, ΔNO_3^- -N/ ΔTN 值由过渡初期时0.207下降至0.105。这说明,由于ANAMMOX菌的活性得到强化,NOB难以同ANAMMOX菌竞争 NO_2^- -N,同时,由于DO限制,AOB较好的溶解氧亲和能力使其在与NOB竞争DO的过程中获得优势,短程硝化效果得到改善。

3) 好氧期。在此阶段,进水 NH_4^+ -N质量浓度由 $125\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 提高至 $200\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$;进水 NO_2^- -N质量浓度由 $50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 降低至0。由于 NO_2^- -N质量浓度的进一步限制,在第92天时,由图2(a)和图2(d)可见, NH_4^+ -N和TN去除率较前一阶段急剧下降。随后, NH_4^+ -N和TN去除率逐渐得到提升。根据VAN DER STAR等^[19]的研究结果,NOB对 NO_2^- -N的半饱和常数为 $12\sim 955\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,而ANAMMOX菌对 NO_2^- -N的半饱和常数为 $0.2\sim 3\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,即ANAMMOX菌对 NO_2^- -N的亲和能力更强,从而在 NO_2^- -N质量浓度较低时能够先于NOB将其利用。此外,随着AOB活性在好氧期的增强,氨氧化对系统中DO的消耗,进一步抑制了NOB的活性,并提升了ANAMMOX的脱氮效果。运行第130天,如图2(a)~(d)所示, NH_4^+ -N去除率升高至75.0%, NO_2^- -N去除率维持较高水平,TN去除负荷达到 $0.86\text{ kg}\cdot(\text{m}^3\cdot\text{d})^{-1}$, ΔNO_3^- -N/ ΔTN 值为0.136,较理论值(0.127)偏高。此结果说明NOB仍有一定活性,系统中的NOB没有被完全淘汰。

2.2 活性测定批次实验

ANAMMOX菌活性批次实验进水 NH_4^+ -N和 NO_2^- -N质量浓度分别为 $43\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $57\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$;NOB活性批次实验进水 NH_4^+ -N和 NO_2^- -N质量浓度分别为0和 $50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。如图4所示,ANAMMOX菌在限氧抑制初期活性恢复较缓慢,此时,污泥处于对反应器内DO质量浓度波动式下降的适应阶段。此后,ANAMMOX菌活性迅速升高,由 $0.11\text{ kg}\cdot(\text{kg}\cdot\text{d})^{-1}$ (以VSS计)升高至 $0.34\text{ kg}\cdot(\text{kg}\cdot\text{d})^{-1}$,但NOB的SOUR值自抑制期开始始终呈下降趋势,由第1天的 $1.68\text{ kg}\cdot(\text{kg}\cdot\text{d})^{-1}$ (以VSS计)降低至第110天的 $0.57\text{ kg}\cdot(\text{kg}\cdot\text{d})^{-1}$,说明抑制效果显著。在本研究中,在污泥以絮状污泥为主且未形成明显颗粒污泥的条件下,ANAMMOX菌活性依然得到了强化,仅在当反应器进入过渡期恢复曝气后,由于好氧条件的限制,ANAMMOX菌活性开始下降,于第110天下降至 $0.26\text{ kg}\cdot(\text{kg}\cdot\text{d})^{-1}$,但与反应初期的 $0.08\text{ kg}\cdot(\text{kg}\cdot\text{d})^{-1}$ 相比,ANAMMOX菌活性仍有较大提升。若在后续长期运行中形成颗粒污泥,或许可进一步提升ANAMMOX菌的活性。此外,当解除限氧抑制恢复曝气后,NOB活性并未出现回升趋势,但直至反应运行的第110天,NOB活性也并未完全丧失,表明限氧条件虽然能够有效抑制NOB的活性,但不能彻底淘汰NOB,并且在后续长期运行过程中,存在NOB逐渐克服抑制作用进行增殖从而再次使短程硝化遭到破坏的风险。

2.3 微生物群落分析

分别取连续运行第1天和第80天反应器中污泥进行高通量测序,抑制期前后系统中的微生物群落结构变化规律如图5所示。短程硝化恢复过程中,检测到的ANAMMOX菌有*Candidatus*

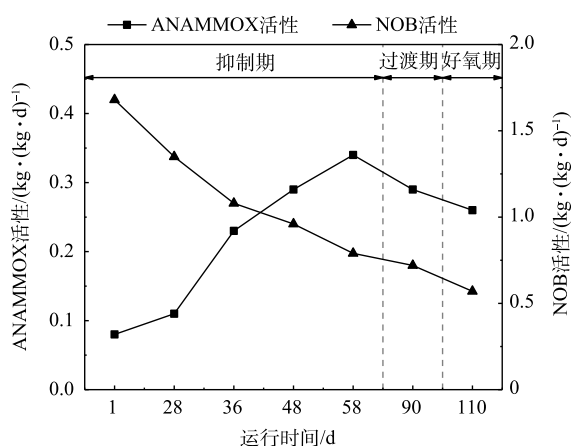


图4 反应器连续运行过程中ANAMMOX菌及NOB活性变化

Fig. 4 Variation of ANAMMOX bacteria and NOB activity during continuous operation of the reactor

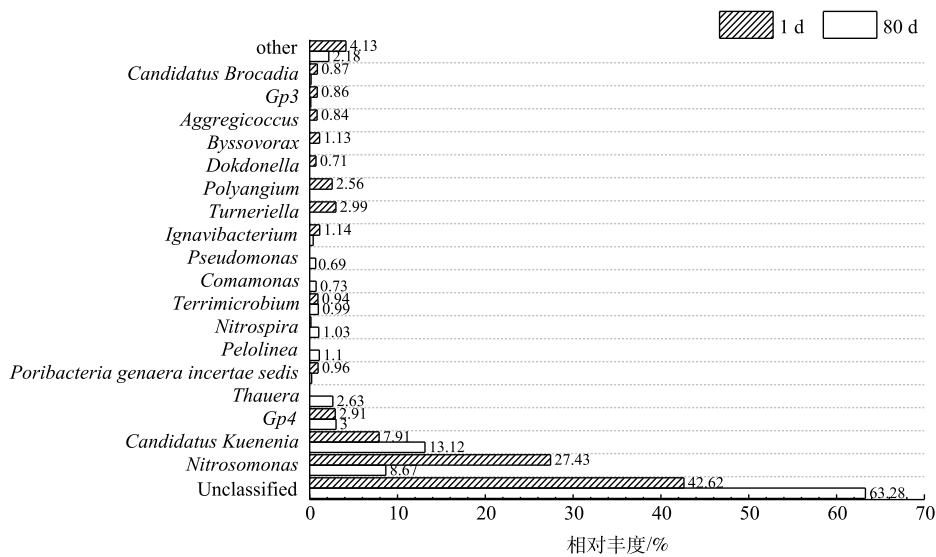


图 5 反应器中主要菌属相对丰度变化

Fig. 5 Microbial community structure of sludge on the 80th day of operation

Kuenenia 和 *Candidatus Brocadia*。其中，*Candidatus Kuenenia* 为优势菌属，其丰度由 7.91% 增长至 13.12%。有研究表明，*Candidatus Brocadia* 适于在严格厌氧环境下生长，而 *Candidatus Kuenenia* 则可以接受混合液中存在少量的溶解氧^[16]，表明抑制期的低 DO 质量浓度可促进 *Candidatus Kuenenia* 的生长。同时，反应器中存在少量的 *Candidatus Brocadia*，其丰度在抑制前的絮状污泥中为 0.87%，经过过渡期的 NO₂⁻-N 质量浓度波动后，丰度降至 0.01% 以下。有研究表明，在 SBR 中对 *Candidatus Kuenenia* 和 *Candidatus Brocadia* 的选择可能是基于对限制性底物 (如 NO₂⁻-N) 的亲合力，*Candidatus Kuenenia* 对 NO₂⁻-N 的亲合性能较强^[19]。因此，在本实验有限的进水 NO₂⁻-N 质量浓度条件下，*Candidatus Kuenenia* 占据了优势生长地位。AOB 中的优势菌属为 *Nitrosomonas*，由于抑制期的低 DO 质量浓度，导致 AOB 的生长受到抑制，相对丰度由 27.43% 降低至 8.67%。NOB 的主要菌属为 *Nitrospira*，NOB 在抑制期前后的特征较为一致，即在微生物群体中的相对丰度较低，平均低于 AOB 以及 ANAMMOX 菌一个数量级。其中，经抑制后的污泥中 *Nitrospira* 相对丰度由抑制前的 0.01% 以下升高至 1.03%，即 NOB 相对丰度经过限氧抑制后反而上升。

此外，还检测到几种反硝化菌属，相对丰度均在抑制期后有所提高，如 *Thauera*、*Pseudomonas* 和 *Comamonas*，均被证明具有利用有机物为碳源进行反硝化的能力^[20-22]，由于进水中未添加有机物，因此，这进一步印证了抑制期间可能发生的内源反硝化过程。

3 讨论

本研究中，*Nitrospira* 为检测出的主要 NOB 菌属，这与传统污水处理硝化菌种一致^[23]。经过抑制期的短程硝化恢复，活性批次实验结果表明 NOB 活性抑制情况良好，然而，丰度却有所升高。可见，NOB 的活性和生物量的变化趋势并不同步。类似的结果也出现在课题组同期进行的 SBR 间歇曝气恢复的短程硝化实验中，反应器恢复短程硝化后，AOB 活性稳定的同时其丰度显著下降，而 NOB 虽检测不到活性，但其相对丰度呈上升趋势^[24]。

普遍认为，AOB 的氧半饱和常数小于 NOB^[25]，在低 DO 条件下，AOB 的生长速率几乎不受影响，而 NOB 的生长速率显著降低。然而，杨庆等^[26]对此的研究表明，低 DO 系统内 AOB 和 NOB 的氧半饱和常数分别为 0.281 mg·L⁻¹ 和 0.280 mg·L⁻¹，两者非常接近，并且 NOB 的生长速率远

大于 AOB。结合分析本实验中 AOB 和 NOB 丰度的变化,推测其原因可能为:1)抑制期低 DO 质量浓度可限制 AOB 的生长和氨氧化反应速率,生长速率较 NOB 缓慢,导致 AOB 相对丰度降低;2)尽管限氧条件抑制了 NOB 的活性,但抑制期进水 NO_2^- -N 质量浓度较高,充足的底物质量浓度为 NOB 在不利条件下生长提供了可能性,因此 NOB 相对丰度升高;3)在抑制期间反应器不能做到与空气完全隔绝,难免有氧气进入反应器,且实验进水为 DO 未经吹脱的自来水人工配制,因此,反应器内 DO 会从实验进水中得到一定补充,导致 NOB 仍可利用 DO 进行增殖;4)本实验进水为无机配水,不含外源有机物,因此,减弱了异养菌同 NOB 对 DO 的竞争作用,进一步提升了 NOB 利用 DO 进行增殖的空间。

USHIKI 等^[27]对 NOB 基因组的分析结果表明:*Nitrospira* 含有的编码细胞色素氧化酶 *bd* 基因,能够在低氧条件下被激活,使细菌在限氧环境下也能够完成细胞生长的过程。张亮等^[28]认为,当受到抑制时,NOB 或可通过提高丰度等方式克服抑制作用。可见,NOB 仍有部分活性规律尚未明确,这些特性均给 CANON 工艺中针对 NOB 的抑制带来了挑战。

值得一提的是,新加坡樟宜再生水厂地处热带,污水温度在 $(30\pm 2)^\circ\text{C}$,适合 ANAMMOX 菌的增殖并有利于实现短程硝化,但其在由测流向主流 ANAMMOX 工艺转换的过程中,同样存在对 NOB 抑制的问题^[29]。一方面,侧流工艺中的高 NH_4^+ -N 质量浓度 ($500\sim 1\,500\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)使得 FA 质量浓度高于抑制 NOB 的阈值 ($0.08\sim 0.82\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)^[30],而主流工艺中城市污水较低的 NH_4^+ -N 质量浓度 ($30\sim 100\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)使得 NOB 抑制较为困难;另一方面,AOB、NOB 及 ANAMMOX 的活性-温度系数在不同温度下的差异较大^[31],主流工艺中季节变换导致的城市污水温度有波动,使得污泥微生物种群和数量发生改变,同样对 NOB 的抑制以及 ANAMMOX 菌的持留带来挑战。通过对本研究及樟宜再生水厂在以上两方面运行条件的对比,可以在一定程度上解释本研究中 NOB 无法被完全抑制的原因:一是本研究中的 NH_4^+ -N 质量浓度在长期运行过程中处于较低水平,因此,缺乏 FA 对 NOB 的持续抑制作用;二是本研究进水温度维持在 25°C 左右,与 ANAMMOX 菌的适宜中温条件有一定偏离。

此外,针对 NOB 在系统中的相对丰度变化,孙延芳等^[32]关于絮体污泥龄 (sludge retention time, SRT)对 CANON 工艺运行稳定性的影响研究中发现,不淘洗絮体污泥时,系统 NOB 丰度显著增加,并通过定量 PCR 技术分析得出,絮体 SRT 时间越长,ANAMMOX 菌的丰度越高。因此,有必要在后续的长期运行中持续关注微生物的丰度变化及系统稳定性,结合控制合理污泥龄的手段来实现功能菌 (AOB 和 ANAMMOX 菌)的有效持留和 NOB 的淘洗。

4 结论

1)经过抑制期的限氧,ANAMMOX 活性由 $0.08\text{ kg}\cdot(\text{kg}\cdot\text{d})^{-1}$ 上升至 $0.34\text{ kg}\cdot(\text{kg}\cdot\text{d})^{-1}$,TN 去除率可达 88.6%,TN 去除负荷最高可达 $1.08\text{ kg}\cdot(\text{kg}\cdot\text{d})^{-1}$,ANAMMOX 占主导作用。

2)*Candidatus Kuenenia* 为 ANAMMOX 菌优势菌属,*Nitrospira* 为 NOB 的主要菌属,经过抑制期恢复,二者的相对丰度分别由 7.91% 和低于 0.01% 增长至 13.12% 和 1.03%。

3)通过短程硝化恢复, ΔNO_3^- -N/ ΔTN 值由 0.318 逐渐恢复至 0.136,短程硝化基本恢复,但较理论值 0.127 稍有偏高,仍存在亚硝酸盐氧化过程。

4)连续运行期间,NOB 活性降低显著,但相对丰度有所提高,于微生物群体中仍具有一定的相对丰度,在后续运行中有适应抑制作用并进行增殖的可能,CANON 工艺短程硝化仍具有被破坏的风险。

参 考 文 献

- [1] 张铃敏, 常青龙, 史勤, 等. CANON工艺短程硝化恢复调控及微生物种群结构变化[J]. *中国环境科学*, 2019, 39(6): 2354-2360.
- [2] ZUO L S, YAO H, LI H Y, et al. Modeling of completely autotrophic nitrogen removal process with salt and glycine betaine addition[J]. *Chemosphere*, 2020, 264(2): 1-8.
- [3] STROUS M, KUENEN G J, JETTEN M S M. Key physiology of anaerobic ammonium oxidation[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1999, 65(7): 3248-3250.
- [4] 聂铭, 李振轮. 水体中亚硝酸盐积累的生物过程及影响因素研究进展[J]. *生物工程学报*, 2020, 36(8): 1493-1503.
- [5] 张姚, 韩海成, 王伟刚, 等. 溶解氧对CANON颗粒污泥自养脱氮性能的影响[J]. *中国环境科学*, 2017, 37(12): 4501-4510.
- [6] HAN M, VLAEMINCK S E, AL-OMARI A, et al. Uncoupling the solids retention times of flocs and granules in mainstream deammonification: A screen as effective out-selection tool for nitrite oxidizing bacteria[J]. *Bioresource Technology*, 2016, 221: 195-204.
- [7] 李冬, 崔少明, 梁瑜海, 等. 溶解氧对序批式全程自养脱氮工艺运行的影响[J]. *中国环境科学*, 2014, 34(5): 1131-1138.
- [8] 王会芳, 付昆明, 左早荣, 等. 水力停留时间和溶解氧对陶粒CANON反应器的影响[J]. *环境科学*, 2015(11): 4161-4167.
- [9] JOSS A, DERLON N, CYPRIEN C, et al. Combined nitrification-anammox: Advances in understanding process stability[J]. *Environmental Science & Technology*, 2011, 45(22): 9735.
- [10] GRAAF A V D, BRUIJN P D, 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.
- [11] 付昆明, 周厚田, 苏雪莹, 等. 生物膜短程硝化系统的恢复及其转化CANON工艺的过程[J]. *环境科学*, 2017, 38(4): 1536-1543.
- [12] 刘成良, 李天煜, 刘可慧, 等. 氨氮废水的厌氧氨氧化生物脱氮研究[J]. *生态环境学报*, 2010, 19(9): 2172-2176.
- [13] ZEKKER I, RIKMANN E, TENNO T, et al. Modification of nitrifying biofilm into nitrifying one by combination of increased free ammonia concentrations, lowered HRT and dissolved oxygen concentration[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2011, 23(7): 1113-1121.
- [14] 赵文钊, 裴浩, 王超, 等. 校园污水脱氮除磷处理系统的运行策略及其对污泥性能的影响[J]. *环境工程学报*, 2020, 14(11): 3053-3062.
- [15] 李炳荣, 曹特特, 王林, 等. 低氧条件下A²O工艺对城市污水脱氮处理的中试研究[J]. *中国环境科学*, 2019, 39(1): 134-140.
- [16] JETTEN M S M, NIFTRIK L V, STROUS M, et al. Biochemistry and molecular biology of anammox bacteria[J]. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, 2009, 44(2/3): 65-84.
- [17] 毛文龙, 杨瑞丽, 王晓君, 等. 由anammox转为CANON工艺的调控策略及微生物响应特性[J]. *环境工程学报*, 2021, 15(7): 2488-2501.
- [18] 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.
- [19] VAN DER STAR W R L, MICLEA A I, VAN DONGEN U G J M, et al. The membrane bioreactor: a novel tool to grow anammox bacteria as free cells[J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2008, 101(2): 286-294.
- [20] LU L, WANG B J, ZHANG Y, et al. Identification and nitrogen removal characteristics of *Thauera* sp. FDN-01 and application in sequencing batch biofilm reactor[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 690: 61-69.
- [21] 陈均利, 彭英湘, 刘锋, 等. 异养硝化-好氧反硝化菌脱氮特性研究进展[J]. *环境科学与技术*, 2020, 43(5): 41-48.
- [22] SU J F, YANG S, HUANG T L, LI M, et al. Enhancement of the denitrification in low C/N condition and its mechanism by a novel isolated *Comamonas* sp. YSF15[J]. *Environmental pollution*, 2020, 256(1): 1-7.
- [23] 付昆明, 付巢, 李慧, 等. 主流厌氧氨氧化工艺的运行优化及其微生物的群落变迁[J]. *环境科学*, 2018, 39(12): 5596-5604.
- [24] 付昆明, 杨宗玥, 廖敏辉, 等. 中试MBBR反应器启动CANON工艺及其短程硝化[J]. *环境科学*, 2020, 41(3): 1393-1400.
- [25] HANAKI K, WANTAWIN C, OHAGKI S. Nitrification at low-levels of dissolved oxygen with and without organic loading in a suspended growth reactor[J]. *Water Research*, 1990, 24(3): 297-302.
- [26] 杨庆, 杨玉兵, 杨忠启, 等. 溶解氧对短程硝化稳定性及功能菌群的影响[J]. *中国环境科学*, 2018, 38(9): 3328-3334.
- [27] USHIKI N, JINNO M, FUJITANI H, et al. Nitrite oxidation kinetics of two *Nitrospira* strains: The quest for competition and ecological niche differentiation[J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2017, 123(5): 581-589.
- [28] 张亮, 张树军, 彭永臻. 污水处理中游离氨对硝化作用抑制影响研究[J]. *哈尔滨工业大学学报*, 2012, 44(2): 75-79.
- [29] CAO Y S, VAN LOOSDRECHT MARK C M, DAIGGER G T. Mainstream partial nitrification-anammox in municipal wastewater treatment: Status, bottlenecks, and further studies[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2017, 101(4): 1365-1383.
- [30] ANTHONISEN A C, LOEHR R C, PRAKASAM T B, et al. Inhibition of nitrification by ammonia and nitrous acid[J]. *Journal Water Pollution Control Federation*, 1976, 48(5): 835-852.
- [31] LOTTI T, KLEERBEZEM R, ABELLEIRA-PEREIRA J M, et al. Faster through training: The anammox case[J]. *Water Research*, 2015, 81(Sep.15): 261-268.
- [32] 孙延芳, 韩晓宇, 张树军, 等. 颗粒+絮体污泥CANON工艺的启动与SRT影响研究[J]. *环境科学*, 2017, 38(2): 672-678.

(责任编辑: 曲娜)

Short-cut nitrification recovery and ANAMMOX enhancement strategy in CANON process

FU Kunming^{1,*}, YANG Fan¹, YANG Zongyue¹, CAO Xiuqin¹, QIU Fuguo¹, WU Qing², LIU Yongjian², LI Fei²

1. School of Environment and Energy Engineering, Key Laboratory of Urban Storm Water System and Water Environment, Beijing University of Civil Engineering and Architecture, Sino-Dutch R&D Center for Future Wastewater Treatment Technologies, Beijing 100044, China; 2. Water Design Group Company Limited, Jinan 250000, China

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

Abstract In order to recover the short-cut nitrification in CANON process and enhance the activity of anaerobic ammonium oxidation (ANAMMOX) bacteria, at the first stage (inhibition period), a continuous flow reactor was used and the dissolved oxygen (DO) concentration was limited to $0.1\text{--}0.4\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, so as to inhibit the activity of NOB by oxygen limitation. At the same time, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ and $\text{NO}_2^-\text{-N}$ was added. After 73 days of operation, the activity of ANAMMOX bacteria increased from $0.08\text{ kg}\cdot(\text{kg}\cdot\text{d})^{-1}$ (calculated as VSS) to $0.34\text{ kg}\cdot(\text{kg}\cdot\text{d})^{-1}$. The specific oxygen uptake rate (SOUR) of nitrite oxidizing bacteria (NOB) decreased from $1.68\text{ kg}\cdot(\text{kg}\cdot\text{d})^{-1}$ (calculated as VSS) to $0.79\text{ kg}\cdot(\text{kg}\cdot\text{d})^{-1}$, indicating a significant decrease in the activity of NOB. The total nitrogen (TN) removal rate of the system increased from 42.7% to 88.6%, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ and $\text{NO}_2^-\text{-N}$ were removed simultaneously, and the $\Delta\text{NO}_3^-\text{-N}/\Delta\text{TN}$ value approached to the theoretical value of 0.127. The second stage (transition period) and the third stage (aerobic period) were carried out by SBR mode, and the DO concentration maintained at $0.4\text{--}0.7\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ and $0.7\text{--}1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, respectively. On the 130th day, the activity of NOB decreased to $0.57\text{ kg}\cdot(\text{kg}\cdot\text{d})^{-1}$, and the TN removal load reached $0.86\text{ kg}\cdot(\text{m}^3\cdot\text{d})^{-1}$. Meanwhile, the $\Delta\text{NO}_3^-\text{-N}/\Delta\text{TN}$ value decreased from 0.318 before the inhibition to 0.136, and the short-cut nitrification was basically recovered. In the process of short-cut nitrification recovery, the relative abundance of the dominant ANAMMOX bacteria, *Candidatus Kuenenia*, increased from 7.91% to 13.12%, while the relative abundance of the main NOB bacteria, *Nitrospira*, increased from less than 0.01% to 1.03%, this indicated that a risk of short-cut nitrification destruction will still exist in the following long-term operation.

Keywords completely autotrophic nitrogen removal over nitrite; short-cut nitrification; anaerobic ammonium oxidation; nitrite oxidizing bacteria; dissolved oxygen