李 冬,付 靓,赖会彬,等.基于长短周期循环优化 CANON 工艺脱氮性能 [J]. 中国环境科学, 2025,45(8):4256-4265.
Li D, Fu L, Lai H B, et al. Study on the optimization of CANON process for nitrogen removal based on long- and short-term cycles [J]. China Environmental Science, 2025,45(8):4256-4265.

基于长短周期循环优化 CANON 工艺脱氮性能

李 冬[1*],付 靓[1],赖会彬[1],李 尧[1],张 杰[1,2] (1.北京工业大学,水质科学与水环境恢复工程北京市重点实验室,北京 100124；2.哈尔滨工业大学,城市水资源与水环境国家重点实验室,黑龙江 哈尔滨 150090)

摘要：提出在全程自养脱氮(CANON)工艺中采用长短周期交替的方式抑制亚硝酸盐氧化菌(NOB),在长周期采用原位游离氨(FA)抑制 NOB,当 FA 浓度低于 NOB 抑制阈值时,在短周期采用底物抑制的方式持续抑制 NOB 的活性.试验设置两组序批式反应器 R1、R2,分别采用不同的长短周期交替模式.结果表明:R1、R2 均取得良好的脱氮效果,R2 的脱氮效果稍优于 R1,R1、R2 的总氮去除率(NRE)分别为 78.73%、85.41%,出水 NO_3^--N 浓度分别为 14.02mg/L 和 7.21mg/L. R1、R2 的比硝态氮生成速率(SNPR)在 64d 时分别降低至 2.88,1.95mgN/(gMLVSS·h),NOB 活性均得到了有效抑制.胞外聚合物(EPS)结果分析表明,长短周期交替的策略有利于促进微生物分泌 EPS,R1、R2 的 EPS 含量分别从接种时的 40.22mg/gVSS 上升至 86.41 和 97.79mg/gVSS.高通量测序结果表明,系统内优势菌门为变形菌门(Proteobacteria)、拟杆菌门(Bacteroidota)和浮霉菌门(Planctomycetota).R1、R2 以 *Nitrospira* 和 *Nitrobacter* 为代表的 NOB 生长均受到抑制,*Nitrospira* 相对丰度由接种污泥的 2.05%降至 0.18%(R1)和 0.11%(R2),*Nitrobacter* 的丰度由接种污泥的 1.97%降低到 0.06%(R1)和 0.05%(R2),AnAOB(*Candidatus_Brocadia*)丰度分别为 8.92%(R1)和 9.14%(R2),AOB(*Nitrosomonas*)丰度分别为 4.28%(R1)和 6.56%(R2),形成良好的协同作用.

关键词：长短周期循环；全程自养脱氮工艺；短程硝化；亚硝酸盐氧化菌
中图分类号：X703 **文献标识码**：A **文章编号**：1000-6923(2025)08-4256-10

Study on the optimization of CANON process for nitrogen removal based on long- and short-term cycles. LI Dong[1*], FU Liang[1], LAI Hui-bin[1], LI Yao[1], ZHANG Jie[1,2] (1.Key Laboratory of Beijing Water Quality Science and Water Environment Recovery Engineering, Beijing University of Technology, Beijing 100124, China；2.State Key Laboratory of Urban Water Resource and Environment, Harbin Institute of Technology, Harbin 150090, China). *China Environmental Science*, 2025,45(8)：4256~4265

Abstract：This study proposes a strategy to inhibit nitrite-oxidizing bacteria (NOB) in the completely autotrophic nitrogen removal over nitrite (CANON) process by alternating long and short operational cycles. During long cycles, in-situ free ammonia (FA) was used to suppress NOB, while in short cycles, substrate inhibition was employed to continuously suppress NOB activity when FA concentrations fall below the inhibitory threshold for NOB. Two sets of SBR, R1 and R2, were operated with different long-short cycle alternation patterns. The results show that both R1 and R2 achieved good nitrogen removal efficiencies (NRE), with R2 slightly outperforming R1. The NRE for R1 and R2 were 78.73% and 85.41%, respectively, while the effluent NO_3^--N concentrations were 14.02mg/L and 7.21mg/L, respectively. At day 64, the specific nitrate production rates (SNPR) of R1 and R2 decreased to 2.88 and 1.95mgN/(gMLVSS·h), respectively, indicating effective suppression of NOB activity. Analysis of extracellular polymeric substances (EPS) revealed that the alternating long and short cycle strategy promoted microbial EPS secretion. The EPS content in R1and R2increased from 40.22mg/gVSS at inoculation to 86.41mg/gVSS and 97.79mg/gVSS, respectively. High-throughput sequencing results indicated that the dominant bacterial phyla in the system were Proteobacteria, Bacteroidota, and Planctomycetota. The growth of NOB, represented by *Nitrospira* and *Nitrobacter*, was inhibited in both R1 and R2. The relative abundance of *Nitrospira* decreased from 2.05% in the inoculated sludge to 0.18% in R1and 0.11% in R2, while *Nitrobacter* abundance dropped from 1.97% to 0.06% in R1 and 0.05% in R2. Meanwhile, the abundance of AnAOB, (*Candidatus_Brocadia*) reached 8.92% (R1) and 9.14% (R2), and AOB, (*Nitrosomonas*) achieved abundances of 4.28% (R1) and 6.56% (R2), establishing a well-coordinated synergy.

Key words：long and short cycles；CANON；partial nitrification；nitrite-oxidizing bacteria (NOB)

硝化-反硝化生物脱氮技术是污水处理厂常用的氮污染物去除方法,但是因其高能耗,占地面积大,不能满足城市节能降耗减排的需求[1-2].为了实现高效节能的生物脱氮,近年来开发了一种高效脱氮工

收稿日期：2025-01-16
基金项目：北京高校卓越青年科学家计划项目(BJJWZYJH01201910005019)
* 责任作者, 教授, lidong2006@bjut.edu.cn

艺,即全程自养脱氮工艺(CANON).CANON 工艺主要由两个阶段组成:亚硝化和厌氧氨氧化.该工艺通过氨氧化细菌(AOB)和厌氧氨氧化细(AnAOB)的协同作用,实现了高效脱氮,且无需额外碳源,是一种经济高效的脱氮方法[3].但由于亚硝酸盐氧化菌(NOB)的存在导致短程硝化过程不稳定[4],CANON 工艺在实际运行中常常会有额外的硝酸盐(NO_3^--N)生成,同时 NOB 与 AnAOB 菌竞争亚硝酸盐(NO_2^--N)使其生长受到限制直接影响了后续的氮去除效果[5],降低了脱氮效率,这一问题限制了该技术的进一步发展和广泛应用.CANON 工艺优化关键在于有效抑制 NOB 的活性或通过扩大 AOB 与 NOB 之间的活性差距,促进 NO_2^--N 积累.因此,在 CANON 工艺中,寻找有效 NOB 抑制方法成为提升其脱氮性能的关键.

目前主流工艺中的 NOB 抑制策略主要有游离氨(FA)抑制[6]、限制底物供给[7]、瞬时缺氧[8]、曝气实时控制[9]等.FA 对 AOB 和 NOB 均有抑制作用,但对 AOB 的抑制阈值更高[10],有研究发现,生活污水中的 FA>1.0mg/L,足以选择性抑制 NOB 的活性[11].利用这一特性,反应前期足够的 FA 水平,可以实现 NOB 的抑制且不对 AOB 产生影响[12].随着氨氧化反应的进行,FA 浓度逐渐降低到 NOB 抑制阈值以下.根据 Monod 方程,微生物的比增值速率与底物浓度呈正比例函数关系,因此 NO_2^--N 浓度维持在较低水平时,即通过底物限制即可抑制 NOB 同时不影响 AOB 活性[13-14].基于此,本研究提出了一种通过长短周期交替抑制 NOB 以强化 CANON 工艺的新策略.即反应前期设置长周期通过进水中足够的 FA 浓度选择性抑制 NOB 活性;随着反应进行,氨氮浓度逐渐降低,FA 浓度下降到 NOB 抑制阈值以下,此时设置短周期间歇产生 NO_2^--N 并及时消耗,通过底物限制继续抑制 NOB 活性,可保持 NO_2^--N 的稳定供给.

综上,为验证该策略的可行性,通过设置两组不同长短周期交替模式的 CANON 系统对比,对污染物去除效果、功能菌活性、EPS 变化和微生物群落变化等进行测定分析,探究长短周期交替抑制 NOB 策略维持短程硝化的可行性,为 CANON 工艺在城市污水处理中的应用提供理论依据和技术支持,以期为高效、低能耗污水脱氮技术发展提供新方向.

1　材料与方法

1.1　接种污泥和实验用水

实验用水采用人工配水模拟城市低氨氮废水,模拟废水的组成成分如下:(75±5)mg/LNH_4^+-N,1000mg/L$NaHCO_3$,20mg/L$CaCl_2$,50mg/L$MgSO_4 \cdot 7H_2O$,2mg/LKH_2PO_4.反应器接种污泥取自实验室运行的 CANON 反应器.

1.2　实验装置与运行参数

本实验设置 2 个 SBR 反应器,反应器由有机玻璃制成,高 50cm,内径 14cm,有效容积为 6L,换水比为 2:3,分别记为 R1、R2.反应器配备有机械搅拌装置,反应器底部安装曝气盘进行微孔曝气,曝气强度由气体流量计控制,好氧阶段 DO 浓度为 0.1~0.7mg/L,缺氧阶段 DO 浓度接近于零,反应器温度保持在 30 ℃左右.进水通过蠕动泵控制,反应器的运行通过时控开关进行控制,容积交换率为 70%,反应器结构示意如图 1 所示.

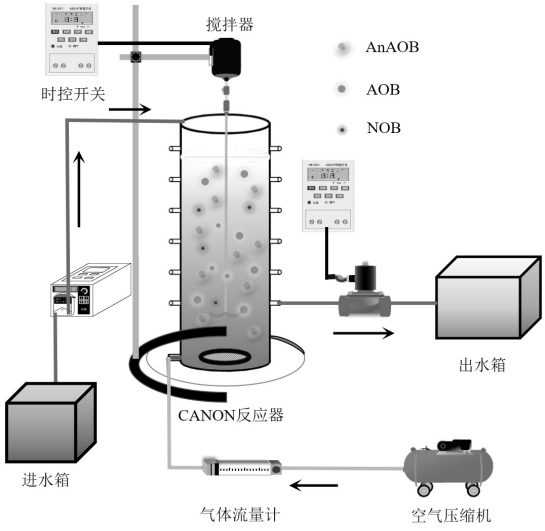


图 1　反应器装置示意

Fig.1　Schematic diagram of the reactor setup

表 1　反应器运行工况

Table 1　Oprational conditions of the reactor

	长周期		短周期				O/A
R1	O(50min)	A(100min)	O(40min)		A(80min)		1:2
R2	O(50min)	A(100min)	O(20min)	A(40min)	O(20min)	A(40min)	1:2

试验共进行了 70d,每天 4 个周期,每个周期 360min.两个反应器采取不同的曝气频次,周期时长

分配见表 1,具体运行原理见图 2.此外,每个周期还包括 10min 进水,30min 沉淀,10min 出水,50min 闲置.

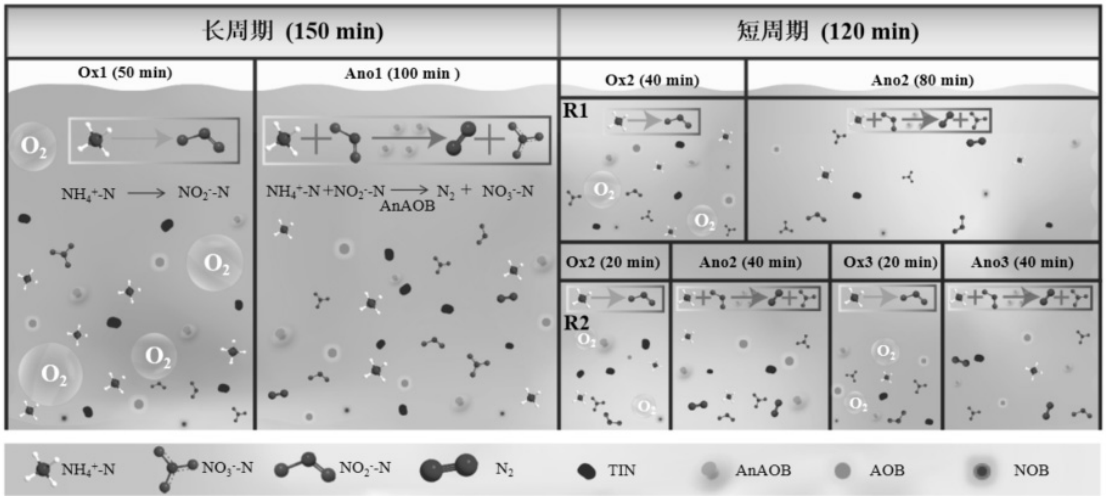


图 2 R1、R2 长短周期运行原理示意

Fig.2 R1, R2 long period operation principal schematic

O 为好氧阶段、A 为缺氧阶段

1.3 分析项目与检测方法

研究期间,采用 APHA 标准方法定期检测反应器中 NH_4^+-N、NO_2^-N、NO_3^-N、MLSS 和 MLVSS 等参数[15].pH 值与溶解氧(DO)采用 WTW-pH/Oxi 340i 便携式多参数测定仪测量.

为考察系统中微生物菌群结构变化,采集两组 CANON 反应器稳定阶段的污泥样品进行微生物多样性分析.使用土壤提取试剂盒(E.Z.N.ATM Mag-Bind Soil DNA Kit, OMEGA)提取 DNA.使用正向引物 338F(5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCA- 3')和反向引物 806R(5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3')通过聚合酶链式反应(PCR)扩增细菌 16S rRNA 基因的 V3-V4 区域.通过美格(中国广州)的 Illumina MiSeq 系统(Illumina MiSeq 2x300bp, USA)进行高通量测序分析.

1.4 功能菌活性测定

微生物活性的测定:取出 100mL 污泥,用去离子水冲洗 3 次,直到其不含任何基质.然后将污泥转移到烧杯中,在烧杯中添加微量元素和氮源.氮源中包括 50mg/L 的 NO_2^--N 和 50mg/L 的 NH_4^+-N.通过气泵维持曝气;温度保持在(25±1)℃,pH 值保持在(7.5±0.1).每隔 20min 抽取 5mL 水样,持续 120min,以测量氨和硝酸盐浓度的变化.然后根据氨消耗率和硝酸盐生产率与 MLVSS 的比率计算比氨氧化速率(SAOR)和比硝态氮生成速率(SNPR).

AOB 活性采用比氨氧化速率 SAOR[mgN/(gMLVSS·h)]表示:

$$SAOR=(NH_4^+-N_{inf}-NH_4^+-N_{eff})/MLVSS\times t \quad (1)$$

式中:$NH_4^+-N_{inf}$ 为反应开始时 NH_4^+-N 浓度,mg/L;$NH_4^+-N_{eff}$ 为反应结束时 NH_4^+-N 浓度,mg/L;MLVSS 为混合液挥发性悬浮固体浓度,mg/L;t 为反应时间,h.

NOB 活性采用比硝态氮 SNPR[mgN/(gMLVSS·h)]生成速率表示:

$$SNPR=(NH_3^- - N_{eff} - NH_3^- - N_{inf})/MLVSS\times t \quad (2)$$

式中:$NO_3^-N_{eff}$ 为反应结束时 NO_3^--N 浓度,mg/L;$NO_3^-N_{inf}$ 为反应开始时 NO_3^--N 浓度,mg/L;MLVSS 为混合液挥发性悬浮固体浓度,mg/L;t 为反应时间,h.

1.5 计算公式

氨氮去除率(ARE)的计算公式:

$$ARE=(NH_4^+ - N_{inf} - NH_4^+ - N_{eff})\times 100\%/(NH_4^+ - N_{inf}) \quad (3)$$

式中:$NH_4^+-N_{inf}$ 为进水中氨氮的浓度,mg/L;$NH_4^+-N_{eff}$ 为出水中氨氮的浓度,mg/L.

亚硝酸盐积累率(NAR)的计算公式:

$$NAR=(NO_2^- - Neff - NO_2^- - N\,inf)\times 100\%/(NO_2^- - N_{eff} + NO_3^- - N_{eff} - NO_2^- - N_{inf} - NO_3^- - N_{inf}) \quad (4)$$

式中:$NO_2^-N_{inf}$ 为进水中亚硝酸盐的浓度,mg/L;$NO_2^-N_{eff}$ 为出水中亚硝酸盐的浓度,mg/L;$NO_3^-N_{inf}$ 为进水中硝酸盐的浓度,mg/L;$NO_3^-N_{eff}$ 为出水中硝酸盐的浓度,mg/L.总氮去除率(NRE)的计算公式:

$$NRE = \Delta TN/TN_{inf} \times 100\% \quad (5)$$

式中:ΔTN 为进出水总氮浓度的差值,mg/L;TN_{inf} 为进水中总氮的浓度,mg/L.

游离氨(FA)的计算公式:

$$FA = 17/14 \times (NH_4^+ - N \times 10^{pH})/(10^{pH} + e^{6344/273+T}) \quad (6)$$

式中:NH_4^+−N 为反应器内氨氮的浓度,mg/L;T 为反应器内温度,℃;pH 为反应器内 pH 值.

2　结果与讨论

2.1　长短周期循环下的脱氮性能分析

为明晰系统在运行过程中的脱氮过程,测定各反应器在运行过程中污染物的去除性能,如图 3 所示.

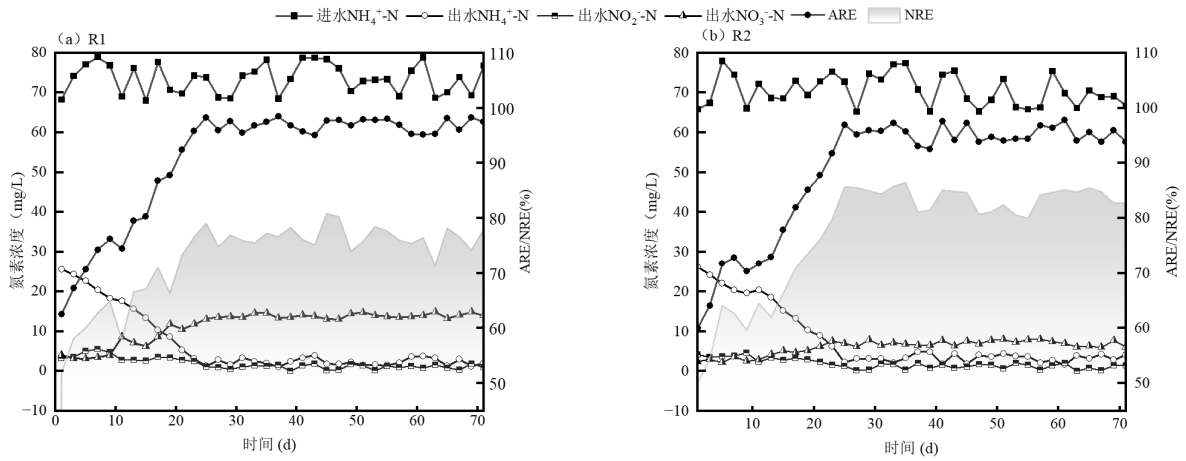


图 3　运行 70d 过程中 NH_4^+−N、NO_2^-N、NO_3^-N、ARE 和 NAR 的变化情况

Fig.3　Changes of NH_4^+−N、NO_2^-N、NO_3^-N、ARE and NAR during 70d operation

在实验的初期阶段,由于接种的污泥尚未适应新的运行环境,反应器中的氨氧化细菌活性较低,导致 NH_4^+−N 去除效果较差.具体而言,R1、R2 的 ARE 分别为 64.49%、60.53%,出水 NH_4^+−N 浓度分别为 25.6 和 26.3mg/L.同时,反应器出水的 NO_2^-−N 的浓度较高,分别为 5.23mg/L、4.17mg/L,表明 AnAOB 在此阶段的活性较低,未能及时利用 NO_2^-−N 作为电子受体将 NH_4^+−N 氧化为 N_2.此外,由于接种污泥在脱氮过程中尚未完全适应,脱氮效率较低,R1 和 R2 的氮去除效率(NRE)分别为 54.24%和 49.15%.

随着反应器运行时间的延长,系统中的功能性微生物逐渐适应了环境,处理性能也随之提升.第 25d 后,反应器的各项指标趋于稳定,R1、R2 平均出水 NH_4^+−N 浓度分别降为 2.34 和 2.87mg/L,ARE 分别为 96.83%和 96%.出水 NO_2^-−N 浓度降低,R1、R2 平均出水 NO_2^-−N 浓度分别为 1.08 和 1.09mg/L,说明此时 AOB 和 AnAOB 的活性显著增强.

值得注意的是,R2 的处理性能略优于 R1,R1 的平均出水 NO_3^-−N 浓度为 14.02mg/L,而 R2 的平均出水 NO_3^-−N 浓度为 7.21mg/L.这一差异主要源于 R2 在长短周期好氧阶段中短程硝化性能稍优于 R1,导致亚硝酸盐的积累率较低,进而减少了 NO_3^-−N 的生成.此外,$\Delta NO_3^-N/\Delta NH_4^+N$ 值可反映 CANON 工艺的亚硝酸盐积累性能,其中第 70d R1 的 $\Delta NO_3^-N/\Delta NH_4^+N$ 值为 0.22,而 R2 的 $\Delta NO_3^-N/\Delta NH_4^+N$ 值为 0.12,几乎接近 CANON 系统的 $\Delta NO_3^-N/\Delta NH_4^+N$ 理论值 0.11[16].R1、R2 的 NRE 分别为 78.73%、85.41%,最终,R2 的出水总氮浓度最差为 13.56mg/L,达到了 GB 18918−2002《城镇污水处理厂污染物排放标准》的一级 A 标准[17].

此外,有研究[18]表明常规进水模式(O/A/O/A 且每阶段为 60min)下 NRE 仅为 60.2%,远低于本研究的 85.41%(R2),这进一步表明了长短周期交替运行在脱氮性能方面的优越性.

2.2　典型周期内污染物去除情况变化

为了进一步深入了解长短周期循环下 CANON

系统的去除特性,选取每个反应器第 65d 的一个典型周期,探究污染物的变化情况,结果如图 4 所示.

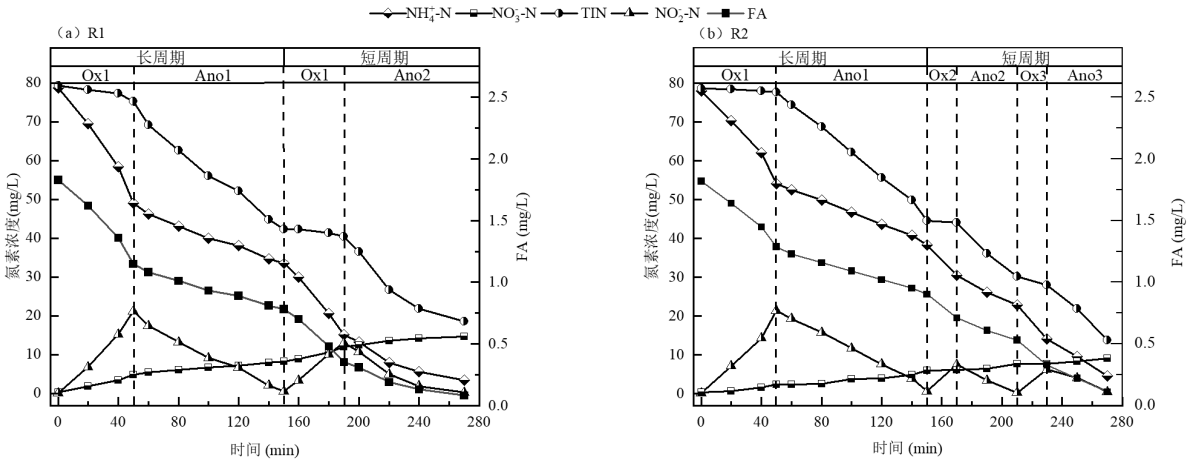


图 4 试验开始前典型周期内 NH_4^+-N、NO_2^--N、NO_3^--N 和 FA 的变化情况

Fig.4 Changes of NH_4^+-N, NO_2^--N, NO_3^--N and FA in a typical cycle before the experiment

R1 和 R2 在不同运行阶段的氮素浓度变化呈现出明显的差异.在长周期的好氧阶段,随着硝化反应的进行,R1 和 R2 的 NH_4^+-N 浓度分别由起始的 78.64 和 77.95mg/L 逐渐降低至 49.14 和 54.12mg/L.在此过程中,R1 的 NO_2^--N 和 NO_3^--N 浓度从 0.23 和 0.45mg/L 分别增至 21.24 和 4.84mg/L,而 R2 的 NO_2^--N 和 NO_3^--N 浓度则从 0.19 和 0.46mg/L 分别增至 21.40 和 2.05mg/L.与此同时,FA 浓度分别由 1.83(R1) 和 1.82(R2)mg/L 降低至 1.15(R1) 和 1.29(R2)mg/L.根据已有研究,FA 浓度高于一定阈值时能够有效抑制 NOB.在本实验中,R1 和 R2 的 FA 浓度在长周期阶段逐渐降低但仍保持在足以抑制 NOB 活性的范围内,R1 和 R2 的 NAR 分别达到了 82.72%和 93.03%.这种选择性抑制作用有助于提高短程硝化的稳定性,特别是在长周期的好氧阶段.在长周期的缺氧阶段,系统发生了厌氧氨氧化反应,NH_4^+-N 和 NO_2^--N 同时被去除,R1 和 R2 的 NH_4^+-N 浓度分别降低至 33.53 和 38.39mg/L,NO_2^--N 浓度降至 0.64mg/L.与此同时,NO_3^--N 浓度分别增至 8.27 和 5.51mg/L,FA 浓度降低至 0.78 和 0.90mg/L,此时 FA 浓度已经低于抑制 NOB 的阈值.

在短周期的好氧阶段,R1 中 NH_4^+-N 继续被氧化,最终在好氧末 NH_4^+-N 浓度降低至 15.18mg/L,FA 浓度降至 0.35mg/L,NO_2^--N 和 NO_3^--N 的浓度分别增至 13.15 和 12.12mg/L,NAR 为 76.48%.在缺氧阶段,NH_4^+-N 和 NO_2^--N 浓度分别降至 3.5 和 0.37mg/L,而 NO_3^--N 浓度增至 14.69mg/L,最终的出水 TIN 浓度为 18.56mg/L,TIN 去除率为 77%.

R2 的短周期设置相较于 R1 将好氧时间缩短至 20min,进入缺氧阶段后,NO_2^--N 浓度仅增至 7.5mg/L.此时,AnAOB 通过 NO_2^--N 作为电子受体氧化 NH_4^+-N 为 N_2,反应器内的 NO_2^--N 被及时清除,形成对 NOB 的底物抑制效果,缺氧末 NO_2^--N 浓度降至 0.25mg/L,这与 Li 等人[19]研究结果一致.随后进入第二次好/缺氧反应,最终出水 NH_4^+-N、NO_2^--N 和 NO_3^--N 浓度分别为 4.59,0.49 和 8.77mg/L,最终出水 TIN 浓度为 13.85mg/L,TIN 去除率为 82.4%.

从以上实验结果可以看出,R1 和 R2 在长周期好氧段通过控制硝化过程,使 FA 浓度维持在足以抑制 NOB 的水平.而在短周期阶段,FA 浓度已经低于抑制 NOB 的阈值,通过限制 NO_2^--N 底物的浓度来进一步抑制 NOB 的活性.在 R1 中,NO_2^--N 浓度保持在 13.15mg/L 以下,而在 R2 中,NO_2^--N 浓度控制在 7.5mg/L 以下.相较之下,R2 在抑制 NOB 方面形成了更好的 FA 和底物的双重抑制,因此其处理性能略优于 R1.

2.3 功能菌活性的变化

为了验证系统运行过程中相关功能菌的活性,分别在第 1,16,32,48 和 64d 进行批次试验,测定了各反应器不同时期污泥的 SAOR,SNRP 和 SAA,分别表征 AOB、NOB 和 AnAOB 的活性[20],比氧利用速率(SOUR)间接反映微生物中生物反应速率的参数,较高的 SOUR 值通常表示微生物群体有较高的代谢

速率.试验结果如图 5 所示.

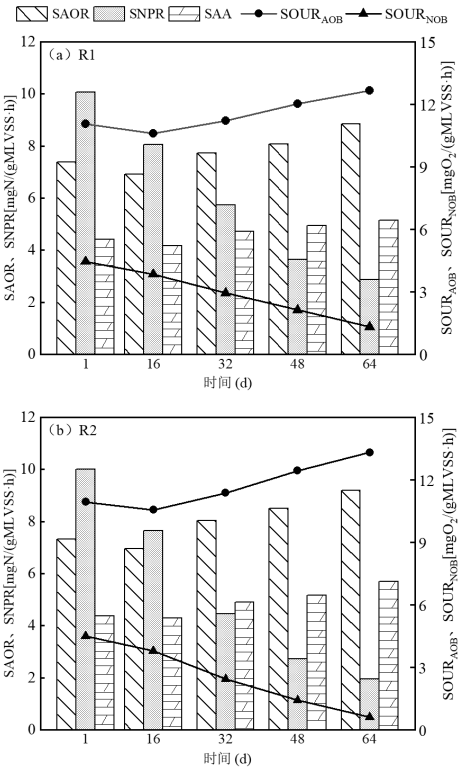


图 5　CANON 系统 SAOR、SNPR、SOUR$_{AOB}$ 和 SOUR$_{NOB}$ 的变化趋势

Fig.5　Variation trend of SAOR、SNPR、SOUR$_{AOB}$ and SOUR$_{NOB}$ of CANON system

可以看出,反应器接种污泥的 SAOR,SNRP 和 SAA 分别为 7.38,9.06,33.54mgN/(gMLVSS·h),NOB 活性较高,导致反应初期短程硝化产生的 NO_2^-–N 不足,且由于 AnAOB 与 NOB 在底物的竞争中处于不利地位,导致其活性被抑制,因此反应初期 CANON 系统的整体脱氮性能较差.第 16d R1 和 R2 的 SAOR 分别达到 7.5 和 7.69mgN/(gMLVSS·h),均较第 1d 略有上升,SNRP 分别降到了 7.05 和 6.65mgN/(gMLVSS·h),均有较大的变化,初步证实长短周期交替的策略有助于 NOB 的抑制.

在试验的第 16d~第 64d,R1 和 R2 中的 SAOR 和 SOUR$_{AOB}$ 均呈上升趋势,R1 的 SAOR 和 AOB 的比氧利用速率(SOUR$_{AOB}$)从第 1d 的 7.38mgN/(gMLVSS·h)和 11.06mgO_2/(gMLVSS·h)上升到 64d 的 8.85mgN/(gMLVSS·h)和 12.65mgO_2/(gMLVSS·h),同时 R2 的 SAOR 和 SOUR$_{AOB}$ 分别达到了 9.29mgN/(gMLVSS)和 13.51mgO_2/(gMLVSS·h),与 R1 相比增幅较大.SNRP 和 SOUR$_{NOB}$ 均呈现下降趋势,在第 64d 时,R1 的 SNPR 和 SOUR$_{NOB}$ 分别降低至 2.88mgN/(gMLVSS·h)和 1.12mgO_2/(gMLVSS·h),R2 的 SNPR 和 SOUR$_{NOB}$ 在 64d 时降至 1.95mgN/(gMLVSS·h)和 0.61mgO_2/(gMLVSS·h),说明长周期时进水 NH_4^+–N 浓度形成的 FA 抑制和短周期产生的低浓度 NO_2^-–N 使 NOB 活性得到有效抑制,同时 AOB 的活性并未受到影响且呈现小幅度提升的趋势,随着系统运行到第 16d,AnAOB 逐渐适应了环境,并在间歇曝气模式下活性逐渐恢复,并且由于 NOB 得到有效抑制,充足的 NO_2^-–N 基质使 AnAOB 活性得到提升,到第 64d,R1 的 SAA 增至 5.14mgN/(gVSS·d),R2 增至 5.69mgN/(gVSS·d).

上述结果证实两组反应器均成功实现了对 NOB 活性的选择性抑制,分析其原因,R2 的短周期进行了两次好/缺氧循环,使系统内的亚硝酸盐浓度始终维持在较低水平,这一低浓度状态有效保证了其及时被消耗,由于底物的匮乏,NOB 的活性未能得到恢复.这种持续的底物缺乏以及亚硝酸盐的快速消耗导致了 NOB 的生长受到抑制,最终其活性逐渐降低并被从系统中逐渐淘洗出,从而为亚硝化过程的持续优化创造了有利条件.

2.4　长短周期循环下 EPS 的变化

胞外聚合物(EPS)是附着在细胞表面的由微生物分泌的大分子聚合,通常包括蛋白质、糖类、核酸和其他多糖类物质[21].EPS 在污泥的结构稳定性、细胞的相互黏附以及对外界环境变化的适应方面起着重要作用[22].EPS 的主要成分包括蛋白质(PN)和多糖(PS),通过测量这些成分的浓度和分布特征,可以有效反映出系统中微生物群落的特性以及其在不同环境条件下的适应性变化.为了探究不同反应器中 EPS 的生成及其对污泥性能的影响,本研究测定了两组反应器内 PN 和 PS 的质量分数,如图 6 所示.反应初期,由于贮存条件不佳,两反应器的 PN 和 PS 含量仅为 24.75mg/gVSS 和 15.47mg/gVSS,这个阶段的低 EPS 水平可能与微生物的初始生长阶段及环境适应性不足有关.在采用长短周期的好/缺氧交替循环后,反应器 R1 和 R2 的 EPS 总量均呈明显的上升趋势,分别从反应初期的 40.22mg/gVSS 上升到 86.41 和 97.79mg/gVSS.第 70d 时,R2 的 PN 和 PS 含量分别为 68.32 和 29.47mg/gVSS,较高于 R1 的 60.17 和 26.24mg/gVSS.研究表明[23]在更强的环境

刺激下,微生物通过增强 EPS 的分泌来适应外部环境的变化,因此 PN 和 PS 的增多说明了长短周期的好/缺氧交替促进了微生物的生长和 EPS 的分泌.PN 的生成有助于细胞的聚集和絮凝作用,这对于污泥的稳定性至关重要[24],而 PS 则在维持污泥结构的完整性和抗环境冲击方面发挥重要作用[25].R2 反应器中 PN 含量的增速明显快于 R1,这可能是因为 R2 的好/缺氧交替比 R1 多一次,微生物受到的更强的环境刺激,激发其分泌更多的 EPS 以适应变化的环境条件.运行后期 R2 的 PN/PS 值较 R1 先趋于稳定,PN/PS 值的提高有助于反应的稳定运行[26],EPS 含量的显著变化使污泥的聚集性得到进一步加强,说明长短周期交替的运行模式有利于细菌的生长和反应器的稳定运行.

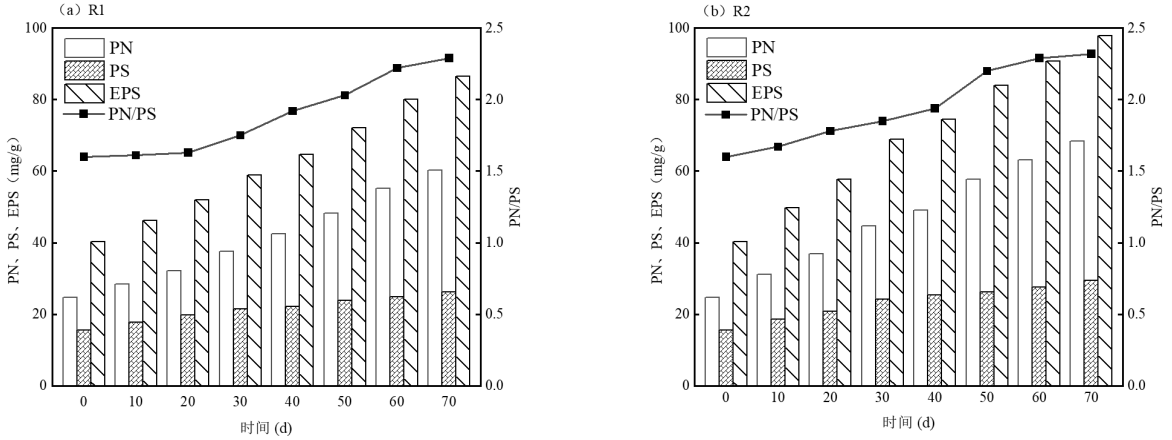


图 6 运行过程中 EPS 变化情况

Fig.6 EPS changes during operation

2.5 污泥群落结构分析

为了研究长短周期循环对 CANON 系统内微生物的情况,对接种污泥、R1 和 R2 运行 55d 时的污泥样本进行高通量测序.表 2 展示了 3 个污泥样品的 α 多样性分析结果,其中样本的覆盖指数(Coverage)均达到 99%,表明本次 16SrRNA 测序的结果能够准确地反映微生物群落的真实组成.Ace 和 Chao 指数用于评估样本的物种丰富度[27],R2 中更高的数值意味更高的物种丰富度.此外,Shannon 指数用于衡量样本的微生物多样性,Shannon 指数的数值越大,表明微生物群落的多样性越高[28-29].因此,两个反应器的微生物的多样性和总 OTU 数均高于接种污泥,这一结果进一步支持了长短周期循环交替策略在提升 CANON 工艺微生物多样性方面的作用.

表 2 不同污泥样品的 α 多样性分析

Table 2 The α diversity analysis of sludge at different sludge samples

样品	OTUs	Shannon	Chao	Ace	Coverage
接种污泥	2090	6.64	2123	1957.35	0.99
R1 反应器	2280	6.88	2296	2284.80	0.99
R2 反应器	2330	7.09	2356	2408.24	0.99

图 7 展示了接种污泥、R1 和 R2 内生物群落的门水平和属水平结构,分析了三者在微生物多样性和分布上的差异.图 7(a)为门水平的群落结构解析,运行期间污泥在门水平的微生物种群组成变化不大,主要优势菌门包括变形菌门(Proteobacteria)、拟杆菌门(Bacteroidota)和浮霉菌门(Planctomycetota)三类.Proteobacteria 门包括多种对有机物、氮、磷去除的功能微生物菌,是强化生物脱氮系统中的重要种群[30-31].Proteobacteria 门中有许多种类能够通过硝化作用将氨氧化为亚硝酸盐(NO_2^-),其相对丰度在两个反应器里均有增加(从接种污泥的 29.87%增加到 R1 的 34.63%和 R2 的 39.44%).Bacteroidota 门在污水脱氮过程中也发挥重要作用[32],其通过对有机氮的降解,有助于调节氮源的供给,为厌氧氨氧化细菌提供氨源[33],并分泌 EPS,促进微生物细胞之间的黏附和聚集,形成稳定的生物膜结构,从而提高系统的处理效率和稳定性,R1 和 R2 运行期间 Bacteroidota 门相对丰度相比于接种污泥有所上升,从 21.64%分别上升到 25.58%和 29.87%.此外,Nitrospirota 门中的细菌主要负责将 NO_2^-氧化为 NO_3^-,相比于接种污泥,Nitrospirota 门在 R1 里由 11.31%下降到 7.73%,在 R2 由 11.31%下降到 4.58%,

且 R2 降低更多,其丰度降低有利于 NO 的积累,从而有利于厌氧氨氧化.

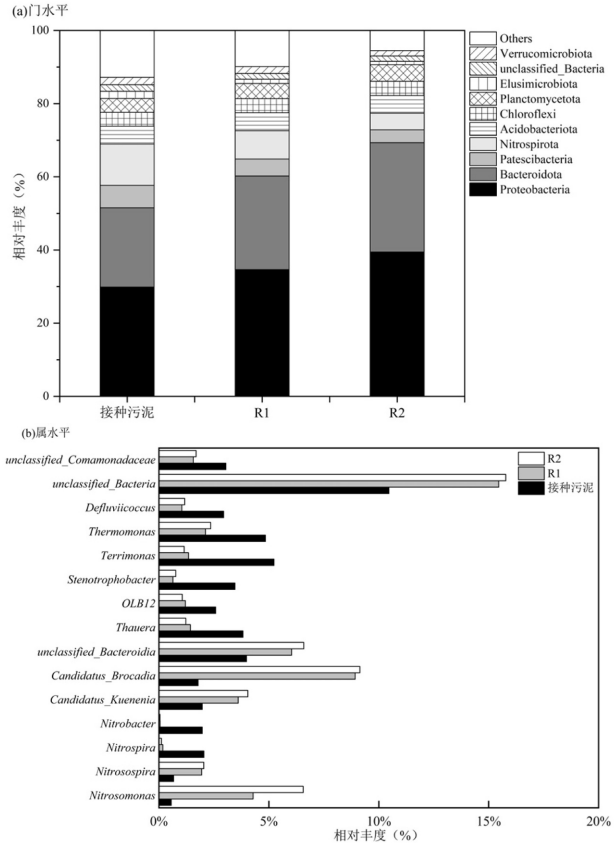


图 7　门和属水平的微生物群落结构变化

Fig.7　Changes of microbial community structure at phylum and genus

图 7(b)为污泥属水平的群落结构分析. *Nitrosomonas*、*Nitrosospira* 是典型的 AOB[34],在长短周期运行下 R1 和 R2 中均检测到丰度的增加,*Nitrosomonas* 更适应高氨氮浓度环境,通常在氨浓度较高时表现更高的活性,R1 反应器中丰度分别为 4.28%和 1.95%,R2 反应器中丰度分别为 6.56%和 2.04%.与接种污泥相比,可以发现 R1 和 R2 中 AOB 属的相对丰度均显著提高了,其中 R2 反应器增加更多,这确保了 AnAOB 的 NO_2^-供应.*Nitrospira* 和 *Nitrobacter* 为检测到的NOB属,其中,*Nitrospira*的丰度由接种污泥的 2.05%降低至 0.18%(R1)和 0.11%(R2),*Nitrobacter* 的丰度由接种污泥的 1.97%降低至 0.06%(R1)和 0.05%(R2).R1 和 R2 中 NOB 的丰度均显著降低,R1、R2 的 NOB 相对丰度由接种污泥的 4.02%分别降低至 0.24%、0.16%,生长受到抑制,这避免了硝酸盐积累,有助于提升脱氮效果[35]. *Candidatus_Brocadia* 和 *Candidatus_Kuenenia* 是两种常见的厌氧氨氧化菌属[36],*Candidatus_Brocadia* 丰度由 1.78%(接种污泥)增加至 8.92%(R1)和 9.14%(R2),这有利于厌氧氨氧化反应的进行.*Candidatus_Kuenenia* 具有很高的氮去除效率,在污水处理中具有重要的应用潜力[37],其相对丰度由 1.97%(接种污泥)增加至 3.61%(R1)和 4.04%(R2).*OBL12* 属从 2.58%(接种污泥)降低到 1.20%(R1)和 1.06%(R2),*Thauera* 属从 3.82%降低到 1.43%(R1)和 1.23%(R2),*OBL12* 和 *Thauera* 为反硝化细菌,其丰度的减少有利于厌氧氨氧化过程,表明系统的碳源负荷较低[38],更适合厌氧氨氧化菌的生长,通常有助于提升厌氧氨氧化菌的活性.

因此,通过在门水平和属水平的微生物群落分析结果发现,CANON 工艺通过长短周期循环交替,降低了 NOB 的丰度,进而优化了 AOB 和厌氧氨氧化细菌之间的相互作用,从而提高了氨氮的直接转化效率,且 R2 由于短周期进行两次好/缺氧循环形成对 NOB 的交替抑制效果更好.

3　结论

CANON 工艺采用长短周期交替的策略有效地抑制了 NOB,系统性能得到了增强:

3.1　从脱氮性能方面来看,R1、R2 均取得良好的脱氮效果,R1、R2 的 NRE 分别为 78.73%、85.41%,平均出水 NO_3^-–N 浓度分别为 14.02 和 7.21mg/L.

3.2　从功能菌活性方面来看,R1、R2 的 SNPR 从第 1d 的 10.06 和 10.01mgN/(gMLVSS·h)分别降低至第 64d 的 2.88 和 1.95mgN/(gMLVSS·h),降低百分比分别为 71.37%和 80.52%,NOB 活性均得到有效抑制.

3.3　从 EPS 方面来看,长短周期交替策略有利于促进微生物分泌 EPS,R1、R2 的 EPS 含量分别从接种时的 40.22mg/gVSS 上升至 86.41 和 97.79mg/gVSS.R2 的 PN 和 PS 含量分别为 68.32 和 29.47mg/gVSS,较高于 R1 的 60.17 和 26.24mg/gVSS.

3.4　从微生物群落结构方面来看,R1、R2 的 NOB 生长受到抑制,丰度均降低,*Nitrospira* 丰度由接种污泥的 2.05%降低至 0.18%(R1)和 0.11%(R2),*Nitrobacter* 丰度由接种污泥的 1.97%降低至 0.06%(R1)和 0.05%(R2),AnAOB(*Candidatus_Brocadia*)丰度分别为 8.92%(R1)和 9.14%(R2), AOB

(*Nitrosomona*)丰度分别为 4.28%(R1)和 6.56%(R2),形成良好协同作用.

参考文献:

[1] 陈仁杰,谢 禹,荆肇乾.污水新型生物脱氮强化技术研究进展 [J]. 应用化工, 2020,49(8):2075-2079.
Chen R J, Xie Y, Jing Z Q. Research progress on new biological nitrogen removal intensification technology for wastewater [J]. Applied Chemical Industry, 2020,49(8):2075-2079.

[2] 马浩亮,徐洪斌.新型生物脱氮工艺研究进展 [J]. 河南科技, 2013,(7):187-188,221.
Ma H L, Xu H B. Research progress of new biological nitrogen removal process [J]. Journal of Health Science and Technology, 2013,(7):187-188,221.

[3] Gong S, Qin Y, Zheng S, et al. The rapid start-up of CANON process through adding partial nitration sludge to ANAMMOX system [J]. Journal of Environmental Management, 2023,338:117821.

[4] Deng L, Guan X, Shen Y. Arginine enhances activity of anammox consortia and process stability with increased nitrogen loading [J]. Science of The Total Environment, 2024,956:177395.

[5] Shen H, Zhang Q, Li M, et al. Research on intensive nitrogen removal of municipal sewage by mainstream anaerobic ammonia oxidation process [J]. Chemosphere, 2024,367:143622.

[6] Third K A, Sliekers A O, Kuenen J G, et al. The CANON system (completely autotrophic nitrogen-removal over nitrite) under ammonium limitation: Interaction and competition between three groups of bacteria [J]. Systematic and Applied Microbiology, 2001,24(4):588-596.

[7] Li D, Chen H, Gao X, et al. Establishment and optimization of partial nitrification/anammox/partial nitrification/anammox (PN/A/PN/A) process based on multi-stage ammonia oxidation: Using response surface method as a tool [J]. Bioresource Technology, 2022,361:127722.

[8] 刘文龙.城市污水主流厌氧氨氧化连续流工艺的脱氮除磷效能研究 [D]. 2019.
Liu W L. Nitrogen and phosphorus removal in mainstream anammox continuous process treating municipal wastewater [D]. 2019.

[9] Jiang C, Xu S, Wang R, et al. Achieving efficient nitrogen removal from real sewage via nitrite pathway in a continuous nitrogen removal process by combining free nitrous acid sludge treatment and DO control [J]. Water Research, 2019,161:590-600.

[10] 刘心怡,李汶倩,蔡 芹,等.一段式 PN/A 中 NOB 细菌的常见抑制策略研究进展 [J]. 中国给水排水, 2023,39(8):23-32.
Liu X Y, Li W Q, Cai Q, et al. Research advancement in common NOB suppression strategies in one-stage PN/A system [J]. China Water & Wastewater, 2023,39(8):23-32.

[11] Wang Z, Zheng M, Xue Y, et al. Free ammonia shock treatment eliminates nitrite-oxidizing bacterial activity for mainstream biofilm nitritation process [J]. Chemical Engineering Journal, 2020,393:124682.

[12] Liu Y, Ngo H H, Guo W, et al. The roles of free ammonia (FA) in biological wastewater treatment processes: A review [J]. Environment International, 2019,123:10-19.

[13] Li X, Yuan Y, Huang Y, et al. Inhibition of nitrite oxidizing bacterial activity based on low nitrite concentration exposure in an auto-recycling PN-Anammox process under mainstream conditions [J]. Bioresource Technology, 2019,281:303-308.

[14] Duan H, Wang Q, Erler D V, et al. Effects of free nitrous acid treatment conditions on the nitrite pathway performance in mainstream wastewater treatment [J]. Science of The Total Environment, 2018,644:360-370.

[15] 国家环境保护总局《水和废水监测分析方法》编委会.水和废水监测分析方法 [M]. 第 4 版.中国环境科学出版社, 2002:38-47.
The State Environmental Protection Administration The Water and Wastewater Monitoring Analysis Method Editorial Board. Water and Wastewater monitoring analysis method [M]. 4th Edition. China Environmental Science Press, 2002:38-47.

[16] 王子凌,信 欣,王 锣,等.CANON 工艺处理猪场沼液的启动及微生物种群结构分析 [J]. 环境科学学报, 2018,38(10):3945-3953.
Wang Z L, Xin X, Wang L, et al. Start-up and microbial communities analysis of CANON process for the treatment of anaerobic digester liquor of swine wastewater (ADLSW) [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2018,38(10):3945-3953.

[17] 中华人民共和国国家环境保护总局.城镇污水处理厂污染物排放标准:GB 18918—2002 [Z]. 北京:北京市环境保护科学研究院, 2002.
State Environmental Protection Administration of the People's Republic of China. Discharge standard of pollutants for municipal wastewater treatment plant:GB 18918—2002 [Z]. Beijing: Beijing Academy of Environmental Protection Sciences, 2002.

[18] 李 冬,王凯璐,祝彦均,等.进水分配比对分段进水 PN/A 工艺脱氮性能影响中国环境科学 [J]. 2024,44(7):3672-3681.
Li D, Wang K L, Zhu Y J, et al. Optimizing nitrogen removal in PN/A process: Step-Feed influence analysis [J]. China Environmental Science, 2024,44(7):3672-3681.

[19] Li D, Chen H, Gao X, et al. Achieving PN through the selective recovery of AOB activity in inactivated nitrifying bacteria: Combined aerobic starvation and FA [J]. Journal of Environmental Management, 2022,321:116004.

[20] Lin L, Zhang Y, Li Y Y. Enhancing start-up strategies for anammox granular sludge systems: A review [J]. Science of The Total Environment, 2023,902:166398.

[21] 徐 萍,占晓建,李凤祥.好氧颗粒污泥中的胞外聚合物及其应用的研究进展 [J]. 工业水处理, 2023,43(12):36-45.
Xu P, Zhan X J, Li F X. Research progress on extracellular polymeric substances in aerobic granular sludge and their applications [J]. Industrial Water Treatment, 2023,43(12):36-45.

[22] 陈重军,曹茜斐,邹馨怡,等.厌氧氨氧化颗粒污泥 EPS 的作用、成分及影响因素研究进展 [J]. 环境工程学报, 2022,16(2):381-389.
Chen Z J, Cao Q F, Zou X Y, et al. Review on function, composition and influencing factors of EPS in anammox granular sludge [J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2022,16(2):381-389.

[23] Costa O Y A, Raaijmakers J M, Kuramae E E. Microbial Extracellular Polymeric Substances: Ecological Function and Impact on Soil Aggregation [J]. 2018,9.

[24] Bahgat N T, Wilfert P, Picken S J, et al. Impact of phosphorus on the

functional properties of extracellular polymeric substances recovered from sludge [J]. Water Research, 2025,274:123019.

[25] Yang S−F, Li X−Y. Influences of extracellular polymeric substances (EPS) on the characteristics of activated sludge under non−steady−state conditions [J]. Process Biochemistry, 2009,44(1):91−96.

[26] Zhang X, Zhao B, An Q, et al. The influence of different nitrate concentrations on aerobic sludge granulation and the role of extracellular polymeric substances [J]. Journal of Environmental Management, 2023,348:119226.

[27] Cazzolla Gatti R, Amoroso N, Monaco A. Estimating and comparing biodiversity with a single universal metric [J]. Ecological Modelling, 2020,424:109020.

[28] 郭　枫,张文俊,张俊霞,等.不同污水处理厂活性污泥微生物多样性差异分析 [J]. 河南城建学院学报, 2023,32(6):110−116.
Guo F, Zhang W J, Zhang J X, et al. Differences in microbial diversity of activated sludge in different wastewater treatment plants [J]. Journal of Henan University of Urban Construction, 2023,32(6):110−116.

[29] Huang X, Dong W, Wang H, et al. Biological nutrient removal and molecular biological characteristics in an anaerobic−multistage anaerobic/oxic (A−MAO) process to treat municipal wastewater [J]. Bioresource Technology, 2017,241:969−978.

[30] 李松亚,王林裴,吴俊峰,等.城市污水处理厂微生物群落特征与群体感应调控 [J]. 环境工程学报, 2022,16(11):3705−3715.
Li S Y, Wang L F, Wu J F, et al. Microbial community characteristics and their quorum sensing regulation in municipal wastewater treatment plants [J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2022,16(11):3705−3715.

[31] Wang R, Yang C, Hu H, et al. The impact of the varying nutrient concentrations on the enhanced biological phosphorus removal performance and functional phosphorus−accumulating and denitrifying genes in an anaerobic–aerobic–anoxic sequencing batch reactor [J]. Environmental Technology & Innovation, 2021,21:101256.

[32] Othman I, Halim M H A, Anuar A N, et al. Identification and role of microbial species developed in aerobic granular sludge bioreactor for livestock wastewater treatment [J]. 2020,479(1):012026 (23pp).

[33] 张　雪,乔雪姣,苏　佳,等.垃圾渗滤液处理厂活性污泥微生物种群结构和功能分析 [J]. 北京大学学报(自然科学版), 2021,57(5):927−937.
Zhang X, Qiao X J, Su J, et al. Microbial structure and function of activated sludge in landfill leachate treatment plant [J]. Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Pekinensis, 2021,57(5):927−937.

[34] Li S, Kang X, Zuo Z, et al. Dynamic pH regulation drives Nitrosomonas for high−rate stable acidic partial nitritation [J]. Water Research, 2024,262:122078.

[35] Zhang C, Zhang M, Chen W, et al. NOB suppression by organic pollutants in mainstream single−stage partial nitrification/anammox (PN/A) process: Experimental evidence and modelling investigation [J]. Chemical Engineering Journal, 2024,498:155459.

[36] Zhu Y, Li D, Ma B, et al. Deciphering key microbes and their interactions within anaerobic ammonia oxidation systems [J]. Bioresource Technology, 2025,416:131799.

[37] Muñoz−Palazon B, Gallardo−Altamirano M J, Gonzalez−Lopez J, et al. Performance and microbiome of an anammox biofilter for treating secondary wastewater: Effect of organic matter, low−strength nitrogen, and temperature [J]. Process Safety and Environmental Protection, 2025,194:1409−1420.

[38] Chen L, Chen H, Hu Z, et al. Carbon uptake bioenergetics of PAOs and GAOs in full−scale enhanced biological phosphorus removal systems [J]. Water Research, 2022,216:118258.

作者简介：李　冬(1976−),女,辽宁丹东人,教授,博士,主要研究方向为水环境恢复理论及关键技术.发表论文 200 余篇.lidong2006@bjut.edu.cn.