

CANON 在 SBAF 中的快速启动及其微生物特征

刘竹寒¹, 岳秀², 于广平², 金腊华^{1*}, 唐嘉丽², 吉世明²

(1. 暨南大学环境学院, 广州 510632; 2. 广州中国科学院沈阳自动化研究所分所, 广州 511458)

摘要: 启动周期长是单级全程自养脱氮工艺(CANON)的主要制约因素之一。本文研究了基于淹没式生物滤池(SBAF)的CANON工艺的快速启动方法。首先,以城镇污水处理厂二沉池中普通活性污泥为种泥,在(30±2)℃、不添加有机碳源,控制DO(阶段I:0.3~0.5 mg·L⁻¹,阶段II~IV:0.1~0.2 mg·L⁻¹)的实验条件下,经过48 d对污泥微生物的驯化,成功启动了CANON工艺,氨氮(NH₄⁺-N)和总氮(TN)最大去除率分别达到99.9%和86.5%。其次,采用16S rDNA宏基因组高通量测序技术研究了体系内微生物种群结构特性。测序结果显示体系内两个优势微生物菌门是Proteobacteria(变形菌门)和Planctomycetes(浮霉菌门),平均分别占比26.6%和17.8%。主要脱氮微生物是β-Proteobacteria中的*Nitrosomonas*和Brocadiae中的*Candidatus brocadia*。通过以上实验分析得出:采用SBAF启动CANON技术,具有可实现体系快速启动、生物高效脱氮、过程稳定运行等特性。

关键词: 淹没式生物滤池; 单级自养脱氮; 氨氮; 16S rDNA宏基因组测序; 生物群落结构

中图分类号: X703.1 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2017)01-0253-07 DOI: 10.13227/j.hjkk.201607085

Fast Start-up of SBAF System Assisted CANON Process and the Microbial Analysis

LIU Zhu-han¹, YUE Xiu², YU Guang-ping², JIN La-hua^{1*}, TANG Jia-li², JI Shi-ming²

(1. School of Environment, Jinan University, Guangzhou 510632, China; 2. Shenyang Institute of Automation in Guangzhou, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 511458, China)

Abstract: Long period start-up is one of the main restraining factors of the single-stage completely autotrophic nitrogen removal over nitrite (CANON) process. This study investigated the fast start-up of the CANON process initiated by a submerged biological aerated filter (SBAF) method. With conventional activated sludge from the secondary sedimentation tank of municipal waste water treatment plants as the seed sludge, the CANON process was successfully started up after the acclimation of sludge microorganisms for 48 days under the experimental conditions of (30±2)℃, organic carbon free and controlled dissolved oxygen (stage I: 0.3–0.5 mg·L⁻¹; stage II–IV: 0.1–0.2 mg·L⁻¹), with the maximum removal rates of ammonia nitrogen and total nitrogen achieved at 99.9% and 86.5%, respectively. The population structure characteristics of microorganisms in the system were studied using high-throughput sequencing of 16S rDNA amplicon. The results demonstrated that the two dominant microbial strains in the system were Proteobacteria and Planctomycetes, accounting for 26.6% and 17.8%, respectively. The major contributors of nitrogen removal were *Nitrosomonas* in β-Proteobacteria and *Candidatus brocadia* in Brocadiae. Through the above experiments, it was revealed that the investigated SBAF based CANON possesses had the advantages of fast start-up, efficient biological nitrogen removal and stable operation process.

Key words: SBAF; CANON; ammonia nitrogen; 16S rDNA sequencing; microbial population structure

20世纪90年代末发展起来的单级自养脱氮工艺(completely autotrophic nitrogen removal over nitrite, CANON)因其具有节约62.5%耗氧量、节省100%有机碳源和50%耗碱量、工艺流程短且污泥产生量少等优势被公认为是一项新型简单的脱氮工艺^[1,2],受到研究者的青睐。该工艺是在一体化反应器体系内同时实现半量亚硝化与厌氧氨氧化反应,具体为部分氨氮在氨氧化菌(ammonia oxidizing bacteria, AOB)的作用下被氧化成亚硝酸盐氮;生成的亚硝酸盐氮和剩余氨氮在厌氧氨氧化菌(anaerobic ammonium oxidation bacteria, AnAOB)的作用下反应生成氮气,并产生很少量的硝酸盐氮,从而实现氨氮从废水中的去除。但是由于自养菌AOB

和AnAOB世代周期长,增殖缓慢,产率低^[3,4],且两者对生长环境需求的差异增加了工艺的启动难度,近年来学者们将研究集中于探寻快速启动CANON工艺的方法,其关键问题在于优势菌种的富集与活性^[5,6]。本研究尝试了不同于以往的技术模式,采用生物膜法培养工艺优势菌,这种方法比较适用于AOB和AnAOB这类生长缓慢,世代周期长的微生物,规避了活性污泥法存在的污泥流失严重,工艺负荷低,工艺启动时间长等技术问题。

收稿日期: 2016-07-13; 修订日期: 2016-08-21

基金项目: 广州市科技计划项目(201510010199)

作者简介: 刘竹寒(1992~),女,硕士研究生,主要研究方向为水污染控制理论与技术, E-mail: liuzhuhuan@gz.sia.cn

* 通信作者, E-mail: profjin@163.com

认识 CANON 系统中微生物种群基本构成以及确定系统内的优势微生物对于指导工艺的快速启动具有重要意义^[7]。变性梯度凝胶电泳法 (denaturing gradient gel electrophoresis, DGGE) 曾经广泛应用于检测微生物群落结构的多态性^[8], 但是需要标准菌株, 且受到凝胶电泳特性的局限, 无法检测到稀有菌群的种类。宏基因组是一种不依赖与分离、纯培养等传统生物学方法的分子生物学新技术, 基于 Illumina 平台的 16S rDNA 测序可以一次性完成多个样本的平行测序, 提供环境样本物种分类、物种丰度、种群结构、系统进化及群落比较等诸多信息, 因此对于环境中微生物多样性、种群丰度的反映比较真实客观^[9]。与传统检测技术如荧光原位杂交 (fluorescence in situ hybridization, FISH)、聚合酶链式反应 (polymerase chain reaction, PCR)、DGGE 等相比, 这种高通量测序的结果准确率更高, 且操作更为简单^[10], 已成功应用于土壤、污泥、海洋水等样本, 但利用于分析 CANON 系统内的微生物种群结构的研究还较为少见。

本研究通过接种污水厂普通活性污泥, 采用淹没式生物滤池反应器 (submerged biological aerated filter, SBAF) 在严格控制溶解氧、温度和不添加有机碳源条件下, 经 48 d 的运行周期, 成功实现了 CANON 系统的快速启动。并采用 16S rDNA 宏基因组高通量测序技术, 分析了系统中微生物群落结构, 明确了本工艺中的脱氮优势微生物。

1 材料与方法

1.1 实验装置

本实验装置示意图如图 1, 圆柱形反应器主体采用有机玻璃制作, 其内径为 11 cm, 高度 38 cm, 总容积 3.6 L, 有效容积 3 L。反应器内部悬挂组合填料供微生物附着生长, 外部包裹 2.5 cm 厚的水浴夹层用于保温, 示意图左侧水浴槽内放置温控仪和加热棒, 通过潜水泵辅助完成水浴层的水循环, 以保证反应器温度控制在 $(30 \pm 2)^\circ\text{C}$ 范围内。底部设曝气口和排泥口各一个。其中曝气口设在正中央有利于 O_2 均匀扩散, 利用空气压缩泵提供溶解氧 (dissolved oxygen, DO) 通过玻璃转子流量计控制供气速率。在距反应器底部 2 cm 的地方设置进水口, 废水由蠕动泵送入, 再从距顶部 2.5 cm 的出水口自然溢流。反应器在启动期间, 蠕动泵转速为 $63 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 连续进水, 流量为 $125 \text{ mL}\cdot\text{h}^{-1}$, 水力停留时间 (hydraulic retention time, HRT) 为 24 h。

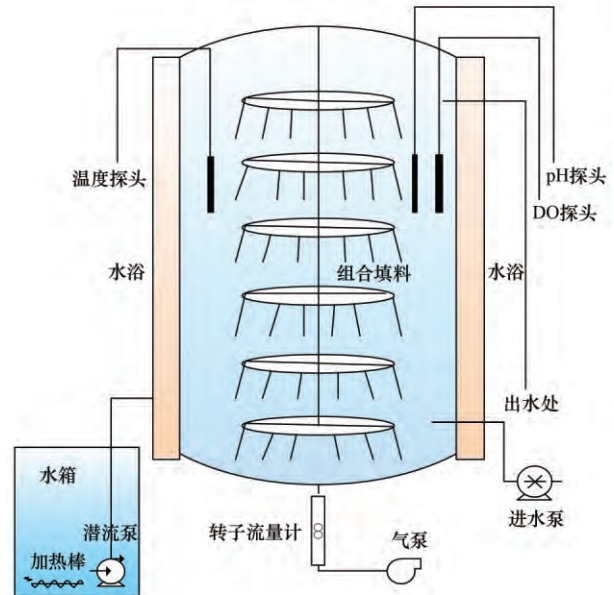


图 1 反应器装置示意

Fig. 1 Schematic diagram of the SBAF used in this study

1.2 接种污泥

实验接种污泥取自广州市某污水处理厂二沉池的普通活性污泥。接种前, 将污泥静置倒掉上清液后, 剩下的浓缩污泥空曝 3 d 消耗污泥中的有机物, 接种污泥的 MLSS 为 $14.267 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, MLVSS 为 $8.361 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, 接种量为 2 L。

1.3 实验用水与实验方法

实验用水采用人工配水, 主要成分为 NH_4Cl $0.380 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, KH_2PO_4 $0.025 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, MgSO_4 $0.010 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, CaCl_2 $0.020 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, NaHCO_3 $1.000 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, 并添加微量元素溶液 $0.35 \text{ mL}\cdot\text{L}^{-1}$ 。其中微量元素溶液成分为 $\text{FeCl}_3\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ $3.515 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, $\text{MnCl}_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ $0.359 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, $\text{CuSO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ $0.075 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, $\text{ZnSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ $0.300 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, $\text{CoCl}_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ $0.375 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。实验进水水质见表 1。

表 1 实验进水水质

Table 1 Key water quality of the influent

水质指标	单位	数值
NH_4^+-N	$\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	82.5 ~ 113.5
$\text{NO}_3^- -\text{N}$	$\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	2.0 ~ 2.3
$\text{NO}_2^- -\text{N}$	$\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	0.00
pH	—	8.04 ~ 8.28
COD	$\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	0 ~ 7

中温条件下 $(30 \pm 2)^\circ\text{C}$ 在 SBAF 反应器中灌满污泥并持续曝 N_2 72 h 后, 将污泥从底部排除, 完成填料的初始挂膜。然后利用蠕动泵持续进水同时开始微曝气, 连续运行反应器。在反应体系启动过程

中不排泥,系统启动成功后,在系统内上层和下层填料各均匀采集一个微生物样品,送至检测机构(锐博生物科技有限公司,广州)进行 16S rDNA 宏基因组测序。

1.4 分析项目及检测方法

实验中氮素测定均采用国家标准方法,其中 $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 测定采用纳氏试剂比色法, $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 采用 *N*-(1-萘基)-乙二胺光度法, $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 采用紫外分光光度法^[11], $\text{TN} = (\text{NH}_4^+ \text{-N}) + (\text{NO}_2^- \text{-N}) + (\text{NO}_3^- \text{-N})$; COD 测定采用重铬酸钾法;pH 值,DO 及温度采用便携式 pH 计(PJBJ-260,上海雷磁)和便携式溶解氧分析仪(JPB-607A,上海雷磁)测定。

1.5 基于 Illumina 平台的 16S rDNA 宏基因组测序

(1) 样品抽提与质检 采用离心吸附柱法进行样品 DNA 抽提,并用 Agarose Gel Electrophoresis 和 ND-1000Nanodrop 进行样品质检。

(2) 文库构建与质检 通过质检的样品,用 TruSeq® Custom Amplicon Sample Prep Kit 进行文库构建,主要包括内侧特异性引物 PCR 扩增、外侧接头特异性引物 PCR 扩增及纯化,并用 Agilent2200TapeStation 和 Qubit2.0 进行文库质检。

(3) 样本制备 ①通过质检的文库,按照 pooling 比例进行混合,pooling 后的浓度为 $2.1 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$; ②将 pooling 样品与 $2.1 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Phix Control 按照 19:1 比例进行混合; ③将 $2.0 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaOH 稀释为 $0.2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaOH; ④将②和③处理结果按照 1:1 比例进行混合,室温孵育 5 min; ⑤用 HT1 将④中混合物稀释 100 倍,取 $420 \mu\text{L}$ 作为测序样本。

(4) 上机测序 使用 Pair End Flow Cell,进行 MiSeq 2500 上机操作,并运行 Pair End(2×100) 标准测序程序。

(5) 数据分析 测序程序运行完毕,对所得数据进行生物信息学分析。首先对原始数据进行过滤,去除低质量数据,得到干净数据(clean data)后进行后续分析;其次将 Paired-end reads 拼接为 Tags,并且去冗余,获取 Unique Tags;然后对 Unique Tags 进行聚类,生成 OTU (operational taxonomic units);最后利用生成的 OTU 进行物种注释、分类统计及 Alpha 多样性分析。

2 结果与讨论

如图 2 所示,基于 SBAF 单级自养脱氮工艺的启动运行经历了 4 个阶段,包括亚硝化启动期(阶

段 I: 1~16 d)、亚硝化稳定期(阶段 II: 17~33 d)、CANON 启动期(阶段 III: 34~48 d)及 CANON 稳定期(阶段 IV: 49~76 d),在反应器运行第 48 d,总氮去除率(total nitrogen removal rate, TNR) 达到 74.3% (见图 3),之后逐渐上升,最大去除率达到 86.5%,CANON 成功启动。

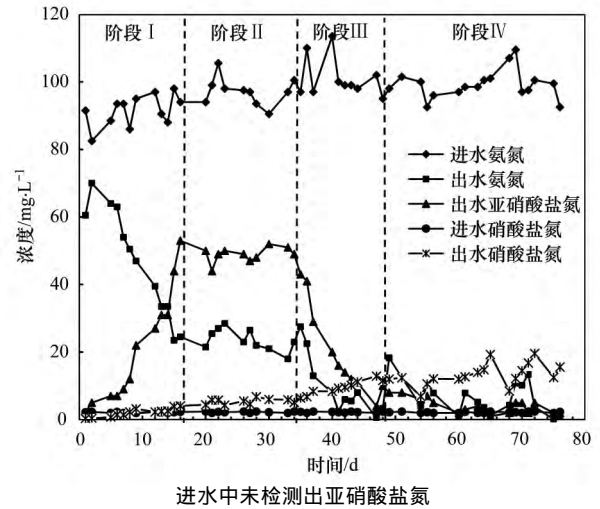


图 2 CANON 反应器内氮素变化

Fig. 2 Variations of nitrogen concentration in CANON reactor

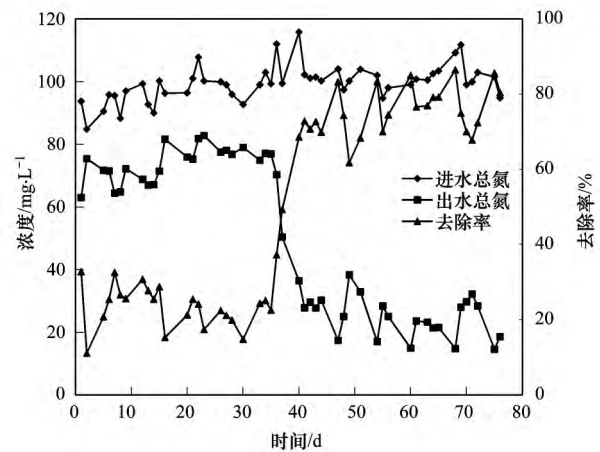


图 3 CANON 反应器内总氮变化

Fig. 3 Variations of TN in CANON reactor

2.1 亚硝化启动及稳定期

在 CANON 系统中,氮的去除是以 $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 为电子受体, $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 为电子供体,在 AnAOB 的作用下得以实现,可见 $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 是重要的反应基质^[12],因此亚硝化阶段的启动与稳定是成功启动 CANON 的前提。该阶段主要目标是富集 AOB,抑制亚硝酸盐氧化菌(nitrite oxidizing bacteria, NOB)活性与生长,从而实现 $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 的积累。以往研究表明,AOB 和 NOB 对于生长环境敏感性存在差异,最显著的两个环境因子是 DO 和温度,AOB 和 NOB 氧饱和常数

分别为 $0.6 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $2.2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ^[13], Hellinga 等^[14] 和张杰等^[15] 发现当温度大于 25°C 时, AOB 与 NOB 可出现生长速率差. 本研究始终将反应温度控制在 $(30 \pm 2)^\circ\text{C}$. 在阶段 I 将 DO 控制在 $0.3 \sim 0.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. 由图 4 可知, 运行第 1 d, 出水 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 为 $2.2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 但 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 转化率却有 34%, 结合图 2 可知出水 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 为 $0.3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 总氮去除率为 32.7%, 说明系统中存在反硝化菌, 部分氮素通过反硝化途径被去除^[16], 该菌利用的有机物可能是种泥中原残留的和部分微生物由于不适应新环境而死亡造成细胞溶解产生的. 但从第 2 d 开始, $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 开始逐渐累积, $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 转化率也逐步提高, 前 8 d 累积速率较平缓, 从第 9 d 开始快速上升, 到第 16 d, 出水 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 浓度最高, 达到 $53 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 认为亚硝化阶段启动完成. 进入阶段 II, 调整曝气量将 DO 降低到 $0.1 \sim 0.2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 由于 AOB 是好氧菌, 因此可能对其活性有一定降低, $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 不再上升, 从第 17 ~ 33 d, 出水 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 很稳定, 积累浓度保持在 $44 \sim 52 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$.

2.2 CANON 启动及稳定期

由图 5 可知, 反应器运行从第 34 ~ 48 d, 出水中 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 和 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 浓度开始显著同步下降, $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 浓度从 $49 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 降至 $8 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 浓度从 $27.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 降至 $0.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 去除率 (ammonia nitrogen removal rate, ARR) 和总氮去除率快速上升, ARR 平均值为 88.5%, 最大值达到 99.5%, TNR 从 25.1% 上升到 83.27%, 脱氮效果明显. 与此同时, 出水中 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 有少量积累, 从 $5.1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 上升到 $12.9 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 说明厌氧氨氧化反应发生在 AnAOB 作用下, $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 和 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 被转化为 N_2 和 $\text{NO}_3^- - \text{N}$, 才导致 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 和 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 浓度同

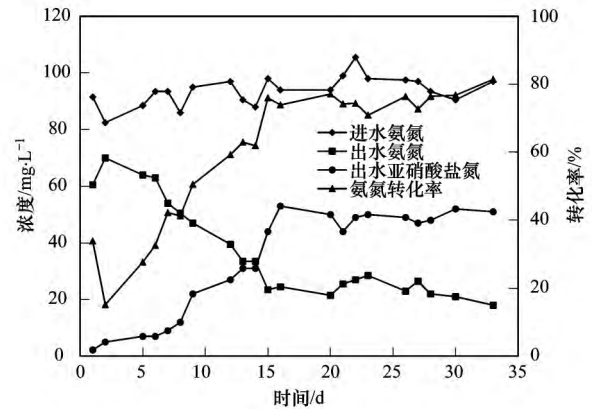


图 4 亚硝酸盐累积效果(阶段 I ~ II)

Fig. 4 Effect of nitrite accumulation (stage I-II)

时下降且产生少量 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ ^[17]. 另外, 反应系统中长期没有有机物, 异养菌反硝化菌缺少有机碳源不能成为优势菌, 排除了其是去除 TN 主要菌种的可能性. 基于 16S rDNA 宏基因组测序技术的微生物分析结果也证实了这一推测, 系统内的反硝化菌主要为 γ -Proteobacteria 纲中的 *Pseudomonas* 属, 只占 0.006%. 根据系统中氮素转化和损失情况及微生物分析鉴定结果认为在此阶段 CANON 启动成功, 总耗时 48 d, 说明 SBAF 反应器能快速有效地启动 CANON 工艺. 在本研究中, CANON 工艺的脱氮效果是从第 34 d 变显著, 短短 12 d 内快速提高, 而不是从一开始逐渐增加, 是因为 AnAOB 只有富集到很高的细胞浓度 ($\geq 10^{10} \sim 10^{11}$ 个 $\cdot\text{mL}^{-1}$) 才具有活性^[18, 19]. 另外, 从外观变化来看, 第 40 d 反应器内填料出现上浮现象, 纤维上附着许多细密型小气泡, 其它研究者实验中也出现类似现象^[20], 这是由于系统内生成的 N_2 附在填料上产生浮力使其上浮, 可作为辅助判断 CANON 是否启动的一个表征现象.

反应器启动成功后进入稳定运行期(49 d 后),

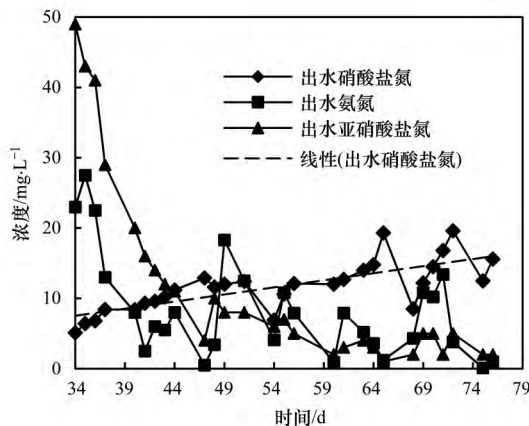
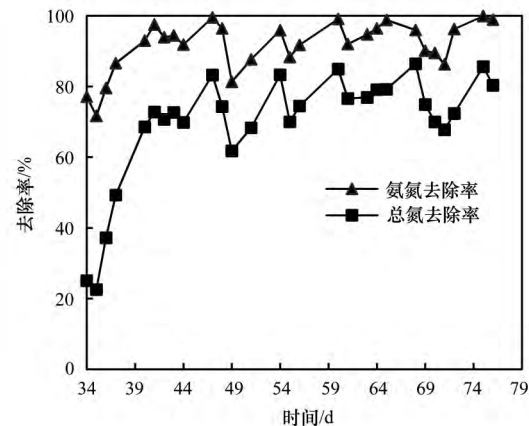


图 5 出水氮素变化(阶段 III ~ IV)

Fig. 5 Variations of nitrogen concentration in effluent (stage III-IV)



在此阶段, ARR 平均值为 93.3%, 最大值为 99.9%, TNR 平均值为 76.1%, 最大值为 86.5%, 启动初期反应器脱氮效果有些波动, 最低降到过 68%, 但从整体趋势来看, 运行时间越久越趋于稳定. 在 CANON 工艺启动过程中, 研究者们^[11 21] 通常使用 $\Delta \text{NO}_3^- \text{-N} / \Delta \text{TN}$ 来辅助判定 CANON 系统的性能, 理论上比值为 0.127, 事实上由于 CANON 系统中依然有可能存在少数 NOB 和反硝化菌, 导致实际值通常会有所偏移. 当 $(\Delta \text{NO}_3^- \text{-N} / \Delta \text{TN}) > 0.127$, 说明系统中存在 NOB, $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 被氧化为 $\text{NO}_3^- \text{-N}$, 使得 $\Delta \text{NO}_3^- \text{-N}$ 增大, ΔTN 也因为 $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 作为厌氧氨氧化基质减少而变小, 比值就会增大; 当 $\Delta \text{NO}_3^- \text{-N} / \Delta \text{TN} < 0.127$, 可能是系统中发生反硝化使 ΔTN 增大. 从图 6 可知, 本研究开始 $\Delta \text{NO}_3^- \text{-N} / \Delta \text{TN}$ 为负值, 原因是启动初期, 系统中存在反硝化菌, 出水 $\text{NO}_3^- \text{-N} < \text{进水 } \text{NO}_3^- \text{-N}$ 使得 $\Delta \text{NO}_3^- \text{-N}$ 为负, 之后反硝化菌逐渐被淘汰, $\Delta \text{NO}_3^- \text{-N} / \Delta \text{TN}$ 也逐渐增大, 直至 CANON 启动后, 可观察到 $\Delta \text{NO}_3^- \text{-N} / \Delta \text{TN}$ 整体趋近于 0.127.

2.3 宏基因组 16S rDNA 测序分析

2.3.1 微生物聚类及多样性分析

本研究在 CANON 启动成功后, 从反应器上下层填料上各取一个微生物样品进行基于 Illumina

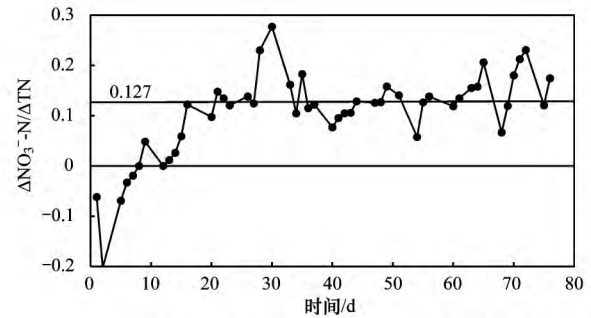


图 6 CANON 反应器中 $\Delta \text{NO}_3^- \text{-N} / \Delta \text{TN}$ 的变化

Fig. 6 Variations of $\Delta \text{NO}_3^- \text{-N} / \Delta \text{TN}$ in CANON reactor

MiSeq 平台的 16S rDNA 测序, 系统中各微生物样品 OTU 数目、有效序列条数统计及微生物 Alpha 多样性相关的各项指标见表 2. Alpha 多样性有多种衡量指标, 如 chao1、Shannon、Simpson 等, 通常是用基于这些指标的稀释曲线来评价测序量是否足以覆盖所有类群, 并间接反映样品中物种的丰富程度. 当曲线趋于平缓或者达到平台期时则认为测序深度已基本覆盖样品中的所有物种; 反之, 则表示还存在较多未被检测到的物种. 联合表 2 和图 7 可知, 本研究中样品曲线基本趋于平缓, 测序结果占整个基因组的 99%, 覆盖度高, 证明样品测序量基本能够反映出样品的物种丰度, 且两个样品的稀释曲线几乎一致说明两者的差异性很小.

表 2 微生物样品的 Alpha 多样性¹⁾

Table 2 Alpha diversity of different microbial samples

微生物样本	chao1 指数	Shannon 指数	Simpson 指数	OTU 数目	Tags 数目	样本覆盖度 / %
1 号	5 021.02	8.09	0.97	4 301	124 162	99.06
2 号	5 105.00	8.30	0.97	4 499	114 928	99.03

1) 1 号为上层样品, 2 号为下层样品. chao1 指数是衡量样品物种丰度的标准; Shannon 和 Simpson 指数是综合了 OTU 丰度和 OTU 均匀度两方面因素多样性指数, Shannon 值越大, Simpson 值越小, 说明群落多样性越高; 样本覆盖度是测序结果占整个基因组的比例

2.3.2 微生物群落结构特征

16S rDNA 序列在门分类层面上比对结果显示两个微生物样品的种群多样性完全一致, 只是数量存在差异. 除 5% 的未知菌种外, 两个微生物样品共检出 40 个菌门, 占比大于总数 1% 的有 11 个, 见图 8, 大于 10% 的只有两个, 分别为 AOB 和 AnAOB 所在的 Proteobacteria(变形菌门) 和 Planctomycetes(浮霉菌门), 平均占比 26.6% 和 17.8%, 说明这两个菌门是 CANON 系统中的优势微生物. 其余的还包括 Chloroflexi(绿弯菌门, 9.3%) 和 Chlorobi(绿菌门, 7.7%) 这两类环境中常见的不产氧光合细菌, 以及 Gemmatimonadetes(芽单胞菌门, 6.5%)、Bacteroidetes(拟杆菌门, 4.7%)、Acidobacteria(酸

杆菌门, 4.2%)、Actinobacteria(放线菌门, 2.3%) 等.

针对 CANON 系统中的脱氮微生物 AOB 和 AnAOB 进行在属分类层面的比对, 结果表明, 在本系统中起亚硝化作用的 AOB 主要是 Proteobacteria 门 β -Proteobacteria 纲 Nitrosomonadales 目 Nitrosomonadaceae 科的 *Nitrosomonas*, 还有少量的属于 *Nitrospirae*; 而进行厌氧氨氧化反应 AnAOB 主要是 Planctomycetes 门 Brocadia 纲 Brocadiales 目 Brocadiaceae 科的 *Candidatus brocadia*, 平均占 15.5%, 另外还有极少量的 *Candidatus jettenia*. 本工艺中的优势 AnAOB 是 *Candidatus brocadia* 这一结论与 Liang 等^[22] 和刘涛等^[23] 的研究结果一致, 且许

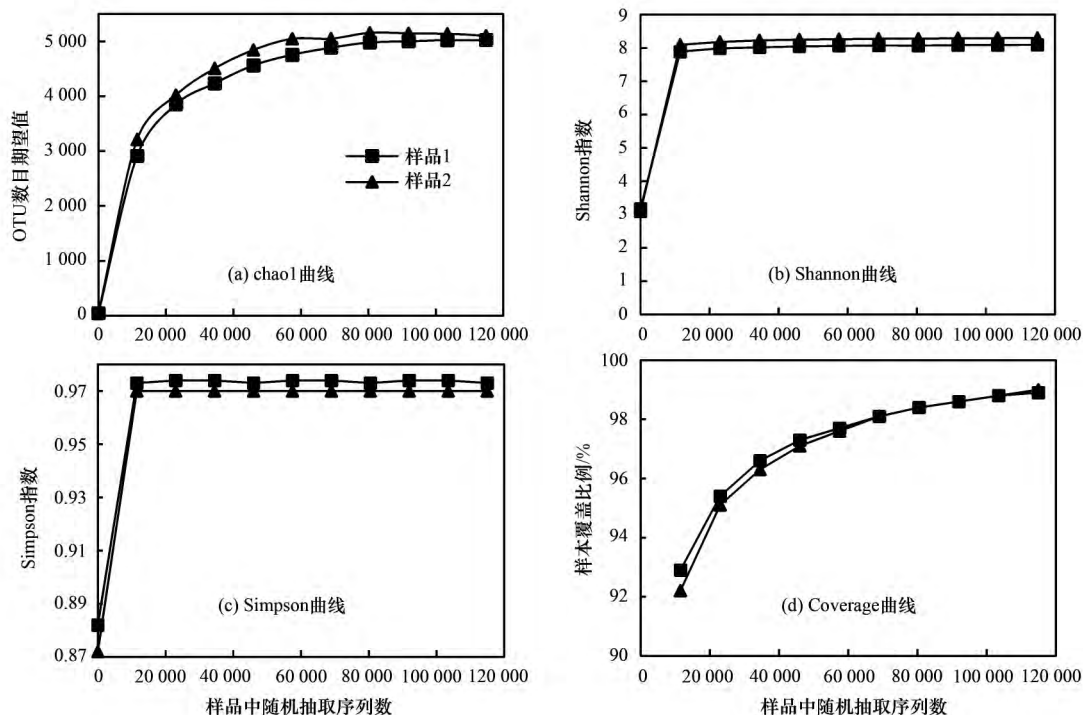


图7 Alpha多样性指标的稀释曲线

Fig. 7 Rarefaction curves of Alpha diversity index

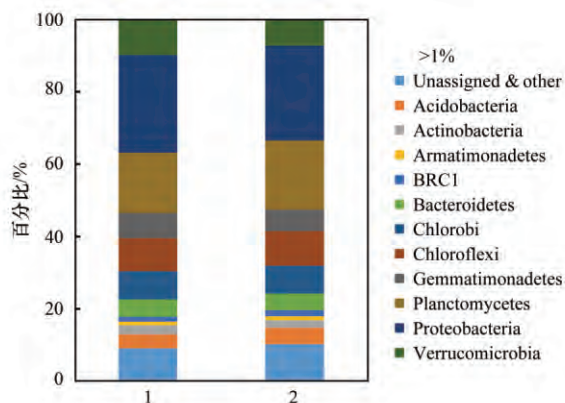


图8 门水平的群落组成相对百分比(>1%)

Fig. 8 Taxonomic classification of the bacterial communities in the CANON system at a phylum level

多研究者^[24-25]都认为通常在一个特定环境下驯化成功的CANON系统中,只有一种AnAOB会成为优势菌种。在本研究中还发现,下层样品中的厌氧菌AnAOB数量比上层多2.3%,而上层样品中的好氧菌AOB数量比下层多1.8%,差异较小,表明体系中提供的微氧曝气较为均匀,随着体系纵向深度的增加,体系外部空气对体系溶解氧的影响变小。

3 结论

(1) 采用淹没式生物滤池SBAF能快速启动CANON工艺。在中温条件下(30 ± 2) °C,将DO控

制在 $0.3 \sim 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,运行16 d,成功启动亚硝化,出水 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 达到 $53 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。之后降低DO至 $0.1 \sim 0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,亚硝化阶段稳定一段时间后向CANON工艺转变,耗时48 d,成功启动CANON工艺,ARR和TNR稳定在93.3%和76.1%,最大达到99.9%和86.5%。

(2) 在本工艺中,优势菌种为 β -Proteobacteria中的*Nitrosomonas*和Brocadia中的*Candidatus brocadia*,两者协同作用共同实现CANON中的氮素去除。

参考文献:

- [1] Sliemers A O, Third K A, Abma W, *et al.* CANON and Anammox in a gas-lift reactor[J]. FEMS Microbiology Letters, 2003, **218**(2): 339-344.
- [2] Kartal B, De Almeida N M, Maalcke W J, *et al.* How to make a living from anaerobic ammonium oxidation [J]. FEMS Microbiology Reviews, 2013, **37**(3): 428-461.
- [3] Van Der Star W R L, Abma W R, Blommers D, *et al.* Startup of reactors for anoxic ammonium oxidation: experiences from the first full-scale anammox reactor in Rotterdam [J]. Water Research, 2007, **41**(18): 4149-4163.
- [4] Ali M, Okabe S. Anammox-based technologies for nitrogen removal: advances in process start-up and remaining issues [J]. Chemosphere, 2015, **141**: 144-153.
- [5] 赵志瑞,侯彦林. 半短程亚硝化与厌氧氨氧化联合脱氮工艺微生物特征研究进展[J]. 环境科学, 2014, **35**(7): 2834-2842.

- Zhao Z R, Hou Y L. Research progress in microbiological characteristics in combined N_2 removal process by partial nitrification and anaerobic ammonium oxidation [J]. *Environmental Science*, 2014, **35**(7): 2834-2842.
- [6] 张小玲, 邓杨帆, 冯继贵, 等. 基于 SBBR 的单级自养脱氮快速启动[J]. *环境工程学报*, 2015, **9**(7): 3252-3258.
Zhang X L, Deng Y F, Feng J G, *et al.* Fast start-up of completely autotrophic nitrogen removal over nitrite in SBBR[J]. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 2015, **9**(7): 3252-3258.
- [7] 高景峰, 李婷, 张树军, 等. 两个 CANON 污水处理系统中氨氧化古菌的丰度和多样性研究[J]. *环境科学*, 2015, **36**(8): 2939-2946.
Gao J F, Li T, Zhang S J, *et al.* Abundance and community composition of ammonia-oxidizing archaea in two completely autotrophic nitrogen removal over nitrite systems [J]. *Environmental Science*, 2015, **36**(8): 2939-2946.
- [8] Moura A, Tacão M, Henriques I, *et al.* Characterization of bacterial diversity in two aerated lagoons of a wastewater treatment plant using PCR-DGGE analysis[J]. *Microbiological Research*, 2009, **164**(5): 560-569.
- [9] Tringe S G, Rubin E M. Metagenomics: DNA sequencing of environmental samples [J]. *Nature Reviews Genetics*, 2005, **6**(11): 805-814.
- [10] 王绍祥, 杨洲祥, 孙真, 等. 高通量测序技术在水环境微生物群落多样性中的应用[J]. *化学通报*, 2014, **77**(3): 196-203.
Wang S X, Yang Z X, Sun Z, *et al.* Application of high throughput sequencing in the diversity of water microbial communities [J]. *Chemistry*, 2014, **77**(3): 196-203.
- [11] 国家环境保护总局. 水和废水监测分析方法 [M]. (第四版). 北京: 中国环境科学出版社, 2002.
- [12] Wang Z Z, Liang H, Qu F S, *et al.* Start up of a gravity flow CANON-like MBR treating surface water under low temperature [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2013, **217**: 466-474.
- [13] Joss A, Derlon N, Cyprien C, *et al.* Combined nitrification-anammox: advances in understanding process stability [J]. *Environmental Science & Technology*, 2011, **45**(22): 9735-9742.
- [14] Hellinga C, Schellen A A J C, Mulder J W, *et al.* The sharon process: an innovative method for nitrogen removal from ammonium-rich waste water [J]. *Water Science and Technology*, 1998, **37**(9): 135-142.
- [15] 张杰, 付昆明, 曹相生, 等. 序批式生物膜 CANON 工艺的运行与温度的影响 [J]. *中国环境科学*, 2009, **29**(8): 850-855.
Zhang J, Fu K M, Cao X S, *et al.* Performance of CANON process in a sequencing batch biofilm reactor and influence of temperature [J]. *China Environmental Science*, 2009, **29**(8): 850-855.
- [16] Vázquez-Padín J, Mosquera-Corra A, Campos J L, *et al.* Microbial community distribution and activity dynamics of granular biomass in a CANON reactor [J]. *Water Research*, 2010, **44**(15): 4359-4370.
- [17] Van Hulle S W H, Vandeweyer H J P, Meesschaert B D, *et al.* Engineering aspects and practical application of autotrophic nitrogen removal from nitrogen rich streams [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2010, **162**(1): 1-20.
- [18] Van De Graaf A A, De Bruijn P, Robertson L A, *et al.* Metabolic pathway of anaerobic ammonium oxidation on the basis of ^{15}N studies in a fluidized bed reactor [J]. *Microbiology*, 1997, **143**: 2415-2421.
- [19] 李冬, 何永平, 张肖静, 等. MBR 系统 CANON 工艺的快速启动及微生物种群特征 [J]. *中国环境科学*, 2014, **34**(11): 2788-2795.
Li D, He Y P, Zhang X J, *et al.* The fast start-up of CANON process in MBR system and the characterization of microbes [J]. *China Environmental Science*, 2014, **34**(11): 2788-2795.
- [20] 付昆明. 全程自养脱氮 (CANON) 反应器的启动及其脱氮性能 [D]. 北京: 北京工业大学, 2010. 28-32.
Fu K M. Start-up and performance of nitrogen removal of CANON reactor [D]. Beijing: Beijing University of Technology, 2010. 28-32.
- [21] 付昆明, 左早荣, 仇付国. 陶粒 CANON 反应器的接种启动与运行 [J]. *环境科学*, 2014, **35**(3): 995-1001.
Fu K M, Zuo Z R, Qiu F G. Start-up by inoculation and operation of a CANON reactor with haydite as the carrier [J]. *Environmental Science*, 2014, **35**(3): 995-1001.
- [22] Liang Y H, Li D, Zhang X J, *et al.* Nitrogen removal and microbial characteristics in CANON biofilters fed with different ammonia levels [J]. *Bioresource Technology*, 2014, **171**: 168-174.
- [23] 刘涛, 李冬, 曾辉平, 等. 氨氮浓度对 CANON 工艺功能微生物丰度和群落结构的影响 [J]. *环境科学*, 2013, **34**(2): 773-780.
Liu T, Li D, Zeng H P, *et al.* Assessment of the effect of influent NH_4^+ -N concentration on the abundance and community structure of functional bacteria in CANON process [J]. *Environmental Science*, 2013, **34**(2): 773-780.
- [24] 闫媛, 黎力, 王亚宜, 等. 采用高通量测序分析全程自养脱氮 (CANON) 系统不同脱氮效能下的微生物群落结构 [J]. *北京工业大学学报*, 2015, **41**(10): 1485-1492.
Yan Y, Li L, Wang Y Y, *et al.* Microbial community characteristics of a completely autotrophic nitrogen removal over nitrite (CANON) System based on high-throughput sequencing technology [J]. *Journal of Beijing University of Technology*, 2015, **41**(10): 1485-1492.
- [25] Gonzalez-Martinez A, Rodriguez-Sanchez A, Garcia-Ruiz M J, *et al.* Performance and bacterial community dynamics of a CANON bioreactor acclimated from high to low operational temperatures [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2016, **287**: 557-567.