

C/P 对 EBPR 系统 PAOs 与 GAOs 竞争及 PHAs 代谢过程影响研究

蒋涛, 方婧, 孙培德*, 钟晓, 徐少娟, 方治国

(浙江工商大学环境科学与工程学院, 杭州 310012)

摘要:以富含聚磷菌(PAOs)活性污泥为基础,基于 FISH 技术研究了 SBR 工艺不同 C/P(25:1、20:1、15:1 和 10:1)对 EBPR 系统中功能菌变化特征与微生物胞内聚合物(PHAs)代谢过程的影响。结果表明,经过 10 d 运行处理,C/P 分别为 25:1、20:1 和 15:1 系统磷酸盐去除率 > 88%,而 C/P 为 10:1 系统磷酸盐的去除率为 0%。FISH 检测结果显示,随着 C/P 从 25:1 下降到 10:1,EBPR 系统中 PAOs 的含量相应从 $(76.42 \pm 1.24)\%$ 减少到 $(10.40 \pm 0.97)\%$,而聚糖菌(GAOs)则从 $(16.36 \pm 3.41)\%$ 增加到 $(34.25 \pm 2.59)\%$ 。在厌氧段,不同 C/P 条件下 EBPR 系统中 PHB 和 PHV 的合成动力学系数大小分别为 $K_{25:1} > K_{20:1} > K_{15:1} > K_{10:1}$ 和 $K_{15:1} > K_{20:1} > K_{25:1} > K_{10:1}$ 。随着 C/P 从 25:1 下降到 10:1,合成 PHB 在 PHAs 中所占的比例从 85% 下降到 24%,而 PHV 则从 15% 上升到 76%;在好氧段,不同 C/P 系统消耗 PHB 和 PHV 的动力学系数大小均为 $K_{20:1} > K_{25:1} > K_{15:1} > K_{10:1}$,且 C/P 为 25:1、20:1 和 15:1 时系统消耗主要成分是 PHB(占 PHAs 71% ~ 75%),而 C/P 为 10:1 时系统消耗主要成分是 PHV(占 PHAs 71%)。由此表明,随着 C/P 的降低,EBPR 系统内 GAOs 增加而 PAOs 减少,从而导致系统内 PHB 合成与消耗比例逐渐减少,而 PHV 合成与消耗比例逐渐增加。

关键词:生物强化除磷(EBPR);聚磷菌(PAOs);聚糖菌(GAOs);聚羟基烷酸(PHAs);荧光原位杂交技术(FISH)

中图分类号:X703 文献标识码:A 文章编号:0250-3301(2010)12-2938-07

Effects of C/P on the Competition Between PAOs and GAOs and PHAs Metabolism in EBPR System

JIANG Tao, FANG Jing, SUN Pei-de, ZHONG Xiao, XU Shao-juan, FANG Zhi-guo

(School of Environmental Science and Engineering, Zhejiang Gongshang University, Hangzhou 310012, China)

Abstract: Based on accumulating enrich phosphorus accumulating organisms (PAOs) in activated sludge and by fluorescence *in situ* hybridization (FISH) technique, the effects of C/P (25:1, 20:1, 15:1 and 10:1) on flora changes and polyhydroxyalkanoates (PHAs) metabolism in enhanced biological phosphorus removal (EBPR) system were systematically studied. The results show that after 10 days treatment (acetate as carbon source), the systems with C/P of 25:1, 20:1 and 15:1 have good phosphate removal rate (> 88%); while for C/P of 10:1 system, the phosphate removal rate was 0%. FISH results showed that the content of PAOs decreased from $(76.42 \pm 1.24)\%$ to $(10.40 \pm 0.97)\%$ with C/P decreasing from 25:1 to 10:1, while glycogen accumulating organisms (GAOs) increased from $(16.36 \pm 3.41)\%$ to $(34.25 \pm 2.59)\%$. In various C/P systems in the anaerobic, the production kinetic coefficients of PHB and PHV were $K_{25:1} > K_{20:1} > K_{15:1} > K_{10:1}$ and $K_{15:1} > K_{20:1} > K_{25:1} > K_{10:1}$, respectively. The PHB production in the proportion of PHAs decreased from 85% to 24%, while PHV increased from 15% to 76% with C/P decreasing from 25:1 to 10:1. For various C/P systems in the aerobic phase, their consumption kinetic coefficients of both PHB and PHV were $K_{20:1} > K_{25:1} > K_{15:1} > K_{10:1}$. PHB (the proportion of PHAs is 71% - 75%) was the main consumption component in C/P of the 25:1, 20:1 and 15:1 systems; while PHV (the proportion of PHAs is 71%) was the main consumption component in C/P of 10:1 system. It is suggested that an increases of GAOs and decreases of PAOs in the EBPR system lead to the decreasing of PHB production and consumption, and to the increasing of PHV.

Key words: enhanced biological phosphorus removal (EBPR); phosphorus accumulating organisms (PAOs); glycogen accumulating organisms (GAOs); polyhydroxyalkanoates (PHAs); fluorescence *in situ* hybridization (FISH)

强化生物除磷(enhanced biological phosphorus removal, EBPR)工艺是目前采用最广泛的污水除磷工艺,该工艺采用厌氧/好氧(或缺氧)交替运行的方式富集具有聚磷菌(phosphorus accumulating organisms, PAOs)的活性污泥,并利用聚磷微生物具有厌氧释磷和好氧(或缺氧)超量吸磷的特征,使磷在好氧(或缺氧)段的含量急剧降低,最终通过排除

富磷污泥的方式使磷从废水中去除^[1]。然而,在 EBPR 系统中存在一定数量的聚糖菌(glycogen

收稿日期:2010-06-03;修订日期:2010-07-07

基金项目:浙江省自然科学基金重点项目(Z507721);浙江省教育厅项目(Y200907043, Y200804075)

作者简介:蒋涛(1986~),男,硕士研究生,主要研究方向为强化生物除磷, E-mail: taosjunior@gmail.com

* 通讯联系人, E-mail: pdsun@126.com

accumulating organisms, GAOs) 与 PAOs 竞争碳源, 导致系统除磷效果不稳定^[2], 甚至崩溃. 近年来, 国内外学者对 EBPR 系统 PAOs 和 GAOs 竞争机制及影响因素做了大量的研究, 主要的影响因素有进水 C/P^[3]、碳源类型^[4]、pH^[5]、温度^[6]、溶解氧^[7]和亚硝酸盐^[8]等. 其中, 进水 C/P 对 EBPR 系统中 PAOs 和 GAOs 竞争起着非常重要的作用^[9,3], 因为进水 C/P 是影响 PAOs 体内“能量库”的关键性因素^[10], 也正是这些“能量库”决定了微生物间的竞争优势. 系统微生物“能量库”的变化与聚羟基烷酸 (polyhydroxyalkanoates, PHAs) 的合成和消耗密切相关^[11], 它影响着系统污泥的释磷量、吸磷量^[3]和除磷效率以及系统菌群的群落结构. 在 EBPR 系统厌氧段, PAOs 吸收废水中的挥发性脂肪酸, 以 PHAs 的形式存储在细胞内; 细胞内聚磷酸盐分解提供 PHAs 合成所需的能量 (ATP), 同时释放磷; 胞内糖原通过 EMP (或 ED) 途径降解产生 NADH₂ 提供 PHAs 合成所需的还原力. 好氧段, PAOs 氧化分解厌氧合成的 PHAs 释放能量, 同时过量摄取废水中的磷合成聚磷酸盐贮存在细胞内^[10,12-14].

PHAs 主要有 3 种形式: 聚- β -羟基丁酸酯 (poly- β -hydroxybutyrate, PHB), 聚-3-羟基戊酸盐 (polyhydroxyvalerate, PHV) 和聚 3-羟基-2-甲基戊酸盐 (poly-2-hydroxyvalerate, PH2MV). 有研究发现^[10,15], 当乙酸为唯一碳源时, PAOs 在厌氧段合成 PHAs 的主要成分是 PHB (>90%) 以及少量的 PHV (<10%), 几乎没有 PH2MV 合成; 当丙酸为唯一碳源时, PAOs 吸收丙酸主要转化为 PHV 和 PH2MV.

Oehmen 等^[15]系统地综述了最近几十年在 EBPR 系统中 PAOs 和 GAOs 竞争、生物化学、微生物学、运行工艺过程和处理模型等领域的重要成果. 综述指出 PHAs 是 PAOs 和 GAOs 生化代谢途径中重要的能量物质, PHAs 的合成量和消耗量直接影响到微生物的群落结构. C/P 是影响 PAOs 和 GAOs 竞争的关键性因素, 有研究者指出^[3,9,12]较高的 C/P (>50 mg/mg, 以 COD/P 计) 有利于 GAOs 的生长, 而较低的 C/P (10~20 mg/mg, 以 COD/P 计) 有利于 PAOs 的生长. 但郝王娟等^[3]却发现在较低的 C/P (10 mg/mg, 以 TOC/TP 计) 条件下, EBPR 系统运行初期的除磷效率较差, 但对于其相关的微生物学机制尚不明确.

因此, 本研究采用小试规模的序批式反应器 (SBR), 考察不同 C/P (25:1、20:1、15:1 和 10:1) 对 EBPR 系统中 PHAs 合成和消耗代谢过程的影响, 并

结合荧光原位杂交技术 (Fluorescence *in situ* hybridization, FISH) 研究进水不同 C/P 对 EBPR 系统中功能菌变化的影响. 旨在进一步明确不同 C/P 对 EBPR 系统除磷效率的影响, 探讨 C/P 对 PAOs 和 GAOs 的竞争关系和微生物 PHAs 能量物质代谢过程的微观机制.

1 材料与方法

1.1 试验设置和运行工况

PAOs 富集驯化试验所用接种污泥来自杭州市某污水处理厂的回流污泥, 富集和驯化时间为 75 d. 不同 C/P 处理试验以富集好 PAOs 数量占 (75 ± 5)% 的活性污泥为基础. 试验采用 4 个相同 SBR 反应器. 反应器有效容积为 2 L, 由有机玻璃制成. 反应器每天运行 4 个周期, 每周 6 h, 其中厌氧段 2.5 h, 好氧段 3 h, 沉淀 15 min, 滗水 15 min. 进水 500 mL, 相应 HRT 为 24 h. 每个周期好氧段末排泥 50 mL, 相应 SRT 为 10 d. 反应器污泥浓度约为 2 000 mg/L, 运行水温为 20℃ ± 2℃, pH 值为 7.5~8.0, 好氧段 DO 浓度为 2~3 mg/L.

1.2 试验用水

试验用水采用人工配水, 合成废水由 A 液和 B 液组成 (表 1), 反应器运行的每个周期 500 mL 进水中含 A 液 75 mL (微量元素液 1 mL), B 液 425 mL. 4 个 SBR 同时启动, 进水 C/P 分别为 25:1、20:1、15:1 和 10:1. 反应器运行过程中以乙酸和丙酸交替作为碳源, 间隔时间为 7 d. 反应器初始 COD 均为 200 mg/L.

1.3 常规水质测试方法

COD、正磷酸盐、MLSS 等的测定方法参考《水和废水监测分析方法 (第四版)》. 水样经定量滤纸过滤后测定. DO 和 pH 采用上海 JPBj-608 便携式 DO 测定仪和 PHBJ-260 便携式 pH 测定仪在线监测.

1.4 胞内聚合物测定方法

取自反应器的活性污泥样品, 立即用 1% 的甲醛保存以抑制污泥中微生物活性 (保证每个样品中甲醛浓度为 1%), 确保贮存过程中 PHAs 不会发生变化. 然后将样品于 10 000 r/min 离心 2 min, 弃去上清液, 加磷酸缓冲液清洗, 于 10 000 r/min 离心 2 min, 再弃去上清液, 最后将样品迅速转移至真空冷冻干燥机中冷冻干燥 (-54℃ 和 10 Pa) 20 h 以上. 样品冷冻干燥后呈粉末状, 将其编号后放入干燥器中待用.

表 1 试验合成废水组成/ $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$

Table 1 Composition of synthetic wastewater/ $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$

A 液		B 液		微量元素液	
NH_4Cl	1.02	KH_2PO_4	0.103	$\text{FeCl}_3\cdot 6\text{H}_2\text{O}$	1.5
$\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$	1.2	$\text{K}_2\text{HPO}_4\cdot 3\text{H}_2\text{O}$	0.173	H_3BO_3	0.15
$\text{CaCl}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.19			$\text{CuSO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.03
蛋白胨	0.01			KI	0.18
酵母浸出粉	0.01			$\text{MnCl}_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0.12
乙酸(丙酸)	10(5.6 mL)			$\text{Na}_2\text{MoO}_4\cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.06
ATU(硝化抑制剂)	0.008			$\text{ZnSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.12
				$\text{CoCl}_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.15
				EDTA	10

称取 10 mg 干燥的活性污泥样品于消解管中,同时向样品中加入 2 mL 氯仿和 2 mL 酸性甲醇溶液.将样品在 10 mL 消解管中 100℃ 消解 20 h,冷却至室温.然后加入 1 mL 去离子水,剧烈混合,沉淀 1 h,溶液分层后弃去上层溶液,将下层氯仿溶液转移到另一个容器内,并加入 0.5 ~ 1.0 g 的无水硫酸钠,最后取 1 μL 氯仿溶液用气相色谱-质谱联用仪进行分析.

气质联用条件为:气质仪器为 Agilent6890N,载气为氦气;色谱柱为 DB-5 柱子,30 m 长,0.25 mm 内径,0.25 μm 膜;进样口温度为 250℃,检测器温度为 250℃.采用程序升温,起始炉温为 80℃,停留 1 min,然后以 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的程序升温到 140℃,并停留 3 min.一个样品的测定时间为 10 min,每次进样量为 1 μL . PHB、PHV、PH2MV 及苯甲酸对应的停留时间分别为 1.67、2.32、2.96 和 3.76 min.需要指出,由于目前没有 PH2MV 的标准样品,而 2-hydroxycaproicacid 和 PH2MV 是同分异构体,因此用 2-hydroxycaproicacid 代替 PH2MV 做标准曲线^[16].

1.5 FISH 分析方法

微生物群落采用 FISH 确定,分析方法同文献[17].取 300 μL 活性污泥样品,在样品中加入 3 倍体积的 4% 多聚甲醛固定液,于 4℃ 固定 3h,用 1 $\times$ PBS 溶液冲洗 3 次,悬浮于 1 $\times$ PBS-乙醇(体积比 1:1)溶液中,于 -20℃ 保存数月可用.

实验应用 16S rRNA 探针 EUB338mix、PAOmixon 和 GAOmix. EUB338mix 探针包括 EUB338 探针(5'-GCTGCCTCCCGTAGGAGT-3')、EUB338-Ⅱ 探针(5'-GCAGCCACCCGTAGGTGT-3')和 EUB338-Ⅲ 探针(5'-GCTGCCACCCGTAGGTGT-3'); PAOmixon 探针包括 PAO462 探针(5'-CCGTCATCTACWCAGGGTATTAAAC-3')、PAO651 探针(5'-CCCTCTGCCAAACTCCAG-3')和 PAO846 探针(5'-GTTAGCTACGGCACT

AAAA GG-3'); GAOmix 探针包括 GAOQ431 探针(5'-TCCCCGCCTAAAGGGCTT-3'), GAOQ989 探针(5'-TTCCCCGGATGTCAAGGC-3')和 GB-G2 探针(5'-TTCCCCAGATGTCAAGGC-3').

将固定好的样品稀释 40 倍后于超声波细胞粉碎机中粉碎,取 2 μL 样品均匀涂于明胶包被的载玻片上,风干后于 50%、80%、98% 的乙醇中各脱水 3 min,风干后在 46℃ 杂交 2 h,杂交缓冲液成分如下: 0.9 mol/L NaCl, 20 mmol/L Tris-HCl, 0.01% SDS, 35% 去离子甲酰胺, 20% 1:1 的 EUB338mix 和 PAOmixon 混合探针或 20% 1:1 的 EUB338mix 和 GAOmix 混合探针, pH 7.2 (每张载玻片有 2 排孔,每排孔有 3 个孔,在上排涂 EUB338mix 和 PAOmixon 混合探针,下排涂 EUB338mix 和 GAOmix 混合探针). 杂交后于 48℃ 用杂交清洗液(40 mmol/L NaCl, 20 mmol/L Tris-HCl, 0.01% SDS, pH 7.2)冲洗 20 min,之后用蒸馏水洗去残留洗液,风干后于暗处加入几滴抗荧光衰减剂,然后用盖玻片压住玻片,涂上指甲油.风干后用荧光倒置显微镜(IX71,日本 Olympus)观察,并用其配套软件拍下照片,获得 PAOs 和 GAOs 在全菌中的比例.

处理 1 个 EBPR 系统需 1 张载玻片,载玻片上排获得 PAOs 在全菌中的比例,下排获得 GAOs 在全菌中的比例,1 个孔可获得 FISH 照片 50 张,即全菌照片 25 张,PAOs 或 GAOs 照片 25 张,1 个样品(6 个孔)可获得 FISH 照片 300 张(全菌照片 150 张,PAOs 或 GAOs 照片 150 张).因此,总共获得 FISH 图片 1200 张,其中全菌照片 600 张,PAOs 照片 300 张,GAOs 照片 300 张.

2 结果与讨论

2.1 不同 C/P 对 EBPR 系统 COD 和磷酸盐去除的影响

C/P 分别为 25:1、20:1、15:1 和 10:1 的 4 个 EBPR 系统中 COD 的去除率随时间变化情况如图 1 所示. 由图 1 可知,不同 C/P 的 EBPR 系统中 COD 的去除率没有显著区别,都随着运行时间的增加逐渐趋于稳定,最后达到 90% 左右.

不同 C/P 条件下磷酸盐去除率如图 2 所示. 当 C/P 分别为 25:1、20:1 和 15:1 时,在整个考察时间内(10 d)磷酸盐去除率都比较高,均达 80% 以上. 而 C/P 为 10:1 的系统,在刚开始运行的 4 d 内,磷酸盐的去除率均能达到 80%,但随着运行时间的增加,磷酸盐的去除率急剧下降,在运行第 8 d 时磷酸盐去除率为 0%. 不同 C/P 条件下 COD 和磷酸盐在运行 10 d 后一周期内各阶段的浓度及其去除率情况如表 2 所示,从中可得,C/P 为 10:1 系统 COD 具有较好的去除率,但其磷酸盐的去除率为 0,推测此时系统中有 COD 的消耗主要是有一定量异养菌的存在.

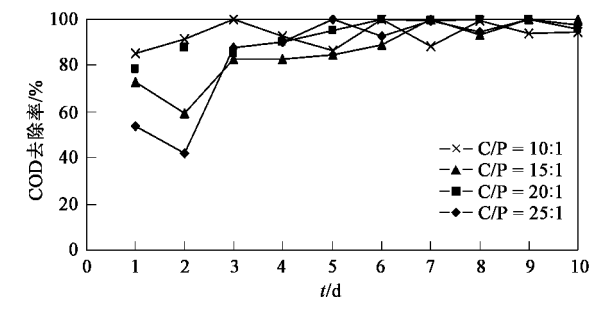


图 1 不同 C/P 的 COD 去除率
Fig. 1 COD removal in various C/P systems

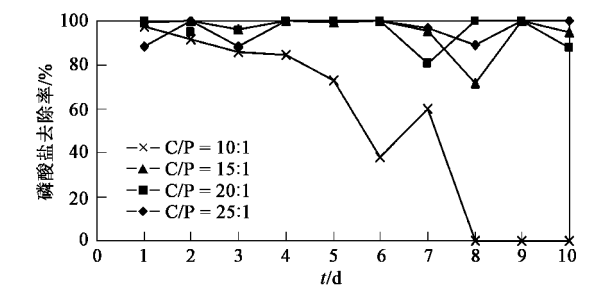


图 2 不同 C/P 磷酸盐去除率
Fig. 2 Phosphate removal in various C/P systems

2.2 EBPR 系统菌群的 FISH 分析

经过 10 d 运行处理后,4 个不同 C/P 的 EBPR 系统中微生物菌群均发生了变化,主要表现在 PAOs 和 GAOs 在全菌中所占比例的变化. 图 3 所示是 C/P 为 10:1 和 20:1 时 EBPR 系统 FISH 检测图片. 经过统计计算,发现 C/P 分别为 25:1、20:1、15:1 和 10:1

的 4 个 EBPR 系统中 PAOs 在全菌中所占的比例分别为 $(76.42 \pm 1.24)\%$ 、 $(71.98 \pm 2.09)\%$ 、 $(66.67 \pm 1.56)\%$ 和 $(10.40 \pm 0.97)\%$,GAOs 在全菌中所占的比例分别为 $(16.36 \pm 3.41)\%$ 、 $(21.51 \pm 3.08)\%$ 、 $(25.39 \pm 1.02)\%$ 和 $(34.25 \pm 2.59)\%$. 随着 C/P 从 25:1 下降到 10:1,GAOs 在全菌中所占比例逐渐增加,而 PAOs 逐渐减少. C/P 分别为 25:1、20:1 和 15:1 时,PAOs 和 GAOs 的总量占全菌均达到 92% 以上,而 C/P 为 10:1 时系统 PAOs 和 GAOs 总量占全菌只有 44.65% 左右. 从 FISH 检测的图片可以观察到 C/P 为 10:1 时全菌量明显少于其他系统. 由此推测,在 C/P 为 10:1 系统中,一方面由于 GAOs 已经取代 PAOs 成为优势菌群,而 GAOs 没有除磷能力^[18],系统中 GAOs 的大量繁殖导致污泥除磷效率降低,这一结论与试验结果一致(图 2 和表 2);另一方面系统中 PAOs 总量的迅速减少也导致除磷效率降低. 此外,从表 2 可知,C/P 为 10:1 系统的 COD 去除率达 90% 以上,而 PAOs 和 GAOs 总量在总菌中所占的比例为 44.65%,推测此时系统中存在大量的异养菌,它们和 PAOs、GAOs 一起消耗系统中的 COD.

表 2 不同 C/P 一个周期内 COD 和 P 变化情况
Table 2 Situation of COD and phosphate in a cycle in various C/P systems

项目	25:1	20:1	15:1	10:1
进水 COD 浓度/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	225.1	229.2	223.1	229.2
周期末 COD 浓度/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	5.2	10.5	0	13.1
进水 P 浓度/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	8.1	9.6	12.5	20.1
厌氧段末 P 浓度/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	46.7	82.9	97.3	37.1
好氧段末 P 浓度/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	0	1.2	0.6	36.0
COD 去除率/%	97.7	95.4	100	94.3
P 去除率/%	100	87.5	94.9	0

2.3 不同 C/P 对 PHAs 合成动力学的影响

经过 10 d 运行处理后(以乙酸为碳源),不同 C/P 条件下的 4 个 EBPR 系统厌氧段 PHAs、PHB 和 PHV 的动力学变化曲线如图 4 所示. 可以看出,C/P 分别为 25:1、20:1 和 15:1 的 EBPR 系统中,PHAs 含量在最初 1 h 内迅速增加并趋于稳定,而 C/P 为 10:1 系统内 PHAs 只有少量增加. 从图 4 还可以看出,C/P 为 10:1 系统中,PHB 含量明显低于其他系统,而 PHV 含量明显高于其他系统. 在所有系统中都没有检测到 PH2MV 的存在,这与文献报道相符,以乙酸为碳源时,PAOs 几乎不合成 PH2MV^[10].

用零级动力学方程对不同 C/P 系统中 PHB 和 PHV 含量在厌氧段随时间变化情况分别进行拟合.

表 3 不同 C/P 条件下 PHB 和 PHV 的合成与消耗动力学参数								
Table 3 Production and consumption kinetics parameters of PHB and PHV in various C/P systems								
项目	25:1		20:1		15:1		10:1	
	PHB	PHV	PHB	PHV	PHB	PHV	PHB	PHV
$t_{\max 1}/\text{h}$	1	1.5	1	1	1	1	2.5	2.5
$t_{\max 2}/\text{h}$	2.5	2	1.5	1	2.5	2	3	3
K_1 (合成)	0.067 9	0.007 4	0.042 1	0.020 5	0.038 3	0.022 4	0.000 7	0.001 7
R_1^2	0.975 9	0.964 9	0.993 1	0.899	1	0.871 2	0.316 6	0.818 2
K_2 (消耗)	0.032 6	0.011 9	0.036 7	0.021 7	0.024 6	0.010 6	0.001 5	0.003 2
R_2^2	0.982 2	0.817 4	0.990 1	0.908 9	0.990 4	0.854 7	0.520 2	0.412 1

为 10:1 的合成速率,且 PHB 合成速率大于 PHV,而 C/P 为 10:1 时 PHB 的合成速率明显小于 PHV.

研究发现,以乙酸为碳源时,PAOs 合成 PHAs 以 PHB 为主 (>90%)^[19],GAOs 合成 PHAs 以 PHB 和 PHV 为主^[10],系统中 PHB 和 PHV 比例可以定性反映出 PAOs 和 GAOs 的比重.在本研究中发现,C/P 为 25:1 时系统合成的 PHAs 中 PHB 占 85%,PHV 占 15%;C/P 为 20:1 时 PHB 占 68%,PHV 占 32%;C/P 为 15:1 时 PHB 占 58%,PHV 占 42%;C/P 为 10:1 时 PHB 占 24%,PHV 占 76%.随着 C/P 的逐渐减少,PHB 在 PHAs 中所占的比例逐渐降低,而 PHV 在 PHAs 中所占的比例逐渐升高.这一结果与 FISH 检测结果一致,随着 C/P 的降低,EBPR 系统内 GAOs 比例增加而 PAOs 比例减少,从而导致系统内 PHB 和 PHV 比例的相应变化.

2.4 不同 C/P 对 PHAs 消耗动力学的影响

图 5 所示为不同 C/P 条件下,好氧段各系统中微生物消耗 PHAs、PHB 和 PHV 动力学变化曲线.从图 5 可知,C/P 分别为 25:1、20:1 和 15:1 系统中可以观察到 PHAs 在 1.5~2.5 h 内消耗完全,而 C/P 为 10:1 时系统中 PHAs 只有少量的消耗.

对 PHB 和 PHV 的消耗用零级动力学方程进行拟合,得到的各参数结果如表 3 所示.从表 3 可知,不同 C/P 的 PHB 和 PHV 消耗系数 K_2 从大到小的排列顺序均为: $K_{20:1} > K_{25:1} > K_{15:1} > K_{10:1}$.C/P 分别为 25:1、20:1 和 15:1 时系统 PHB 消耗速率大于 PHV (约 2 倍),而 C/P 为 10:1 时系统 PHB 的消耗速率明显小于 PHV (约 50%).

运行处理 10 d 后,C/P 为 25:1 时消耗的 PHAs 中 PHB 占 75%,PHV 占 25%;C/P 为 20:1 时 PHB 占 72%,PHV 占 28%;C/P 为 15:1 时 PHB 占 71%,PHV 占 29%;C/P 为 10:1 时 PHB 占 29%,PHV 占 71%.说明 C/P 分别为 25:1、20:1 和 15:1 时系统消

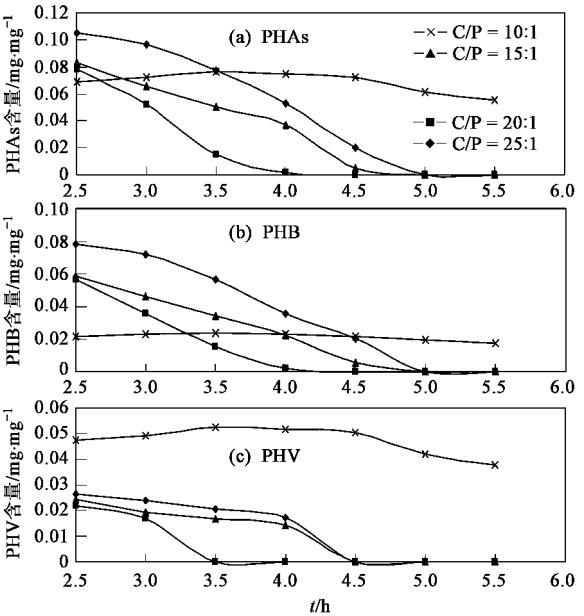


图 5 处理结束时 PHAs、PHB 和 PHV 好氧段消耗动力学曲线
Fig. 5 Dynamic curves of PHAs, PHB and PHV in aerobic

耗 PHAs 的主要成分是 PHB,这与文献报道一致,以乙酸为碳源时系统吸磷所需的动力主要来自降解 PHB 所提供的能量^[19].而 C/P 为 10:1 时,系统消耗 PHAs 的主要成分是 PHV,说明此时 PHV 的分解是系统微生物获取能量的重要途径之一.

2.5 PHAs 净合成量与消耗量的比较

图 6 是乙酸为碳源时系统一个周期内 PHAs 的净合成量与消耗量的比较.C/P 分别为 25:1、20:1 和 15:1 时,净合成量和消耗量均明显大于 C/P 为 10:1 时的净合成量和消耗量,这可能是由于 C/P 为 10:1 系统中功能菌群 (PAOs 和 GAOs) 的总含量降低所致.从图 6 中还可以发现,试验的 4 个 C/P 系统中 PHAs 的净消耗量均显著高于其净合成量,说明系统功能微生物在好氧段不但消耗了体内储备的 PHAs,而且消耗了周期内新合成的 PHAs.

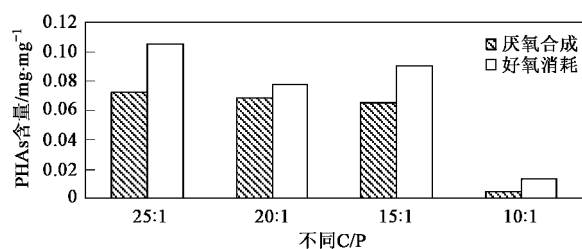


图6 不同 C/P 条件下 PHAs 的净合成量与消耗量

Fig.6 Net production and consumption of PHAs when acetic acid was used as a sole carbon source

3 结论

(1) C/P 分别为 25:1、20:1 和 15:1 的 EBPR 系统的磷酸盐去除率达 88% 以上,而 C/P 为 10:1 时磷酸盐的去除率为 0%。

(2) 随着 C/P 从 25:1 下降到 10:1, EBPR 系统中 PAOs 的含量相应从 76.42% 下降到 10.40%,而 GAOs 则从 16.36% 上升到 34.25%。

(3) 在厌氧段, C/P 分别为 25:1、20:1 和 15:1 时 EBPR 系统 PHB 合成速率大于 PHV, 而 C/P 为 10:1 时 PHB 的合成速率明显小于 PHV。随着 C/P 的减少, PHB 在 PHAs 中所占的比例逐渐降低,而 PHV 则相反。在好氧段, C/P 分别为 25:1、20:1 和 15:1 时 EBPR 系统 PHB 消耗速率大于 PHV, 系统消耗 PHAs 的主要成分是 PHB; 而 C/P 为 10:1 时 PHV 的消耗速率明显大于 PHB, 系统消耗 PHAs 的主要成分是 PHV。

(4) PHAs 的净消耗量普遍高于净合成量, 表明在好氧段功能微生物不但消耗了体内储备的 PHAs, 而且消耗了周期内新合成的 PHAs。

参考文献:

- [1] Mulkerriens D, Dobson A D W, Collieran E. Parameters affecting biological phosphate removal from wastewaters [J]. *Environment International*, 2004, **30**: 249-259.
- [2] Carlos M, Lopez-Vazquez, Oehmen A, *et al.* Modeling the PAO-GAO competition: Effects of carbon source, pH and temperature [J]. *Water Research*, 2009, **43**: 450-462.
- [3] 郝玉娟, 薛涛, 黄霞. 进水磷碳比对聚磷菌与聚糖菌竞争生长的影响[J]. *中国给水排水* 2007, **23**(17): 95-98.
- [4] Wang Y, Jiang F, Zhang Z, *et al.* The long-term effect of carbon source on the competition between polyphosphorus accumulating organisms and glycogen accumulating organism in a continuous plug-flow anaerobic/aerobic (A/O) process [J]. *Bioresource Technology*, 2010, **101**: 98-104.
- [5] Oehmen A, Vivesa M T, Lua H B, *et al.* The effect of pH on the competition between polyphosphate-accumulating organisms and glycogen-accumulating organisms [J]. *Water Research*, 2005, **39**: 3727-3737.
- [6] Li N, Ren N, Wang X, *et al.* Effect of temperature on intracellular phosphorus absorption and extra-cellular phosphorus removal in EBPR process [J]. *Bioresource Technology*, 2010, **101**: 6265-6268.
- [7] Griffiths P C, Stratton H M, Seviour R J. Environmental factors contributing to the "G bacteria" population in full-scale EBPR plants [J]. *Water Science and Technology*, 2002, **46**(4-5): 185-192.
- [8] Saito T, Brdjanovic D, Van Loosdrecht M C. Effect of nitrite on phosphate uptake by phosphate accumulating organisms [J]. *Water Research*, 2004, **38**(17): 3760-3768.
- [9] Panswad T, Tongkhammak N, Anotai J. Estimation of intracellular phosphorus content of phosphorus-accumulating organisms at different P: COD feeding ratios [J]. *Journal of Environmental Management*, 2007, **84**: 141-145.
- [10] 王亚宜, 彭永臻, 潘绵立, 等. 生物除磷系统聚糖菌的代谢机理及菌群结构[J]. *哈尔滨工业大学学报*, 2008, **40**(8): 1319-1324.
- [11] Mino T, Van Loosdrecht M C M, Heijnen J J. Microbiology and biochemistry of the enhanced biological phosphate removal process [J]. *Water Research*, 1998, **32**(11): 3193-3207.
- [12] 申沛, 陈银广, 张超, 等. 影响聚磷菌与聚糖菌竞争的关键因素研究进展[J]. *四川环境*, 2008, **27**(1): 73-86.
- [13] 李夕耀, 彭永臻, 王淑莹, 等. 聚磷菌厌氧时吸收乙酸和丙酸的代谢模型[J]. *环境科学与管理*, 2008, **33**(8): 37-42.
- [14] 鲁文敏, 王亚宜, 高乃云, 等. 不同基质的聚磷菌和聚糖菌竞争的代谢模型[J]. *中国资源综合利用*, 2009, **27**(1): 37-40.
- [15] Oehmen A, Lemos P C, Carvalho G, *et al.* Advances in enhanced biological phosphorus removal: From micro to macro scale [J]. *Water Research*, 2007, **41**: 2271-2300.
- [16] Oehmen A, Keller L, Zeng R J, *et al.* Optimisation of poly-β-hydroxyalkanoate analysis using gas chromatography for enhanced biological phosphorus removal systems [J]. *Journal of chromatography A*, 2005, **1070**: 131-136.
- [17] 亢涵, 王秀衡, 李楠, 等. 生物除磷系统启动期聚磷菌的 FISH 原位分析与聚磷特性[J]. *环境科学*, 2009, **30**(1): 80-84.
- [18] López-Vázquez C M, Hooijmans C M, Brdjanovic D, *et al.* Factors affecting the microbial populations at full-scale enhanced biological phosphorus removal (EBPR) wastewater treatment plants in The Netherlands [J]. *Water Research*, 2008, **42**: 2349-2360.
- [19] 吴昌永, 彭永臻, 万春黎, 等. 碳源对 EBPR 代谢过程及微生物特性的影响[J]. *环境科学*, 2009, **30**(7): 1990-1994.