

$\rho(P)/\rho(C)$ 动态变化对 SBR 强化生物除磷系统微生物种群的影响

王亚宜¹, 江帆¹, 张兆祥¹, 李小伟¹, 杨健¹, 高乃云¹, 彭永臻²

(1. 同济大学 污染控制与资源化研究国家重点实验室, 上海 200092;

2. 北京工业大学 水质科学与水环境恢复工程重点实验室, 北京 100124)

摘要: 通过调节进水 $\rho(P)/\rho(C)$ 的不同水平(2.9/100、1.4/100、0.57/100、0.29/100、1.4/100 和 2.9/100), 考察了 A/O-SBR 系统强化生物除磷效果的动态变化; 同时利用 PCR-DGGE 分子生物学技术, 研究了聚磷菌和聚糖菌种群的竞争与演变. 结果表明, 当 $\rho(P)/\rho(C)$ 逐渐降低时(2.9/100→1.4/100→0.57/100→0.29/100), 吸收单位碳源的厌氧释磷量逐渐降低, 而胞内糖原量逐渐升高. 相应的 DGGE 图谱显示, 微生物类群在 $\rho(P)/\rho(C)$ 降低过程由 11 OTUs 升高到 14 OTUs, 最后降至 7 OTUs; 结合生化指标判断, 系统优势菌种呈现的是从聚磷菌占优势、聚糖菌聚磷菌共存到聚糖菌占优势的动态变化. 随后, 提高进水 $\rho(P)/\rho(C)$ 值从 0.29/100 到 1.4/100 再到 2.9/100, 污泥吸收单位碳源的厌氧释磷量逐渐升高, 而胞内糖原量逐渐降低. 这说明当聚糖菌占优势以后, 通过调节 $\rho(P)/\rho(C)$ 可重新培养获得聚磷菌优势系统, 但 DGGE 图谱也显示, 此时的聚磷菌优势种群较聚糖菌系统的优势种群已有较大变化, 且与先前聚磷菌系统的优势种群也不尽相同.

关键词: 强化生物除磷; 磷碳比; 聚磷菌; 聚糖菌; PCR-DGGE; 序批式反应器

中图分类号: X 703

文献标志码: A

文章编号: 0254-0037(2011)05-0740-08

以厌氧/好氧为特征的强化生物除磷工艺(enhanced biological phosphorus removal, EBPR) 是一种经济并具可持续特征的生物除磷技术, 对于控制水体富营养问题具有较好功效^[1]. 然而, 有时 EBPR 工艺不稳定, 在污水厂 EBPR 实际运行过程中, 生物除磷功效恶化的情况时有发生. 大量研究表明, 聚糖菌(glycogen accumulating organisms, GAOs) 的过量富集是导致除磷系统崩溃的主要原因之一^[2-5]. GAOs 的代谢途径与聚磷菌(phosphorus accumulating organisms, PAOs) 极为相似, 仅就能量来源不同^[2-3, 5-7]: 厌氧阶段, GAOs 分解胞内糖原来合成聚羟基烷酸(polyhydroxyalkanoates, PHA), 但不释放磷; 好氧阶段, GAOs 分解 PHA, 合成糖原而不聚集磷. GAOs 与 PAOs 在厌氧阶段竞争碳源, 是导致生物除磷效果不稳定的主要原因.

进水磷负荷^[6]、有机基质类型^[7-10]、温度^[11]、pH^[8, 12-13] 和污泥龄(SRT)^[2] 等都将影响 EBPR 系统中 PAOs 与 GAOs 的竞争, 进而影响系统最终的除磷效果. 其中, 磷碳比($\rho(P)/\rho(C)$) 被发现是影响 PAOs 体内“能量库”的关键性因素, 而正是这些“能量库”决定了微生物间的竞争优势^[6-7]. 针对目前结合分子生物学技术探讨 $\rho(P)/\rho(C)$ 影响作用研究较少的现状, 本文利用聚合酶链式反应变性梯度凝胶电泳(polymerase chain reaction-denaturing gradient gel electrophoresis, PCR-DGGE) 技术, 系统考察了 $\rho(P)/\rho(C)$ 在从正常值到极小值再到正常值的变化过程, 厌氧/好氧序批式反应器(anaerobic/aerobic sequencing batch reactor, A/O-SBR) 系统内微生物种群的动态变化, 全面了解 PAOs 与 GAOs 间的竞争机理.

收稿日期: 2009-08-21.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(50608064; 50628808); 全国优秀博士学位论文作者专项基金资助项目(200756); 国家教育部新世纪优秀人才支持计划资助项目(NCET-08-0404); 上海市科技人才计划资助项目(09QA1406100); 国家科技重大专项资助项目(2008ZX07421-002; 2008ZX07407-007-1).

作者简介: 王亚宜(1977—), 女, 浙江上虞人, 副教授.

1 材料和方法

1.1 试验装置

SBR 为有机玻璃制成的圆柱形反应器,其内径为 16 cm,高 50 cm,有效容积为 9 L. SBR 运行的一个典型周期为 8 h,其中厌氧反应 2 h,好氧反应 3 h,其余为沉淀、排水和闲置时间,且各运行阶段由时控开关及附属电子线路控制. 厌氧阶段采用电动搅拌器搅拌,使反应器内泥水混合均匀;好氧阶段采用可调式气泵连接微孔黏砂块进行曝气. 同时在 SBR 内设有 DO、ORP 和 pH 传感器来监测反应过程各参数值的变化.

1.2 原水水质及接种污泥

实验采用人工合成废水:以 NaAc 作为碳源,相应的 COD 质量浓度控制在 350 mg/L 左右;磷元素由投加 KH_2PO_4 来获得,通过改变进水的 KH_2PO_4 质量浓度(10、5、2 和 1 mg/L)来达到不同的进水 $\rho(P)/\rho(C)$. 模拟废水的其他成分包括 NH_4Cl (20 mg/L)、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (10 mg/L)、 CaCl_2 (14 mg/L) 和微量元素液(0.5 mL/L). 其中每升微量元素液含 1.5 g $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 0.15 g H_3BO_3 , 0.03 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 0.18 g KI, 12 g $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 0.06 g $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0.12 g $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.15 g $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 和 10 g EDTA^[13]. 实验用污泥接种自上海曲阳污水处理厂的回流污泥(具有脱氮除磷效果).

1.3 试验方案

接种污泥经过 25 d 驯化后,系统除磷效果良好稳定,此时可作为试验稳定运行的第 1 天. 此后,试验方案可分为 2 个阶段:第 I 阶段维持进水 COD 质量浓度恒值,初始 P 质量浓度为 10 mg/L,随后逐步降低进水的 P 质量浓度,考察 $\rho(P)/\rho(C)$ 逐步降低的 4 个水平(1—30 d: $\rho(P)/\rho(C) = 2.9/100$; 31—70 d: $\rho(P)/\rho(C) = 1.4/100$; 71—114 d: $\rho(P)/\rho(C) = 0.57/100$; 115—194 d: $0.29/100$) 对 SBR 除磷效果的影响. 第 II 阶段采用逐步提高 $\rho(P)/\rho(C)$ (195—227 d: $\rho(P)/\rho(C) = 1.4/100$; 228—264 d: $\rho(P)/\rho(C) = 2.9/100$) 方式,考察 A/O-SBR 系统的除磷能力和微生物种群的变化情况.

在上述试验开展过程,每改变 1 次工况,通常经过 2~3 个 SRT 的驯化过渡阶段,待系统运行稳定后,采样作为正式数据分析,同时也记录不同工况稳定条件下 COD、P 和糖原在典型周期内随时间变化的代谢特征. A/O-SBR 系统的悬浮物质量浓度(MLSS)维持为 3500 ± 500 mg/L, SRT 控制在 6~8 d.

1.4 分析项目及方法

1.4.1 化学分析

试验中常规指标所采用的分析方法均按照国家环境保护总局发布的标准方法^[14]. 糖原检测采用蒽酮比色法^[15].

1.4.2 PCR-DGGE 分析

1) 样品预处理

取 SBR 不同 $\rho(P)/\rho(C)$ 阶段典型好氧末活性污泥 50 mL 置于灭菌后的离心管中,沉淀 30 min,弃去上清液;之后,离心 10 min,再弃去上清液,收集沉淀,保存于 -30°C 的冰箱中,用于 DNA 的提取.

2) 总 DNA 提取

无菌称取约 100 mg 污泥样品,采用 Fast DNA SPIN kit for soil 试剂盒(Qbiogene, Carlsbad, CA, 美国),按照生产商提供的方法进行 DNA 抽提,获得的 DNA 样品可直接进行 PCR 扩增.

3) PCR 扩增与 DGGE 分析

16S rDNA 全长序列 PCR 扩增参照 Bosshard 等^[16]的方法进行. 16S rDNA V3 区 PCR 扩增参照 Muyzer 等^[17]方法进行.

用 D-code System 电泳仪(美国 Bio-Rad 公司)进行 DGGE 电泳分离. 制备变性梯度凝胶,使 PAGE 胶

浓度为 8%, 变性梯度 40% ~ 60% (7 mol 尿素和 40% 甲酰胺, 为 100% 变性), 电泳缓冲液为 $1 \times$ TAE; 50 μ L PCR 产物在 60 $^{\circ}$ C、200 V 条件下电泳 5.5 h 后, 在溴化乙锭 (EB) 染液中染色 15 min, 最后在紫外与可见分析装置下成像拍照。

4) 微生物种群多样性分析

对 DGGE 条带进行密度扫描, 计算出 Shannon 指数 $(H = - \sum_{i=1}^S p_i \ln p_i)$, 对种群多样性进行分析. 采用 SPSS14.0 统计分析软件对 DGGE 指纹图谱进行相似聚类分析, 计算样品距离为欧式距离平方, 类间距离为平均链锁法。

2 结果

2.1 $\rho(P)/\rho(C)$ 对 SBR 系统磷去除的影响

当进水 P 的质量浓度高达 10 mg/L、 $\rho(P)/\rho(C)$ 为 2.9/100 左右时, 其厌氧末 P 的质量浓度在 75 ~ 90 mg/L 波动, 出水 P 的质量浓度约为 (1 ± 0.41) mg/L (图 1), 净吸磷量为 (80 ± 4.64) mg/L, 磷的去除率高达 $89\% \pm 4\%$. 此时, 单位活性生物量的厌氧释磷量达到 (29.2 ± 1.68) mg/g. 第 31 d 开始将进水 P 的质量浓度降为 5 mg/L, 此时 $\rho(P)/\rho(C)$ 为 1.4/100. 在工况改变后的第 1 天就发现释磷量即骤降为 42 mg/L; 随后, 磷释放量持续降低, 经 2 个 SRT 后, 厌氧释磷量稳定在 25 mg/L 左右, 此时系统对磷的去除率降至 $43\% \pm 4\%$, 而单位活性污泥释磷量降至 (8.2 ± 0.61) mg/g. 继续降低进水 P 的质量浓度至 2 mg/L, 即 $\rho(P)/\rho(C)$ 为 0.57/100 时, 在改变磷负荷的第 2 天, 其厌氧释磷量降至 18 mg/L, 且出水 P 质量浓度已高于进水 P 质量浓度; 之后几天的出水 P 质量浓度均高于进水 P 质量浓度; 随着反应时间的延续, 出水 P 的质量浓度稳定在 (0.84 ± 0.25) mg/L, 单位活性生物量的厌氧释磷量降为 (3.26 ± 0.31) mg/g, 此时, 系统有厌氧释磷而无过量吸磷能力. 最后, 当进水 P 的质量浓度降至 1 mg/L 时, 稳态下厌氧阶段的总释磷量为 (9.3 ± 0.57) mg/L, 出水 P 的质量浓度为 (0.23 ± 0.10) mg/L, 单位活性微生物的厌氧释磷量仅为 (2.8 ± 0.19) mg/g.

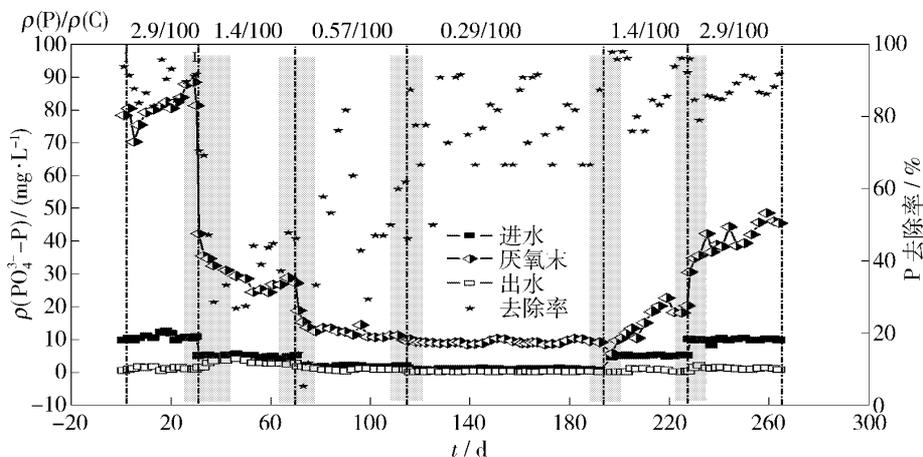


图 1 A/O-SBR 系统不同进水 $\rho(P)/\rho(C)$ 条件下 P 质量浓度的变化 (图中阴影部分为过渡阶段)

Fig. 1 The P concentration variations with the different $\rho(P)/\rho(C)$ ratio in the A/O-SBR

当系统释放和吸收的功能恶化以后, 将进水 P 的质量浓度从极小值 1 mg/L 提高至 5 mg/L; 经过 32 d 的稳定运行后, 再升至 10 mg/L, 目的是考察 SBR 除磷工艺一旦在聚糖菌占优势后, 是否可通过调整进水磷负荷来重新恢复除磷功效, 即这一过程是否具有可逆性. 结果发现, 随着进水 $\rho(P)/\rho(C)$ 在 0.29/100 到 1.4/100 再到 2.9/100 上升过程, SBR 的释磷量逐渐升高, 即从 (14.49 ± 2.49) mg/L 增加到 (42.78 ± 3.37) mg/L; 而磷的去除率也分别达到了 $87\% \pm 7\%$ 和 $88\% \pm 2\%$ (图 1). 恢复阶段 $\rho(P)/\rho(C)$ 为 1.4/100 和 2.9/100 条件下的单位活性污泥的厌氧释磷量分别稳定在 (5.47 ± 0.87) 和 (14.15 ± 1.19) mg/g.

2.2 系统对 COD 和氮的去除情况

A/O-SBR 对 COD 的去除效果在所有运行阶段均可维持较高水平,出水 COD 质量浓度始终在 30 mg/L 以下,去除率高达 85%~95%,主要发生在厌氧阶段(厌氧末 COD 质量浓度为 40 mg/L 左右),这说明无论是聚磷菌还是聚糖菌都具有较好利用有机基质的能力.好氧阶段未观测到有较明显的 COD 去除.

另一方面,由于配水的氨氮投量不高,仅为满足微生物的生长需求,因此氨氮的去除率可以达到 98% \pm 2%;出水的硝态氮含量亦不高,通常在 1~3 mg/L 波动,对下一周期厌氧放磷反应的负面影响不大.

2.3 典型周期内 P、COD 和糖原的代谢情况

为考察不同 $\rho(P)/\rho(C)$ 条件下驯化获得的微生物对碳源的吸收速率、磷的释放和吸收速率以及糖原的代谢特征,开展了典型运行周期生化指标的跟踪测定分析(图 2).

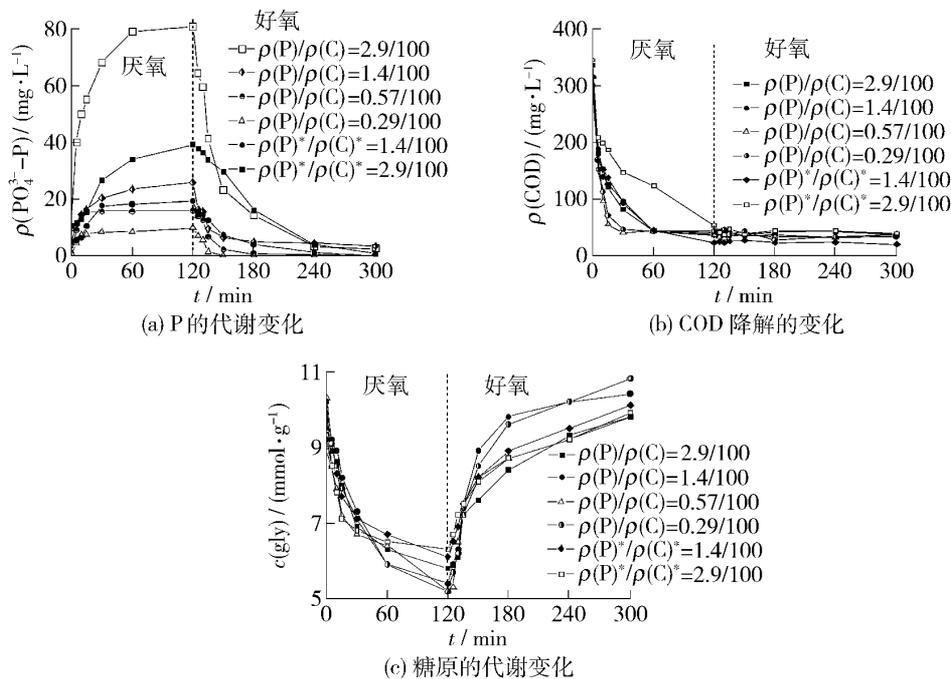


图 2 不同 $\rho(P)/\rho(C)$ 比驯化污泥对磷、COD 和糖原的代谢(试验日期分别为 30 d、67 d、114 d、148 d、222 d、262 d)

Fig. 2 The variations of P transformation, COD degradation and glycogen transformation with the different $\rho(P)/\rho(C)$ ratios

如图 2(a) 所示,随着 $\rho(P)/\rho(C)$ 的逐渐下降,污泥的释磷量以及释磷速率均逐渐降低:当 $\rho(P)/\rho(C)$ 为 2.9/100 时,系统前 30 min 的单位活性污泥释磷量高达 21.7 mg/g;而当 $\rho(P)/\rho(C)$ 降至 1.4/100 时,前 30 min 的释磷量为 5.25 mg/g;最后,当 $\rho(P)/\rho(C)$ 下降到 0.29/100 时,前 30 min 的释磷量仅为 2.4 mg/g. 而当 $\rho(P)/\rho(C)$ 逐渐从极小值恢复升高后,单位污泥的释磷量和速率也逐渐提高: $\rho(P)/\rho(C)$ 为 1.4/100 和 2.9/100 的 2 个系统,前 30 min 内释磷量分别为 3.9 和 5.3 mg/g,较先前相同进水 $\rho(P)/\rho(C)$ 条件下污泥的释磷量,降幅较大.

在好氧阶段,吸磷主要发生在反应的前 60 min. 随着 $\rho(P)/\rho(C)$ 的降低,单位污泥的吸磷速率(前 60 min) 逐渐降低,但在反应末,所有工况下的污泥都可将混合液中的磷吸尽. 其中, $\rho(P)/\rho(C)$ 为 2.9/100 的系统在前 60 min 的吸磷速率最大(0.42 $\text{mg}/(\text{g}\cdot\text{min})$);而 $\rho(P)/\rho(C)$ 为 0.29/100 时污泥的吸磷速率最小(0.05 $\text{mg}/(\text{g}\cdot\text{min})$). 在恢复阶段,虽然吸磷速率逐渐增加,但是恢复阶段 $\rho(P)/\rho(C)$ 为 2.9/100 的污泥较先前相同的 $\rho(P)/\rho(C)$ 条件下驯化所得的污泥,其前 60 min 的吸磷速率已减少了 65%.

如图 2(b) 所示,不同 $\rho(P)/\rho(C)$ 驯化污泥在厌氧阶段均可实现对 COD 的完全吸收,但是降解速率存在较大差异. $\rho(P)/\rho(C)$ 分别为 0.57/100 和 0.29/100 的驯化污泥,在 30 min 时 COD 基本已消耗殆尽;

而就 $\rho(P) / \rho(C)$ 分别为 2.9/100 和 1.4/100 的系统, COD 则是在 60 min 时才被基本吸收完全. 而在进水 $\rho(P) / \rho(C)$ 重新恢复升高过程, 驯化得到的微生物对 COD 的降解速率变慢, 在 120 min 时才基本将 COD 吸收完全.

如图 2(c) 所示, 各阶段污泥均可在厌氧条件下对糖原进行降解. 不论是聚磷污泥还是聚糖污泥其初期的聚糖含量没有较大差异. 在厌氧反应的前 30 min, 聚磷菌和聚糖菌对乙酸的吸收速率较快, 吸收乙酸合成 PHAs 所需的能量和还原力也较多, 糖原降解较快. 从图 2(c) 可见, $\rho(P) / \rho(C)$ 为 0.29/100 条件下驯化出的微生物对糖原的降解和合成量最多, 其吸收单位毫摩尔碳源所消耗的以碳计糖原量 (0.23 mmol/g) 较 $\rho(P) / \rho(C)$ 为 2.9/100 的污泥 (0.15 mmol/g) 升高了 0.5 倍. 此外, 在反应末时, $\rho(P) / \rho(C)$ 为 0.29/100 的胞内糖原的含量最高, 达到了 10.8 mmol/g.

2.4 污泥样品的 PCR-DGGE 图谱与相似性聚类分析

2.4.1 DGGE 图谱

图 3 中, 泳道 S1、S2、S3、S4、S5 和 S6 分别代表进水 $\rho(P) / \rho(C)$ 依次为 2.9/100、1.4/100、0.57/100、0.29/100、1.4/100 和 2.9/100 驯化所得的污泥样品, 其条带数分别为 11、14、12、7、11 和 13. 根据 DGGE 分离原理, 图谱中的每条带可代表 1 个可能的细菌类群或可操作分类单元 (operation taxonomy unit, OTU) [18], 由此可得, $\rho(P) / \rho(C)$ 下降时, 微生物种群多样性呈现先升高后降低的趋势; 而当恢复升高 $\rho(P) / \rho(C)$ 过程, 微生物种群多样性又逐渐升高.

2.4.2 多样性及相似性聚类分析结果

通过计算各样品的 Shannon 指数可得, 随着 $\rho(P) / \rho(C)$ 的变化, SBR 中微生物多样性指数基本呈现由高到低再到高的变化过程 (表 1). 但当 $\rho(P) / \rho(C)$ 从 2.9/100 降为 1.4/100 时, Shannon 指数反而略微有升高; 之后, $\rho(P) / \rho(C)$ 继续下降, Shannon 指数下降; 恢复 $\rho(P) / \rho(C)$ 后, Shannon 指数也逐渐上升.

各阶段微生物聚类分析结果见图 4, 图中横向距离表示差异的大小, 距离越近说明相似性越高. 比较各工况下的污泥样品可得: 前期 $\rho(P) / \rho(C)$ 分别为 2.9/100 和 1.4/100 时, 微生物种类的相似度很高; 后期 $\rho(P) / \rho(C)$ 为 1.4/100 和 2.9/100 时, 相似性也很高; 但是, 前期与后期 PAOs 富集系统的相似度极低. 而在 GAOs 富集的情况下, $\rho(P) / \rho(C)$ 0.57/100 与 0.29/100 的系统之间以及它们与 PAOs 系统之间的相似度均很低.

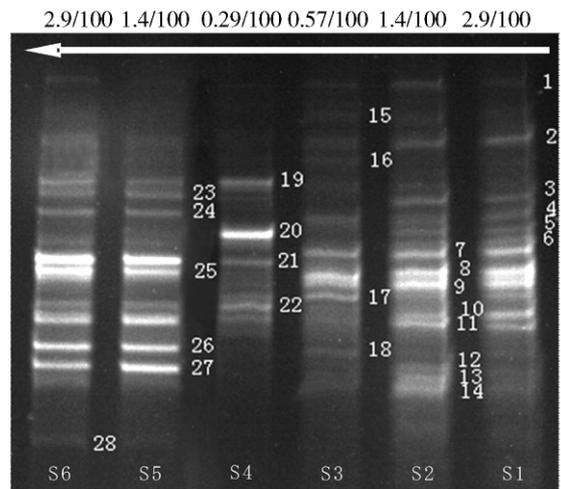


图 3 不同污泥样品 16S rDNA PCR-DGGE 分离结果
Fig. 3 16S rDNA separated by DGGE based on sludge-extracted DNA

表 1 总细菌样品 Shannon 指数

Table 1 The Shannon extrapolation analysis for the sludge sample

样品	S1	S2	S3	S4	S5	S6
Shannon 指数	3.31	3.61	2.99	1.99	2.95	3.18

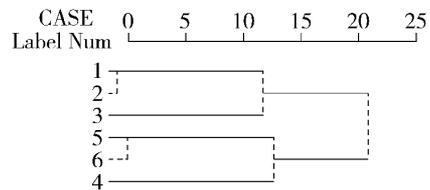


图 4 总细菌样品聚类分析图
Fig. 4 The Cluster analysis of DGGE profiles

3 讨论

A/O-SBR 长期的运行结果表明,随着进水 $\rho(P)/\rho(C)$ 的降低,单位污泥的厌氧释磷量 and 好氧吸磷量均逐渐下降,而除磷率则呈现先下降后上升的趋势(图1)。在 $\rho(P)/\rho(C)$ 降至 0.57/100 时,虽然还可观测到小幅厌氧释磷现象,但在好氧阶段微生物已无法将释放的磷吸尽,导致出水磷质量浓度高于进水磷质量浓度;最后,当 $\rho(P)/\rho(C)$ 降至 0.29/100 时,虽然磷的释放和吸收现象很不明显,但是去除率可高达 $79\% \pm 9.59\%$ (图1),此时磷的去除主要是通过微生物细胞生理合成所消耗,实际上微生物群体并未发生超过其生理功能的吸磷现象。

Saunders 等^[19] 和 Pijuan 等^[20] 报导,磷释放/碳源吸收比值可作为一个评价 EBPR 系统功能微生物活性的有效指标。从典型周期的试验结果计算可得(图2(a)和2(b)),在进水 $\rho(P)/\rho(C)$ 从大到小逐步降低过程,前 30 min 的磷释放/碳源吸收比值分别为 0.088 3、0.029 4、0.020 3 和 0.011 7。由此可判断, $\rho(P)/\rho(C)$ 为 2.9/100 时的 PAOs 量最多,随后是 $\rho(P)/\rho(C)$ 为 1.4/100 的情况;而当 $\rho(P)/\rho(C)$ 为 0.29/100 时,系统内已经含有较高比例的 GAOs,即 GAOs 已逐渐取代 PAOs 成为系统中的优势菌种。图 2c 结果也证明,在 $\rho(P)/\rho(C)$ 为 0.29/100 条件下,污泥对糖原水解和合成量已明显高于 $\rho(P)/\rho(C)$ 水平较高的污泥。这一结果和 Liu 的报导相符^[5-6],当 $\rho(P)/\rho(C)$ 小于 2/100,GAOs 较易成为优势菌种。

同时,通过 DGGE 图谱分析发现:在 $\rho(P)/\rho(C)$ 下降过程,即系统内主导微生物从 PAOs 到 GAOs 演变过程,微生物种群多样性呈现先升高后降低趋势(图3)。这说明在以乙酸为碳源的 EBPR 系统中,PAOs 与 GAOs 共存时微生物种群多样性最丰富,而 PAOs 富集的微生物系统又比 GAOs 富集的系统要丰富。我们判断,在 GAOs 系统中,磷元素量的不足($\rho(P)/\rho(C)$ 仅为 0.29/100)可能是限制该阶段微生物种群多样性的因素之一。从图3可见,各污泥样中均有条带 1、2 和 10,这表明它们是 PAOs 和 GAOs 优势系统中都有的微生物种群。条带 16、17 和 20 是 $\rho(P)/\rho(C)$ 为 0.29/100 和 0.57/100 所特有的,表明它们是 GAOs 的特征条带,其中条带 20 最亮,表明其所代表的微生物最多。而 $\rho(P)/\rho(C)$ 较高的 S1 和 S2 中均有条带 3、4、5、6、7、8、9 和 11,这些均为 PAOs 的特征条带。

在 $\rho(P)/\rho(C)$ 分别为 0.57/100 与 0.29/100 的富集 GAOs 的系统中,微生物种群的相似度很低(图4),这说明在 $\rho(P)/\rho(C)$ 由 0.57/100 降至 0.29/100 的过程中,微生物的种群结构已发生较为明显的变化;其中,前者与初期的 PAOs 系统种群更为相似。该变化可能是因为磷元素量的变化引起微生物种群发生了质变。

重新升高进水 $\rho(P)/\rho(C)$ 发现,系统的厌氧释磷量有所上升,前 60 min 的磷释放/碳源吸收比值分别为 0.019 1 和 0.041 4,除磷效果也开始好转(图1);厌氧阶段糖原的水解和合成量也逐渐下降(图2(e)),同时,微生物种群多样性有一定提高(图3)。但与先前的 PAOs 富集系统相比,释磷量未恢复至先前程度。相对来说,这一阶段的微生物种群与 $\rho(P)/\rho(C)$ 为 0.29/100 的微生物种群较为相似,但种群多样性明显更为丰富。值得注意的是,从 GAOs 富集系统恢复到 $\rho(P)/\rho(C)$ 升高以后的 PAOs 系统,其微生物种群与先前富集的 PAOs 系统内的微生物种群有很大差异(图3): S5、S6 中不仅有条带 7、10 和 11 等早期 PAOs 系统的条带,还有与 GAOs 系统相同的条带 19、21 和 22,更有 24、25、26 和 27 等新出现的条带。这表明从 GAO 富集系统中驯化得到的 PAO 微生物种群与先前的 PAOs 系统微生物种群存在一定差异,相似度也极低(图4)。同时也说明,PAOs 系统恶化后,系统的微生物种群难以完全恢复,条带的测序结果同样也支持了这一观点(未列出)。换句话说,EBPR 系统一旦因为进水磷负荷过低而导致聚糖菌富集、除磷功效恶化后,通过提高负荷,系统在一定程度上可以恢复对磷的去除,但微生物种群将会发生较大改变。

4 结束语

在以 PAOs 占优势的 SBR 强化生物除磷系统中,逐渐降低进水 $\rho(P)/\rho(C)$,系统的厌氧释磷量和吸磷量均逐渐降低,且 PAOs 逐渐丧失主导地位,而 GAOs 逐渐变为优势菌种。但通过调节提高磷负荷,经过

一段时间的驯化后,系统可恢复一定除磷功能,但无法恢复原来的微生物种群和结构。

在 A/O-SBR 系统中驯化获得的 GAOs 和 PAOs 微生物种群存在一定差异,其中,PAOs 的微生物种群比 GAOs 更为丰富,但两者共存时的微生物种群多样性最丰富。直接由污水厂污泥驯化培养获得的 PAOs 系统和由 GAOs 优势系统驯化而来的 PAOs 系统,两者的微生物种群有较大差异,相似度较低,且前者的微生物种群多样性更为丰富。

参考文献:

- [1] BROUGHTON A, PRATT S, SHILTON A. Enhanced biological phosphorus removal for high-strength wastewater with a low rbCOD: P ratio [J]. *Bioresource Technology*, 2008, 99(5): 1236-1241.
- [2] SEVIOUR R J, MINO T, ONUKI M. The microbiology of biological phosphorus removal in activated sludge systems [J]. *FEMS Microbiology Review*, 2003, 27(1): 99-127.
- [3] OEHMEN A, ZENG R J, YUAN Z, et al. Anaerobic metabolism of propionate by polyphosphate-accumulating organisms in enhanced biological phosphorus removal systems [J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2005, 91(1): 43-53.
- [4] 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(11): 2271-2300.
- [5] 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.
WANG Ya-yi, PENG Yong-zhen, PAN Mian-li, et al. Mechanism and the microbial community of glucose accumulation organisms (GAOs) in enhanced biological phosphorus removal processes [J]. *Journal of Harbin Institute of Technology*, 2008, 40(8): 1319-1324. (in Chinese)
- [6] LIU W, NAKAMURA K, MATSUO T, et al. Internal energy-based competition between polyphosphate- and glycogen-accumulating bacteria in biological phosphorus removal reactors-effect of P/C feeding ratio [J]. *Water Research*, 1997, 6(31): 1430-1438.
- [7] 王亚宜, 鲁文敏, 杨健, 等. 基于聚糖菌和聚磷菌竞争的代谢模型及影响因素 [J]. *环境科学学报*, 2009, 29(6): 1131-1138.
WANG Ya-yi, LU Wen-min, YANG Jian, et al. A metabolic model and impact factors based on competition between glycogen accumulating organisms and phosphorus accumulating organisms in wastewater treatment [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2009, 29(6): 1131-1138. (in Chinese)
- [8] LOPEZ-VAZQUEZ C M, OEHMEN A, HOOIJMANS C M, et al. Modeling the PAO-GAO competition: effects of carbon source, pH and temperature [J]. *Water Research*, 2009, 43(2): 450-462.
- [9] 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(1): 98-104.
- [10] OEHMEN A, SAUNDERS A M, VIVES M T, et al. Competition between polyphosphate and glycogen accumulating organisms in enhanced biological phosphorus removal systems with acetate and propionate as carbon sources [J]. *Journal of Biotechnology*, 2006, 123(1): 22-32.
- [11] LOPEZ-VAZQUEZ C M, SONG Y, HOOIJMANS C M, et al. Temperature effects on the aerobic metabolism of glycogen-accumulating organisms [J]. *Biotechnol Bioeng*, 2008, 101(2): 295-306.
- [12] OEHMEN A, VIVES M T, LU H, et al. The effect of pH on the competition between polyphosphate-accumulating organisms and glycogen-accumulating organisms [J]. *Water Research*, 2005, 39(15): 3727-3737.
- [13] SMOLDERS G J F, VAN DER MEIJ J, VAN LOOSDRECHT M C M, et al. Model of the anaerobic metabolism of the biological phosphorus removal process: stoichiometry and pH influence [J]. *Biotech Bioeng*, 1994, 43(6): 461-470.
- [14] 国家环境保护总局/水和废水监测分析方法委员会. 水和废水监测分析方法 [M]. 4版. 北京: 中国环境科学出版社, 2002: 243-285.
- [15] JENKINS D, RICHARD M G, DAIGGER G T. Manual on the causes and control of activated sludge bulking and foaming [M]. 2nd ed. New Jersey: Lewis Publishers, 2003: 79.
- [16] BOSSHARD P P, GRÜTER D, STETTLER R, et al. Bacterial diversity and community composition in the chemocline of the meromictic alpine Lake Cadagno as revealed by 16S rDNA analysis [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2000, 31(2): 173-

182.

- [17] MUYZER G, DE WAAL E C, UITTERLINDEN A G. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1993, 59(3): 695-700.
- [18] 苏俊峰, 马放, 王弘宇, 等. 利用 PCR-DGGE 技术分析生物陶粒硝化反应器中微生物群落动态 [J]. *环境科学学报*, 2007, 27(3): 386-390.
- SU Jun-feng, MA Fang, WANG Hong-yu, et al. Application of PCR-DGGE to resolve microbial diversity in bio-ceramic reactor [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2007, 27(3): 386-390. (in Chinese)
- [19] SAUNDERS A M, OEHMEN A, BLACKALL L L, et al. The effect of GAOs (glycogen accumulating organisms) on anaerobic carbon requirements in full-scale Australian EBPR (enhanced biological phosphorus removal) plants [J]. *Water Sci Technol*, 2003, 47(11): 37-43.
- [20] PIJUAN M, SAUNDERS A M, GUIASOLA A, et al. Enhanced biological phosphorus removal in a sequencing batch reactor using propionate as the sole carbon source [J]. *Biotechnol Bioeng*, 2004, 85(1): 56-67.

Influence of P/C Ratios on the Dynamic Changes of the Organism Community for the Sequencing Batch Reactor (SBR) Enhanced Biological Phosphorus Removal System

WANG Ya-yi¹, JIANG Fan¹, ZHANG Zhao-xiang¹, LI Xiao-wei¹, YANG Jian¹,
GAO Nai-yun¹, PENG Yong-zhen²

(1. State Key Laboratory of Pollution Control and Resources Reuse, College of Environmental Science and Engineering, Tongji University, Shanghai 200092, China; 2. Key Laboratory of Beijing for Water Quality Science and Water Environment Recovery Engineering, Beijing University of Technology, Beijing 100124, China)

Abstract: The effect of the different P/C ratios, i. e., 2.9/100, 1.4/100, 0.57/100, 0.29/100, 1.4/100 and 2.9/100, on the dynamic changes of the phosphorus removal as well as the organism community was examined in an anaerobic/aerobic sequencing batch reactor (A/O-SBR) system, affiliated with Polymerase Chain Reaction-denaturing Gradient Gel Electrophoresis (PCR-DGGE). Results showed that when the P/C ratio dropped (2.9/100 → 1.4/100 → 0.57/100 → 0.29/100) gradually, the P-release to substrate-uptake ratios decreased accompanied by an increase in the intracellular glycogen content. Also, the DGGE profiles showed that with the decrease of the influent P/C ratios the dominant microbial species increased from 11 operation taxonomy units (OTUs) to 14 OTUs, and then dropped to 7 OTUs. Judged from the biochemical characteristics of the SBR, it can be confirmed that the predominant microbial populations in the SBR had changed from PAOs to PAOs and GAOs co-exist, and finally to GAOs. For the last recovery period, the P-release to substrate-uptake ratios increased gradually with the decrease of the intracellular glycogen content, indicating that PAOs can be re-cultivated through regulating the influent P/C ratio, once GAOs had dominated the EBPR system. While, the DGGE profiles showed that the dominant species of PAOs re-cultivated from the GAOs-dominated system was different greatly from both the GAOs-dominated system and the initial PAOs-dominated system.

Key words: enhanced biological phosphorus removal (EBPR); P/C ratio; phosphorus accumulating organisms (PAOs); glycogen accumulating organisms (GAOs); PCR-DGGE; SBR

(责任编辑 张 蕾)