

强化生物除磷的机理模型研究进展*

吴光学 管运涛 蒋展鹏 师绍琪
(清华大学环境科学与工程系, 北京 100084)

摘要 主要论述了以乙酸盐及葡萄糖作为基质的强化生物除磷的相关机理模型。当以乙酸盐为底物时,重点需要明确导致工艺中微生物代谢模式差异的原因及厌氧条件下还原力供给方式的问题;当以葡萄糖为底物时,主要需要解决厌氧条件下供能方式以及各种微生物之间的关系。某些抑制条件(如供氧不足)可能会促进强化生物除磷效果的实现。强化生物除磷各种机理的差异主要由所驯化的优势微生物种类及其代谢模式不同而造成的。

关键词 强化生物除磷 聚磷菌 聚糖菌 产乳酸菌 机理模型

强化生物除磷(EBPR)工艺已在污水生物处理工艺中得到较好应用,但其作用机理一直未能得到明晰的结论。近年来由于分子生物学及先进化学分析手段的应用,对于生物除磷机理的认识在不断发展^[1,2],关于EBPR的机理模型已有相应的研究成果^[3],这将使得对生物除磷机理的认识更加深入。

本文主要以机理模型为主线,对国内外生物除磷的典型机理的研究现状进行概括性介绍。

1 基本生化机理

1.1 整体描述

EBPR技术的关键是使活性污泥在厌氧/好氧段之间循环往复,在此种运行模式的驯化作用下,活性污泥中的聚磷菌(简称PAO)在厌氧条件下的释磷量及在好氧条件下的摄磷量达到比普通活性污泥高3~7倍的程度,这种现象被称为聚磷菌的“过量”释磷或摄磷。随着厌氧/好氧过程的交替进行,PAO可以在活性污泥中形成稳定种属,并占据一定的优势来过量摄磷,从而使磷积聚于活性污泥中,并达到较高程度(好氧条件下所摄取的磷多于厌氧条件下所释放的磷),最后通过富磷生物体作为剩余污泥排放而达到去除污水中磷元素的目的。

1.2 厌氧条件

在无溶解氧和氧化态氮存在的厌氧条件下,对不具有以聚磷等作为能量来源的好氧菌和脱氮菌,因不能提供ATP作为生命代谢的能量,这类微生物便不能在缺乏能量来源的情况下摄取细胞外有机基质,即不能进行生命代谢活动,因而在此种状态下无法较好生存。PAO因能分解细胞内贮存的聚合物

(主要是聚磷,还有部分糖原)作为能量来源,摄取废水中适宜的有机物,并以聚- β -羟基烷酸酯(简称PHA)(主要包括聚- β -羟基丁酸酯,简称PHB和聚- β -羟基戊酸酯,简称PHV)及聚乳酸等有机颗粒的形式储存于细胞内。聚磷的分解将引起细胞内磷酸盐的积累,由于过多的磷酸盐不能全部用来进行生物体合成作用,所以部分磷酸盐将被相应的载体蛋白通过主动扩散方式排到胞外,使主体溶液中磷酸盐浓度升高,金属阳离子也被协同运输到胞外。

1.3 好氧条件

在好氧条件下,PAO利用溶解氧作为电子受体,进行氧化磷酸化作用,以体内贮存的PHA及污水中可利用的有机物作为碳源和能源,供细菌生长、合成糖原及积累聚磷。此过程可以观察到污泥细胞内PHA颗粒迅速减少,而聚磷颗粒迅速增加,即磷酸盐由废水向聚磷菌体内转移。

2 乙酸盐作为主要基质时的相关理论模型

2.1 具有EBPR作用的活性污泥系统

Wentzel等^[1]将以乙酸盐为主要基质的EBPR过程的相关生化机理模型总结为Comeau/Wentzel模型、Mino模型和改进Mino模型。这几种模型都以聚磷作为主要能量来源来摄取乙酸盐,合成的内存物质PHA主要为PHB,生化代谢过程的还原力通过各种糖解途径(包括糖酵解途径,简称EMP途径和2-酮-3-脱氧-6-磷酸葡萄糖途径,简称ED途径)和三羧酸循环(TCA途径)提供。模型主要是基于碳源物质的平衡和氧化还原平衡提出的,对于其中与代谢相关的酶等因素却没有较为详尽的描述,

第一作者:吴光学,男,1979年生,硕士,研究方向为水污染的控制技术与理论。

* 国家自然科学基金资助项目(No. 041307004)。

因而主要还是概念模型。

2.1.1 三种模型的核心思想

Comeau/Wentzel 模型^[1,4]认为,部分乙酸盐通过 TCA 途径降解以提供转化乙酰辅酶为丁酰辅酶所需的还原力(包括尼克酰胺腺嘌呤二核苷酸,简称 NADH 和尼克酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸,简称 NADPH);Mino 模型^[1,3]认为,厌氧条件下,碳水化合物(主要是细胞内贮存的糖原)通过 EMP 途径转化成为丙酮酸所产生的还原力 NADH 来合成内存物质 PHB;改进的 Mino 模型^[1]认为,还原力是通过 ED 途径消耗碳水化合物并将乙酸盐转化为 PHB 产生的。改进的 Mino 模型所认为的还原力产生方式与 Mino 模型认为的方式相比较,其对磷释放/乙酸盐摄取的影响是很明显的,因为通过 ED 途径降解 1 mol 糖原单体产生 2 mol 的 ATP,而通过 EMP 途径降解则提供了 3 mol 的 ATP^[5],所以前者转化乙酸盐为乙酰辅酶需要更多的聚磷分解以提供更多的能量,相应的 PAD 需要在好氧条件下合成更多的聚磷以维持其在特定环境中的代谢方式。

2.1.2 关于代谢途径及还原力的讨论

三种模型主要区别就是关于还原力来源问题的差异。还原力包括 NADH 和 NADPH 两种形态。实际上微生物能提供 NADPH 形式的还原力的生化途径还有磷酸戊糖途径(HMP)。许多微生物中 PHB 的形成过程是和 NADPH 相关联的,而不是和 NADH 耦合生成 PHB 的。因为前者形成的 D-(-)-3-羟基丁酰辅酶 A 能进一步转化为 PHB,而后者在许多微生物中形成的 L-(+)-3-羟基丁酰辅酶 A 不能直接形成 PHB,除非可以进一步通过一定的酶而转化形成 D-(-)-3-羟基丁酰辅酶 A 的前体物质^[6,7]。因此,关于 HMP 途径提供还原力的考虑也有一定的意义。

关于 HMP 途径的作用应该加入到相应的生化机理模型中。Pramanik 等^[8]认为,部分 HMP 中的反应确实是在厌氧阶段起作用,但总结部分又主要归于 ED 途径,没有单独把 HMP 作为一个完整的生化途径。其研究表明,厌氧阶段的可能途径包括糖解、TCA 和 HMP。

可以认为,厌氧阶段的反应是较为复杂的,不能由某单一途径概括完全,所以实际应用时,可以考虑建立一个较为全面的模型,包括所有可能的代谢途径,这也是和 EBPR 系统中生物多样性相对应,能更全面反应实际的情况。各种途径进行的程度则会随不同的运行工艺和不同的运行条件而有所差异,

这方面的研究可从微生物种类的角度出发,确定微生物单菌种所进行的生化代谢所具有的途径问题。

2.2 不具有 EBPR 作用的活性污泥系统

以乙酸盐为基质的厌氧/好氧交替工艺对于磷去除的机理研究尽管比较成熟,但笔者近来以乙酸盐为基质采用 SBR 工艺研究还发现,厌氧/好氧交替运行过程中存在另外一种微生物代谢模式:在厌氧条件下,微生物对于碳源基本没有去除,而主要是在好氧阶段初期得到较快去除,去除的碳源主要积累为 PHB,PHB 在好氧阶段后期被利用;对于氮、磷的去除也主要是在好氧阶段初期,此种方式并不具有过剩除磷的作用。这种现象在以前关于活性污泥积累 PHA 的研究中也有所提及^[9,10]。由此说明,厌氧/好氧交替运行也并不一定会驯化出具有过剩去除磷的系统,对这方面的认识有待进一步深入研究。

3 葡萄糖作为主要基质时的相关理论模型

当以葡萄糖作为惟一的基质时,主要存在两种不同的研究结果^[11~17]:能有效进行生物除磷的系统,不能进行生物除磷的系统。

3.1 具有 EBPR 的活性污泥系统

Carucci 等^[11]的研究表明,EBPR 能在除小分子挥发性脂肪酸(VFAs)基质以外的其他有机基质存在下成功地运行(如蛋白质和葡萄糖的混合物,或只是葡萄糖)。这种现象表明,需要考虑不同的生化代谢途径,因为在此生化途径中乙酸盐和 PHA 的作用可能不是如传统所认为的那么重要。基于此种情况考虑,Tracy 等^[12]所假定的以葡萄糖为基质时 EBPR 的生化途径:以聚磷的降解作为能量来源,允许直接摄取基质并贮存为糖原可能是较为合理的。另外,Wang 等^[13]的研究表明,在以葡萄糖为主要基质的情况下能够有效地进行除磷作用,但和传统的以乙酸盐为基质的生物除磷系统相比较而言,厌氧条件下磷酸盐释放较少,而且 PHA 主要是以 PHV 为主,由此提出相应的假说认为,PHV 主要是平衡厌氧条件下细胞内部氧化还原平衡,葡萄糖主要是通过 ED 途径降解,聚磷降解提供摄取葡萄糖的能量。

Jeon 等^[14]的研究表明,葡萄糖消失和糖原积累发生的很快,但是释放磷酸盐及合成 PHA 与 TOC 浓度有关,与葡萄糖浓度不相关。用 C¹³标记的葡萄糖来研究葡萄糖的趋向,结果表明,由葡萄糖为基质的 EBPR 系统是由两类不同的细菌类型来完成的,即产乳酸菌(简称 LPO)和 PAO。首先是 LPO 在细

胞内积累葡萄糖为糖原,能量来源为糖类物质的乳酸发酵而不是聚磷的降解,这也是造成厌氧阶段开始 pH 降低的原因,积累的糖原在厌氧阶段转化为细菌贮存物质,其中部分为 PHA;其次是 PAO 转化 LPO 产生的乳酸盐为 PHA,此过程能量来源为聚磷的降解,这一过程与传统认为葡萄糖类物质需要首先转化为 VFAs 然后再被 PAO 利用的观点是有区别的,所以说 PAO 所能利用的有机基质还是比较复杂的。

3.2 不具有 EBPR 的活性污泥系统

作为另一种结果,当以葡萄糖作为主要基质时,较长时间没有 EBPR 作用运行的原因现今也主要存在两种情况:一是葡萄糖被一种称之为聚糖菌(简称 GAO)^[13,16]的微生物所代谢而导致没有除磷的作用,此种菌能够在厌氧条件下摄取有机碳源并积累为 PHA,在此过程中利用糖原降解提供能量和还原力,而不是利用聚磷作为能量来源,同时细菌能积累聚糖而不是聚磷,所以其不具有过剩摄取磷的特性。Liu 等^[17]的研究表明,GAO 利用外源葡萄糖作为能源物质摄取有机基质比利用内部糖原物质更为有利;二是碳源物质主要被贮存为糖原,较少部分被用于厌氧生长,而能量来源主要是乳酸发酵^[11],所以系统不能利用聚磷作为能量来源进而具有 EBPR 的作用。

3.3 氧气抑制情况

Carucci 等^[18]研究以葡萄糖为基质实验的过程中由于某阶段运行问题导致延时曝气,结果使系统开始具有较好的生物除磷作用;Nakamura 等^[19]利用微好氧(表曝)生长条件诱发了 PAO 的生长。对于这方面的现象,至今还不能给出很好的解释,因此也没有阐明是什么条件引发一种代谢方式向另一种方式转化。可能的原因是在氧气不充足的情况下,生物代谢有机基质产生的能量相对较少,好氧菌生长会受到抑制,所以能够利用其他供能方式的微生物如 PAO,由于其本身能利用内存物质如聚磷作为能量来源进行生命代谢活动,因此在此抑制条件下受到诱导而成为优势菌种,促使系统具有去除磷的作用。另外,微生物处于非稳态条件下(如不断经过厌氧/好氧或者高基质浓度与低基质浓度)出现贮存现象也是其适应环境的一种生理机理^[20,21],所以通过此种方式诱发能积累内存物质的 PAO 的生长也是可能的,但这方面的内容还需要进一步深入研究。

3.4 讨论

如上所述,EBPR 系统也可以以 VFAs 以外的

基质进行除磷作用,这和传统的认识是有差异的。但是利用葡萄糖作为基质时所存在的机理还是处于初步研究阶段,尤其是缺乏实际的强有力证明材料,所以深入研究 EBPR 系统,利用除乙酸盐以外的基质的情况还是十分必要的。当以葡萄糖等为主要基质时,是否具有 EBPR 作用,关键问题是微生物摄取有机基质过程中是以何种物质来提供能量来源,当以聚磷作为能量来源时则具有 EBPR 作用;当以糖原或聚乳酸盐类物质作为能量来源时则不具有 EBPR 的作用。因此,进一步研究其能量供给的方式及控制合适供能方式的措施是有必要的。同时,需要注意的是利用乙酸盐以外的基质时存在的机理可能会因基质不同而有差异。

4 结 语

EBPR 系统是一个相对较为复杂的生态系统,其所包含的微生物种类、细菌积累的内聚物种类、微生物所利用的基质种类及代谢所利用的生化途径等都是多样性的,这方面仍需深入研究。EBPR 系统中微生物种群之间的关系不但存在 PAO 与相似的 GAO 之间的竞争,还存在产乳酸菌与 PAO 之间的协同关系等。一定的抑制条件(如供氧不足)能够引发 EBPR 作用的产生,但是其作用机理还需进一步研究。EBPR 主要是通过聚磷作为能量来源来实现的,需要进一步研究控制微生物种群利用能量方式的措施,尽量减少利用糖原或者乳酸盐发酵来作为能量来源。

参考文献

- 1 Wentzel M C, Lotter L H, Ekama G A, et al. Evaluation of biochemical models for biological excess phosphorus removal. *Wat. Sci. Tech.*, 1991, 23(4~6):567~576
- 2 Mino T, Van Loosdrecht M C M, Heijnen J J. Microbiology and biochemistry of the enhanced biological phosphate removal process. *Wat. Res.*, 1998, 32(11): 3193~3207
- 3 Seviour R J, Takashi M, Motoharu O. The microbiological phosphorus removal in activated sludge systems. *FEMS Microbiology Reviews*, 2003, 27(1):99~127
- 4 Comeau Y, Hall K J, Hancock R E W, et al. Biochemical model for enhanced biological phosphorus removal. *Wat. Res.*, 1986, 20(12): 1511~1521
- 5 Maurer M, Gujer W, Hany R, et al. Intracellular carbon flow in phosphorus accumulating organisms from activated sludge systems. *Wat. Res.*, 1997, 31(4): 907~917
- 6 Yamane T. Yield of poly-D(-)-3Hydroxybutyrate from various carbon sources; a theoretical study. *Biotechnology and Bioengineering*, 1993, 41(1): 165~170
- 7 雷特迪吉, 克里斯蒂森. 生物技术导论. 北京: 科学出版社, 2002
- 8 Pramanik J, Trelstad P L, Schuler A J, et al. Development and validation of a flux-based stoichiometric model for enhanced bio-

- logical phosphorus removal metabolism. *Wat. Res.*, 1999, 33(2): 462~476
- 9 Satoh H, Iwamoto Y, Mino T, et al. Activated sludge as a possible source of biodegradable plastic. *Wat. Sci. Tech.*, 1998, 38(2): 103~109
 - 10 Takabatake H, Satoh H, Mino T, et al. PHA (polyhydroxyalkanoate) production of activated sludge treating wastewater. *Wat. Sci. Tech.*, 2002, 45(12): 119~126
 - 11 Carucci A, Lindrea K, Majone M, et al. Different mechanisms for the anaerobic storage of organic substrates and their effect on enhanced biological phosphorus removal. *Wat. Sci. Tech.*, 1999, 39(6): 21~28
 - 12 Tracy K D, Flammino A. *Advances in water pollution control: Biological phosphate removal from wastewater*. Oxford: Pergamon Press, 1987. 15~26
 - 13 Wang N D, Peng J, Hill G. Biological model of glucose induced enhanced biological phosphorus removal under anaerobic condition. *Wat. Res.*, 2002, 36(1): 49~58
 - 14 Jeon C O, Park J M. Enhanced biological phosphorus removal in a sequencing batch reactor supplied with glucose as a sole carbon source. *Wat. Res.*, 2000, 34(7): 2160~2170
 - 15 Cech J S, Hartman P. Competition between polyphosphate and polysaccharide accumulating bacteria in enhanced biological phosphate removal systems. *Wat. Res.*, 1993, 27(7): 1219~1225
 - 16 Satoh H, Mino T, Matsuo T. Deterioration of enhanced biological phosphorus removal by the domination of microorganisms without polyphosphate accumulation. *Wat. Sci. Tech.*, 1994, 30(6): 203~211
 - 17 Liu W T, Takashi M, Kazunori N, et al. Glycogen accumulating population and its anaerobic substrate uptake in anaerobic-aerobic activated sludge without biological phosphorus removal. *Wat. Res.*, 1996, 30(1): 75~82
 - 18 Carucci A, Lindrea K, Majone M, et al. Dynamics of the anaerobic utilization of organic substrates in an anaerobic/aerobic sequencing batch reactor. *Wat. Sci. Tech.*, 1995, 31(2): 35~43
 - 19 Nakamura K, Masuda K, Mikami E. Isolation of a new type of polyphosphate accumulating bacterium and its phosphate removal characteristics. *J. Ferment. Bioeng.*, 1991, 71(4): 258~263
 - 20 Daigger G T, Grady Jr C P L. The dynamics of microbial growth on soluble substrates. *Wat. Res.*, 1982, 16(4): 365~382
 - 21 Van Loosdrecht M C M, Pot M A, Heijnen J J. Important of bacterial storage polymers in bioprocesses. *Wat. Sci. Tech.*, 1997, 35(1): 41~47

责任编辑: 闵 怀 (修改稿收到日期: 2004-04-26)

(上接第249页)

$$k = A \exp(-18596/RT) [\text{OH}^-]^{0.0389} \quad (8)$$

将所有试验条件下的结果带入上式求取指前因子 A 值, 可得 $\ln A$ 的平均值为 9.38, 故 $A = 11849$ 。

把值代入(8)式, 可得:

$$k = 11849 \exp(-18596/RT) [\text{OH}^-]^{0.0389} \quad (9)$$

由上式可以看出, $\text{pH}([\text{OH}^-])$ 对于速率常数的影响不太大 ($\alpha = 0.0389$), 但是也不能够忽视它。

3 结 论

(1) 对于臭氧氧化水中 2,4-D 的反应, 当 pH 在 2.10~10.99 范围内, pH 升高有利于反应, 但影响不大; 在 10~30 °C 的范围内, 温度越高, 去除效果越好; 2,4-D 去除率与气体流量 (即臭氧投加量) 成正相关; 2,4-D 去除率与 2,4-D 初始浓度成负相关。

(2) 反应的中间产物有二氯苯酚、对氯苯酚、对苯醌、氯代苯醌、丁烯二酸; 最终产物有醋酸、甲酸、草酸和氯离子。

(3) 臭氧氧化去除 2,4-D 的过程对 2,4-D 符合一级反应动力学, 反应速率常数与温度和 pH 的关系为: $k = 11849 \exp(-18596/RT) [\text{OH}^-]^{0.0389}$, 反应活化能 E_a 为 18.596 kJ/mol。

参考文献

- 1 Matsumura F, Murti C R K. Biodegradation of pesticide. *New* • 262 •

- York: Plenum Press, 1982. 91~111
- 2 Pichat J, D'Oliveira J C, Maffre J F, et al. Destruction of 2,4-D in water by TiO_2 -UV, H_2O_2 -UV or direct photolysis. *Photocatalytic purification and treatment of water and air*. Amsterdam, New York: Elsevier Science Publisher, 1993. 683~687
- 3 Foster D M, Rachwal A J, White S L. New treatment processes for pesticides and chlorinated organics control in drinking water. *J IWEM*, 1991, 5: 466~477
- 4 Rice R G, Cotruvo J A. Ozone/chlorine dioxide, oxidation products of organic materials. Cleveland, OH: Ozone Press International, 1978. 490
- 5 Johnson J D, Jensen J N. THM and TOX formation: routes, rates, and precursors. *J. Am. Water Works Assoc.*, 1986, 78: 156~162
- 6 Means E G, Krasner S W. D-DBP regulation: issues and ramifications. *J. Am. Water Works Assoc.*, 1993, 85: 68~73
- 7 Miltner R J, Shukairy H M, Summers R S. Disinfection byproduct formation and control by ozonation and biotreatment. *J. Am. Water Works Assoc.*, 1992, 84: 53~62
- 8 Upham B L, Yao J J, Trosko J E, et al. Determination of the efficacy of ozone treatment systems using a gap junction intercellular communication bioassay. *Environ. Sci. Technol.*, 1995, 29: 2923~2928
- 9 李金昶, 王 璐. 固相萃取富集高效液相色谱法测定苯氧乙酸和 2,4-二氯苯氧乙酸. *分析化学研究简报*, 2001, 29(5): 580~582
- 10 Bader H, Hoigne J. Determination of ozone in water by the indigo method. *Wat. Res.*, 1981, 15: 449~456

责任编辑: 陈泽军 (修改稿收到日期: 2003-11-25)