

自养硝化污泥除磷能力研究

南亚萍^{1,3}, 袁林江^{1,3}, 赵倩¹, 李扬扬², 王晓昌^{1,3}

(1. 西安建筑科技大学环境与市政工程学院, 陕西 西安 710055; 2. 陕西省环境监测中心站, 陕西 西安 710054;
3. 西部建筑科技国家重点实验室(筹), 陕西 西安 710055)

摘要:采用静态试验对自养硝化污泥的除磷特性进行研究. 分别提供氨、无机碳源和氨、无机碳源三种营养条件, 考察了厌氧—好氧交替环境下硝化细菌摄取磷酸盐的情况. 结果表明:在与聚磷菌的运行模式相对应的条件下, 硝化污泥无除磷效果;通过染色观察, 硝化细菌体内几乎没有 PHB 颗粒及异染颗粒;按照传统聚磷菌除磷模式培养硝化细菌未表现出明显的除磷特性. 论文从能量利用、营养类型及培养条件等方面对该现象和产生的原因进行了分析.

关键词:硝化细菌;自养;PHB;聚磷颗粒;除磷

中图分类号:X703

文献标志码:A

文章编号:1006-7930(2011)04-0529-06

废水除磷是防止水体富营养化的有效工程手段. 由于废水生物除磷易于和废水中有机物的去除相结合, 且成本低而被广泛应用. 生物除磷是利用聚磷菌在厌氧好氧交替运行条件下, 厌氧时从水中吸收乙酸盐等挥发性脂肪酸, 并由糖原分解产生还原力, 合成生成 PHB, 在好氧条件下, 分解 PHB, 并过量吸收水体中磷酸盐在细胞内形成聚磷颗粒, 同时也生成糖原, 然后通过排除污泥来实现废水中磷的去除.

最初认为只有一些特定的细菌即聚磷菌可以在细胞内形成聚磷颗粒, 但在对聚磷颗粒研究中发现, 很多原核、真核生物体内甚至高等动物体内都含有聚磷颗粒^[1-3], 聚磷颗粒在原核生物体内所起的作用主要是储存能量和提供磷源, 在 ATP 或磷酸盐供应不足时聚磷颗粒可以分解释放能量供生物生长, 并同时提供磷酸盐^[4]. 但是目前发现的细胞内含有聚磷颗粒的生物都是异养型生物, 对自养型生物含有聚磷颗粒的研究很少, 也有报道认为某些硝化菌是聚磷菌^[5-7]. 从生物能量利用角度分析, 只要有过剩的能量供给, 自养生物细胞内出现内含物也是有可能的^[8], 目前也发现光能自养的蓝细菌^[9]和化能自养的氢氧化细菌在一定条件下在体内可以积聚 PHB 和糖元等内含物^[10-11]. 因此有可能硝化细菌在某些条件下也能形成生物除磷所需 PHB 和聚磷颗粒, 起到生物除磷的作用.

在污水生物处理工程实践中, 现在污水处理过程中通常要考虑同时脱氮除磷, 但是生物脱氮除磷所需微生物是不同的, 各类微生物所需条件也不同. 因此, 在工程实际运行中要针对不同微生物提供不同的条件, 必将增加污水处理成本. 根据前面文献报道, 如果硝化细菌能生成聚磷颗粒并具备除磷功能, 在以后工程实践中可以使脱氮除磷过程由一类微生物在一种条件下完成, 这对于污水脱氮除磷工艺控制、减少建设及运行成本等方面具有重要意义.

本试验针对自养硝化污泥中硝化细菌, 给其提供一般聚磷菌聚磷时所需的厌氧好氧环境, 检测其是否产生聚磷必备的 PHB 并生成聚磷颗粒, 探讨硝化细菌是否具有除磷能力, 并试图探讨生物具有形成聚磷颗粒潜力是否是生物普遍规律, 同时进一步揭示生物聚磷机理及本质.

1 试验部分

1.1 试验材料

1.1.1 试验用硝化污泥

接种污泥为西安市邓家村污水处理厂的好氧曝气池污泥, 采用 SBR 装置, 以 A/O 方式运行, 添加

*收稿日期:2011-02-22 修改稿日期:2011-06-25

基金项目:国家自然科学基金资助项目(50878180);教育部新世纪优秀人才支持计划项目(NCET-07-0659)

作者简介:南亚萍(1976-), 女, 陕西户县人, 讲师, 博士研究生, 主要从事污水生物处理研究.

不含碳源的人工配水运行培养一段时间至达到稳定的氨氮去除效果,然后通过加入有机碳源,检测当不具有利用有机碳能力但又有高的氨氮去除效果时,认为此时该反应器中污泥为自养硝化细菌为主的污泥。

1.1.2 废水

采用人工配水,主要成分是氯化铵、磷酸二氢钾,并含钙、镁等微量元素,各主要成分浓度为 NH_4^+-N :200 mg/L, $\text{PO}_4^{3-}-\text{P}$:7 mg/L,碱度(以 HCO_3^- 计)1 700 mg/L。

1.2 试验方法

1.2.1 静态试验

采用三组试验(分别记为 1#、2# 和 3#)同步进行,每组的试验方法和运行模式相同,均为 6 h 一周期,每周期进水厌氧搅拌 150 min-好氧曝气 180 min-排水静置 30 min,但使用的配水成分不同,各组试验配水成分及浓度见表 1。

从已经运行稳定、完成硝化细菌富集的反应器中分别取出 3 份 1 000 mL 混合液,离心分离,用无菌水清洗后再次离心,该步骤重复 3 次。然后将泥样分别置入 3 个烧杯中,加入人工废水至混合液总体积为 1 000 mL,三组烧杯同时运行进行试验。在运行 28 个周期污泥达到稳定状态后取样,在一个运行周期中厌氧及好氧阶段各起始点、结束点分别测定 NH_4^+-N 和 $\text{PO}_4^{3-}-\text{P}$ 的浓度。

1.2.2 菌体的染色观察

在一个运行周期中分别取厌氧段和好氧段起始点及结束点的活性污泥泥样进行 PHB 颗粒苏丹黑染色和聚磷颗粒吕氏亚甲基蓝染色分析^[12]。

1.2.3 分析方法

按照《水和废水监测分析方法》标准分析方法^[13], $\text{PO}_4^{3-}-\text{P}$ 采用钼锑抗分光光度法; NH_4^+-N 采用纳氏试剂分光光度法。

2 结果与讨论

2.1 提供碳酸氢钠、氨与磷酸盐营养条件下除磷特性分析

在提供碳酸氢钠、氨与磷酸盐营养条件下,连续运行 7 d 硝化污泥磷酸盐及 NH_4^+-N 浓度变化见图 1。

1. 一个周期内 PO_4^{3-} 与 NH_4^+-N 浓度变化见图 2。

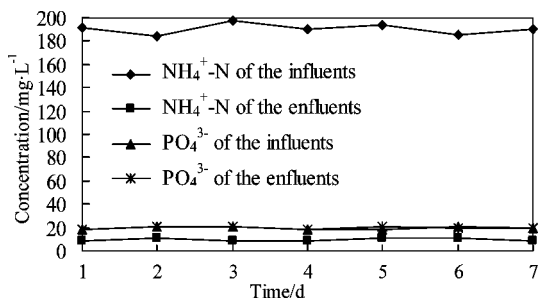


图 1 连续运行中 PO_4^{3-} 与 NH_4^+-N 浓度变化图

Fig. 1 PO_4^{3-} and NH_4^+-N concentrations in continuous operating

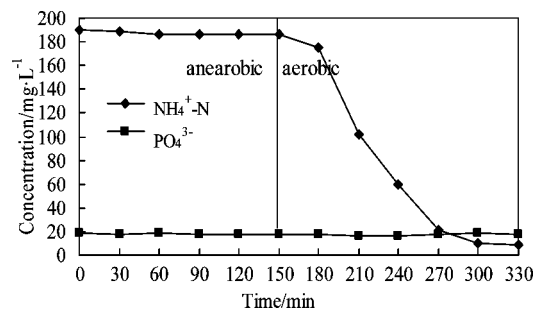


图 2 一个周期内 PO_4^{3-} 与 NH_4^+-N 浓度变化

Fig. 2 PO_4^{3-} and NH_4^+-N concentrations in one operating cycle

由图 1 可知,在提供碳酸氢钠、氨与磷酸盐营养条件下,硝化污泥在厌氧-好氧交替条件下连续运行 7 d,进水中磷酸盐的浓度基本无变化,表明在此过程中磷酸盐并未去除,因此硝化细菌在此条件下无除磷能力。而此过程中,出水氨氮浓度很低,证明氨氮去除效果很好。

由图2可知,在一个周期中,磷酸盐的浓度始终与进水浓度基本一致,保持在20 mg/L左右,表明在此过程中,磷并未得到去除.在厌氧段起始点 NH_4^+-N 浓度为189.92 mg/L,厌氧段结束时, NH_4^+-N 浓度为186.215 mg/L,在厌氧段氨氮并无去除.进入好氧段后,氨氮浓度快速下降,好氧段结束时,氨氮明显去除.表明好氧段硝化细菌进行了氨氧化反应,理论上该反应会放出能量,能量一部分用于细胞自身生长,也可能用于形成内含物储存能量.但由图中磷酸盐浓度变化可知,在此过程中,水中磷浓度基本无变化,证明硝化菌并未利用此能量聚磷使水中磷浓度下降,因此硝化菌未表现出一般聚磷菌好氧厌氧交替环境下除磷的特性.

2.2 提供碳酸氢钠与磷酸盐营养条件下除磷特性分析

提供碳酸氢钠与磷酸盐营养条件下,连续运行7 d 硝化污泥磷酸盐的浓度变化见图3.一个周期内磷酸盐的浓度变化见图4.

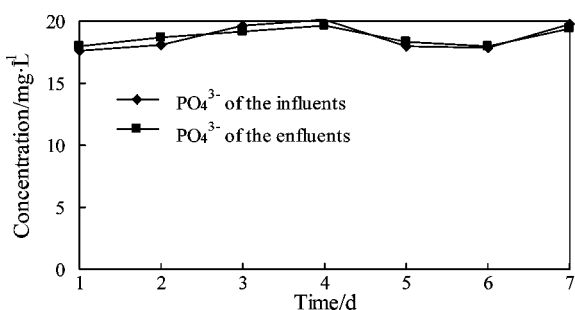


图3 连续运行中 PO_4^{3-} 浓度变化图

Fig. 3 PO_4^{3-} concentrations in continuous operating

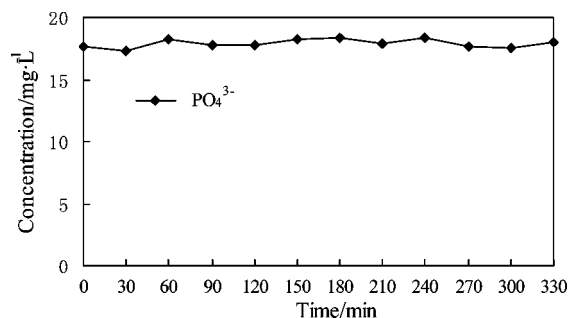


图4 一个周期内 PO_4^{3-} 浓度变化

Fig. 4 PO_4^{3-} concentrations in one operating cycle

由图3看出,提供碳酸氢钠与磷酸盐营养条件下,厌氧-好氧交替环境下连续运行7 d,进出水中磷酸盐的浓度基本不变,表明在此过程中磷酸盐并未去除,因此硝化细菌在此条件下也无除磷能力,因此认为硝化细菌在磷的利用上未出现与传统聚磷菌相类似的情况.

由图4看出,提供碳酸氢钠与磷酸盐营养条件下,一个周期内,厌氧段末磷酸盐浓度为17.8 mg/L,与厌氧段起始时磷酸盐浓度17.6 mg/L相比几乎无变化,而好氧阶段结束时磷浓度18 mg/L,与厌氧阶段相比也几乎无变化.因此,在整个周期内,硝化细菌并不利用磷.

2.3 提供氨与磷酸盐营养条件下除磷特性研究

提供氨与磷酸盐营养条件下,连续运行7 d 硝化污泥磷酸盐及 NH_4^+-N 浓度变化见图5.一个周期内 PO_4^{3-} 与 NH_4^+-N 浓度变化见图6.

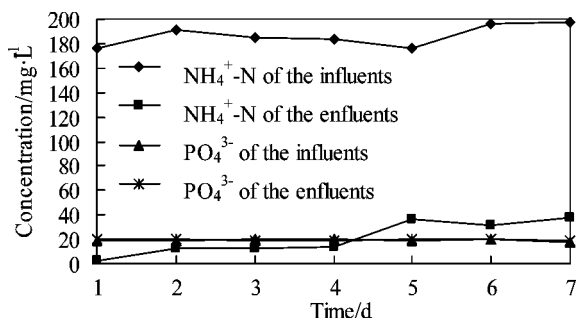


图5 连续运行中 PO_4^{3-} 与 NH_4^+-N 浓度变化图

Fig. 5 PO_4^{3-} and NH_4^+-N concentrations in continuous operating

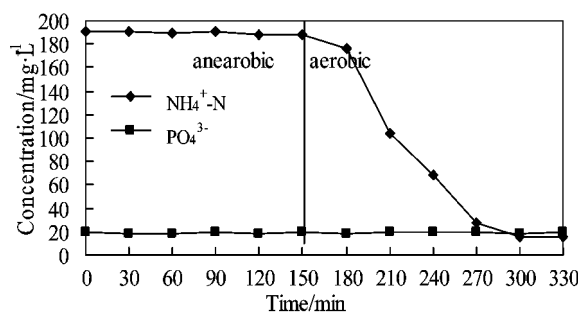


图6 一个周期内 PO_4^{3-} 与 NH_4^+-N 浓度变化

Fig. 6 PO_4^{3-} and NH_4^+-N concentrations in continuous operating

由图5可知,提供氨与磷酸盐营养条件下,连续运行7 d,进出水中的磷酸盐浓度基本无变化,氨氮去除效果一直很好,证明在此营养条件下硝化污泥仍然无除磷能力,仍然只表现出硝化细菌本身的脱氮能力.

由图 6 可知,在一个周期内,厌氧段起始时直到好氧段末,磷酸盐浓度几乎无变化。 NH_4^+-N 浓度从最初的 190.976 mg/L 下降到好氧末的 13.182 mg/L. 但从图可看出氨氮去除主要是在好氧段,而厌氧段中并未去除氨氮. 说明好氧段硝化细菌进行了氨氧化反应,但在此反应过程中,水中磷浓度基本无变化,证明硝化菌并不能使水中磷浓度下降,因此硝化菌未表现出一般聚磷菌好氧厌氧交替环境下除磷的特性.

由以上分析亦可看出,采用不同营养条件厌氧好氧交替条件下培养的硝化污泥,培养废水中磷酸盐的浓度始终没有显著变化,表明硝化细菌无明显的除磷性能.

2.4 菌体的染色观察结果分析

硝化污泥 PHB 颗粒和聚磷颗粒染色结果见图 7-9.

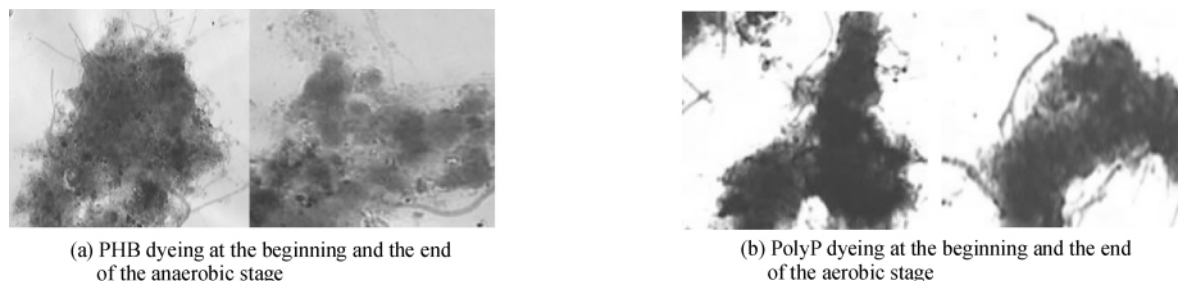


图 7 1# 烧杯硝化污泥 PHB 和聚磷颗粒染色结果

Fig. 7 PHB and polyP dyeing of 1# nitrifying sludge

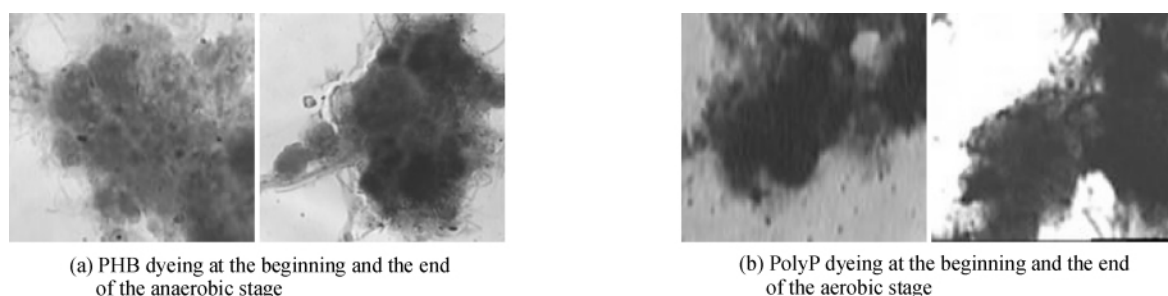


图 8 2# 烧杯硝化污泥 PHB 和聚磷颗粒染色结果

Fig. 8 PHB and polyP dyeing of 2# nitrifying sludge

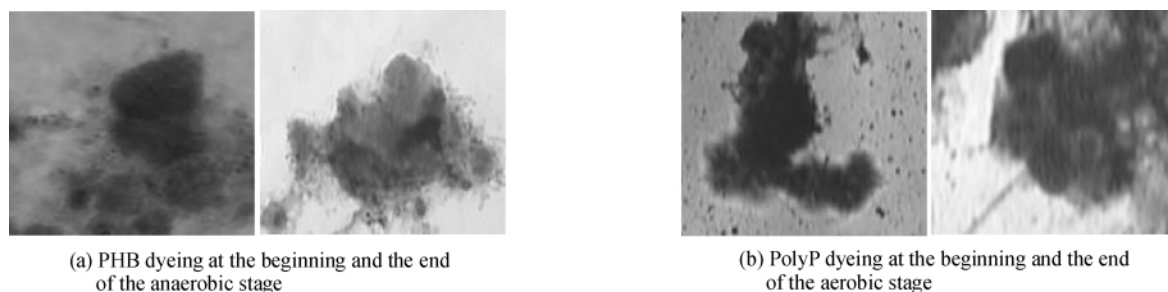


图 9 3# 烧杯硝化污泥 PHB 和聚磷颗粒染色结果

Fig. 9 PHB and polyP dyeing of 3# nitrifying sludge

由图 7-9 可知,厌氧始末、好氧始末及好氧末与厌氧末比较,硝化细菌中的 PHB 颗粒与异染颗粒染色结果并无明显区别,证明在此厌氧好氧交替环境下运行的硝化污泥并不生成 PHB 或聚磷颗粒. 这与一般除磷过程中聚磷菌的染色结果不同.

2.5 讨论

众多聚磷菌聚磷机理研究表明,能够进行生物除磷的聚磷菌(PAO)是异养菌,而现在也发现有些细菌在缺氧条件下有硝酸盐存在时也会发生除磷作用,这类生物称为反硝化聚磷菌^[14]. 反硝化聚磷菌

在生物除磷工程中同硝化细菌共同作用,使水中的氨氮最终转变成氮气从水中去除.而从本实验结果可知硝化细菌并不具备在脱氮同时生成聚磷颗粒除磷的能力.

试验中也未出现任何可见的常规聚磷必备的 PHB、聚磷颗粒等内含物现象,其原因可从能量产生及利用、硝化细菌营养类型两方面解释:

(1)根据 Wilkinson 的理论^[8],当生物从外界得到的能量大于生物生长所需时就能够积累代谢产物. Kenji Tanaka^[15]在研究真氧产碱杆菌细胞生长和积累 PHB 的过程中也发现,在 PHB 积累过程中需要消耗的 ATP 是细胞生长需要 ATP 的 1.5 倍.本实验结果显示:化能自养硝化细菌在厌氧条件下培养,有氨氮存在时,氨氮浓度并无下降,因此厌氧过程并不发生氨氧化,从而厌氧时也无能量产生,也不会产生 PHB,好氧培养条件下硝化污泥发生了氨氧化作用,此过程产生能量,但在此过程中也无聚磷颗粒生成,证明其氨氧化过程中产能慢并只能满足自身细胞的生长,并没有多余能够储存的能量供其合成内含物质.

(2)在目前认识到的能够聚磷的微生物中,都是异养型的微生物,自养菌其聚磷代谢机理可能和自养代谢不同,因此自养的硝化细菌也可能不能出现聚磷特性.而自养生物磷代谢机理还有必要进一步研究.

但是在研究蓝细菌生成 PHB 时也发现^[9],强光照射给其提供足够能量来源时,也可以使其产生 PHB.众多生物聚磷研究中也发现,聚磷现象通常会在一些生物生长不利环境下发生,如氮源缺乏^[4]、渗透压过大等^[16],本试验为硝化细菌提供一般聚磷菌聚磷所需厌氧好氧环境时,并未提供可能聚磷的其他环境,也可能造成硝化细菌不能聚磷.因此,对于硝化细菌是否能够聚磷,在什么样条件下能够聚磷还有待进一步研究.

3 结 论

在提供氮源与磷源、无机碳源与磷源、氮源、无机碳源与磷源营养条件下,厌氧—好氧交替环境下硝化细菌无除磷效果,通过染色观察,该硝化细菌体内几乎没有 PHB 颗粒及异染颗粒.按照传统聚磷菌除磷模式培养的硝化细菌未表现出明显的吸磷特性.难以断定硝化菌是聚磷菌.

参考文献 References

- [1] KIM K S, RAO N N, FRALEY C D, et al. Inorganic polyphosphate is essential for long-term survival and virulence factors in *Shigella* and *Salmonella* spp[J]. PNAS, 2002, 99(11): 7675-7680.
- [2] ZHANG H, MARÍA R, Gómez-García, et al. Polyphosphate kinase 1, a conserved bacterial enzyme in a eukaryote *Dictyostelium discoideum* with a role in cytokinesis[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2007, 104(42): 16486-16491.
- [3] KUMBLE K D, KORNBERG A. Inorganic polyphosphate in mammalian cells and tissues[J]. J Bio Chem, 1995, 270: 5818-5822.
- [4] KORNBERG A, RAO N N, AULT-RICHE D. Inorganic polyphosphate: A molecule of many functions Annual Review of Biochemistry[J]. Proquest Science Journals, 1999(68): 89-125.
- [5] NICHOLLS H A, OSBORN D W. Bacterial Stress: Prerequisite for biological removal of phosphorus[J]. Water Pollution Control Federation, 1979, 51(3): 557-561.
- [6] 周群英, 高廷耀. 环境工程微生物学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2002.
ZHOU Qun-ying, GAO Ting-yao. Environmental Engineering Microbiology[M]. Beijing: Higher Education Press, 2002.
- [7] 张 伟. 硝化细菌的富集培养及氨单加氧酶基因片段的 PCR 扩增[D]. 杭州: 浙江大学, 2002.
ZHANG Wei. The enrichment of nitrifying bacteria and amplification of ammonia-monooxygenase (amoA) gene[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2002.
- [8] PREISS J, ROMEO T. Physiology, biochemistry and genetics of bacterial glycogen synthesis[J]. Adv Microb Physiol, 1989(30): 183-238.
- [9] 吴桂芳, 吴庆余, 沈忠耀. 培养条件对蓝细菌生长及 PHB 积累的影响[J]. 清华大学学报: 自然科学版, 2001, 41(6): 30-33.

- WU Gui-fang, WU Qing-yu, SHEN Zhong-yao. Effects of culture conditions on cyanobacterial growth and poly- β -hydroxybutyrate accumulation[J]. J. Tsinghua Univ. Sci. & Tech., 2001, 41(6): 30-33.
- [10] 徐 岩, 儿玉澈. 氢氧化细菌胞内糖原的生成和作用[J]. 无锡轻工大学学报, 1997, 16(4): 19-23.
XU Yan, ER Yu-che. On Occurrence and Role of Intracellular Glycogen in an Hydrogen Oxidizing Hydrogenovibrio Marinus[J]. Journal of Wuxi University of Light Industry, 1997, 16(4): 19-23.
- [11] 徐 岩, 石井正治, 五十岚泰夫, 等. 氢氧化细菌 Hydrogenovibrio marinus 固定 CO_2 产生生物量的研究[J]. 无锡轻工大学学报, 1996, 15(1): 39-43.
XU Yan, MASABARU I, YASUO I, et al. Biomass production from CO_2 by hydrogenovibrio marinus[J]. Journal of Wuxi University of Light Industry, 1996, 15(1): 39-43.
- [12] 东秀珠, 蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册[M]. 北京: 科学出版社, 2001.
DONG Xiu-zhu, CAI Miao-ying. Common Bacteria Identification manual[M]. Beijing: Science Press, 2001.
- [13] 国家环境保护总局. 水和废水监测分析方法 [M]. 北京: 中国环境科学出版社, 2002.
State Environmental Protection Administration. Water and wastewater analysis method[M]. Beijing: China Environmental Science Press, 2002.
- [14] 张立卿, 袁林江, 王 磊, 等. 乙酸钠浓度对反硝化聚磷效果的影响试验研究[J]. 西安建筑科技大学学报: 自然科学版, 2007, 39(3): 349-352.
ZHANG Li-qing, YUAN Lin-jiang, WANG Lei, et al. Study on the effect of acetate sodium concentration on denitrifying phosphorus removal[J]. J. Xi'an Univ. of Arch. & Tech.: Natural Science Edition, 2007, 39(3): 349-352.
- [15] KENJI T, AYAOKI I, PETER F S. Accumulation of polyphosphate and substrate gas utilization efficiency in PHB accumulation phase of autotrophic batch culture of Alcaligenes eutrophus ATCC17697[J]. Journal of fermentation and bioengineering, 1992, 74(5): 288-291.
- [16] LEITAO J M, LORENZL B, BACHINSKI N, et al. Osmotic-stress-induced synthesis and degradation of inorganic polyphosphates in the alga Phaeodactylum tricornutum[J]. Marine Ecology Progress, 1995(121): 279-288.

Study on the capacity of phosphorus removal of autotrophic nitrifying sludge

NAN Ya-ping^{1,3}, YUAN Lin-jiang^{1,3}, ZHAO Qian¹, LI Yang-yang², WANG Xiao-chang^{1,3}

(1. School of Environment and Municipal Engineering, Xi'an University of architecture & Technology, Xi'an 710055, China;

2. Shaanxi Province Environmental Monitoring Center, Xi'an 710054, China;

3. State Key Laboratory of Architecture Science and Technology in West China(XAUAT), Xi'an 710055, China)

Abstract: The phosphorus uptake by autotrophic nitrifying bacteria was studied. The nitrifying bacteria phosphorus uptake ability discussed was fed with different nutrient with ammonia, inorganic carbon and ammonia, inorganic carbon when cultured under anaerobic/aerobic condition. Results indicated that in the condition similar to EBPR of phosphate accumulating organisms, phosphorus could not be removed by the nitrifying bacteria. Cell dyeing displayed that they had no PHB granules or poly-P granules. The nitrifying bacteria had no clear phosphorus removal ability cultured in the traditional mode of phosphorus removal of phosphate accumulating bacteria. The phenomenon and the reasons caused by energy utilization, nutritional type and culture conditions were discussed.

Key words: nitrifying bacteria; autotrophic; PHB; poly-P; phosphorus removal

*Biography: NAN Ya-ping, Lecturer, Candidate for Ph. D., Xi'an 710055, P. R. China, Tel: 0086-29-82205292, E-mail: nanyaping@xauat.edu.cn