

# 反硝化聚磷菌的驯化及脱氮除磷性能研究

李微,孙慧智,魏炜,傅金祥

(沈阳建筑大学市政与环境工程学院,辽宁 沈阳 110168)

**摘要** 目的 研究反硝化聚磷菌的富集及菌株反硝化除磷特性,丰富反硝化聚磷菌的菌种,为今后反硝化脱氮除磷技术的实际应用提供参考.方法 利用活性污泥为基质快速富集以  $\text{NO}_3^-$  作为电子受体的反硝化聚磷菌,并用专性培养基于稳定运行的  $\text{A}^2\text{SBR}$  反应器中分离得到 2 株高效反硝化聚磷菌 N4.3 和 N4.1,对两株菌的反硝化除磷效能进行研究.结果 在两阶段驯化条件下,共历时 36 天反硝化聚磷菌富集成功,反硝化除磷系统出水 COD、TP 和  $\text{NO}_3^- - \text{N}$  的质量浓度分别为 24.52 mg/L、0.37 mg/L 和 2.64 mg/L;N4.3 和 N4.1 均具有 PHB 及异染颗粒,且革兰氏染色均呈阳性;N4.3 和 N4.1 硝态氮去除率分别为 95.83%、96.30%,总磷去除率分别为 88.34%、91.42%.结论  $\text{A}^2\text{SBR}$  系统中反硝化聚磷菌富集效果较好,并且分离出两株具有较高的反硝化吸磷能力的菌株.

**关键词** 脱氮除磷;活性污泥;反硝化聚磷菌; $\text{A}^2\text{SBR}$

中图分类号 X703.1

文献标志码 A

## Study on the Domestication and Phosphorus Removal Characteristics of Denitrifying Poly-phosphorus Accumulating Organism

LI Wei, SUN Huizhi, WEI Wei, FU Jinxiang

(School of Municipal and Environmental Engineering, Shenyang Jianzhu University, Shenyang, China, 110168)

**Abstract:** To enrich the species of denitrifying poly-phosphorus accumulating organism and provide a reference of the practical application of the denitrification phosphorus removal technology, the study of the accumulation and characteristics of DPAO was carried. The activated sludge was used as substrate to rapidly enrich the DPAO which could utilize  $\text{NO}_3^-$  as electron acceptors. Two strains of highly efficient DPAO N4.3 and N4.1 were isolated in the specific medium from the stably operated  $\text{A}^2\text{SBR}$  reactor. And the performance of the denitrification phosphorus removal of these two strains was investigated. Under the two-stage domestication condition, the DPAO were successfully enriched with a period of 36 days. The mass concentration of COD, TP and  $\text{NO}_3^- - \text{N}$  of the effluent water in the denitrification phosphorus removal system were 24.52 mg/L,

收稿日期:2018-07-04

基金项目:国家自然科学基金项目(51308354);辽宁省教育厅基金项目(LJZ2016014)

作者简介:李微(1982—),女,副教授,博士,主要从事污水处理理论与技术方面研究.

0.37 mg/L and 2.64 mg/L, respectively. Both N4.3 and N4.1 had PHB and the metachromatic granules, and Gram's dye were positive. Nitrate removal of 95.83% and 96.30%, in the meanwhile, a total phosphorus removal of 88.34% and 91.42%, were attained on N4.3 and N4.1, respectively. The DPAO had an excellent enrichment in A<sup>2</sup>SBR system, and two strains, which have highly efficient denitrifying phosphorus uptake ability, were isolated successfully.

**Key words:** nitrogen and phosphorus removal; activated sludge; denitrifying poly-phosphorus accumulating organism; A<sup>2</sup>SBR

反硝化聚磷菌(Denitrifying Poly-phosphorus Accumulating Organism, DPAO)在厌氧环境下利用分解体内多聚磷酸盐(poly-P)产生的能量吸收废水中分子量较小的可挥发性脂肪酸(VFA)合成聚-β-羟基烷酸酯(PHB)贮存于体内;在缺氧环境下能利用氧气、亚硝酸盐、硝酸盐作为氧化胞内PHB的电子受体吸收废水中正磷酸盐合成poly-P贮存于体内用于微生物自身的同化作用<sup>[1-2]</sup>.与传统聚磷菌相比,DPAO在缺氧阶段完成过量吸磷和反硝化过程从而达到同时脱氮除磷的双重目的,解决了碳源争夺问题,实现了一碳两用,降低了污泥产量,并缩短了反应时间,被认为是一种可持续的污水处理工艺<sup>[3-4]</sup>.吴晓娜等<sup>[5]</sup>从环形推流一体化氧化沟反应器厌氧段筛选出一株DPAO,确定该菌株为不动杆菌属(Acinetobacter).朱卫强等<sup>[6]</sup>分离出2株DPAO,经过驯化在盐度条件为2 g/L时具有较好的脱氮除磷效果.刘彩云等<sup>[7]</sup>从污水厂成熟活性污泥中筛选出一株高效的DPAO,除磷脱氮效率均高于90%.目前针对菌株除磷特性的研究比较少,基于此,笔者为确定脱氮除磷工艺中优势菌种的脱氮除磷性能,试验采用两阶段驯化法对DPAO进行富集并筛选,对筛选得到的菌株进行脱氮除磷特性的研究,为今后反硝化脱氮除磷技术的实际应用提供参考.

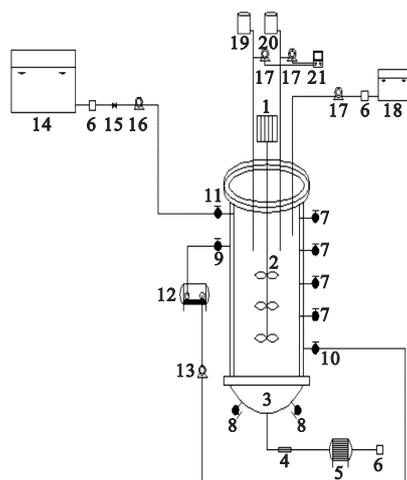
## 1 试验

### 1.1 反硝化聚磷菌的富集装置及运行方式

#### 1.1.1 试验装置及试验用水

本试验采用SBR反应器对反硝化聚磷

菌进行富集<sup>[8-9]</sup>.采用圆柱形序批式活性污泥反应器作为富集装置,其内径14 cm、高85 cm,工作容积为12 L,内设微孔曝气盘,采用空气泵进行曝气,反应器顶部设有搅拌器使污泥在厌氧和缺氧环境下处于悬浮状态,反应器由双层有机玻璃制成,外层与水浴锅相连进行水浴循环加热,保证系统处于最适恒温状态.连接在线pH监测仪,超出设定pH值范围自动通过蠕动泵向装置内滴加酸碱缓冲溶液直至pH达到设定范围内.试验装置如图1所示.



1.电动搅拌机;2.搅拌桨;3.微孔曝气盘;4.气体流量计;5.空气泵;6.时控开关;7.排水接样口;8.排泥口;9.水溢进水口;10.水浴出水口;11.进水口;12.水浴锅;13.潜水泵;14.进水箱;15.电磁阀;16.水泵;17.蠕动泵;18.硝酸盐加药箱;19.酸性缓冲溶液;20.碱性缓冲溶液;21.pH在线监测仪。

图1 SBR反应装置

Fig. 1 SBR experimental setup

试验采用人工配水,以无水乙酸钠作为碳源,氯化铵作为氮源,磷酸二氢钾作为磷源,此外还添加无水氯化钙,七水硫酸镁和微量元素,微量元素配比见表1.进水pH值由碳酸氢钠调节为7.5~7.8,水质成分见表2.

表1 微量元素

Table 1 The trace element concentration in synthetic water

主要成分	质量浓度/(mg·L <sup>-1</sup> )
FeCl <sub>3</sub>	1 500
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	150
CoCl <sub>2</sub> ·7H <sub>2</sub> O	150
NaMoO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	60
CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	30
MnCl <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	60
ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	120
KI	180
EDTA	10 000

表2 试验配水水质

Table 2 The major characteristic of influent wastewater

$\rho(\text{COD})/$ (mg·L <sup>-1</sup> )	$\rho(\text{NH}_4^+ - \text{N})/$ (mg·L <sup>-1</sup> )	$\rho(\text{TP})/$ (mg·L <sup>-1</sup> )	$\rho(\text{微量元素})/$ (mg·L <sup>-1</sup> )
170.00 ~ 220.00	5.00 ~ 10.00	9.00 ~ 12.00	1.00

### 1.1.2 运行方式

污泥取自辽宁省抚顺市三宝屯污水处理厂的二沉池,采用两阶段驯化法对其进行驯化,运行模式如图2所示.第一阶段采用厌氧/好氧交替运行的方式使传统聚磷菌成为系统内的优势菌种;第二阶段采用厌氧/缺氧的方式继续进行驯化,在厌氧结束后通过连续滴加硝酸钾溶液作为电子受体使系统进入缺氧模式.反应器采用间歇进、出水的方式,每天运行3个周期,每个周期运行4.5~5 h,

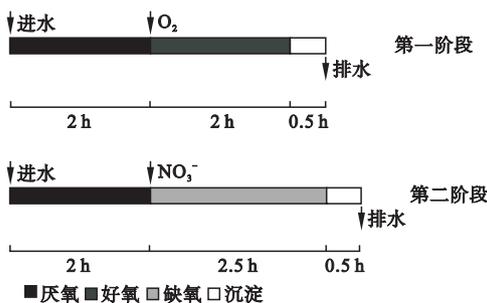


图2 SBR两个阶段的运行方式

Fig. 2 The operation condition of SBR at two different phases

间隔1 h,第三个周期运行结束后闲置7~8.5 h,进排水体积与工作容积之比为0.7, MLSS控制在3 200 mg/L左右,污泥沉降比(SV)为30%, pH值控制在7.5~7.8, SRT为15 d<sup>[10-11]</sup>.每天定时从反应器取样口取混合液,经过滤后测定一周期内厌氧末和出水的COD、TP及NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N指标.

### 1.1.3 检测方法

常规检测项目及分析方法见表3,其分析检测方法来源于《水和废水监测分析方法》<sup>[11]</sup>.

表3 检测指标及方法

Table 3 Measure objects and methods

序号	检测项目	检测方法
1	$\rho(\text{COD})$	快速密闭催化消解法
2	$\rho(\text{TP})$	钼锑抗分光光度法
3	$\rho(\text{NO}_3^- - \text{N})$	紫外分光光度法
4	$\rho(\text{MLSS})$	滤纸称重法
5	$\rho(\text{SV}_{30})$	30分钟沉降法
6	pH值	PHS-25型pH计
7	$\rho(\text{DO})$	HQ40d型便携数字显示测氧仪

## 1.2 反硝化聚磷菌的分离、筛选

### 1.2.1 培养基

反硝化培养基:柠檬酸钠5 g、硝酸钾1 g、磷酸二氢钾1 g、磷酸氢二钾1 g、七水硫酸镁0.2 g、琼脂15 g、1 000 mL蒸馏水、pH值为7.2~7.4.

聚磷培养基:三水合醋酸钠3.68 g、磷酸氢二钠28.73 mg、氯化铵57.27 mg、七水硫酸镁131.82 mg、硫酸钾26.71 mg、二水合氯化钙17.20 mg、15 g琼脂、2 mL微量元素、1 000 mL蒸馏水、pH=7.0.

限磷培养液:3.32 g CH<sub>3</sub>COONa·3H<sub>2</sub>O、152.76 mg NH<sub>4</sub>Cl、22.98 mg Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O、81.12 mg MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O、17.83 mg K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>、11 mg CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O、2 mL微量元素、1 000 mL蒸馏水、pH=7.0.

富磷培养液:3.32 g CH<sub>3</sub>COONa·3H<sub>2</sub>O、305.52 mg NH<sub>4</sub>Cl、35.11 mg KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>·

2H<sub>2</sub>O、91.26 mg MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O、25.68 mg CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O、1 000 mL 蒸馏水、2 mL 微量元素。

富氮富磷培养液:3.32 g CH<sub>3</sub>COONa·3H<sub>2</sub>O、305.52 mg NH<sub>4</sub>Cl、35.11 mg KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O、91.26 mg MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O、25.68 mg CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O、300 mg KNO<sub>3</sub>、1 000 mL 蒸馏水、2 mL 微量元素。

微量元素:同表1。

硝酸盐还原产气培养基:1 g KNO<sub>3</sub>、2.42 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O、1 g 葡萄糖、1 g 琼脂、20 g 蛋白胨、1 000 mL 蒸馏水。

### 1.2.2 反硝化聚磷菌的分离和筛选

本试验采用稀释涂布法和平板划线分离法进行分离纯化。取富集后 SBR 缺氧结束端的污泥混合液 10 mL,置于已灭菌的装有 90 mL 无菌蒸馏水和玻璃珠的三角瓶中震荡 30 min,制成 10<sup>-1</sup>浓度的菌悬液;取 10 mL 的 10<sup>-1</sup>浓度的菌悬液于 90 mL 的无菌蒸馏水中,稀释得到 10<sup>-2</sup>浓度的菌悬液,以此类推得到 10<sup>-3</sup>、10<sup>-4</sup>、…、10<sup>-6</sup>浓度梯度的菌悬液<sup>[12-14]</sup>。吸取适量菌悬液分别接种在反硝化培养基和聚磷培养基中,用无菌三角玻璃刮刀在培养基表面均匀涂布,每个培养基每个稀释浓度下分别涂布三个平行样,将稀释涂布后的培养基平板倒置于 30 ℃ 恒温培养箱中培养 2~4 d 后,从中挑选菌落分布均匀,数量适宜的平板采用平板划线法进行分离纯化。用灼烧好的接种环挑取少量目标菌落,在准备好的平板上按照三线法进行划线,挑取菌量不宜过多,使菌种均匀分布在平板上<sup>[15-16]</sup>。划线后的平板倒置在 30 ℃ 恒温培养箱中进行培养。多次重复划线分离,直到得到单一菌落后冷藏备用。

将上述分离纯化的菌株辅以吸磷试验,硝酸盐还原产气试验,革兰氏染色,异染颗粒和类脂肪颗粒染色试验,最终筛选出具有同步脱氮除磷作用的 DPAO<sup>[17-18]</sup>。

### 1.3 反硝化聚磷菌的脱磷除氮试验

取筛选后的菌株进行富集培养,即将待测菌株分别接入反硝化液体培养基或聚磷液体培养基中在 30 ℃ 培养,摇床转速为 140 r/min。将富集好的菌液离心(4 000 r/min,10 min),弃除上清液,用无菌蒸馏水洗涤后再离心,重复清洗操作 2 次。将菌株接种到限磷培养液中 30 ℃ 摇床中震荡培养 24 h,保证菌体充分释磷,然后将菌液 4 000 r/min,离心 10 min,弃去上清液,用无菌蒸馏水洗涤离心 2 次后投入已知氮磷浓度的富氮富磷培养液中培养 24 h,定时取样测定上清液中 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 和 PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>-P 质量浓度的变化。

## 2 试验结果与分析

### 2.1 反硝化聚磷菌的富集

#### 2.1.1 第一阶段驯化

本阶段采用厌氧/好氧模式连续运行 16 天,系统中 COD 的质量浓度变化情况如图 3 所示,TP 的质量浓度变化和去除情况如图 4 所示。

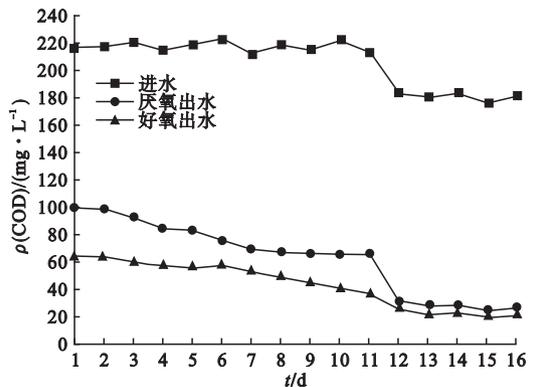


图3 第一阶段 COD 变化情况

Fig. 3 Concentration variation of COD in the first stage

由图 3 可看出驯化前三天 COD 进水质量浓度平均为 217.94 mg/L,厌氧、缺氧段出水质量浓度平均为 97.09 mg/L、62.70 mg/L,说明 COD 主要在厌氧阶段被利用,聚磷菌在该阶段摄取污水中易降解的有机物并以

PHB 的形式贮存在体内,进而去除了污水中大部分的 COD,该过程为后续好氧段超量吸磷提供充足的内碳源. 由于这一过程消耗聚磷菌体内的质子动力势(PMF),需要分解聚磷菌体内 poly-P 以正磷酸盐的形式释放出胞外以此重建 PMF 并产生 ATP,即聚磷菌在该阶段表现为厌氧释磷. 在好氧阶段,聚磷菌消耗 PHB 生成能量 ATP,一部分用于自身的合成和维持生命活动另一部分用于磷的超量吸收,该过程表现为好氧吸磷<sup>[19-20]</sup>. 在第 8~11 天厌氧末端 COD 出水质量浓度稳定在 66.41 mg/L 左右,远超出聚磷菌所需外碳源量,在下一阶段驯化中未被转化的外碳源进入缺氧阶段会使系统内的反硝化菌利用外碳源并与 DPAO 争夺  $\text{NO}_3^- - \text{N}$  优先进行反硝化反应,DPAO 则由于缺少电子受体进行缺氧吸磷反应将受到抑制. 在 12 天时减少碳源投加量,使厌氧末端 COD 质量浓度仅剩余 30 mg/L 左右.

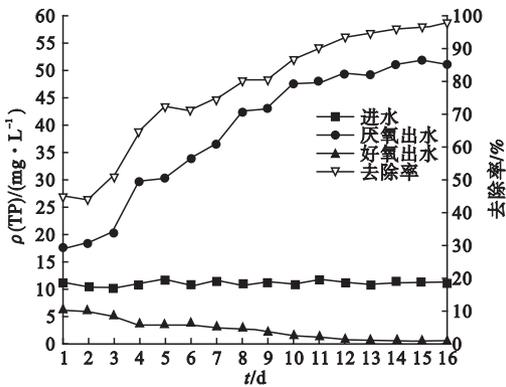


图4 第一阶段 TP 变化情况

Fig. 4 Concentration variation of TP in the first stage

由图4可知,在系统驯化的初始阶段,反应器好氧段出水磷的质量浓度为 6.17 mg/L,磷去除率为 44.92%,吸磷量与释磷量都较低. 随着系统运行 TP 去除效果逐渐增强,在第 4~12 天时,系统的释磷量和吸磷量都稳步提升,厌氧段出水磷的质量浓度由 29.46 mg/L 增长到 49.05 mg/L,好氧段出水磷的质量浓度由 3.59 mg/L 降低到

0.76 mg/L. 第 16 天时,厌氧结束出水 TP 质量浓度为 50.92 mg/L,释磷量约 40 mg/L,好氧出水 TP 质量浓度为 0.33 mg/L,去除率达到 97.09%,达到《城镇污水处理厂污染物排放标准》(GB18918—2002)一级 A 标准,此时反应器具具有稳定除磷效果,聚磷菌已经成为反应器内优势菌种,可进行第二阶段 DPAO 的富集.

### 2.1.2 第二阶段驯化

经过第一阶段对传统聚磷菌的富集后,转变培养条件,停止好氧曝气,在厌氧阶段结束后采用蠕动泵连续滴加硝态氮质量浓度为 35 mg/L 的  $\text{KNO}_3$  溶液作为 DPAO 缺氧吸磷的电子受体使反应器进入缺氧阶段,进行 DPAO 的富集,该阶段历时 20 d. 厌氧阶段 DPAO 利用水解体内多聚磷酸盐产生的能量吸收外碳源合成 PHB 储存于胞内,该阶段表现为释磷过程. 缺氧阶段 DPAO 以 PHB 为碳源利用  $\text{NO}_3^- - \text{N}$  作为电子受体超量吸磷. 经过上一阶段末对进水 COD 的调整,本阶段进水 COD 质量浓度平均 180 mg/L 左右,厌氧结束出水 COD 质量浓度平均 25 mg/L 左右,缺氧结束出水 COD 质量浓度平均 20 mg/L 左右,说明 COD 主要在厌氧阶段被利用,只有一小部分在缺氧阶段被系统中存在的异养菌或常规反硝化菌所利用,不会使反硝化菌与 DPAO 争夺  $\text{NO}_3^- - \text{N}$ ,益于 DPAO 的富集.

图5显示了第二阶段 TP、 $\text{NO}_3^- - \text{N}$  变化情况. 反应初期,传统聚磷菌作为反应器中优势菌种因无法利用  $\text{NO}_3^- - \text{N}$  作为电子受体进行吸磷反应,TP、 $\text{NO}_3^- - \text{N}$  去除率都较低,分别为 35.05%、23.74%,随着反应器的运行,DPAO 成为优势菌种,去除率逐渐升高. 厌氧释磷量在第 1~4 天质量浓度平均值仅为 15.30 mg/L,这是因为传统聚磷菌在缺氧阶段没有可利用的  $\text{O}_2$  作为电子受体,不能吸收污水中正磷酸盐合成 poly-P 储存于体内继而影响厌氧阶段释磷反应. 经 20 d 的富

集培养, COD、 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 、TP 的缺氧出水质量浓度分别为 24.52 mg/L、2.64 mg/L、0.37 mg/L, 达到《城镇污水处理厂污染物排放标准》(GB18918—2002)一级 A 标准。

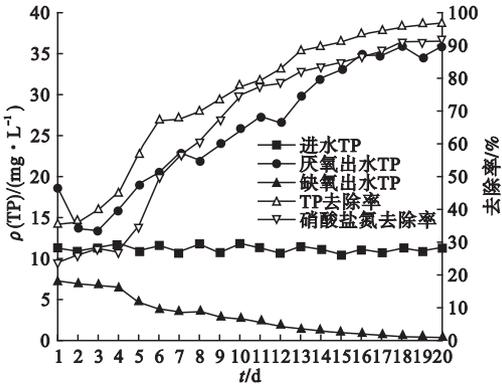


图5 第二阶段 TP、 $\text{NO}_3^- - \text{N}$  变化情况

Fig. 5 Concentration variation of TP,  $\text{NO}_3^- - \text{N}$  in the second stage

## 2.2 反硝化聚磷菌的分离、筛选

DPAO 是将吸磷和反硝化这两个不同的

表4 菌株的筛选结果

Table 4 The results of strains screening

菌株	3 h 吸磷率/%	24 h 吸磷率/%	硝酸盐还原产气试验	类脂肪颗粒染色	异染颗粒染色	革兰氏染色
N4.3	65.21	87.53	+	+	+	+
P5.2	28.75	39.47	-	未试验	未试验	未试验
N4.1	74.82	92.61	+	+	+	+
N4.2	71.28	81.84	+	+	+	-
P3.2	47.43	49.62	-	未试验	未试验	未试验
P4.1	49.86	54.73	+	-	+	未试验

注:“+”表示试验结果为阳性,“-”表示试验结果为阴性。

将 N4.3、N4.1、N4.2 和 P4.1 菌株接种在平板上培养后挑取纯菌株进行革兰氏染色、类脂肪颗粒染色及异染颗粒染色。类脂物质主要为 PHB, 是一种普遍存在于细胞体内的类脂性碳源贮藏物, 为脱氮除磷反应提供碳源和能量。异染颗粒是微生物体内的营养贮存物, 主要由多聚磷酸盐组成, 大部分来自于 ATP 的分解, 它的存在表明微生物具有吸磷作用。由表 4 可判断既能发生反硝化反应又能过量吸磷, 同时体内存在类脂肪颗粒及异染颗粒的 N4.3、N4.1 和 N4.2 菌株为

生物过程在体内同步完成的一种兼性厌氧菌。以磷质量浓度变化作为初步筛选的指标, 将采用平板划线分离法得到的纯菌株接种到富磷培养液中进行吸磷试验, 初始磷酸盐的质量浓度为 8 mg/L, 经过 24 h 得到 6 株发生吸磷反应的菌株, 其中有 4 株菌株吸磷率超过 50%, 分别为 N4.3、N4.1、N4.2、P4.1 菌株。菌株的筛选结果如表 4 所示, 其中 N4.1 吸磷效率最高, 达到 92.61%。为了进一步确定待测菌株的反硝化作用, 对其进行硝酸盐还原产气试验。硝酸盐还原性试验若有气泡产生, 且硝态氮浓度降低, 表明细菌可以进行反硝化反应。试验结果表明: N4.3、N4.1、N4.2 和 P4.1 均有气泡产生, 且硝态氮浓度降低, 说明具有反硝化能力; P5.2、P3.2 无气泡产生且菌液中硝态氮浓度没有明显降低, 说明未发生反硝化反应。由上述试验可初步判断 N4.3、N4.1、N4.2 和 P4.1 菌株具有同步反硝化除磷能力。

DPAO。

## 2.3 反硝化聚磷菌的脱磷除氮试验

取上述 3 株菌株进行富集培养后, 先后在限磷培养液和富氮富磷培养液中发生厌氧/缺氧反硝化除磷试验, 根据试验结果分析各个菌株反硝化除磷脱氮效能, 结果见图 6、图 7 所示。

由图 6 可以看出在厌氧阶段这 3 株反硝化聚磷菌 N4.3、N4.1 和 N4.2 均有不同程度释磷, 在前 3 h 释磷量分别为 4.71 mg/L、4.892 mg/L、2.25 mg/L, 24 h 后的释磷量达

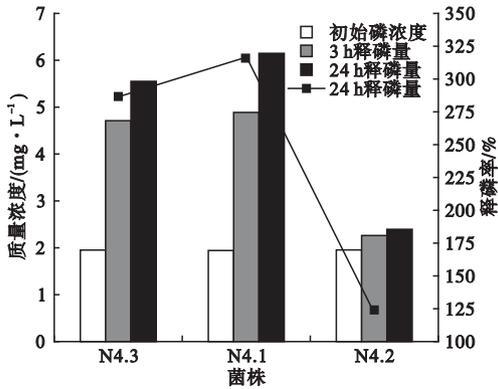


图6 菌株厌氧释磷情况

Fig. 6 Anaerobic phosphorus release of strains

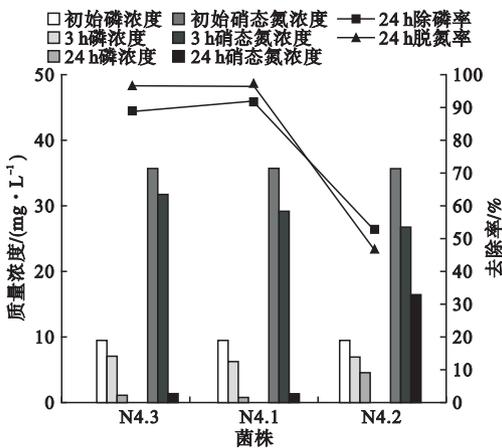


图7 菌株缺氧反硝化吸磷情况

Fig. 7 Denitrifying phosphorus uptake of strains

到了 5.54 mg/L、6.14 mg/L、2.39 mg/L。从图 7 可以看出在缺氧阶段 N4.2 的反硝化吸磷主要发生在反应前 3 h, 除磷脱氮效率较低, 分别为 46.02%、52.59%, 原因可能是厌氧阶段没有合成足够 PHB 为缺氧阶段提供能量, 也可能是由于缺氧阶段合成的胞内聚磷达到饱和致使反应不能继续进行。菌株 N4.3、N4.1 的除磷脱氮效率较高, 前 3 h 吸磷量分别为 2.46 mg/L 和 3.19 mg/L, 24 h 后吸磷量分别为 8.34 mg/L 和 8.63 mg/L, 24 h 脱氮率分别为 95.83% 和 96.30%。但厌氧释磷和缺氧吸磷主要发生在反应进行 3h 之后, 前 3 h 反应速率较低可能是因为菌株刚转入富氮富磷培养液中与反应器中环境不同经历了适应期。所以菌株 N4.3、N4.1 为本试验筛选出的高效反硝化聚磷菌株。

### 3 结论

(1) 经过 16 d 厌氧/好氧交替传统聚磷菌的驯化和 20 d 厌氧/缺氧交替 DPAO 的驯化, COD、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N、TP 去除率分别达到 86.37%、91.20%、96.72%, 达到《城镇污水处理厂污染物排放标准》(GB18918—2002) 一级 A 标准, 表明 DPAO 已成为反应器内优势菌种, 富集完成。

(2) 试验利用专性培养基进行分离纯化, 以磷为检测指标辅以硝酸盐还原产气试验、革兰氏染色、类脂肪颗粒染色及异染颗粒染色的筛选方法, 从富集 A<sup>2</sup>SBR 反应器中分离出 N4.3、N4.1 和 N4.2 三株 DPAO。

(3) 对 N4.3、N4.1 和 N4.2 菌株分别进行厌氧/缺氧反硝化除磷试验, 发现 N4.2 主要反应发生在前 3 h, 但氮磷去除效率较低, 分别为 46.02%、52.59%; N4.3 和 N4.1 的反硝化除磷能力较好, 是两株高效反硝化聚磷菌, 除磷脱氮效率分别达到 88.34%、91.42% 和 95.83%、96.30%。

### 参考文献

- [1] JUAN M A, PENG Y Z, WANG S Y, et al. Denitrifying phosphorus removal in a step-feed CAST with alternating anoxic-oxic operational strategy [J]. Journal of environmental sciences, 2009, 21(9): 1169 - 1174.
- [2] WANG Y, ZHOU S, WANG H, et al. Comparison of endogenous metabolism during long-term anaerobic starvation of nitrite/nitrate cultivated denitrifying phosphorus removal sludges [J]. Water research, 2015, 68: 374 - 386.
- [3] SIN G, KAELIN D, KAMPSCHREUR M J, et al. Modelling nitrite in wastewater treatment systems: a discussion of different modelling concepts [J]. Water science & technology, 2008, 58(6): 1155 - 1171.
- [4] GUIASOLA A, QURIE M, VARGAS M D M, et al. Failure of an enriched nitrite-DPAO population to use nitrate as an electron acceptor [J]. Process biochemistry, 2009, 44(7): 689 - 695.
- [5] 吴晓娜, 王助贫, 谢恩, 等. 一株反硝化聚磷菌筛选及其接种量对脱氮除磷效应的影响 [J]. 环境工程学报, 2018(2): 544 - 551.

(WU Xiaona, WANG Zhupin, XIE En, et al.)

- Screening of one strain of denitrifying phosphorus accumulation bacteria (DPAB) and inhibitions effects of nitrogen-phosphorus removal [J]. Chinese journal of environmental engineering, 2018(2):544-551.)
- [6] 朱卫强,陈舒,张培玉. 2株反硝化聚磷菌的筛选及其影响因素[J]. 环境工程学报, 2016, 10(6):3295-3302.  
(ZHU Weiqiang, CHEN Shu, ZHANG Peiyu. Selection of two denitrifying phosphorus-accumulating bacterium and their influencing factors [J]. Chinese journal of environmental engineering, 2016, 10(6):3295-3302.)
- [7] 刘彩云,朱卫强,邱晨,等. 一株反硝化聚磷菌的筛选及其脱氮除磷性能研究[J]. 青岛大学学报(自然科学版), 2016, 29(2):51-56.  
(LIU Caiyun, ZHU Weiqiang, QIU Chen, et al. Study on screening and phosphorus removal characteristics of a denitrifying phosphorus removal bacteria [J]. Journal of Qingdao university (natural science edition), 2016, 29(2):51-56.)
- [8] 李慧,刘丹丹,陈文清. 反硝化聚磷菌的筛选及脱氮除磷特性[J]. 环境工程, 2016, 34(4):25-28.  
(LI Hui, LIU Dandan, CHEN Wenqing. Screening of denitrifying phosphate accumulating organisms and its characteristics of nitrogen and phosphorus removal [J]. Environmental engineering, 2016, 34(4):25-28.)
- [9] LU Q, QIAN W, LIU W, et al. A fluorescence in situ hybridization method for the measurement of denitrifying phosphorus-accumulation organisms and study on the metabolisms of activated sludge [J]. Journal of cleaner production, 2017, 152:28-37.
- [10] 刘静,李微,傅金祥,等. 短程反硝化聚磷菌快速驯化对比研究[J]. 环境污染与防治, 2017, 39(6):598-603.  
(LIU Jing, LI Wei, FU Jinxiang, et al. Comparative study on the acclimation of short-cut denitrifying phosphorus-accumulating bacteria [J]. Environmental pollution and control, 2017, 39(6):598-603.)
- [11] 国家环境保护总局. 水和废水监测分析方法[M]. 4版. 中国环境科学出版社, 2009.  
(State Environmental Protection Administration. The monitoring and analysis method on Water and wastewater [M]. 4th ed. Beijing: China Environmental Science Press, 2009.)
- [12] LIU H, WANG Q, SUN Y, et al. Isolation of a non-fermentative bacterium, pseudomonas aeruginosa, using intracellular carbon for denitrification and phosphorus-accumulation and relevant metabolic mechanisms [J]. Biore-source technology, 2016, 211:6-15.
- [13] 孙玲. 反硝化聚磷菌诱变育种及其生物学特性研究[D]. 北京:中国矿业大学, 2017.  
(SUN Ling. Study on mutation breeding and biological characteristics of denitrifying phosphorus-accumulating bacterium [D]. Beijing: China University of Mining and Technology, 2017.)
- [14] 樊晓梅. 反硝化聚磷菌吸磷能力和生长特性研究[J]. 沈阳建筑大学学报(自然科学版), 2017(1):119-126.  
(FAN Xiaomei. Research on the phosphorus absorption ability and growth characteristics of denitrifying phosphorus-accumulating organisms [J]. Journal of Shenyang jianzhu university (natural science), 2017(1):119-126.)
- [15] 余鸿婷,李敏. 反硝化聚磷菌的脱氮除磷机制及其在废水处理中的应用[J]. 微生物学报, 2015, 55(3):264-272.  
(YU Hongting, LI Min. Denitrifying and phosphorus accumulating mechanisms of denitrifying phosphorus accumulating organisms (DPAOs) for wastewater treatment: a review [J]. Acta microbiologica sinica, 2015, 55(3):264-272.)
- [16] 余鸿婷. 反硝化聚磷细菌的分离鉴定及固定化微生物小球的制备[D]. 福州:福建师范大学, 2015.  
(YU Hongting. Study on isolation and identification of the denitrifying phosphorous accumulating bacteria and the preparation of immobilized microorganism pellets [D]. Fuzhou: Fujian Normal University, 2015.)
- [17] 聂磊磊,贾伟,曾艳兵,等. 两株好氧反硝化聚磷菌的筛选、鉴定及水质净化研究[J]. 生物技术通报, 2017, 33(3):116-121.  
(NIE Yilei, JIA Wei, ZENG Yanbing, et al. Screening and identification of two aerobic denitrifying phosphorus-accumulating strains, and denitrifying biological phosphorus removal [J]. Biotechnology bulletin, 2017, 33(3):116-121.)
- [18] 张文艺,陈晶,邓文,等. 反硝化聚磷菌菌剂种子液制备条件及除磷机理[J]. 土木建筑与环境工程, 2014, 36(6):99-105.  
(ZHANG Wenyi, CHEN Jing, DENG Wen, et al. Preparation of denitrifying phosphorus accumulating bacterial seed liquid and analysis of phosphorus removal mechanism [J]. Journal of civil, architectural & environmental engineering, 2014, 36(6):99-105.)
- [19] SIN G, NIVILLE K, BACHIS G, et al. Nitrite effect on the phosphorus uptake activity of phosphate accumulating organisms (PAO) in pilot-scale SBR and MBR reactors [J]. Proceedings of the water environment federation, 2008, 34(2):17-38.
- [20] YOSHIDA Y, KIM Y, SAITO T, et al. Development of the modified activated sludge model describing nitrite inhibition of aerobic phosphate uptake [J]. Water science & technology, 2009, 59(4):621.