

CHENGZHEN WUSHUICHANG

SHENGWU CHULIN

GONGYI YOUHUA

LILUN YU SHIJIAN

城镇污水厂 生物除磷工艺优化 理论与实践

孙培德 蒋涛 钟晓 著



化学工业出版社

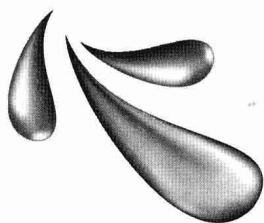
CHENGZHEN WUSHUICHANG

SHENGWU CHULIN

GONGYI YOUHUA

LILUN YU SHIJIAN

城镇污水厂 生物除磷工艺优化 理论与实践



孙培德 蒋涛 钟晓 著



化学工业出版社
· 北京 ·

前 言

目前我国水体富营养化问题严峻，已成为制约社会、经济协调发展的重大环境瓶颈。基于磷元素是水体富营养化主要成因之一，为了控制外部磷负荷以缓解湖泊富营养化，环保部对污水总磷排放执行了非常严格的标准。因此，如何快速提高城镇污水厂生物除磷工艺的效率，并有效地维持其优化运行，是亟待解决的问题。

本专著集成了孙培德教授及其课题组多年的研究成果，系统地介绍了城镇污水厂生物除磷工艺优化运行的理论基础与研究方法，并结合本课题组研究特色，深入地阐述了底物条件（碳/氮/磷比）、环境条件（水温）以及污泥颗粒化过程在强化生物除磷工艺优化运行中的作用规律，总结了国内外主要的强化生物除磷机理模型，尤其是全耦合活性污泥模型（FCASMs）及其应用实践。

全书共分为 10 章。第 1 章综述性地介绍了强化生物除磷技术及其运行工艺，系统功能微生物菌群及其相互间的竞争，以及主要微生物的生化代谢途径等。第 2 章介绍了强化生物除磷系统的运行启动与除磷微生物聚磷菌的驯化培养方法。第 3 章介绍了强化生物除磷系统的动态监测方法，并重点阐述了荧光原位杂交技术、PCR-DGGE、16S rDNA 克隆转化等分子生物学技术手段在强化生物除磷系统研究中的应用。第 4 章主要介绍了强化生物除磷系统运行对底物条件（碳/氮/磷比）的响应机制。第 5 章介绍了强化生物除磷系统运行对水温条件变化的响应机制及其数值模拟。第 6 章介绍了强化生物除磷系统与污泥颗粒化技术的结合，并介绍了颗粒化强化生物除磷系统的培养方法。第 7 章介绍了强化生物除磷系统污泥颗粒化进程中的群落结构演化规律。第 8 章介绍了强化生物除磷系统模型化研究成果，并重点介绍了 FCASMs 系列模型及其应用实例。第 9 章介绍了颗粒化强化生物除磷系统机理模型的初步构建。第 10 章对当前的研究工作进行了总结，并提出了进一步展望。

本专著由浙江工商大学环境科学与工程学院孙培德教授著述，学术骨干蒋涛、钟晓参加了相关课题研究并参与了著作的撰写工作。在专著即将出版之际，作者对中国科学院南京地理与湖泊研究所与浙江工商大学合作承担的国家“十一五”水体污染控制与治理重大专项子课题“北里湖底泥内源释放及水生植物可恢复性研究”（课题号 2009ZX07106—002）的基金资助表示感谢！对在相关课题研究过程中曾经得到浙江工商大学环境科学与工程学院郭茂新教授级高工、楼菊青副教授、方治国副教授、殷峻副教授、方婧博士、宋英琦讲师等的指导与帮助以及有关研究生的实验贡献，在 EBPR（强化生物除磷）系统数值模拟过程中得到王如意博士与钱苏雯硕士的研究贡献，作者在此一并致以深切的谢意！

本专著旨在使广大有兴趣的读者对城镇污水厂强化生物除磷工艺及其优化运行有全面的系统性的了解与把握，可供环境工程、市政工程等领域的工程技术人员、科研人员和管理人员参考，也可供高等学校相关专业师生参阅。

由于著者水平有限，加以时间仓促，书中疏漏和不妥之处在所难免，恳切希望读者批评指正！

著者

2011年8月

于浙江工商大学

欢迎购买水处理技术专业科技图书

● 专业书目

书 名	单价	ISBN 号
专业工具书		
英汉水科学与工程词汇	80	978-7-122-02101-4
汉英水科学与工程词汇	98	978-7-122-06475-2
废水处理工程技术手册	180	978-7-122-07570-3
净水厂、污水厂工艺与设备手册	138	978-7-122-09315-8
水消毒剂和处理剂——二氧化氯	85	978-7-122-08470-5
混凝剂和混凝技术	68	978-7-122-10644-5
环境科学与工程丛书——水污染控制工程	68	978-7-122-08996-0
水处理填料与滤料	48	978-7-122-08387-6
水污染控制工程实验教程	20	978-7-122-03988-0
水处理化学品	180	978-7-122-06133-1
环境科学与工程丛书——城市节制用水规划原理与技术(二版)	68	978-7-122-07496-6
污水处理厂测量、自动控制与故障诊断	68	978-7-122-03401-4
废水处理技术及工程实例丛书——冶金工业废水处理技术及工程实例	68	978-7-122-03587-5
废水处理技术及工程实例丛书——低成本污水处理技术及工程实例	48	978-7-122-02522-7
废水处理技术及工程实例丛书——纺织染整废水处理技术及工程实例	36	978-7-122-02512-8
废水处理技术及工程实例丛书——造纸工业废水处理技术及工程实例	38	978-7-122-02122-9
废水处理技术及工程实例丛书——制药废水处理技术及工程实例	40	978-7-122-01897-7
水消毒剂和处理剂——一、二氧化氯	85	978-7-122-08470-5
制革工业废水处理技术及工程实例(二版)	49	978-7-122-08050-9
现代水处理技术	58	978-7-5025-8397-8
工程流体力学(水力学)精讲精练	38	978-7-122-07694-6
污水处理厂运行与设备维护管理	25	978-7-122-09650-0
污水处理厂运行和管理问答	22	978-7-122-00213-6
污水处理设备操作维护问答	26	978-7-5025-8403-0
城市污水处理厂运行管理(二版)	48	978-7-122-07772-1
环境科学与工程丛书——废水处理生物膜	58	978-7-122-10694-0
微污染水源饮用水处理理论及工程应用	68	978-7-122-10571-4

如需以上图书的内容简介、详细目录以及更多的科技图书信息，请登录www.cip.com.cn。

邮购地址：(100011) 北京市东城区青年湖南街13号 化学工业出版社

服务电话：010-64518888, 64518800 (销售中心)

如需出版新著，请与编辑联系。

联系方式：010-64519525 liuxingchun2005@126.com (刘兴春)

目 录

第 1 章 绪论	1
1.1 引言	1
1.2 强化生物除磷技术	2
1.3 EBPR 系统运行工艺	2
1.3.1 前反硝化工艺	3
1.3.2 后反硝化工艺	3
1.3.3 化学沉淀结合工艺	5
1.3.4 工艺发展与趋势	5
1.4 EBPR 系统微生物	5
1.4.1 PAOs 鉴定	6
1.4.2 GAOs 鉴定	8
1.4.3 除磷微生物学发展趋势	10
1.5 PAOs 与 GAOs 竞争	11
1.5.1 底物条件的影响	11
1.5.2 环境因素的影响	13
1.5.3 其它因素的影响	15
1.6 EBPR 系统生化代谢	15
1.6.1 PAOs 厌氧代谢	15
1.6.2 GAOs 厌氧代谢	16
1.6.3 PAOs 好氧代谢	16
1.6.4 GAOs 好氧代谢	16
参考文献	16
第 2 章 EBPR 系统启动	25
2.1 系统运行装置及设备材料	25
2.2 系统运行条件及参数设定	26
2.3 PAOs 高富集培养方案	27
参考文献	29
第 3 章 EBPR 系统监测及分析方法	30
3.1 水质指标监测方法	30
3.2 污泥指标监测方法	30
3.3 菌群数量检测方法	30

3.3.1	荧光原位杂交技术	30
3.3.2	FISH 实验方法与步骤	31
3.4	群落结构分析方法	36
3.4.1	基因组 DNA 提取	36
3.4.2	琼脂糖凝胶电泳	37
3.4.3	PCR 扩增技术	38
3.4.4	DGGE 技术	41
3.4.5	16S rDNA 克隆技术	41
3.4.6	16S rDNA 测序比对	43
3.5	胞内聚合物测定方法	43
3.5.1	PHA 测定方法	43
3.5.2	GLY 测定方法	45
	参考文献	46
第 4 章	EBPR 系统底物作用与响应机制	48
4.1	不同 C/P 比对 SBR 工艺 EBPR 系统的影响	48
4.1.1	除磷效率响应机制	48
4.1.2	PHA 代谢响应机制	56
4.1.3	系统群落结构响应机制	57
4.1.4	化学计量系数变化响应机制	60
4.2	不同 C/N/P 比对 SBR 工艺 EBPR 系统的影响	61
4.2.1	除磷效率响应机制	61
4.2.2	PHA 代谢响应机制	69
4.2.3	系统群落结构响应机制	71
4.3	小结	75
4.3.1	不同 C/P 比对 SBR 工艺 EBPR 系统的影响	75
4.3.2	不同 C/N/P 比对 SBR 工艺 EBPR 系统的影响	76
	参考文献	77
第 5 章	EBPR 系统水温变化作用与响应机制	78
5.1	SBR 工艺 EBPR 系统水温变化作用与响应机制	78
5.1.1	除磷效率响应机制	78
5.1.2	PHA 代谢响应机制	81
5.1.3	系统群落结构响应机制	87
5.1.4	化学计量系数变化响应机制	91
5.2	水温变化对 EBPR 系统除磷效果响应机制的数值模拟	92
5.2.1	模型校验	92
5.2.2	温度变化对 EBPR 系统响应过程的模拟	94
5.2.3	结论	100

参考文献	100
第 6 章 EBPR 系统污泥颗粒化技术	102
6.1 除磷颗粒污泥探索	102
6.2 EBPR 系统污泥颗粒化培养	103
6.2.1 EBPR 系统颗粒化培养研究现状	103
6.2.2 EBPR 系统颗粒化培养方法	103
6.3 EBPR 系统污泥颗粒化进程中的混合碳源作用	104
6.3.1 混合碳源对颗粒污泥生长的影响	104
6.3.2 混合碳源对污泥沉降性能的影响	106
6.3.3 混合碳源对污泥形态结构的影响	108
6.3.4 混合碳源对系统除磷特性的影响	110
6.4 小结	115
参考文献	116
第 7 章 EBPR 系统颗粒化进程中的群落结构演化规律	117
7.1 分子生物学检测结果	117
7.1.1 DNA 提取及 PCR 结果	117
7.1.2 DGGE 电泳图谱	117
7.1.3 16S rDNA 克隆转化结果	119
7.1.4 16S rDNA 测序比对结果	119
7.2 检测结果讨论分析	120
7.2.1 颗粒化过程对系统群落结构的筛选作用	120
7.2.2 系列混合碳源系统功能菌种竞争规律	121
7.3 小结	122
参考文献	123
第 8 章 EBPR 系统模型化与 FCASMs 模型	125
8.1 EBPR 系统模型化研究进展	125
8.1.1 活性污泥模型	125
8.1.2 代谢模型	126
8.1.3 模型发展趋势	127
8.2 全耦合活性污泥模型 (FCASMs)	127
8.2.1 模型概述	127
8.2.2 FCASM2 模型	128
8.2.3 FCASM3 模型	136
8.2.4 FCASM3-Hydro-Temp 耦合模型	154
8.3 A/A/O 污水处理工艺数值模拟及应用	158
8.3.1 A/A/O 污水处理系统工艺简介	158

8.3.2	A/A/O 工艺 FCASM3 模型建立	159
8.3.3	A/A/O 工艺可视化模拟	161
8.4	A/A/O 处理工艺优化分析	168
	参考文献	173
第 9 章	颗粒化 EBPR 系统模型构建	176
9.1	模型基本假设	176
9.2	生物反应过程表征	177
9.3	颗粒传质过程表征	182
9.4	耦合模型构建	183
	参考文献	184
第 10 章	展望	185
10.1	生物除磷机理研究展望	185
10.2	颗粒化 EBPR 系统研究展望	186
10.3	模型仿真应用展望	187
	参考文献	187

第 1 章 绪 论

1.1 引 言

据《2009 年中国环境状况公报》所述，目前我国水体富营养化问题严峻，受污染湖泊面积已达约 8700 平方公里。从 20 世纪 70 年代到现在的近 40 年间，全国湖泊富营养化面积增长了约 60 倍。与此同时，沿海水体的严重富营养化，导致近岸海域赤潮频发，造成巨大的渔业经济损失，2005 年我国全海域赤潮造成的直接经济损失达 6900 万元。水体富营养化问题已成为制约我国社会、经济协调发展的重大环境瓶颈。

众所周知，水体富营养化是由于过多的氮（N）、磷（P）元素排入水系造成的。N、P 是生物生长所需的重要营养元素，可以促进藻类和其他具有光合作用能力的微小动植物（如蓝绿色藻类）的生长。然而当水体中 N、P 等营养物质含量过高时，则会引起藻类及其他浮游生物的过量繁殖，水体溶解氧量迅速下降，水质恶化，鱼类及其他水生生物大量死亡，即造成水体富营养化污染。当水体中 N 浓度较低时，蓝藻、绿藻等可以通过固氮作用来补充氮源的不足，而 P 则不能。因此，藻类等水生生物对 P 的需求更加敏感，依赖性更强。显然，防治水体富营养化污染，关键是要降低水体中 P 等污染物的含量。

目前，严格控制 P 排放已是全世界所共识，日益严格的规章制度相继出台。例如，在悉尼，允许排放到大多数内陆水系中的磷的浓度被限制在 0.05~0.2 mg/L。而我国政府同样注意到磷污染问题的严重性，在最新颁布的城镇污水排放标准（GW 18918—2002）中规定，对于 2006 年以后建成的城镇污水处理厂，一级 A 标准要求出水总磷小于 0.5mg/L，一级 B 标准要求出水总磷小于 1.0mg/L。

大多数情况下，磷主要通过点源进入水体。水体中磷的来源主要为未处理或处理过的城市和工业废水、农业排水等。因此，降低水体中磷含量最直接有效的方法就是加强城市综合污水的深度处理，即污水除磷。目前，污水除磷技术主要包括化学除磷和生物除磷两种途径^[1~5]。化学除磷是指投加化学药剂形成不溶性磷酸盐沉淀物，然后通过固液分离将磷从污水中除去。可用于化学除磷的金属盐主要包括钙盐、铁盐和铝盐，最常用的有石灰 $[\text{Ca}(\text{OH})_2]$ 、硫酸铝 $[\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3]$ 、三氯化铁 (FeCl_3) 等。生物除磷是指利用微生物生长对磷的吸收，最终通过沉淀池排放剩余污泥实现磷的去除。而微生物对磷的吸收又可分为两种：一种是生物同化作用除磷，即仅仅依靠微生物自身生长所需吸收磷，但是这种方法的除磷效果往往十分有限；另一种方法则是培养一类具有“过量吸磷”能力的聚磷微生物以实现磷的高效去除，该方法通常被称为强化生物除磷（enhanced biological phosphorus removal, EBPR）。由于强化生物除磷技术具有运行费用低、二次污染少等特点，是目前国内外各污水处理厂最广泛应用的污水除磷技术。

1.2 强化生物除磷技术

强化生物除磷技术 (EBPR) 主要是通过富集一类具有特殊聚磷能力的微生物来实现的。这些聚磷微生物通常被称为聚磷菌 (polyphosphate accumulating organisms, PAOs)。普通微生物细胞体的含 P 量一般仅为其重量的 2.3% 左右, 而 PAOs 通过吸磷作用其体内含 P 量可达 7%~8%^[6]。这种超过微生物自身生长需要的“过量”吸磷现象最早于 20 世纪 50 年代被发现于污水处理厂中^[7]。到 20 世纪 70 年代, 随着微生物技术在生物除磷上的研究不断加强, EBPR 技术日渐成熟, 并普遍应用于世界各国污水处理厂中。

一般来说, EBPR 技术主要包括两个过程, 即厌氧释磷过程和好氧吸磷过程。与其他大多数微生物不同的是, 厌氧条件下 PAOs 能够以挥发性脂肪酸 (volatile fatty acids, VFAs) 作为碳源, 将其摄取转化为聚- β -羟基链烷脂酸 (poly- β -hydroxyalkanoates, PHA) 贮存于细胞体内。该转化过程所需的能量主要来自于 PAOs 细胞体内多聚磷酸盐 (polyphosphate, PP) 的断裂, 于是引起大量正磷酸盐从 PAOs 细胞体内释放到液相中。这个过程被称为 PAOs 的厌氧释磷过程。而在好氧条件下, PAOs 则以厌氧条件下贮存的 PHA 作为能源进行生长, 同时将液相中的磷酸盐大量吸收入细胞, 以 PP 的形式重新贮存。这个过程就是 PAOs 的好氧吸磷过程。通常, PAOs 好氧条件下吸收的磷酸盐量会大大超过厌氧条件下释放的磷酸盐量, 于是表现上就实现了磷酸盐从液相中的大量去除。EBPR 技术正是利用 PAOs 的释磷吸磷特性, 使其交替处于厌氧和好氧的条件下, 从而实现污水中 P 的不断去除。最后, 过量吸磷的 PAOs 则以剩余污泥的形式排放。剩余污泥中的含磷量, 即是从污水中去除的净除磷量。

大多数情况下, EBPR 技术除磷过程都是通过厌氧-好氧系统工艺的循环运行来实现的。此外, 厌氧-缺氧的运行方式也有可能实现, 这主要是因为部分聚磷菌能够利用硝酸盐或亚硝酸盐代替氧作为电子受体, 从而在缺氧的条件下进行吸磷, 同时进行反硝化过程。这些特殊的聚磷菌也被称为反硝化聚磷菌 (denitrifying phosphorus accumulating bacteria, DPB)。Kuba 等^[8]研究发现, DPB 的生物代谢原理与 PAOs 极为相似, 唯一不同的是在缺氧条件下, DPB 以 NO_3^- 为电子受体降解 PHA, 产生的能量大部分用于 DPB 细胞合成和生命活动, 一小部分用于过量摄取水中磷酸盐并以 PP 的形式储存于细胞体内, 同时将 NO_3^- 还原为 N_2 。这样利用厌氧-缺氧条件去除部分磷, 其好处是可以减少运行成本, 不仅节约了鼓风机曝气的投入, 而且减少了用于反硝化过程的碳源需求。因此, 目前许多工艺过程在设计时都结合考虑了 N 和 P 的去除^[9,10]。

1.3 EBPR 系统运行工艺

近年来 EBPR 系统工艺研究所取得的进展主要在于脱氮除磷相结合的新工艺的不断发展。在许多 EBPR 工艺的设计中, PAOs 的反硝化能力成为一个重要的因素, 这主要是考虑到除磷与反硝化过程同时进行可减少溶解氧及碳源的需求, 从而降低系统运行的成本。

同时脱氮除磷系统工艺的设计, 主要涉及污泥在厌氧区、缺氧区、好氧区之间的不断

循环。在厌氧段，VFAs 被 PAOs 摄取并贮存为 PHA，同时伴随着磷的释放。如果设计中考虑到了反硝化除磷，则再将活性污泥生物暴露在缺氧条件下。最后，在好氧阶段氧化氨产生必要的硝酸盐，同时吸取磷。这三个工艺过程以不同的形式进行组合，如表 1-1、图 1-1 所示。文中提到的并非涉及 EBPR 的所有工艺技术，而是一些在大规模污水厂中应用的主要运行工艺，以及一些新型工艺的发展趋势。

表 1-1 生物脱氮除磷工艺

工艺名称	前反硝化	后反硝化	单污泥系统	双污泥系统
A ² O ^[9]	✓		✓	
UCT ^[9]	✓		✓	
五段 Bardenpho ^[9]	✓		✓	
BioDenipho ^[10]	✓		✓	
BCFS ^[11]	✓		✓	
DEPHANOX ^[12]		✓		✓
A ² N ^[13]		✓		✓
MBR ^[14]	✓	✓	✓	
Orbal ^[15]	同步硝化反硝化	✓		
SNDPR ^[16]	同步硝化反硝化	✓		

1.3.1 前反硝化工艺

“传统”工艺如 A²O、UCT (University of Cape Town) 以及 Five stage Bardenpho 等^[9]都是基于前反硝化作用，即缺氧段设于好氧硝化段之前。因此，需要大量混合液从好氧段回流至缺氧段，以用于为富含 PHA 的 PAOs 污泥 (来自厌氧段) 提供反硝化除磷所需要的 NO_x。

在 A²O 工艺^[9]中 [图 1-1(a)], 污泥回流到开始的厌氧阶段。这样回流污泥全部进入到厌氧池中，缺点是好氧阶段硝化作用产生的 NO_x 直接进入厌氧阶段，使得反硝化作用消耗了大量的 VFA，而不是让 PAOs 以 PHA 形式储存起来。汉诺威大学废水与废物管理技术研究所开发的 ISAH 工艺^[10]，其工艺设置与 A²O 相似，但主要的区别是使回流污泥先进入一个单独的缺氧池进行反硝化作用，从而避免了上述问题。

UCT 工艺^[17]与 A²O 工艺不同的是，它将污泥回流到缺氧段 (而不是厌氧段)，并将缺氧段后的混合液回流到厌氧段，以提高碳源的利用和生物循环。改良的 UCT 工艺 [图 1-1(b)] 则设有两个独立的缺氧区。第一个缺氧池只接受回流污泥中少量的硝酸盐进行快速反硝化。反应结束后混合液回流到厌氧段，从而混合液中仍含有大量的有机碳，只含有很少量的 NO_x。好氧段产生的大部分回流污泥则进入第二个主缺氧池进行反硝化。

Five stage Bardenpho 工艺，也称为 Johannesburg 工艺^[9]，提供了另一种尽量减少厌氧段 NO_x 的方法，即引入第二个缺氧区以利用储存的碳将残余 NO_x 进行反硝化 [图 1-1(c)]。而末端设有好氧区则可促进 N₂ 的溢出，同时也利于 P 的好氧吸收。类似策略在 BioDenipho 工艺和改良的 UCT 工艺中也得到了应用^[10]，其厌氧区之后设置的是交替的缺氧区和好氧区。这些工艺结构独具的特征是将缺氧区和好氧区相互交联，使混合液不断地通过两个区域，从而省去了内部循环的需要。出水连续地从好氧池流向沉淀池，而污泥则回流到厌氧池。

1.3.2 后反硝化工艺

除了上述的前反硝化工艺外，也有其他基于后反硝化作用的处理工艺。后反硝化工艺

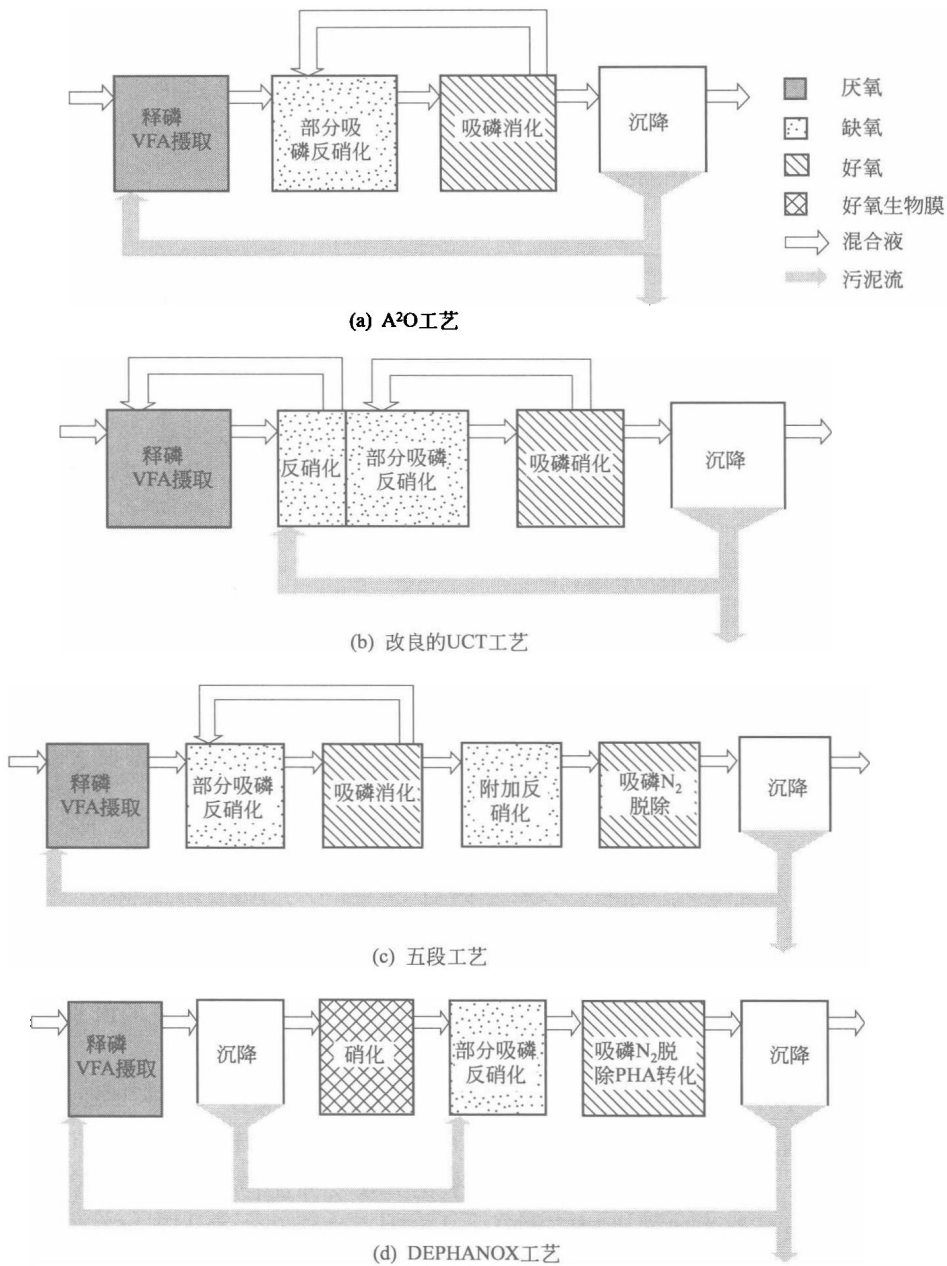


图 1-1 脱氮除磷结合工艺过程

减去了上述各种工艺中所需的混合液回流，并提倡使用序批式反应器（sequencing batch reactors, SBR）。然而，当同一批污泥依次经过厌氧—好氧—缺氧条件时，除磷过程所需的胞内聚合物 PHA 在厌氧阶段贮存后，进入好氧阶段可能会在好氧吸磷过程中被消耗殆尽，导致后续缺氧阶段反硝化作用所需的碳源不足。为了避免电子受体的浪费，后反硝化工艺通常采用双污泥系统（表 1-1），使含有硝化菌的厌氧-缺氧除磷污泥绕过好氧阶段。DEPHANOX 工艺^[12] [图 1-1(d)] 和 A²N 工艺^[13] 都是该系统工艺的典型例子。DEPHANOX 工艺中，在最初的厌氧段后进行泥水分离，污水进入一个独立的反应池，池中含有基于固定膜生长的硝化细菌。若系统中 DPB 除磷不完全，则在后反硝化工艺的末端仍

需设一个好氧池。该好氧池同时可以促进残留 N_2 的溢出, 促进 PHA 转换成糖原以用于之后的厌氧阶段。双泥系统在回流设备上的费用投入较少, 但是比单泥系统涉及更多的沉淀装置。为减少沉淀装置的数量, 可以考虑采用两个 SBR, 一个为厌氧-缺氧体系, 另一个为好氧体系^[13]; 或者采用一个 SBR 加一个生物膜硝化反应系统^[18]。

1.3.3 化学沉淀结合工艺

在某些除磷工艺中, 化学沉淀法也被结合到 EBPR 技术中形成新的结合工艺。在 PhoStrip 工艺中^[9], 部分回流污泥被转移到一个厌氧分离池中进行释磷作用。污泥继而返回到生物处理过程中, P 则通过化学沉淀作用从液相中去除。另外在荷兰几个污水处理厂中开发应用的工艺是 BCFS (biological and chemical P and nitrogen removal) 工艺。这个工艺类似于在改良的 UCT 工艺 [图 1-1(b)] 中集成一个“P-脱离”系统, 即当生物除磷不充分时, 将部分厌氧段出水转入化学除磷过程。此外, 化学沉淀结合 EBPR 工艺也被应用于污泥处理 (多为厌氧消化处理)。厌氧条件下, 贮存的多聚磷酸盐被水解和释放, 此时若返回到活性污泥系统工艺中会引起 P 负荷的增加^[19]。而若转化为 P 沉淀物, 如磷酸铵 (鸟粪矿), 则可减少 P 浓度, 同时能以肥料的形式进行重新利用^[20~22]。该项技术工艺目前在一些污水处理厂中已经得到实施应用^[23,24]。

1.3.4 工艺发展与趋势

利用膜生物反应器 (membrane bioreactors, MBR) 去除 P 和 N 已经被 Lesjean 等^[14] 试验过。前反硝化和后反硝化工艺都适用 MBR, 并且有除磷效果相似, 但是后反硝化工艺具有更高的脱氮能力。MBR 工艺结构的优势是可以降低污水悬浮固体的排放, 这在日益严格的排放标准要求下是十分可贵的。目前, EBPR 技术在生物膜处理工艺中虽可实现运用, 但是剩余污泥的控制排放 (而这对于 P 的实际去除非常重要) 仍是十分困难的, 因此迄今依然无法广泛应用^[25]。

其他的工艺设计曾考虑在实现 EBPR 的同时达到硝化和反硝化作用。Orbal 工艺^[15] 和同步硝化反硝化与除磷 (SNDPR) 工艺^[16] 就是这样的例子。在 Orbal 工艺中, 最初曝气-缺氧阶段 ($DO < 0.1 \text{ mg/L}$) 提供了同时硝化反硝化、释磷的条件。吸磷作用则在随后的好氧阶段发生。SNDPR 工艺在最初的厌氧阶段实现磷释放和 VFA 吸收, 在随后的好氧阶段 ($DO 0.5 \text{ mg/L} \pm 0.1 \text{ mg/L}$), 由亚硝酸盐发生硝化和反硝化作用, 同时伴随吸磷作用。该系统在实验室规模的 SBR 中已经成功运行, 但尚未在较大规模的厂中实施。使用颗粒污泥实现同步脱氮除磷的研究引起了越来越多的关注^[26]。从生物聚集而形成的溶解氧梯度来看, SNDPR 是比较有利的, 因为这样可以促进颗粒表面的硝化作用 (存在溶解氧), 同时反硝化作用在颗粒内部 (存在 NO_x 而不存在氧气) 发生。实验室研究证明, 对于模拟废水和实际废水, 颗粒都能实现稳定的 P 和 N 去除^[27~30]。此外, 发现较低的厌氧底物进料速率可以促进缓慢生长细菌 (如 PAOs) 的生长, 从而提高颗粒的稳定性^[29]。颗粒污泥的优势还表现在污泥沉降性能的大幅度提高, 从而可减少沉淀池的容积需求, 因此具有一定的经济优势。

1.4 EBPR 系统微生物

如果运行顺利, EBPR 技术是一种经济且符合环境可持续发展的生物除磷方法; 然

而, EBPR 系统运行的稳定性和可靠性也是个问题。众所周知, 从经验上而言 EBPR 厂在处理过程中往往会出现扰乱、退化现象, 甚至使系统崩溃, 从而使出水不达标^[31~34]。在某些情况下, 如大雨、厌氧 N 负荷过高或营养物质限制等外界干扰都可能导致 EBPR 系统工艺的混乱。除此之外, 另一类细菌, 即聚糖菌 (glycogen accumulating organisms, GAOs) 与 PAOs 之间的微生物竞争, 被认为是引起除磷能力下降的重要原因。与 PAOs 一样, GAOs 可以在厌氧和好氧交替的条件下生长繁殖; 但不同的是 GAOs 不能在厌氧条件下释磷, 也不能在好氧条件下吸磷。因此, 它们在 EBPR 系统中对于 P 的去除没有贡献。一般认为, GAOs 在厌氧条件下利用细胞内的糖原 (glycogen, GLY) 作为主要能源, 摄取 VFAs 并以 PHA 的形式贮存; 在好氧条件下 PHA 被氧化, 用于生物体的生长以及 GLY 的补给^[35~37]。由于 GAOs 消耗 VFAs 但不去除磷, 它们在 EBPR 系统中是没有必要存在的。然而, 在很多实际运行的 EBPR 系统中 GAOs 都曾被发现^[33,38~44]。多年来, 随着各种微生物学检测方法在 EBPR 系统中的应用, 许多不同的 PAOs 与 GAOs 菌群也逐渐被鉴定出来。

1.4.1 PAOs 鉴定

1.4.1.1 PAOs 的分离

在 30 年前, 人们依靠特定的培养基方法对 EBPR 中的微生物进行了第一次鉴定。假设能够除磷的细菌群落在特定的培养基上能够生长^[45]。通过这种方法, 最初发现不动杆菌属 (*Acinetobacter*) 是生物除磷系统中主要的除磷细菌^[46], 并在很长一段时间里认为是唯一的 PAOs。但是, 随着荧光原位杂交 (fluorescence in situ hybridization, FISH)、16S rRNA 检测、变性梯度凝胶电泳 (denaturing gradient gel electrophoresis, DGGE) 等技术的应用, 发现在实验室和现场运行的 EBPR 污泥中都存在不同种类的生物群落^[47]。采用特殊的 FISH 探针测试发现与其他细菌如 β -变形菌 (*Beta proteobacteria*) 和放线菌 (*Actinobacteria*) 相比, *Acinetobacter* 在整个除磷系统中的作用十分小^[48]。

聚磷小月菌 (*Microlunatus phosphovorus*)^[49] 是另一种被分离出来且认为在除磷过程中担当重要角色的微生物。但是, 随后的研究利用³¹P-NMR 和¹³C-NMR 方法^[50] 检测发现在聚磷小月菌体内不存在糖原和 PHA 循环, 这和典型的 PAOs 表现完全不同。此外, 聚磷小月菌一般不会出现在 EBPR 系统中^[47], 这说明聚磷小月菌并非 PAOs 的主要菌群。而其它一些从 EBPR 系统中分离出来的微生物如 *Lampropedia* sp.^[51] 和 *Tetrasphaera* spp.^[52] 等, 也都没有表现出典型的 PAOs 特征^[47]。事实上, 尽管已经付出了很多的努力, 但是成功分离出 PAOs 的单一菌种仍无法实现。

在除磷菌群的高富集培养基中利用微控技术的方法被提出来, 以试图成功实现 PAOs 分离^[47,53]。为了能利用微控技术挑出分离的菌种, 同时避免其他细菌的污染, PAOs 的高富集培养是十分必要的^[53]。Lu 等^[54] 提出了一种值得借鉴的方法, 可以获得高浓度的 PAOs (通过 FISH 技术测得 PAOs 含量 > 90%) 并抑制 GAOs 的生长。这对于今后分离 PAOs 的研究是非常有益的。PAOs 的高富集培养方法将在第 2 章中详细介绍。

1.4.1.2 *Candidatus Accumulibacter phosphatis*

尽管成功分离 PAOs 存在着一定的困难, 但是最近十多年来随着分子生物学技术的应用, 对于这些聚磷微生物的鉴定已经取得了一定的进展。Bond 等^[55] 通过 16S rRNA 克隆基因库系统发育分析的方式, 发现了除磷污泥和非除磷污泥中微生物群落结构的不同; 尤

其是, β -变形菌纲第二亚纲下的红环菌属 (*Rhodocyclus*) 菌群在除磷污泥中占有很大的比例。Bond 等^[56] 随后的研究结果支持了上述结论, 他们在具有良好 EBPR 性能的活性污泥中, 利用 FISH 技术检测到了一些与 *Rhodocyclus* 有亲缘关系的细菌。Hesselmann 等^[57] 将这些属于 β -变形菌纲第二亚纲的与 *Rhodocyclus* 有密切亲缘关系的细菌命名为“*Candidatus Accumulibacter phosphatis*”, 简称为 *Accumulibacter*。Hesselmann 等^[57] 和 Crocetti 等^[58] 报道了多个针对 *Accumulibacter* 16S rRNA 不同区域的 FISH 探针。这些研究分别证明了 *Accumulibacter* 符合 PAOs 典型特征, 即利用化学染色法检测到 PP 和 PHA 的厌氧/好氧循环。Zilles 等^[59] 则修改了 FISH 探针用以检测另外两个来自于大规模污水厂的克隆基因。

自从 FISH 技术检测出 *Accumulibacter* 为实验室驯化系统中富集量最大的 PAOs 以来^[57,58,60], 许多调查研究开始考察 *Accumulibacter* 在大型污水处理厂中的存在数量。调研涵盖了四大洲各个不同国家不同工艺构造的污水处理厂^[40~42,59,61,62]。在所有的研究中, *Accumulibacter* 的数量普遍较高 (占总细菌量的 4%~22%); 考虑到大型污水处理厂中存在微生物的种类繁多, 可见在 EBPR 系统中 *Accumulibacter* 是一种重要的除磷微生物。在澳大利亚六个不同 EBPR 厂中的调查表明^[40]: EBPR 运行性能的好坏与污泥中 *Accumulibacter* 的比例含量有关。该项调查研究中, 分别用亚甲基蓝和苏丹黑 B 化学染色法来观察 PP 和 PHA 循环, 结果除了 *Accumulibacter* 并未检测到其它具有 PAOs 特性的细胞体。利用 FISH 结合显微放射自显影技术 (FISH-MAR), Kong 等^[61] 发现丹麦三个 EBPR 厂中 *Accumulibacter* 的代谢途径与 PAOs 生化模型中定义的特征非常相符。不过, 一些研究发现并非所有针对 *Accumulibacter* 的 FISH 探针检测到的细胞都具有聚磷能力^[42,59], 而 PP 颗粒也会存在于其他的细胞体内^[42,59,62]。可见, 在这些污泥中也可能存在着其他的 PAOs 菌群。Wong 等^[44] 将 FISH 技术结合化学染色法应用于表现出上述效应的活性污泥中, 并采用“群特异性探针”检测发现大部分微生物还是属于 *Beta proteobacteria*, 除此以外, 还存在一定百分比的放线菌 (*Actinobacteria*)、 α -变形菌 (*Alpha proteobacteria*) 和 γ -变形菌 (*Gamma proteobacteria*), 但是含量较低。此后进一步的研究将集中在其它 PAOs 菌群的鉴定, 以及针对这些菌种检测的 FISH 探针开发; 而这些菌群在大型 EBPR 厂中的作用也是值得研究的。

1.4.1.3 *Actinobacteria*

在以前的许多研究中发现放线菌 (*Actinobacteria*) 存在于 EBPR 系统中, 并且数量可观^[56,58,60,63,64], 但它们是否为除磷微生物始终没有定论。Kong 等^[65] 研究表明两个 *Actinobacteria* 品种 (与 *Tetrasphaera* 相近), 只有在厌氧条件下摄取有机物质 (如氨基酸) 后, 在好氧条件 (不是缺氧条件) 下才能吸磷。但是这些菌不能摄取 VFAs, 而且它们细胞体内贮存的聚合物 (不是 PHA) 还不能被鉴别出来。如果说这些放线菌是 PAOs, 似乎也不太确切。因为它们不符合生物化学模型定义的 PAOs 特征, 而且它们在废水中摄取的碳源也不同。在丹麦 10 个 EBPR 厂中用 FISH 探针进行检测, 发现 *Actinobacteria* 大量存在 (占总菌群比例高达 35%)^[65]。这些菌群显著存在于工业污水处理厂中, 但在生活污水处理厂中也有发现^[65,66]。目前, 由于缺少其相关的生化机制信息以及工艺运行数据, *Actinobacteria* 在 EBPR 系统中的角色还不能确定, 而这也是此后研究的重点。

1.4.2 GAOs 鉴定

在看似有利的条件下 EBPR 系统运行失败的情况, 已有大量的文献报道^[35,36,38,67~70]。Fukase 等^[71]最先报道可能存在一类微生物与 PAOs 竞争, 它们在厌氧条件下摄取 VFAs, 但在好氧条件下不聚磷。Cech 和 Hartman^[67,68]发现在以葡萄糖或醋酸盐为碳源的系统中大量存在一种以四个染色体排列的球形细胞, 而此系统在厌氧条件下碳源被摄取却不存在释磷现象。这种生物体最初被命名为“G 细菌”。之后, 则常被称为四分染色体形微生物 (tetrad-forming organisms, TFOs)^[72]。Mino 等^[37]将其命名为 GAOs, 并且对其特性进行了定义: 在好氧条件下, 储存 GLY; 在厌氧条件下, 消耗 GLY 产生能量, 用于摄取碳源并将其贮存为 PHAs。但这些微生物不会总是以四分染色体形式存在, 因此判断 GAOs 是否存在, 主要还是取决于其特性而非形态。

1.4.2.1 GAOs 的分离

通过依赖培养法的方式可分离出类似于一些 EBPR 系统中观察到的 TFO。Cech 和 Hartman^[68]研究中“G-细菌”的原始菌种经分离后, 被鉴定为 *Amaricoccus kaplicensis*^[73], 但也有报道认为是 *Tetracoccus cechii*^[74]。但是, 在其他以醋酸盐和葡萄糖为碳源的运行较差的厌氧/好氧 EBPR 系统中, 却并没有发现这类菌种^[75], 而且该菌种也没有在厌氧条件下摄取这些底物的能力^[76]。至于分离出来的其它菌种更是多种多样^[73,75,77~79], 有的属于 *Alphaproteobacteria* (如 *Amaricoccus* spp. 和 *Defluviicoccus vanus*); 有的属于 *Betaproteobacteria* (如 *Quadracoccus* sp.); 有的属于 *Gamma*proteobacteria; 有的属于 *Actinobacteria* (如 *Tetrasphaera* spp., *Micropruina glycogenica*, *Kineosphaera limosa*)。其中, 除了 *Micropruina glycogenica* (分离自以葡萄糖为碳源的实验室系统) 以外, 其它分离出来的细菌在污水处理厂和实验室系统中的含量都不高^[47,75]。目前并没有迹象表明 *Micropruina glycogenica* 或任何其他分离菌种具有 GAOs 特性。

1.4.2.2 *Gamma*proteobacteria GAOs

最早对 GAOs 进行的生物学表征是通过对 PCR 扩增 DGGE 分离后的 16S rRNA 基因进行独立培养。一类属于 *Gamma*proteobacteria 的新菌群从筛选凝胶体中被鉴定了出来^[69]。针对该新菌群的两个 FISH 探针 (Gam1019 与 Gam1278) 经设计后用于检测, 结果发现这些球状菌在恶化的生物除磷反应器中数量占总菌群的 35%。

Crocetti 等^[38]利用恶化的 EBPR 系统污泥建立了一个 16S rRNA 基因克隆文库, 并在此基础上设计了两个新型 FISH 探针 (GAOQ431 与 GAOQ989), 这两个探针检测针对的目标菌种属于 *Gamma*proteobacteria。这些克隆基因序列与 Nielsen 等^[69]报道的属于同一群落。它们身上很明确地体现出了 GAOs 特性, 并被命名为“*Candidatus Competibacter phosphatis*”, 在之后的研究中也常被简称为 *Competibacter*^[38]。Kong 等^[39]对现有的 14 个 16S rRNA 序列 (部分由 Nielsen 等^[69]获得) 以及 18 个新序列进行了系统发育分析, 并且观察到一个新型群落, 该群落的 7 个子群都属于 *Gamma*proteobacteria。他们针对这一特殊的群落分级设计了 10 个针对这 7 个子群的 FISH 探针, GB 为普通级别, 可以分为 GB-G1 (与 GAOQ989 相同)、GB-G2 和 GB-1-GB-7。这些细菌表现为球菌和杆菌, 并且广泛分布在 9 个大规模与实验室规模的 EBPR 系统 (占总菌群数量的 10%~50%) 以及 4 个标准活性污泥法系统 (占 1%~10%) 的样品污泥中。因此, 检测 *Competibacter* (属于 GB 世系) 即可以用 GB 探针, 也可以用 GAOQ989 和 GB-G2 混合探针。两者都能