

亚硝酸盐对聚磷菌厌氧代谢的影响

曾薇, 杨莹莹, 王向东, 李磊, 李博晓, 彭永臻

(北京工业大学环境与能源工程学院, 北京 100124)

摘要:以2种强化生物除磷(EBPR)系统中的活性污泥为研究对象,考察亚硝酸盐对聚磷菌厌氧代谢的影响,结果表明:不同EBPR系统中的聚磷菌对于亚硝酸盐的耐受能力不同。人工配水富集聚磷菌的活性污泥,当亚硝态氮浓度超过10 mg/L时,聚磷菌吸收VFA受到抑制,PHA的合成减少,磷酸盐的释放增加;处理生活污水的SBR短程脱氮除磷活性污泥,亚硝酸盐的浓度高达30 mg/L时,未对聚磷菌的厌氧代谢造成抑制,但引起异养反硝化菌与聚磷菌竞争VFA,导致PHA合成量和释磷量的减少。富集聚磷菌的活性污泥投加亚硝酸盐后P/VFA增大,说明有亚硝酸盐存在时更多的能量用于VFA的吸收。对2种活性污泥中聚磷菌的荧光原位杂交(FISH)定量分析表明:富集聚磷菌系统中聚磷菌含量达到55%,而短程脱氮除磷系统中为7.6%。

关键词:聚磷菌;亚硝酸盐;厌氧代谢;抑制;污水处理

中图分类号:X703.1 **文献标志码:**A **文章编号:**1674-4764(2012)02-0132-06

Effect of Nitrite on Anaerobic Metabolism of Phosphate Accumulating Organisms

ZENG Wei, YANG Ying-ying, WANG Xiang-dong, LI Lei, LI Bo-xiao, PENG Yong-zhen

(School of Environmental and Energy Engineering, Beijing University of Technology, Beijing 100124, P. R. China)

Abstract: Two enhanced biological phosphorus removal (EBPR) sludges were used to investigate the effect of nitrite on anaerobic metabolism of phosphate accumulating organisms (PAOs). It is found that tolerance of PAOs to nitrite in two sludges were different. In the sludge with enriched PAOs cultures treating synthetic wastewater, when nitrite is above 10 mg/L, it inhibits VFA-uptake of PAOs, leading to decrease of PHA synthesis and increase of phosphate release. In the sludge with nitrogen and phosphorus removal by shortcut nitrification treating real domestic wastewater, anaerobic metabolism of PAOs is not inhibited even when nitrite is 30 mg/L; however, the presence of nitrite in anaerobic period causes denitrifying bacteria compete for limited carbon sources with PAOs, resulting in decrease of PHA synthesis and phosphate release. For the enriched PAOs cultures, the ratio of P/VFA obviously increases when nitrite is added in the reactor, indicating increased energy requirement for PAOs to take up VFA. The quantification results for PAOs in two sludges using fluorescence in-situ hybridization (FISH) show that the PAOs level is 55% in the enriched PAOs cultures, and 7.6% in the sludge with nitrogen and phosphorus removal by shortcut nitrification.

Key words: phosphate accumulating organisms (PAOs); nitrite; anaerobic metabolism; inhibition; wastewater disposal

收稿日期:2011-09-17

基金项目:国家自然科学基金资助项目(50878005);霍英东教育基金会高等院校青年教师基金资助项目(121076);北京市自然科学基金资助项目(8102005)

作者简介:曾薇(1974-),女,教授,主要从事污水生物处理研究,(E-mail)zengwei_1@263.net。

彭永臻(通讯作者),男,教授,博士生导师,(E-mail)pyz@bjut.edu.cn。

强化生物除磷(Enhanced biological phosphorus removal, EBPR)作为一种经济可持续的除磷工艺在污水处理厂中得到了广泛的应用。EBPR 工艺的实现主要依靠聚磷菌(Phosphate accumulation organisms, PAOs)在交替的厌氧/好氧环境中放磷及过量吸磷,然后通过排放剩余污泥达到除磷的目的。厌氧条件下,PAOs 体内的多聚磷酸盐(polyphosphate, poly-P)分解,产生的能量用于挥发性脂肪酸(volatile fatty acids, VFAs)的吸收,并以聚羟基烷酸(poly- β -hydroxyalkanoates, PHA)的形式储存于细胞内。PHA 合成所需的还原力由糖原的分解供给。好氧条件下,PAOs 分解体内储存的 PHA,获得的能量用于细胞的生长、糖原的补充和磷的过量吸收及储存^[1]。

亚硝酸盐作为硝化和反硝化过程的中间产物,广泛存在于生活污水脱氮除磷系统中,并在一定条件下形成积累,含量甚至能够达到 19 mg/L 以上^[2-3]。有报道指出在污水生物处理系统中,高浓度的亚硝酸盐对多种微生物产生抑制作用,包括普通需氧型异养菌和硝化细菌等^[4-6]。近年,亚硝酸盐对 PAOs 好氧吸磷和反硝化吸磷的抑制引起了学者的广泛关注。Zhou 等^[7]以 4 种不同的污泥为研究对象,考察了亚硝酸盐对 PAOs 反硝化吸磷过程的影响,发现亚硝的游离态形式——游离亚硝 FNA(Free nitrous acid, FNA)才是真正的抑制剂,当 FNA 浓度达到 0.02 mg HNO₂-N/L 时,吸磷作用则被完全抑制。当 FNA 从 0.002 mg HNO₂-N/L 增加到 0.02 mg HNO₂-N/L 时,聚磷菌的反硝化速率减小了约 40%。Weon 等^[8]人以 *Acinetobacter* sp 为对象,研究了亚硝酸盐对聚磷菌好氧代谢的影响,指出 *Acinetobacter* sp 的好氧生长和吸磷过程都受到了亚硝酸盐的抑制。Pijuan 等^[9]进一步提出了 FNA 是真正的抑制剂,对好氧条件下 *Accumulibacter* PAO 的生长、糖原的合成以及吸磷都造成严重的抑制。可见,亚硝酸盐的存在对于 EBPR 系统的稳定运行有着重要的影响。

目前,亚硝酸盐对 PAOs 代谢影响的研究多集中于反硝化吸磷和好氧吸磷过程,而亚硝酸盐对 PAOs 厌氧代谢影响的研究较少。本研究以来自不同的 EBPR 系统的活性污泥为研究对象,在厌氧条件下投加一定量的亚硝酸盐,分析亚硝酸盐对 PAOs 厌氧代谢的影响机制,有利于进一步了解亚硝酸盐对生物除磷过程的影响。

1 材料与方法

1.1 实验污泥和反应器运行

试验所用污泥取自 2 个不同的 EBPR 系统。

活性污泥 1:取自实验室 SBR 1 反应器,该反应器采用厌氧/好氧运行方式富集聚磷菌,进水为人工合成废水。有效容积 10 L,每天运行 2 周期,每周期 290 min(厌氧 120 min,好氧 160 min,沉淀排水 10 min),排水比 1:4。通过调节流量计维持溶解氧在 2.0±0.5 mg/L 之间。用 1M HCL 和 1M NaOH 调节 pH,维持厌氧进水初始 pH=7.5,好氧段 pH 在 7.3~7.6 之间。

活性污泥 2:取自实验室 SBR 2 反应器,以厌氧/好氧方式运行,进水为实际生活污水。有效容积为 7 L,每天运行 3 周期,每周期 420 min(厌氧 120 min,好氧 240 min,沉淀排水 60 min),排水比为 1:2。好氧阶段溶解氧维持在 2~3 mg/L 之间,好氧末端亚硝酸盐积累率达到 95%以上。

1.2 试验水质

SBR1 反应器采用人工配水,每升配水所含成分见表 1,其中营养液成分(1 L):1.5 g FeCl₃·6H₂O, 0.15 g H₃BO₃, 0.03 g CuSO₄·5H₂O, 0.18 g KI, 0.12 g MnCl₂·4H₂O, 0.06 g Na₂MoO₄·2H₂O, 0.12 g ZnSO₄·7H₂O, 0.15 g CoCl₂·6H₂O, 10 g EDTA。配水的水质为:COD 浓度为 800 mg/L,磷酸盐浓度为 20 mg/L。

表 1 人工配水成份及水质指标

药剂名称	投加量	药剂名称	投加量/mg
无水乙酸钠(丙酸钠)	1.176 g(0.741 g)	KH ₂ PO ₄	87.55
氯化铵	0.153 g	K ₂ HPO ₄	112.2
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.18 g	ATU(硝化抑制剂)	1.2
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0.02 g	蛋白胨	1.5
营养液	0.6 mL		

SBR2 反应器的实验用水取自某生活小区化粪池的实际生活污水,试验期间平均水质主要参数为:COD=175.7~223.8 mg/L,平均 194.5 mg/L;NH₄⁺-N=60.42~79.43 mg/L,平均 69.44 mg/L;PO₄³⁻-P=4.30~8.28 mg/L,平均 5.71 mg/L。

1.3 静态试验

从 2 个 SBR 反应器好氧末端取 4 L 污泥,清洗 3 遍,将清洗后的污泥平均分装于 4 个反应瓶中,然后加入人工配水至 1.5 L。人工配水中不含磷源和碳源,其余成分如表 1 所示。向 4 个反应瓶中分别加入 10 mL 30 g/L 的乙酸钠溶液,使其初始碳源浓度达到 200 mg/L。同时投加不等量的亚硝酸钠,使得 4 个反应瓶中亚硝态氮的浓度分别达到 0、10、20 和 30 mg/L。实验过程中在线监测 pH,用 0.5 mol/L

的 HCL 和 0.5 mol/L NaOH 调节并维持混合液的 pH=7.5±0.05, 温度控制为 25 °C±0.5 °C。

1.4 分析方法

COD、NH₄⁺-N、NO₂⁻-N、PO₄³⁻-P 按照标准方法^[10]进行测定;采用安捷伦 6890 N 系统气相色谱仪测定 PHA(主要包括聚羟基丁酸(PHB)和聚羟基戊酸(PHA))和乙酸;pH 值使用德国 WTW MultiLine 340i 手提式在线检测仪测定。

采用荧光原位杂交技术(Fluorescence in-situ hybridization, FISH)分析聚磷菌的富集程度。试验中采用的 16S rRNA 寡核苷酸探针如表 2 所示。其中全菌探针 EUBmix 由 EUB338、EUB338 II 和 EUB338 III 混合而成;聚磷菌探针 PAOmix 由 PAO462、PAO651 和 PAO846 混合而成。

表 2 FISH 分析中采用的 16S rRNA 寡核苷酸探针^[11-12]

探针	FA/%	荧光标记	检测目标
EUBmix	35	FITC	几乎全部 Eubacteria
PAOmix	35	Cy3	Accumulibacter

2 实验结果和分析

2.1 亚硝酸盐对人工配水富集聚磷菌厌氧代谢的影响

图 1 表示不同亚硝酸盐浓度下活性污泥 1 中 VFA、PO₄³⁻-P、PHA 和 NO₂⁻-N 浓度的变化。由图 1(a)可看出,与未投加亚硝酸盐的情况相比,投加亚硝酸盐的反应瓶中 VFA 的消耗速率明显减慢,直至反应进行至 120 min 反应瓶内仍有 VFA 剩余。反应进行至 70 min 时,未投加亚硝酸盐的反应瓶中 VFA 已经消耗完,而亚硝态氮浓度分别为 10、20 和 30 mg/L 的反应瓶中,VFA 的浓度分别为 73.88、92.93 和 98.25 mg/L。由图 1(c)可看出一部分 VFA 被聚磷菌吸收以 PHA 的形式储存在体内,而由图 1(d)可知还有一部分 VFA 被异养菌作为碳源用于亚硝酸型反硝化反应。亚硝态氮浓度分别为 10、20、30 mg/L 时,亚硝酸盐的利用速率基本一致,即反硝化速率没有明显的差异。由此可以看出,亚硝酸盐对聚磷菌吸收 VFA 的过程造成抑制,但对于亚硝酸盐的反硝化过程没有明显影响。

图 1(b)反映了不同亚硝酸盐浓度下磷酸盐浓度的变化。与 VFA 的浓度变化不同,向反应瓶中投加亚硝酸盐不但没有减少磷酸盐的释放量,反而促进了聚磷菌对磷酸盐的进一步释放,在反应进行至 70 min 时,亚硝酸盐浓度为 30 mg/L 的反应瓶中磷酸盐的释放量达到 67.8 mg/L,比未投加亚硝酸盐

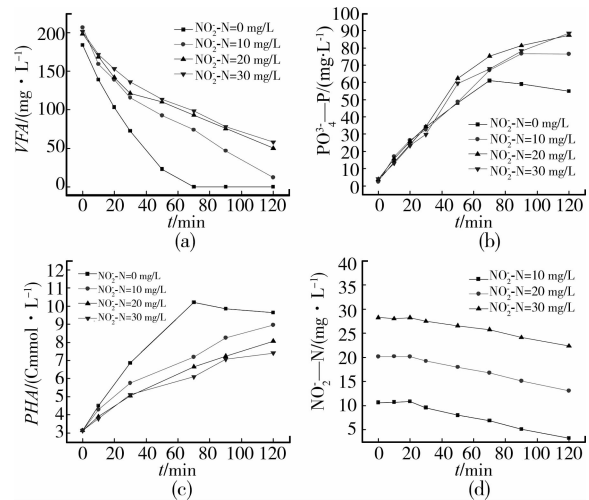


图 1 不同亚硝酸盐浓度下活性污泥 1 中 VFA、PO₄³⁻-P、PHA 和 NO₂⁻-N 浓度的变化

反应瓶中的浓度高 6.9 mg/L。在未投加亚硝酸盐的反应瓶中,反应进行至 70 min 时,磷酸盐的释放量出现了下降的现象,由 60.9 mg/L 降至 54.9 mg/L。观察图 1(c)亚硝态氮浓度为 0 时聚磷菌合成 PHA 的变化情况,发现 70 min 时 PHA 浓度也出现了不增加反而下降的现象,PHA 浓度由 10.20 Cmmol/L 降至 9.64 Cmmol/L。以上现象说明反应瓶中的 VFA 被消耗完之后,聚磷菌以体内储存的 PHA 为电子供体,以反应瓶中少量溶解氧为电子受体进行吸磷反应。

2.2 亚硝酸盐对短程脱氮除磷活性污泥中聚磷菌厌氧代谢的影响

图 2 表示不同亚硝酸盐浓度下活性污泥 2 中 VFA、PO₄³⁻-P、PHA 和 NO₂⁻-N 浓度的变化。从图 2(a)可以看出,当亚硝态氮浓度分别为 0、10、20、30 mg/L 时,VFA 分别在 120、90、50、50 min 消耗完,投加亚硝酸盐的反应瓶中 VFA 的利用速率大于未投加亚硝酸盐的反应瓶中的 VFA 利用速率。从图 2(c)和图 2(d)可知,对于投加亚硝酸盐的反应瓶,VFA 被聚磷菌吸收除了作为内碳源被储存于体内之外,还有一部分 VFA 作为碳源用于亚硝酸型反硝化反应,所以有亚硝酸盐存在的反应瓶中 VFA 的消耗速率较快。由图 2(d)亚硝态氮的变化曲线可知,当亚硝态氮浓度为 10、20、30 mg/L 时,亚硝态氮的消耗速率没有明显的差异,说明亚硝酸盐没有抑制反硝化反应。

图 2(b)表示了不同亚硝态氮浓度下聚磷菌释放磷酸盐的浓度变化,从曲线的变化可看出随着亚硝态氮浓度的增大,聚磷菌释放磷酸盐的量减少。另外,可观察到当亚硝态氮为 20 和 30 mg/L 时反应

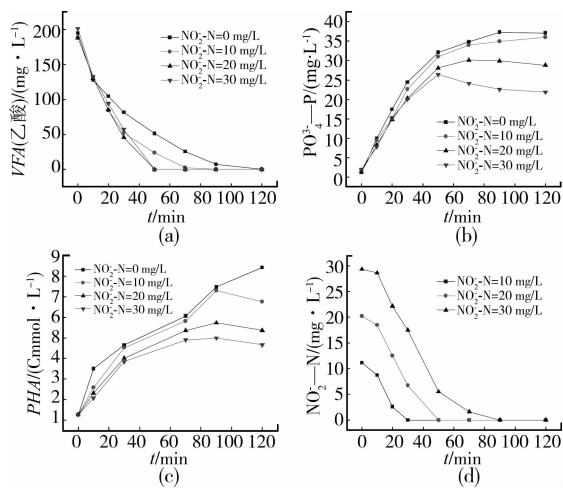


图 2 不同亚硝酸盐浓度下活性污泥 2 中 VFA、 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 、PHA 和 $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 浓度的变化

进行至 50 min 出现磷酸盐浓度没有升高反而降低的现象,而图 2(c)中相应浓度下的 PHA 浓度也出现了一致的变化趋势。由图 2(d)可看出 50 min 时, 20 mg/L 的反应瓶中亚硝态氮全部被反硝化,此时 30 mg/L 的反应瓶中仍存在 5.5 mg/L 亚硝态氮。以上现象说明,当反应瓶中碳源消耗完后,聚磷菌能够以 PHA 为电子供体,以亚硝酸盐为电子受体进行吸磷,这也说明该系统中存在反硝化聚磷菌。

由以上分析可知,30 mg/L 的亚硝酸盐对聚磷菌吸收 VFA、释放磷酸盐、合成 PHA 和亚硝酸盐的反硝化过程没有形成明显的抑制,但是亚硝酸盐的存在仍对系统造成一定的影响。厌氧条件下投加亚硝酸盐,系统中发生异养菌的反硝化作用,引起聚磷菌与普通异养反硝化菌之间对于 VFA 的竞争。而当系统中的碳源不充足时,聚磷菌不能获得足量的 VFA,导致 PHA 的合成和磷酸盐的释放减少,进而影响好氧吸磷作用,若不补充碳源,最终将导致除磷系统的恶化。

2.3 微生物种群分析

对图 1 富集聚磷菌系统中 VFA、 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 、PHA 和 $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 浓度的变化分析可知,10 mg/L 的亚硝酸盐已对聚磷菌的厌氧代谢造成抑制;而在短程脱氮除磷活性污泥的静态试验中,高达 30 mg/L 的亚硝酸盐并未对聚磷菌的代谢形成明显的抑制作用(图 2)。相同的实验条件下,得到了不同的实验结果。为了分析造成以上现象的原因,采用荧光原位杂交技术(FISH)对活性污泥 1 和活性污泥 2 的微生物进行定量分析。

图 3(a)和图 3(b)分别为活性污泥 1 和活性污泥 2 中全菌 EUBmix 和 PAOmix 合成图。经计算可知,活性污泥 1 中的聚磷菌占到全菌的 55%,活

性污泥 2 中的聚磷菌占到全菌的 7.6%。由以上分析可知,对于处理实际生活污水的短程脱氮除磷活性污泥,由于生活污水的水质复杂,进水有机物负荷变化较大,污泥中的微生物种群较丰富且抗冲击负荷能力较强。当系统中有亚硝酸盐存在时,大量的异养菌能够利用碳源快速的将亚硝酸盐还原,从而在一定程度上减弱了亚硝酸盐作为抑制剂对聚磷菌厌氧释磷的抑制作用。而富集聚磷菌系统由于长期用人工配水培养聚磷菌,其污泥中微生物的组成较为简单,对环境变化的适应能力较弱,当系统中加入亚硝酸盐后,聚磷菌的厌氧代谢受到了抑制作用。

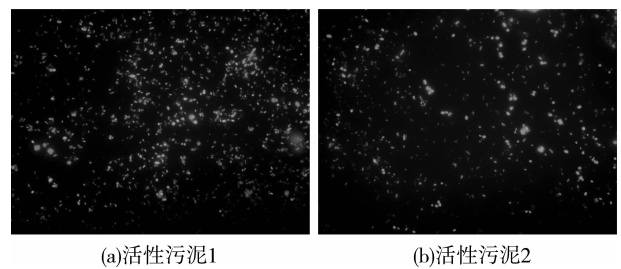


图 3 2 种活性污泥中聚磷菌的 FISH 合成效果图

2.4 亚硝酸盐抑制 PAOs 厌氧代谢的机理分析

2.4.1 亚硝酸盐对 PAOs 吸收 VFA 的影响

Mino^[13]在 1987 年提出乙酸通过主动运输的方式进入聚磷菌体内,Smolders 等^[14]的实验结果也支持了此观点。Saunders 等^[15]在膜运输水平下对厌氧条件下 PAOs 吸收 VFA 的机制进行了更深入的研究,发现乙酸通过细胞膜的驱动力主要来自质子驱动力 PMF,即次级运输。质子驱动力由 Pit 载体蛋白排出磷和质子而产生^[16]。

亚硝酸盐(NO_2^-)对微生物的生长和代谢有抑制作用,Yarbrough 等^[17]研究表明亚硝酸盐会对大量不同种群的细菌产生抑制作用,通过影响主动运输、吸收氧气和氧化磷酸化等过程影响其能量的产生。聚磷菌获得碳源是以主动运输的方式,一定量的亚硝酸盐的存在会影响聚磷菌吸收 VFA 的过程。

主动运输的过程需要消耗能量,关于微生物体内 ATP 形成,目前最为公认的是 Peter D Mitchell 在 1961 年提出化学渗透假说^[17],提出生成 ATP 的氧化与磷酸化之间起到耦联作用的是 H^+ 的跨膜梯度。现有研究认为亚硝酸盐是一种解耦联剂,能够提高质子通过穿梭机制透过细胞膜的性能,破坏跨膜的质子梯度^[18]。在微生物体内,由于细胞膜具有选择性, H^+ 不能自由的通过细胞膜,于是在细胞膜的两侧形成了质子跨膜梯度,而解耦联剂能够提高细胞膜对 H^+ 的通透性,从而破坏了细胞膜两侧的

质子梯度,抑制 ADP+Pi 生成 ATP 的磷酸化作用。由此而推测出,在富集聚磷菌的反应瓶中投加的亚硝酸盐是解偶联剂,通过破坏质子驱动力,破坏 VFA 主动运输的过程,导致聚磷菌吸收 VFA 的量减少。

2.4.2 亚硝酸盐对 PAOs 释放磷酸盐的影响

poly-P 存在于所有的细胞中,可见其对细胞功能有着重要的作用。在 EBPR 系统中,poly-P 的作用还不十分清楚,但是目前被广泛认同的一个重要作用是胞内 poly-P 的水解能够为 VFA 的吸收和 PHA 的合成提供能量^[19]。

厌氧条件下 P 的释放和 VFA 的吸收的比率 P/VFA 是考察 PAOs 性能的一个重要参数^[14],表示了 PAOs 每吸收一个单位的 VFA 所释放的 P 的量,而吸收 VFA 所需的能量主要来自于 poly-P 的水解,所以说 P/VFA 的值体现的是吸收一个单位的 VFA 所需能量的多少。图 4 表示的是富集聚磷菌系统静态试验中不同亚硝酸盐浓度下 P/VFA 的变化情况。与未投加亚硝酸盐的情况相比,有亚硝酸盐存在的系统中 P/VFA 的值较大,说明当有亚硝酸盐存在时需要更多的能量用于 VFA 的吸收。

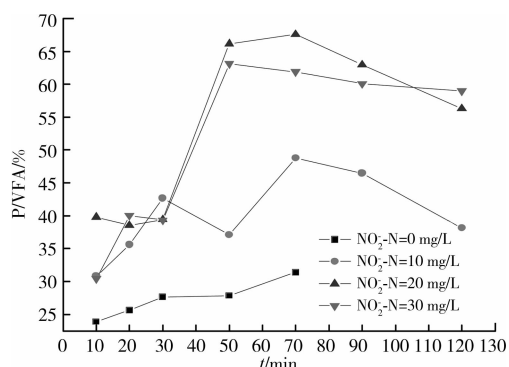


图 4 富集聚磷菌系统静态试验中 P/VFA 的变化

在厌氧条件下,有亚硝酸盐的除磷系统中 P/VFA 的比值较大,说明系统中可能发生了二次释磷现象。所谓二次释磷是指在厌氧条件下,不伴随有机物(如乙酸等)的吸收以及多聚物(如 PHB 等)的合成的磷释放。而引起二次释磷的原因主要有 2 个:一是厌氧条件下加入降低 PMF 的物质;二是细菌的内源呼吸引起了胞内多聚磷酸盐的水解^[21]。

Bond 等^[20]研究表明在碱性条件下,聚磷菌能够通过降解体内储存的 poly-P 调节 EBPR 系统中的 pH。Smolders 等^[14]研究认为随着 pH 值的升高,P/VFA 的比值增大,即 pH 值的升高使得聚磷菌的释磷能力得到了增强。厌氧条件下,聚磷菌吸收 VFA 的过程需要消耗 PMF,而 pH 的升高会降

低 PMF,为了维持 PMF 值的恒定,聚磷菌需要水解更多的 poly-P,所以升高的 pH 使得聚磷菌释放磷酸盐的量增多。由此可推测出,在富集聚磷菌的反应瓶中,厌氧条件下亚硝酸盐的投加促进了磷酸盐的释放,是因为亚硝酸盐的存在破坏了聚磷菌细胞的 PMF,为了维持 PMF 恒定,为聚磷菌吸收 VFA 提供能量,聚磷菌需要分解更多的 poly-P,为厌氧代谢过程提供能量。

3 结 论

1)人工配水富集聚磷菌的活性污泥中,当亚硝态氮的浓度超过 10 mg/L 时,聚磷菌吸收 VFA 的过程受到抑制,使得 PHA 的合成量减少,释磷量增加;在 SBR 短程脱氮除磷活性污泥中,当亚硝态氮浓度达到 30 mg/L 时,聚磷菌的厌氧代谢没有受到抑制。

2)人工配水富集聚磷菌的活性污泥,有亚硝酸盐与未投加亚硝酸盐的情况相比,P/VFA 明显增大,即有亚硝酸盐存在时需要更多的能量用于 VFA 的吸收。

3)SBR 短程脱氮除磷活性污泥加入亚硝酸盐后发生异养菌的反硝化作用,引起异养反硝化菌与聚磷菌竞争 VFA,在碳源不充足的情况下,造成聚磷菌合成 PHA 和释磷量的减少。

4)厌氧条件下,来自不同工艺的污泥对于亚硝酸盐的耐受能力不同,与活性污泥的微生物组成有关。采用 FISH 技术对 2 种活性污泥中的聚磷菌做定量分析,发现人工配水富集聚磷菌活性污泥中聚磷菌含量达到 55%,而短程脱氮除磷活性污泥中的聚磷菌为 7.6%。处理生活污水的活性污泥菌群比人工配水富集聚磷菌系统中的菌群更加复杂,其对亚硝酸盐的耐受能力更强。

参考文献:

- [1] 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: 2271-2300.
- [2] GUO J H, PENG Y Z, HUANG H J, et al. Short-and long-term effects of temperature on partial nitrification in a sequencing batch reactor treating domestic wastewater[J]. J. Hazard. Mater., 2010, 179(1-3): 471-479.
- [3] ZENG W, LI L, YANG Y, et al. Nitrification and denitrification of domestic wastewater using a continuous anaerobic-anoxic-aerobic (A₂O) process at ambient temperatures[J]. Bioresourch Technology, 2010, 101:

- 8074-8082.
- [4] ANTHONISEN A, LOEHR R, PRAKASAM T, et al. Inhibition of nitrification by ammonia and nitrous acid [J]. *Water Pollut Control Fed*, 1976, 48: 835-852.
- [5] MUSVOTO E V, LAKAY M T, CASEY T G, et al. Filamentous organism bulking in nutrient removal activated sludge systems Paper 8: The effect of nitrate and nitrite [J]. *Water SA*, 1999, 25(4): 397-407.
- [6] VADIVELU V M, KELLER J, YUAN Z G. Effect of free ammonia and free nitrous acid concentration on the anabolic and catabolic processes of an enriched nitrosomonas culture [J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2006, 95(5): 830-839.
- [7] ZHOU Y, PIJUAN M, YUAN Z. Free nitrous acid inhibition on anoxic phosphorus uptake and denitrification by poly-phosphate accumulating organisms [J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2007, 98(4): 903-912.
- [8] WEON S Y, LEE C W, LEE S I, et al. Nitrite inhibition of aerobic growth of *Acinetobacter* sp. [J]. *Water Research*, 2002, 36: 4471-4476.
- [9] PIJUAN M, YE L, YUAN Z G. Free nitrous acid inhibition on the aerobic metabolism of poly-phosphate accumulating organisms [J]. *Water Research*, 2010, 44(20): 6063-6072.
- [10] 国家环保局. 水和废水检测分析方法 [M]. 北京: 环境科学出版社, 1998.
- [11] DAIMS H, BRUHL A, AMANN R, et al. The domain-specific probe EUB338 is insufficient for the detection of all bacteria; Development and evaluation of a more comprehensive probe set [J]. *Systematic and Applied Microbiology*, 1999, 22(3): 434-444.
- [12] CROCETTI G R, HUGENHOLTZ P, BOND P L, et al. Identification of polyphosphate-accumulating organisms and design of 16S rRNA-directed probes for their detection and quantitation [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, 66(3): 1175-1182.
- [13] MINO T. Effect of Phosphorus Accumulation on Acetate Metabolism in the Biological Phosphorus Removal Process [M]. *Biological Phosphate Removal from Wastewaters*, Ramadori R, Oxford: Pergamon Press, 1987:27-38.
- [14] 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]. *Biotechnology and Bioengineering*, 1994, 43: 461-470.
- [15] SAUNDERS A T. The Physiology of Microorganisms in Enhanced Biological Phosphorus Removal [D]. St. Lucia: University of Queensland, 2005.
- [16] MARTIN H G, IVANOVA N, KUNIN V, et al. Metagenomic analysis of two enhanced biological phosphorus removal (EBPR) sludge communities [J]. *Nature Biotechnol*, 2006, 24(10): 1263-1269.
- [17] YARBROUGH J, RAKE J, EAGON R. Bacterial inhibitory effects of nitrite-inhibition of activ-transport, but not of group translocation, and of intracellular enzymes [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1980, 39(4): 831-834.
- [18] MITCHELL P D. Coupling of phosphorylation to electron and hydrogen transport by a chemiosmotic type of membrane possible function of chains of catalysts [J]. *Nature*, 1961, 191: 144-148.
- [19] HU J Y, ONG S L, NG W J, et al. A new method for characterizing denitrifying phosphorus removal bacteria by using three different types of electron acceptors [J]. *Water Research*, 2003, 37: 3463-3471.
- [20] SEVIOUR R J, MINO T, ONUKI M. The microbiology of biological phosphorus removal in activated sludge systems [J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 2003, 27: 99-127.
- [21] 王景峰,王暄,田淑媛. SBR强化生物系统处理高浓度含磷废水 [J]. *中国给水排水*, 2003, 19(5): 61-63. WANG JING-FENG, WANG XUAN, TIAN SHU-YUAN. Phosphorus removal from wastewater using enhanced sequencing batch reactor [J]. *China Water and Wastewater*, 2003, 19(5): 61-63.
- [22] BOND P L, KELLER J, BLACKALL L L. Anaerobic phosphate release from activated sludge with enhanced biological phosphorus removal: A possible mechanism of intracellular pH control [J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 1999, 63: 507-515.