

亚硝酸盐对污水生物除磷影响的研究进展

杨莹莹¹ 曾薇^{1*} 刘晶茹² 李磊¹ 王向东¹

(1. 北京工业大学环境与能源工程学院 北京 100124)

(2. 大连水产学院土木工程学院 辽宁 大连 116023)

摘要: 亚硝酸盐作为生物硝化和反硝化的中间产物, 存在于污水生物脱氮除磷系统中。对于生物强化除磷工艺亚硝酸盐既是电子受体用于反硝化除磷, 同时又是抑制剂影响生物除磷过程。本文综述了聚磷菌在厌氧、好氧和缺氧环境中的代谢机理, 在此基础上分别从好氧除磷和反硝化除磷两方面介绍了亚硝酸盐对污水生物除磷影响的研究, 同时概述了亚硝酸盐对生物除磷的抑制机理, 并对该领域的研究提出了个人见解。

关键词: 生物除磷, 亚硝酸盐, 好氧除磷, 反硝化除磷, 抑制机理

Effect of Nitrite on Biological Phosphorus Removal in Wastewater

YANG Ying-Ying¹ ZENG Wei^{1*} LIU Jing-Ru² LI Lei¹ WANG Xiang-Dong¹

(1. College of Environmental and Energy Engineering, Beijing University of Technology, Beijing 100124, China)

(2. School of Civil Engineering, DaLian Fisheries University, Dalian, Liaoning 116023, China)

Abstract: Nitrite (NO_2^-) exists in the biological phosphorus and nitrogen removal system as an intermediate in the biological oxidation of ammonia to nitrate and reduction of nitrate to nitrogen. In enhanced biological phosphorus removal (EBPR) processes, nitrite is an electron acceptor used by denitrifying phosphorous removal bacteria and also an inhibitor to biological phosphorus removal process. This paper reviews metabolic mechanism of phosphorus accumulating organisms (PAOs) under anaerobic, aerobic and anoxic conditions separately. The effect of nitrite on biological phosphorus removal as well as inhibition mechanism of nitrite was introduced. The personal opinions were also suggested.

Keywords: Biological phosphorus removal, Nitrite, Aerobic phosphorus removal, Denitrifying dephosphatation, Inhibition mechanism

天然水体中排入过量的磷, 可加速水体富营养化。目前污(废)水除磷方法主要分为两种, 即化学沉淀法和强化生物除磷法。强化生物除磷工艺 (Enhanced biological phosphorus removal, EBPR) 是

利用聚磷菌 (Phosphate accumulation organisms, PAOs) 的过量吸磷作用将污水中的磷转移到生物细胞内, 然后通过排放剩余污泥达到除磷的目的, 不需要投加化学药剂, 是一种经济、可持续的工艺, 在

基金项目: 国家自然科学基金项目 (No. 50878005); 北京市优秀人才培养资助计划 (No. 20081D0501500178); 北京市自然科学基金项目 (No. 8102005)

* 通讯作者: Tel: 86-10-67391918; E-mail: Zengwei_1@263.net

收稿日期: 2009-11-11; 接受日期: 2010-03-02

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 <http://journals.im.ac.cn>

各国的污水处理厂中得到了广泛的应用。

早在 20 世纪 80 年代,就发现聚磷菌能够在缺氧环境中利用硝态氮为电子受体进行吸磷。1993 年, Kuba 观察到一类兼具反硝化和除磷作用的兼性厌氧菌,能够利用 O_2 或 NO_3^- 作为电子受体,此类微生物被称之为反硝化聚磷菌(Denitrifying phosphorus removal bacteria, DPB)。与传统生物除磷工艺相比,反硝化除磷工艺可节省 50%的碳源,节省 30%的曝气量,减少 50%的剩余污泥产量,有效的降低了能量消耗,因此成为研究热点^[1-4]。在以硝酸盐为电子受体的反硝化除磷的研究中发现,缺氧过程中还有另一种氮的转化物存在—亚硝酸盐。亚硝酸盐(NO_2^-)对很多微生物的生长和代谢有抑制作用^[5-6],可见其对强化生物除磷系统的稳定运行有着重要影响,因此 NO_2^- 对除磷的影响引起了学者的关注^[7-9]。本文总结了生物除磷代谢机理研究进展,并对好氧吸磷和缺氧吸磷过程亚硝酸盐的影响进行了综述和展望。

1 生物除磷机理

1.1 厌氧代谢

在厌氧条件下,乙酸和丙酸以主动运输方式通过细胞膜进入 PAOs 体内^[10],主动运输的动力来自质子驱动力(PMF)。关于 PMF 的产生有两种途径:(1) 依靠跨膜 ATP 酶输出质子;(2) Pit 载体蛋白排出 Pi 和质子,目前普遍认为后者是乙酸运输中主要存在的方式^[11]。乙酸和丙酸进入细胞体内以聚羟基烷酸(PHA)的形式储存^[12]。PHA 是一类碳聚合物的总和,包括聚 β -羟基丁酸盐(PHB)、聚 3-羟基戊酸盐(PHV)和聚 3-羟基-2-甲基戊酸盐(PH2MV),其中一分子 PHB 由两分子的乙酰辅酶 A 在还原力的作用下生成;一分子 PHV 或一分子 PH2MB (PH2MB 是 PHV 的异构体)由一分子乙酰辅酶 A 和一分子丙酰辅酶 A 生成;一分子 PH2MV 由两分子丙酰辅酶 A 生成^[13]。PHA 是二元多聚物,其组成取决于 PAOs 中乙酰辅酶 A 和丙酰辅酶 A 的结合模式:一种是有选择性的结合模式,即乙酰辅酶 A 优先结合丙酰辅酶 A 合成 PHV,特别是在丙酸作为唯一碳源的情况下,相比乙酰辅酶 A 的合成,PAOs 能够合成更多的丙酰辅酶 A,优先与乙酰辅酶 A 结合后,剩余的丙酰辅酶 A 可还原为 PH2MV^[14];另一种是随机结合模式,即乙酰辅酶 A 和(或)丙酰辅酶 A 可随机的生

成大量的 PH2MV 和 PHB,以及少量的 PHV^[15]。

PHA 的合成需要能量(ATP)和还原力的供给,其中 ATP 由多聚磷酸盐的降解提供,而还原力 $[NAD(P)H]$ 由糖原的降解和 TCA 循环产生^[15-16]。

多聚磷酸盐是正磷酸单体由酯键结合形成的线性链状或环状多聚物,末端羟基微酸性,中间羟基强酸性,聚合化程度变化非常大,常作为磷库(核酸的组分)和能源库(形成 ATP)^[17]。Pereira 等人^[18]采用核磁共振技术对 PAOs 体内的多聚磷酸结构进行分析,发现多聚磷酸盐是由钾镁和蛋白质等物质构成。在厌氧条件下 PAOs 体内的多聚磷酸盐水解,一部分高能磷酸键可将能量转移给 ADP 形成 ATP,为 PHA 的合成提供能量,还有一部分高能磷酸键转给 GDP 生成 GTP,用于蛋白质的合成,水解生成的正磷酸盐 Pi 被排出体外。

Comeau/Wentzel 模型^[19-20]认为 PHA 合成所需还原力是在厌氧条件下由 TCA 循环产生的。后来有研究者^[21-22]提出 PAOs 在厌氧条件下只有部分 TCA 循环发挥作用,TCA 循环从柠檬酸开始,依次氧化为异柠檬酸、酮戊二酸盐、琥珀酰辅酶 A,并生成 NADH;或从草酰乙酸开始,依次还原为苹果酸、延胡索酸、琥珀酸,最后生成琥珀酰辅酶 A,这个过程消耗 NADH。最终琥珀酰辅酶 A 经过甲基丙二酸单酰辅酶 A 途径转化为丙酰辅酶 A,用于 PHA 的合成。Mino 模型^[23]指出还原力是由胞内糖原产生的。在厌氧条件下,糖原通过糖酵解途径(EMP)转化为丙酮酸盐,并产生 NADH,丙酮酸盐一部分转化为乙酰辅酶 A,另一部分直接进入 TCA 循环,最终转化为 CO_2 。微生物体内的糖原降解途径有 EMP 和 Entner-Doudoroff (ED)两种,这两种途径在 PAOs 体内均有发现^[11,21],与 EMP 相比 ED 产生能量少,则需要更多的多聚磷酸盐的分解产能。

1.2 好氧/缺氧代谢

在好氧条件下,PAOs 以氧作为电子受体,进行好氧呼吸。体内的 PHA 降解生成乙酰辅酶 A 和丙酰辅酶 A,分别由草酰乙酸和琥珀酰辅酶 A 进入 TCA 循环。乙酰辅酶 A 和丙酰辅酶 A 都可用作微生物生长的能源和碳源,产生的能源和碳源一部分用于糖原的补充,另一部分 ATP 用于 Pi 的吸收和多聚磷酸盐的合成^[24]。A. *phosphatis* 模型^[11]认为通过低亲和力转运蛋白 Pit 和高亲和力转运蛋白 Pst 运输 Pi 穿过细胞质膜,然而由于反馈抑制作用,高亲和力

转运蛋白 Pst 只有在好氧末端 P_i 浓度最低时才能发挥作用。

在缺氧条件下, DPB 能够以 NO_3^- 作为电子受体进行缺氧吸磷, 将 NO_3^- 还原为氮气, 达到了同时脱氮除磷的目的^[25]。缺氧代谢和好氧代谢相比, 其过程完全相同: (1) 聚磷酸盐的形成; (2) 细胞自身生长和维持(PAOs 体内多聚磷酸盐的消耗主要被用于微生物自身的同化作用); (3) 糖原的形成; (4) TCA 过程 PHB 的消耗; (5) 消耗 $NADH_2$ 产生 ATP; (6) 磷的吸收。而两者最大的不同是氧化单位 $NADH_2$ 产生的 ATP 不同, 导致吸收的磷酸盐的量不同^[26]。 NO_2^- 也能够作为反硝化除磷的电子受体, 但同时作为一种影响微生物生长和代谢的抑制剂对生物除磷产生了影响。

2 亚硝酸盐对好氧吸磷的影响及抑制机理

2.1 亚硝酸盐对好氧吸磷的影响

在一定条件下, 亚硝酸盐容易在 EBPR 系统中造成积累, 成为 EBPR 系统恶化的因素之一, 基于此研究者开展了亚硝酸盐抑制好氧吸磷的研究。Weon 等人^[27]初步研究了亚硝酸盐对聚磷菌生长的影响, 发现亚硝酸盐对 *Acinetobacter* sp. 的好氧生长和吸磷过程都产生了抑制。近年来一些学者对亚硝酸盐抑制好氧吸磷过程进行了更深入的研究(表 1), 发现: (1) 好氧条件下, 好氧吸磷过程中亚硝酸盐的消耗不同于硝化过程中亚硝酸的消耗; (2) 具有较强反硝化能力的 PAOs 对亚硝酸盐的敏感度较低, 即能够获得较高的亚硝酸盐的消耗速率; (3) 通过分析氧气和亚硝酸的利用效率可知, 一些具有较强反硝化能力的 PAOs 能够在好氧条件下利用亚硝酸盐为电子受体; (4) 加入亚硝酸盐的系统中氧气消耗速率(Oxygen uptake rate, OUR)和吸磷速率(Phosphorus uptake rate, PUR)持续降低, 亚硝酸盐消失后两者均升高。好氧呼吸作用产生的能量被用于 PAOs 的几种生理活动, 如多聚磷酸盐的储存、糖原的补充和细胞的生长等, 由此可看出亚硝酸盐不仅抑制磷的吸收, 同时也抑制了 PAOs 的生长; 也有研究发现当系统中亚硝酸盐消失后, PUR 低于亚硝酸盐存在时的 PUR 值, 这说明即使亚硝酸盐消失, 抑制仍然持续, 同时也表明产生抑制作用的物质不仅是亚硝酸盐也包括细胞体内的反应产物, 如亚硝酸盐还原过程的产物 NO 。表 1 列举了亚硝酸盐对好

氧吸磷和缺氧吸磷抑制的研究结果, 其中好氧吸磷过程亚硝酸盐抑制浓度在不同工艺、不同水质条件下差别较大。

2.2 亚硝酸盐对好氧吸磷的抑制机理

一些呈革兰氏阴性的兼性厌氧异养菌可以在好氧条件下还原亚硝酸盐, 这是因为亚硝酸盐还原酶(Nitrite reductase, NIR)存在于细胞质膜中细胞周质表面, 而硝酸盐还原酶(Nitrate reductase, NAR)的催化部位位于细胞质膜中偏细胞质一侧, 所以硝酸盐不能在好氧条件下被还原^[35]。*Candidatus Accumulibacter phosphatis* 是存在于污水处理系统中的一种革兰氏阴性菌, 通过分子生物学手段已鉴定出其属于 PAOs 的一种^[36], 而且有研究表明这种菌在厌氧/缺氧 SBR 中的数量能够达到全菌的 40%^[37]。另有研究认为亚硝酸盐会对微生物的生长和生理活动产生一定的抑制作用, 如影响它们主动运输、利用氧气和氧化磷酸化等过程^[5]。其中一种抑制机理指出好氧条件下亚硝酸盐的抑制是由亚硝酸盐还原过程中产生的一氧化氮引起的, 一氧化氮能够与氧气呼吸还原酶(Oxygen respiration reductase)发生反应, 其产物抑制了呼吸作用^[38]。

基于以上研究, 提出一种亚硝酸盐抑制好氧吸磷的理论^[39]: 反硝化过程是一个涉及多种酶和多种中间产物的复杂的生化反应(图 1), 在 PAOs 体内硝酸盐还原酶位于细胞质膜中偏细胞质一侧, 而亚硝酸盐还原酶、一氧化氮还原酶(NOR)和一氧化二氮还原酶(N_2OR)则位于细胞质膜中偏细胞周质一侧, 能够将 NO_2^- 依次还原为 NO 、 N_2O 和 N_2 。其中 NO_2^- 和 NO 与氧气呼吸还原酶反应(图 1A 虚线), 生成的产物抑制氧气的呼吸, 从而抑制了能量的产生。如图 1B 所示, 由于产能受到抑制, 使得 PAOs 体内糖原的补充、多聚磷酸盐的合成和细胞的生长等生理活动受到影响。

3 亚硝酸盐对缺氧吸磷的影响及抑制机理

3.1 亚硝酸盐对缺氧吸磷的影响

亚硝酸盐影响缺氧吸磷的研究主要集中于两点: (1) 亚硝酸盐能否作为反硝化除磷的电子受体; (2) 亚硝酸盐对反硝化除磷的抑制浓度。近年来大部分研究支持 NO_2^- 能够作为反硝化除磷的电子受体的观点, 但是在 NO_2^- 的临界抑制浓度方面存在很大分歧, 如表 1 所示。

表 1 好氧和缺氧条件下亚硝酸盐对聚磷菌的影响
Table 1 The response of PAOs to nitrite under aerobic and anoxic conditions

运行方式 Operation astrategy	反应器/水质 Type of reactor/wastewater	亚硝酸盐抑制浓度 Inhibition level of nitrite		参考文献 References
		好氧吸磷 Aerobic P-uptake	缺氧吸磷 Anoxic P-uptake	
厌氧/好氧 Anaerobic/aerobic	中试 PBR/生活污水	10 mg NO ₂ -N/L- 15 mg NO ₂ -N/L	5 mg NO ₂ -N/L- 8 mg NO ₂ -N/L	Meinhold 等 ^[28]
厌氧/好氧 Anaerobic/aerobic	实验室 SBR/生活污水	未测定	达到 40 mg NO ₂ -N/ L 时仍未抑制	Ahn 等 ^[29]
厌氧/好氧/缺氧/好氧 Anaerobic/aerobic/anoxic/aerobic	实验室 SBR/配水, BNPR	未测定	达到 10 mg NO ₂ -N/ L 时仍未抑制	Lee 等 ^[30]
厌氧/缺氧 Anaerobic/anoxic	实验室 SBR/配水, BPR	未测定	达到 35 mg NO ₂ -N/ L 时仍未抑制	Hu 等 ^[31]
厌氧/缺氧/好氧 Anaerobic/anoxic/aerobic	实验室 SBR/生活污水, BPR	2 mg NO ₂ -N/L 部分抑制; 6 mg NO ₂ -N/L 全部抑制	12 mg NO ₂ -N/ L	Saito 等 ^[32]
厌氧/好氧和厌氧/缺氧 Anaerobic/aerobic and Anaerobic/ anoxic	实验室 SBR/配水, BPR	A/O-SBR: 1 mg NO ₂ -N/L A2O-SBR: 3 mg NO ₂ -N/L	未测定	Yoshida 等 ^[33]
厌氧/好氧/缺氧 Anaerobic/aerobic/anoxic	实验室 SBR/配水, BNPR	未给抑制浓度定量	未测定	Soejima 等 ^[8]
厌氧/好氧/缺氧/好氧 SBR 和厌 氧/缺氧/好氧 MBR Anaerobic/aerobic/anoxic/aerobic SBR and Anaerobic/anoxic/aerobic MBR	中试 SBR 和 MBR/配水, BNPR	SBR: 5 mg NO ₂ -N/L MBR: 10 mg NO ₂ -N/L	达到 20 mg NO ₂ -N/ L 时仍未抑制	Sin 等 ^[34]

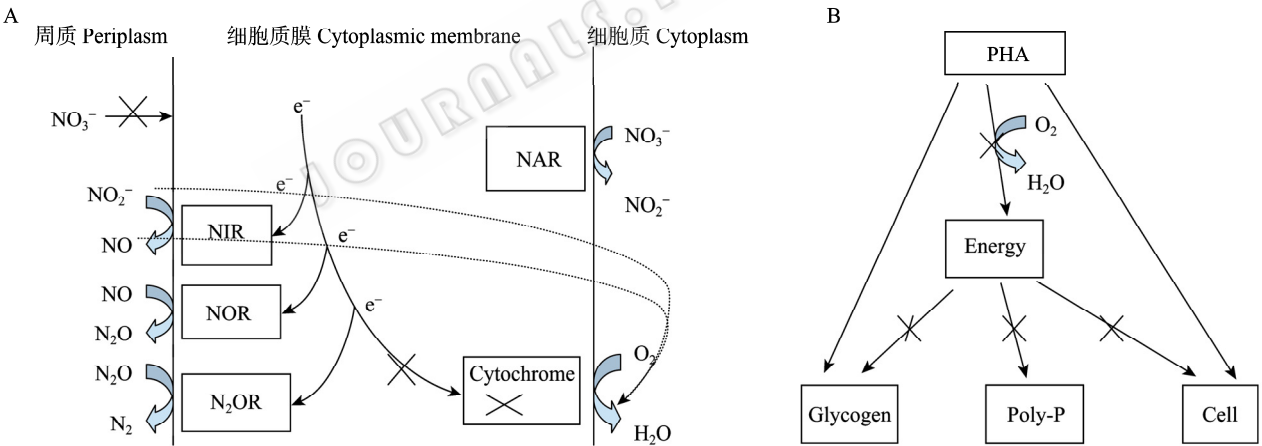


图 1 亚硝酸盐对好氧吸磷的抑制机理^[39]

Fig. 1 Inhibition metabolism of nitrite to PAOs under aerobic condition^[39]

注: A: 好氧条件下电子流及抑制; B: 亚硝酸盐对 PAOs 好氧代谢的间接抑制。

Note: A: Possible electron flow and inhibition under aerobic condition; B: Possible indirect inhibition of aerobic metabolism of PAOs.

以上研究都试图将亚硝的抑制作用和亚硝浓度联系起来。亚硝酸在溶液中有两种存在形态, 即游离亚硝(FNA)和亚硝离子, 计算如公式(1)^[40]所示:

$$FNA = \frac{S_{N-NO_2}}{K_a \times 10^{pH}} \quad (1)$$

式中, S_{N-NO_2} 为亚硝态氮浓度(mg NO₂⁻-N/L); K_a

为离子平衡常数, $K_a = e^{-2300/(273 + ^\circ C)}$ 。

由公式(1)可看出 pH 对 FNA 浓度有较大影响。近来一些研究指出 pH 是亚硝酸盐为电子受体反硝化除磷的重要影响因素, 并引发讨论: 反硝化除磷的抑制剂是亚硝酸盐还是游离亚硝(FNA)。Zhou 等^[41]以 4 种不同的 PAOs 为研究对象, 实验过程中

严格控制 pH, 结果发现游离亚硝 FNA 才是真正的抑制剂, 对吸磷和反硝化都产生了抑制作用。当 FNA 浓度达到 0.002 mg $\text{HNO}_2\text{-N/L}$ 时, PAOs 的吸磷作用被抑制, 而当浓度高达 0.02 mg $\text{HNO}_2\text{-N/L}$ 时, 吸磷作用则被完全抑制。当 FNA 从 0.002 mg $\text{HNO}_2\text{-N/L}$ 增加到 0.02 mg $\text{HNO}_2\text{-N/L}$ 时, 聚磷菌的反硝化速率减小了约 40%, 而继续增加 FNA 的浓度到 0.04 mg $\text{HNO}_2\text{-N/L}$ 时, 反硝化速率几乎没有变化。

3.2 亚硝酸盐对缺氧吸磷的抑制机理

3.2.1 FNA 对反硝化抑制的 3 种理论: (1) FNA 质子解偶联作用。FNA 作为亚硝酸的质子形式, 由载体蛋白运输穿过细胞质膜进入细胞内部^[42]。对于 FNA 的吸收有两种已知的体系: 1) ABC 转运子通过结合 ATP 发生二聚化, ATP 水解后解聚, 通过构象的改变将与之结合的 NO_2^- 转移至膜的另一侧; 2) 载体蛋白依靠质子驱动力 (Proton motive force, pmf) 运输 NO_2^- 。反硝化过程中的 NO_2^- 的运输由后者来完成^[43]。除了以上已知的运输体系, FNA 也可能以被动扩散的形式进入细胞。 HNO_2 带负电荷, 应以较慢的速度透过生物膜, 但是由于其酸度系数 pK_a 达到了 3.3, 因此即使在中性条件下, FNA 也能够通过被动扩散的形式以较快的速率透过细胞膜, 这个过程不需要载体的参与^[43]。

现有研究认为亚硝酸盐是一种解偶联剂^[44], 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。关于微生物体内 ATP 形成, 即氧

化磷酸化作用的机制, 目前最为公认的是 Peter D Mitchell 在 1961 年提出化学渗透假说^[45] (如图 2 所示): 呼吸链的各个组分除 NADH 外, 都分布在线粒体的内膜上, 而且在膜上有着特定的不对称分布。有一些组分常结合在一起, 形成复合物嵌在膜内。在呼吸链中有 4 个复合体, 分别为复合体 I (NADH 脱氢酶)、复合体 II (琥珀酸脱氢酶)、复合体 III (细胞色素 b、c1 复合体) 和复合体 IV (细胞色素氧化酶)。其中与复合体 I、II、III 有关的自由能变化足以将 H^+ 从基质内泵向内膜的外侧, 而将电子传向其后的电子传递体。内膜对质子不具有通透性, 在内膜两侧形成了质子浓度梯度 (外高内低) 和跨膜电位梯度 (外正内负), 合称质子电化学梯度。该梯度储存有自由能, 称为质子驱动力 (pmf), 这就是推动 ATP 合成的原动力。当存在足够高的跨膜质子化学梯度时, 强大的质子流通过 $\text{F}_1\text{-F}_0\text{-ATPase}$ 进入基质时, 释放的自由能推动 ATP 合成。总之, 化学渗透学说认为在氧化与磷酸化之间起偶联作用的因素是 H^+ 的跨膜梯度。而解偶联剂能够破坏氧化和磷酸化偶联过程, 其作用机制: 解偶联剂不抑制呼吸链的传递氢或传递电子过程, 而是抑制由 $\text{ADP} + \text{P}_i$ 生成 ATP 的磷酸化作用, 使氧化产生的能量不能用于 ADP 磷酸化, 而是以热量的形式散失, 使氧化与磷酸化偶联过程脱离。亚硝酸盐作为一种解偶联剂, 通过提高质子透过膜的通透性而破坏质子驱动力, 进而破坏氧化磷酸化作用的进行^[46]。

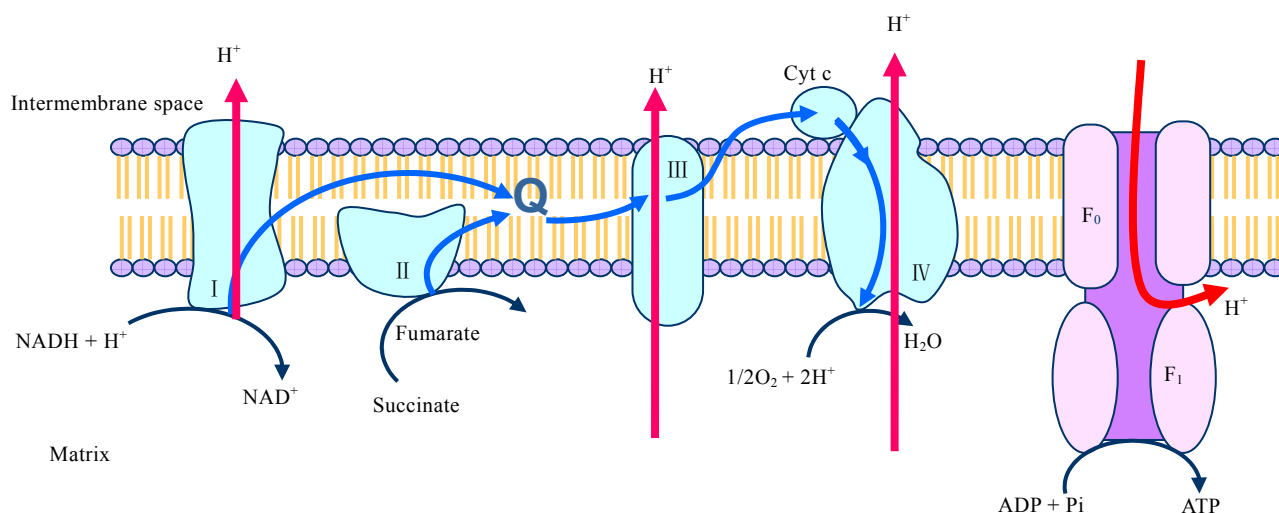


图 2 化学渗透假说示意图^[47]
Fig. 2 Diagram of the chemiosmotic hypothesis^[47]

(2) FNA 的抑制导致微生物对能量需求的减少。由于 FNA 抑制磷的吸收和微生物的生长,降低了能量需求,从而降低反硝化速率。微生物细胞内 ADP、Pi 与 ATP 三者存在相互的调节作用,当 ATP 高时,ADP、AMP 下降,氧化磷酸化速度减慢,NADH 堆积,TCA 循环速度减慢,ATP 合成降低;当 ATP 低时,ADP、AMP 升高,氧化磷酸化速度加快,TCA 循环速度加快,ATP 合成增加。由于 FNA 的抑制导致了微生物对能量需求的减少,使得体内 ATP 形成积累,进而降低细胞内 ADP 的浓度,减慢 ATP 的合成,最终使得亚硝酸盐的还原率降低^[41]。

(3) FAN 对亚硝酸盐还原酶的抑制。Baumann 等人^[48]认为 FNA 抑制反硝化主要是由于抑制了亚硝酸盐还原酶的 mRNA 的翻译,还原酶的合成过程中发生了移位或折叠,或是已经合成的酶失去活性,或是被高浓度的 FNA 改变了构象。 HNO_2 容易与 NO 和 NO^- 发生反应,生成的分子直接与亚铁血红素和蛋白质金属中心发生反应,生成亚硝酰基复合物^[49],这种作用直接导致了反硝化速率的降低。

3.2.2 两种有关 FNA 抑制吸磷的理论: (1) 吸磷过程的生物酶直接受到 FNA 的抑制。胞内贮存物在生物的新陈代谢中起着极其重要的作用,与聚磷菌新陈代谢密切相关的胞内贮存物有 3 种,即聚羟基脂肪酸(PHA)、糖原(Glycogen)和多聚磷酸盐(Poly-P)。Poly-P 作为能量储存聚合物,其高能磷酸基团可将能量转移给 ADP 形成 ATP,为 PAOs 在厌氧条件下吸收 VFAs 提供能量。多聚磷酸盐的合成过程需要多聚磷酸激酶(Polyphosphate kinase, PPK)的参与^[50]。PPK 在一个可逆反应 $[\text{nATP} \rightleftharpoons \text{nADP} + (\text{P}_i)_n]$ 中催化 ATP 的末端磷酸的转移,形成链型的多聚磷酸盐 $[\text{Poly}(\text{P}) \text{ 或 } (\text{P}_i)_n]$ 。PPK 在细胞中的位置与细胞膜相关联^[51-52],有研究表明 FNA 会破坏细胞的细胞膜或细胞壁,这种破坏或许能够使亚硝酸盐以某种形式进入到细胞内部,与可溶性细胞组分发生反应,而造成进一步的破坏。由此可以推断出,FNA 可能破坏 PPK,从而破坏 PAOs 的吸磷过程^[41]。

(2) FNA 抑制反硝化导致磷的吸收速率降低。如前所述,FNA 会抑制能量的产生。细胞内的能量状态可能是影响 Poly-P 合成或影响 Poly-P 水解产生 ATP 的一个关键因素。有研究表明,在能量充足的情况下发生 Poly-P 的积累,当能量不足时则发

生分解。一旦能量的产生减少,细胞内储存的 Poly-P 分解产能来维持细胞内的能量平衡。另一方面,由于能量的产生受到抑制,用于吸磷的能量也受到限制^[53]。

4 结论与展望

亚硝酸盐存在于 EBPR 系统中,一方面可以作为 DPB 的电子受体完成同步脱氮除磷,达到节约碳源、曝气量和能源的目的;另一方面作为抑制微生物生长和代谢的抑制剂,影响了好氧吸磷和反硝化除磷的进行。虽然对亚硝酸盐抑制吸磷进行了多年研究,但目前仍有一些现象不能够给出明确的解释,导致一些问题仍没有解决。

(1) EBPR 系统普遍存在运行不稳定的问题。聚糖菌(Glycogen accumulation organisms, GAOs)和 PAOs 的竞争会造成 EBPR 系统的不稳定,而亚硝酸盐是影响 PAOs 和 GAOs 竞争的一个重要因素。因此亚硝酸是影响 EBPR 系统稳定性的因素之一,应该对 EBPR 系统中亚硝酸盐的积累对系统产生的影响进行深入的研究。

(2) 目前亚硝酸盐对好氧吸磷和缺氧吸磷的抑制作用还不十分清楚,例如抑制作用是如何发生的,以及代谢途径中哪些过程受到了影响等问题还需要进一步探索。

随着微生物学和分子生物学等学科的发展,人们将从微观分子水平对亚硝酸盐抑制生物除磷的机理进行更深入的研究,促进生物除磷理论和技术的发展,有助于生物除磷工艺的优化与控制。

参考文献

- [1] Merzouki M, Bernet N, Delgenes JP, *et al.* Effect of prefermentation on denitrifying phosphorus removal in slaughterhouse wastewater. *Bioresource Technology*, 2005(96): 1317-1322.
- [2] Kishida N, Kim J, Tsuneda S, *et al.* Anaerobic/oxic/anoxic granular sludge process as an effective nutrient removal process utilizing denitrifying polyphosphate-accumulating organisms. *Water Research*, 2006(40): 2303-2310.
- [3] Carvalho G, Lemos PC, Oehmen A, *et al.* Denitrifying phosphorus removal: Linking the process performance with the microbial community structure. *Water Research*, 2007(41): 4383-4396.
- [4] Lee HW, Park YK. Characterizations of denitrifying

- polyphosphate-accumulating bacterium *Paracoccus* sp. strain YKP-9. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2008, **18**(12): 1958–1965.
- [5] Yarbrough J, Rake J, Eagon R. Bacterial inhibitory effects of nitrite-inhibition of activ-transport, but not of group translocation, and of intracellular enzymes. *Applied and Environmental Microbiology*, 1980, **39**(4): 831–834.
- [6] van Hulle SWH, Volcke EIP, Teruel JL, *et al.* Influence of temperature and pH on the kinetics of the Sharon nitrification process. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 2007, **82**(5): 471–480.
- [7] Sin G, Kaelin D, Kampschreur MJ, *et al.* Modelling nitrite in wastewater treatment systems: A discussion of different modelling concepts. *Water Science and Technology*, 2008, **58**(6): 1155–1171.
- [8] Soejima K, Oki K, Terada A, *et al.* Effects of acetate and nitrite addition on fraction of denitrifying phosphate-accumulating organisms and nutrient removal efficiency in anaerobic/aerobic/anoxic process. *Bioprocess Biosyst Eng*, 2006(29): 305–313.
- [9] Ma J, Peng YZ, Wang SY, *et al.* Denitrifying phosphorus removal in a step-feed CAST with alternating anoxic-oxic operational strategy. *Journal of Environmental Sciences*, 2009(21): 1169–1174.
- [10] Smolders GJF, van der Meij J, van Loosdrecht MCM. Model of the anaerobic metabolism of the biological phosphorus removal process: Stoichiometry and pH influence. *Biotechnology and Bioengineering*, 1994(43): 461–470.
- [11] Martin HG, Ivanova N, Kunin V, *et al.* Metagenomic analysis of two enhanced biological phosphorus removal (EBPR) sludge communities. *Nature Biotechnol*, 2006, **24**(10): 1263–1269.
- [12] Seviour RJ, Mino T, Onuki M. The microbiology of biological phosphorus removal in activated sludge systems. *FEMS Microbiology Reviews*, 2003(27): 99–127.
- [13] Satoh H, Mino T, Matsuo T. Uptake of organic substrates and accumulation of polyhydroxyalkanoates linked with glycolysis of intracellular carbohydrates under anaerobic conditions in the biological excess phosphate removal processes. *Water Science and Technology*, 1992, **26**(5/6): 933–942.
- [14] Oehmen A, Zeng RJ, Yuan ZG, *et al.* Anaerobic metabolism of propionate by polyphosphate-accumulating organisms in enhanced biological phosphorus removal systems. *Biotechnology and Bioengineering*, 2005(91): 43–53.
- [15] Oehmen A, Lemos PC, Carvalho G, *et al.* Advances in enhanced biological phosphorus removal: From micro to macro scale. *Water Research*, 2007(41): 2271–2300.
- [16] Sudiana IM, Mino T, Satoh H, *et al.* Metabolism of enhanced biological phosphorus removal and non-enhanced biological phosphorus removal sludge with acetate and glucose as carbon source. *Water Science and Technology*, 1999(39): 29–36.
- [17] 任世英, 肖天. 聚磷菌体内多聚物的染色方法. *海洋科学*, 2005, **29**(1): 59–63.
- [18] Pereira H, Lemos PC, Reis MA, *et al.* Model for carbon metabolism in biological phosphorus removal processes based on *in vivo* C-13-NMR labelling experiments. *Water Research*, 1996(30): 2128–2138.
- [19] Comeau Y, Hall K, Hancock R, *et al.* Biochemical model for enhanced biological phosphorus removal. *Water Research*, 1986(20): 1511–1521.
- [20] Wentzel M, Lotter L, Loewenthal R, *et al.* Metabolic behaviour of *Acinetobacter* spp. in enhanced biological phosphorus removal—a biochemical model. *Water SA*, 1986, **12**(4): 209–224.
- [21] Hesselmann RPX, von Rummell R, Resnick SM, *et al.* Anaerobic metabolism of bacteria performing enhanced biological phosphate removal. *Water Research*, 2000(34): 3487–3494.
- [22] Kortstee G, Appeldoorn K, Bonting C, *et al.* Recent developments in the biochemistry and ecology of enhanced biological phosphorus removal. *Biochemistry-Moscow*, 2000, **65**(3): 332–340.
- [23] Mino T, van Loosdrecht MCM, Heijnen JJ. Microbiology and biochemistry of the enhanced biological phosphate removal process. *Water Research*, 1998(32): 3193–3207.
- [24] Smolders GJF, Vandermeij J, Vanloosdrecht MCM, *et al.* A structured metabolic model for anaerobic and aerobic stoichiometry and kinetics of the biological phosphorus removal process. *Biotechnology and Bioengineering*, 1995(47): 277–287.
- [25] Tsuneda S, Miyauchi R, Ohno T, *et al.* Characterization of denitrifying polyphosphate-accumulating organisms in activated sludge based on nitrite reductase gene. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2005(99): 403–407.
- [26] Murnleitner E, Kuba T, van Loosdrecht MCM, *et al.* An integrated metabolic model for the aerobic and denitrifying biological phosphorus removal. *Biotechnology and Bioengineering*, 1997(54): 434–450.
- [27] Weon S, Lee C, Lee S, *et al.* Nitrite inhibition of aerobic growth of *Acinetobacter* sp.. *Water Research*, 2002(36): 4471–4476.
- [28] Meinhold J, Arnold E, Isaacs S. Effect of nitrite on anoxic phosphate uptake in biological phosphorus removal activated sludge. *Water Research*, 1999, **33**(8): 1871–1883.
- [29] Ahn J, Daidou T, Tsuneda S, *et al.* Metabolic behaviour of denitrifying phosphate-accumulating organisms under nitrate and nitrite electron acceptor conditions. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2001, **92**(5): 442–446.
- [30] Lee DS, Jeon CO, Park JM. Biological nitrogen removal with enhanced phosphate uptake in a sequencing batch reactor using single sludge system. *Water Research*, 2001(35): 3968–3976.

- [31] Hu JY, Ong SL, Ng WJ, *et al.* A new method for characterizing denitrifying phosphorus removal bacteria by using three different types of electron acceptors. *Water Research*, 2003(37): 3463–3471.
- [32] Saito T, Brdjanovic D, van Loosdrecht MCM. Effect of nitrite on phosphate uptake by phosphate accumulating organisms. *Water Research*, 2004(38): 3760–3768.
- [33] Yoshida Y, Takahashi K, Saito T, *et al.* The effect of nitrite on aerobic phosphate uptake and denitrifying activity of phosphate-accumulating organisms. *Water Science and Technology*, 2006, **53**(6): 21–27.
- [34] Sin G, Niville K, Bachis G, *et al.* Nitrite effect on the phosphorus uptake activity of phosphate accumulating organisms (PAOs) in pilot-scale SBR and MBR reactors. *Water SA*, 2008, **34**(2): 249–260.
- [35] Alefounder PR, Ferguson SJ. The location of dissimilatory nitrite reductase and the control of dissimilatory nitrate reductase by oxygen in *Paracoccus denitrificans*. *Biochemical Journal*, 1980, **192**(1): 231–240.
- [36] Crocetti GR, Hugenholtz P, Bond PL, *et al.* Identification of polyphosphate-accumulating organisms and design of 16S rRNA-directed probes for their detection and quantitation. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000(66): 1175–1182.
- [37] Zeng R. Identification and comparison of aerobic and denitrifying polyphosphate-accumulating organisms. *Biotechnol Bioeng*, 2003, **83**(2): 140–148.
- [38] Borisov VB, Forte E, Giuffrè A, *et al.* Reaction of nitric oxide with the oxidized di-heme and heme-copper oxygen-reducing centers of terminal oxidases: Different reaction pathways and end products. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 2009(103): 1185–1187.
- [39] Yoshida Y, Kim Y, Saito T, *et al.* Development of the modified activated sludge model describing nitrite inhibition of aerobic phosphate uptake. *Water Science and Technology*, 2009, **53**(6): 21–27.
- [40] Anthonisen AC, Loehr RC, Prakasam TBS, *et al.* Inhibition of nitrification by ammonia and nitrous acid. *Water Pollut Control Fed*, 1976(48): 835–852.
- [41] Zhou Y, Pijuan M, Yuan ZG. Free nitrous acid inhibition on anoxic phosphorus uptake and denitrification by polyphosphate accumulating organisms. *Biotechnology and Bioengineering*, 2007(98): 903–912.
- [42] Peakman T, Crouzet J, Mayaux J, *et al.* Nucleotide sequence, organisation and structural analysis of the products of genes in the nirBcysG region of the *Escherichia coli* chromosome. *Eur J Biochem*, 1990(191): 315–323.
- [43] Moir JWB, Wood NJ. Nitrate and nitrite transport in bacteria. *CMLS Cellular and Molecular Life Sciences*, 2001(58): 215–224.
- [44] Almeida JS, Julio SM, Reis MAM. Nitrite inhibition of denitrification by *Pseudomonas fluorescens*. *Biotechnology and Bioengineering*, 1995(46): 194–201.
- [45] Mitchell PD. Coupling of phosphorylation to electron and hydrogen transport by a chemiosmotic type of membrane possible function of chains of catalysts. *Nature*, 1961(191): 144–148.
- [46] Sijbesma WFH, Almeida JS, Reis MAM, *et al.* Uncoupling effect of nitrite during denitrification by *Pseudomonas fluorescens*: An *in vivo* P-31-NMR study. *Biotechnology and Bioengineering*, 1996(52): 176–182.
- [47] Nelson DL, Cox MM. 周海梦, 昌增益, 江凡, 等译. 生物化学原理. 北京: 高等教育出版社, 2005: 583.
- [48] Baumann B, van der Meer J R, Snozzi M, *et al.* Inhibition of denitrification activity but not of mRNA induction in *Paracoccus denitrificans* by nitrite at a suboptimal pH. *Antonie van Leeuwenhoek*, 1997(72): 183–189.
- [49] Reddy D, Lancaster JR, Cornforth DP. Nitrite inhibition of clostridium-botulinum-electron-spin resonance detection of iron-nitric oxide complexes. *Science*, 1983(221): 769–770.
- [50] McMahon KD, Dojka MA, Pace NR, *et al.* Polyphosphate kinase from activated sludge performing enhanced biological phosphorus removal. *Applied and Environmental Microbiology*, 2002(68): 4971–4978.
- [51] Ahn K, Kornberg A. Polyphosphate kinase from *Escherichia coli* purification and demonstration of a phosphoenzyme intermediate. *Biological Chemistry*, 1990(265): 11734–11739.
- [52] Zhang H, Gómez-García MR, Shi X, *et al.* Polyphosphate kinase 1, a conserved bacterial enzyme, in a eukaryote, dictyostelium discoideum, with a role in cytokinesis. *PNAS*, 2007(104): 16486–16491.
- [53] Deinema MH, Vanloosdrecht M, Scholten A. Some physiological-characteristics of *Acinetobacter* spp. accumulating large amounts of phosphate. *Water Science and Technology*, 1985, **17**(11): 119–125.