

高效聚磷菌筛选及在低碳磷比废水中的除磷效果研究

孟凡安, 麻微微*, 康舒宇, 施雪卿

(青岛理工大学 环境与市政工程学院, 青岛 266525)

摘要: 强化生物除磷工艺被广泛应用于城镇污水磷的去除, 但是针对低碳磷比废水的处理仍面临瓶颈问题。以海产养殖沉积物为菌种源筛选了 1 株高效聚磷菌, 探讨聚磷菌在低碳磷比条件下的除磷特性。基于 16S rRNA 基因序列分析可知, 聚磷菌 SWC-2 为假单胞菌属(*Pseudomonas* sp.)。利用响应面法对聚磷菌 SWC-2 在低碳磷比条件下除磷效果进行优化。结果表明, 在碳磷比为 10:1 (COD 浓度为 150 mg/L, 总磷浓度为 15 mg/L) 的条件下, 聚磷菌 SWC-2 的最佳除磷条件为接种量为 7%、pH 值为 8.43、初始氨氮浓度为 44.45 mg/L, 菌种 SWC-2 总磷去除率可达 52.40%。菌种 SWC-2 在低碳磷比条件下表现出较好的聚磷能力, 为低碳磷比废水的高效除磷提供技术支撑。

关键词: 聚磷菌; 低碳磷比; 总磷去除率; 响应面分析

中图分类号: X703.5 文献标志码: A 文章编号: 1673-4602(2025)04-0093-08

Study on the screening of efficient phosphorus-accumulating organism and its effect on phosphorus removal in wastewater with low carbon-phosphorus ratio

MENG Fan'an, MA Weiwei*, KANG Shuyu, SHI Xueqing

(School of Environmental and Municipal Engineering, Qingdao University of Technology, Qingdao 266525, China)

Abstract: The enhanced biological phosphorus removal process is widely used in the removal of phosphorus from urban sewage, but it still has bottlenecks in the treatment of low carbon-phosphorus ratio wastewater. An efficient phosphorus-accumulating organism was screened from cultured marine sediments, and the phosphorus removal efficiency of phosphorus-accumulating organism under low carbon-phosphorus ratio was explored. Strain SWC-2 was identified as *Pseudomonas* sp. based on 16S rRNA gene sequence analysis. The phosphorus removal efficiency of strain SWC-2 at low carbon-phosphorus ratio was optimized by response surface method. The results showed that when the carbon-phosphorus ratio was 10:1 (COD concentration of 150 mg/L, total phosphorus concentration of 15 mg/L), the optimal phosphorus removal conditions of strain SWC-2 were the inoculation amount of 7%, pH of 8.43 and initial ammonia nitrogen concentration of 44.45 mg/L. Under these conditions, the total phosphorus removal efficiency of strain SWC-2 was 52.40%. Strain SWC-2 exhibited good phosphorus accumulation ability under the condition of low carbon-phosphor-

收稿日期: 2023-12-07

基金项目: 山东省自然科学基金青年项目 (ZR2021QE227)

作者简介: 孟凡安 (1998—), 男, 山东潍坊人。硕士, 研究方向为污水处理与资源化。E-mail: 1059477870@qq.com。

* 通信作者: 麻微微 (1990—), 女, 黑龙江绥化人。博士, 副教授, 主要从事污水处理与资源化方面的研究。

E-mail: maweiweihit@163.com。

us ratio, and could provide technical support for efficient phosphorus removal in wastewater with low carbon-phosphorus ratio.

Key words: phosphorus-accumulating organism; low carbon-phosphorus ratio; total phosphorus removal; response surface analysis

强化生物除磷(EBPR)工艺通过厌氧、好氧环境交替运行,富磷通过剩余污泥排放,实现磷的去除与回收^[1-2]。EBPR 工艺依赖活性污泥中聚磷菌(PAO)的富集,通过厌氧释磷,好氧吸磷的原理,实现磷的高效去除^[3]。EBPR 工艺性能取决于厌氧、好氧条件交替以及各种工艺运行条件,包括碳源、pH 值和温度等。PAO 以水中有机物为碳源,将其转化为聚羟基烷酸酯(PHA),PHA 会随着初始碳源浓度的增加而增加,使得聚磷菌能够更好聚磷^[4]。只有当废水 COD/TP(化学需氧量/总磷)大于 15 时,传统的 EBPR 工艺才能去除磷^[5]。然而 EBPR 工艺在处理城镇污水过程中普遍存在碳源不足的情况,通常需要额外添加以乙酸、丙酸等挥发性脂肪酸(VFAs)为主要形式的碳源,从而保证良好的除磷效能^[6]。但是,外加碳源不仅会提高污水处理成本,而且对实现双碳目标产生负担。因此探寻一株能够在低碳磷比条件下高效除磷的聚磷菌株至关重要。目前,主要的聚磷菌包括 *Candidatus accumulibacter*、*Dechloromonas* 和 *Tetrasphaera*^[7],但在低碳磷比条件下的除磷效果鲜有报道。

与工业、生活污水不同,水产养殖废水具有低 COD、高氮磷的水质特点^[8],其驯化培养的聚磷菌具有良好的除磷能力,且在低碳磷比条件下表现出更好的除磷效果。本研究以海产养殖表层沉积物为菌种来源分离筛选高效聚磷菌,探讨高效聚磷菌在低碳磷比废水中的聚磷效果,并提出在低碳磷比条件下提高聚磷菌除磷能力的优化调控条件,从而为 EBPR 工艺的推广应用提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 菌种与废水来源

海产养殖表层沉积物取自于青岛市城阳区胶州湾畔海水养殖区域。试验用水为实验室模拟废水,水质参数如表 1 所示。

表 1 试验用水水质

阶段	COD/(mg·L ⁻¹)	TP/(mg·L ⁻¹)	NH ₄ ⁺ -N/(mg·L ⁻¹)	pH 值
菌种筛选	450	5~25	25	7.2±0.2
除磷试验	150~450	15	15~45	8.5±1.0

1.2 聚磷菌分离筛选方法

将采集的海产养殖表层沉积物加入 R2A 液体培养基中培养 3 d,取微生物培养液加入富集培养基(总磷 TP 浓度为 5、15、25 mg/L)先后进行富集驯化,30 ℃、150 r/min 摇床厌氧/好氧交替培养,连续培养至培养液适度浑浊。然后按 10⁻¹~10⁻⁶ 浓度梯度稀释涂布到酵母浸粉葡萄糖(YG)固体培养基上^[9],于生化培养箱 30 ℃下培养 3 d。待菌落长成后,挑选单个菌落继续分离纯化。

1.3 聚磷菌鉴定方法

蓝白斑初筛^[10]:利用 3-吗啉丙磺酸(MOPS)低磷琼脂培养基、MOPS 高磷琼脂培养基^[11]进行检测。通过观察菌种在 2 种培养基上的颜色变化,判断菌种是否含有多聚磷酸激酶(PPK),从而筛选出具有聚磷能力的菌株。如果菌落在低磷和高磷培养基上均呈现蓝色,则表明该菌种可能含有 PPK 基因,具有聚磷能力,即本研究的初筛菌种。

微孔板复筛^[12]:聚磷微生物-甲苯胺蓝(PAM-TBO)培养液颜色随培养时间而褪色变浅的为有聚磷能力的聚磷菌菌种,其中颜色更浅的菌种,聚磷能力更强,可进一步确定为本研究的复筛菌种。

1.4 除磷条件优化方法

1.4.1 低碳磷比条件的除磷效果分析

以聚磷效果最好的 3 株聚磷菌为研究对象进行低碳磷比(10:1、20:1、30:1)条件下的除磷效果分

析,其中进水 TP 浓度为 15 mg/L。试验在 250 mL 的厌氧瓶中进行,采用厌氧、好氧交替培养,厌氧阶段通过充入 N₂ 的方式保持厌氧条件。聚磷菌的接种量为 5%(体积比),装液量为 100 mL,试验过程中不再额外补加废水和菌种。在 30 ℃摇床中 150 r/min 厌氧培养 8 h、好氧培养 16 h。分别在 8、24、32、48、56 与 72 h 测定上清液磷浓度。

1.4.2 响应面分析

通过响应面分析各因素的最佳水平和这些变量的相互作用对除磷效果的影响^[13],采用 Design-Expert 13.0 软件进行响应面优化试验,并选取最优方案。以碳磷比为 10:1 的模拟废水为研究对象(TP 浓度为 15 mg/L),以接种量、pH 值、氨氮浓度 3 个因素为自变量,以试验中 72 h 除磷率为响应值,按 Box-Behnken Design 原理设计响应面试验,如表 2 所示。

表 2 Box-Behnken Design 设计因素、编码与水平

水平	编码	水平		
		-1	0	1
接种量/%	X ₁	5	7.5	10
pH 值	X ₂	7.5	8.5	9.5
氨氮浓度/(mg·L ⁻¹)	X ₃	15	30	45

以接种量、pH 值、氨氮浓度为自变量,聚磷菌除磷率为响应值建立模型,设模型为

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^f \alpha_i X_i + \sum_{i=1}^f \alpha_{ii} X_i^2 + \sum_{i < j}^f \sum_{j=1}^f \alpha_{ij} X_i X_j + e$$

式中:Y 为模型对聚磷菌除磷率的预测值; β_0 为常数项; α_i 为线性系数; α_{ii} 为 2 次项系数; α_{ij} 为交互项系数; X_i 和 X_j 为自变量; e 为随机误差; f 为变量数量。

1.5 水质参数的测定

TP 的测定采用钼酸铵分光光度法,COD 的测定采用快速消解分光光度法,氨氮的测定采用纳氏试剂分光光度法,pH 值的测定采用雷磁实验室 pH 计^[14]。

2 结果与讨论

2.1 聚磷菌的筛选与鉴定

通过蓝白斑初筛、微孔板复筛,共获得 3 株具有聚磷能力的聚磷菌,分别命名为 SWC-1、SWC-2、SWC-3。研究首先分析了 3 株菌的菌落形态,如表 3、图 1 所示。3 株菌在 YG 固体培养基上菌落生长良好,SWC-1 菌落为乳黄色,光滑,圆形,直径为 1~2 mm;SWC-2 菌落为白色,不光滑,圆形,直径为 2~4 mm;SWC-3 菌落为白色,光滑,圆形,直径为 1 mm 左右。

表 3 聚磷菌菌落特征

菌种	外观状态	含水状态	颜色	形状	表面	边缘	透明度	与培养基结合程度
SWC-1	小而凸起	较湿,黏稠	乳黄	圆形	光滑	整齐	不透明	不结合,易挑起
SWC-2	大而凸起	较湿,黏稠	白色	圆形	不光滑	不整齐	不透明	结合,不易挑起
SWC-3	小而凸起	较湿,黏稠	白色	圆形	光滑	整齐	不透明	不结合,易挑起

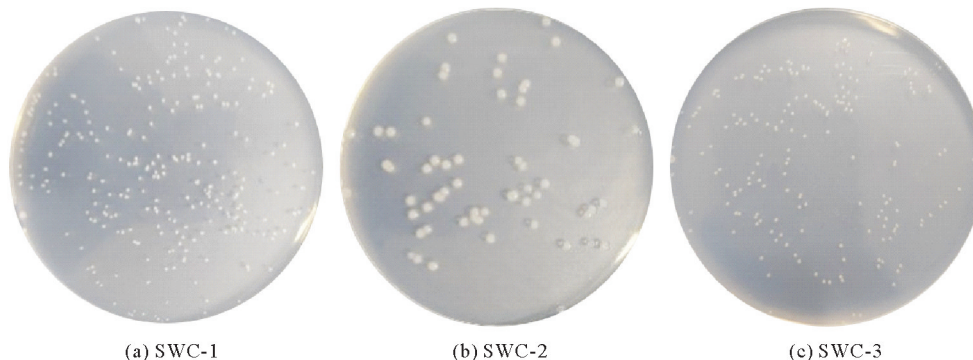


图 1 聚磷菌菌落特征

通过 16S rDNA 基因测序对 3 株聚磷菌进行菌种鉴定。如图 2 所示,通过基因序列上传至美国国家生物信息中心数据库(NCBI)进行 BLAST(Basic Local Alignment Search Tool)对比,并从中挑选部分相似性高的基因序列进行分析,结果表明聚磷菌 SWC-1 为柄杆菌属(*Caulobacter* sp.),同源性达到 99.70%;SWC-2 为假单胞菌属(*Pseudomonas* sp.),同源性达到 99.49%;SWC-3 为德沃斯氏菌属(*Devosia* sp.),同源性达到 99.80%。相关研究表明,柄杆菌属、假单胞菌属、德沃斯氏菌普遍存在于生物除磷系统内,但是关于其单一菌种的除磷特性研究较少^[15-16]。

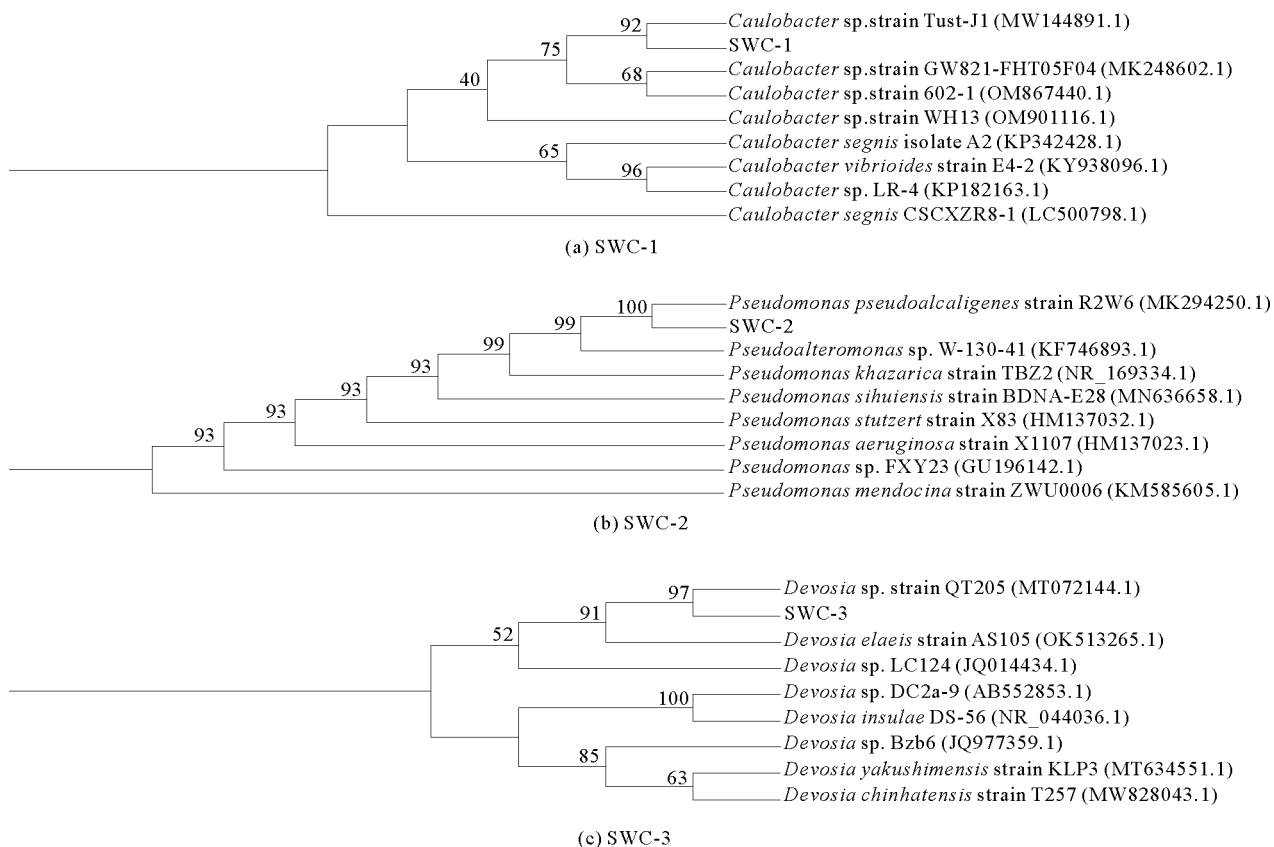


图 2 3 株聚磷菌的无根系统发育树

2.2 低碳磷比条件的除磷效果分析

低碳磷比条件试验共进行 3 个周期,1 个周期为 24 h,共运行 72 h。每个周期内,厌氧阶段运行 8 h,好氧阶段运行 16 h。不同碳磷比条件下菌种 SWC-1、SWC-2、SWC-3 的 TP 与 COD 浓度变化及去除率如图 3 所示。

如图 3(a)(b)所示,菌种 SWC-1 在碳磷比为 30 : 1、20 : 1 和 10 : 1 条件下 72 h 时 TP 去除率分别为 54.33%、47.50% 和 31.33%,COD 去除率分别达到 77.74%、82.65% 和 84.91%。可见,在碳磷比为 10 : 1 条件下菌种 SWC-1 的除磷效率较低。由 COD 浓度变化可初步推断菌种 SWC-1 在初期需要时间适应环境,碳源消耗量较低,导致聚磷菌的聚磷效率较低。如图 3(e)(f)所示,在不同的碳磷比条件下,菌种 SWC-3 的 TP 和 COD 去除率与菌种 SWC-1 具有相似的趋势。在第 III 周期后,菌种 SWC-3 在碳磷比为 30 : 1、20 : 1 和 10 : 1 条件下的除磷率分别为 50.83%、39.17% 和 25.83%。显然,菌种 SWC-1 和 SWC-3 在碳氮比为 10 : 1 条件下的除磷能力较低。基于聚磷菌除磷机理可知,在厌氧条件下聚磷菌通过对碳源的摄取,产生聚羟基丁酸酯(PHB)储存在体内。多聚磷酸盐(Poly-P)分解导致细胞内磷酸盐过剩,磷酸盐被大量排到细胞外。好氧阶段聚磷菌消耗 PHB 产生质子移动力(PMF)。PMF 的主要作用是合成腺苷三磷酸(ATP)和运输基质到细胞内,且细菌具有维持 PMF 在某一恒定最佳值的趋势^[17]。为了维持 PMF 的恒定,聚磷菌通过消耗 PMF 把细胞外的磷酸盐运输到细胞内合成 ATP,同时合成 Poly-P。初

始乙酸盐浓度过低,产生的 PMF 不足,导致除磷效果下降。

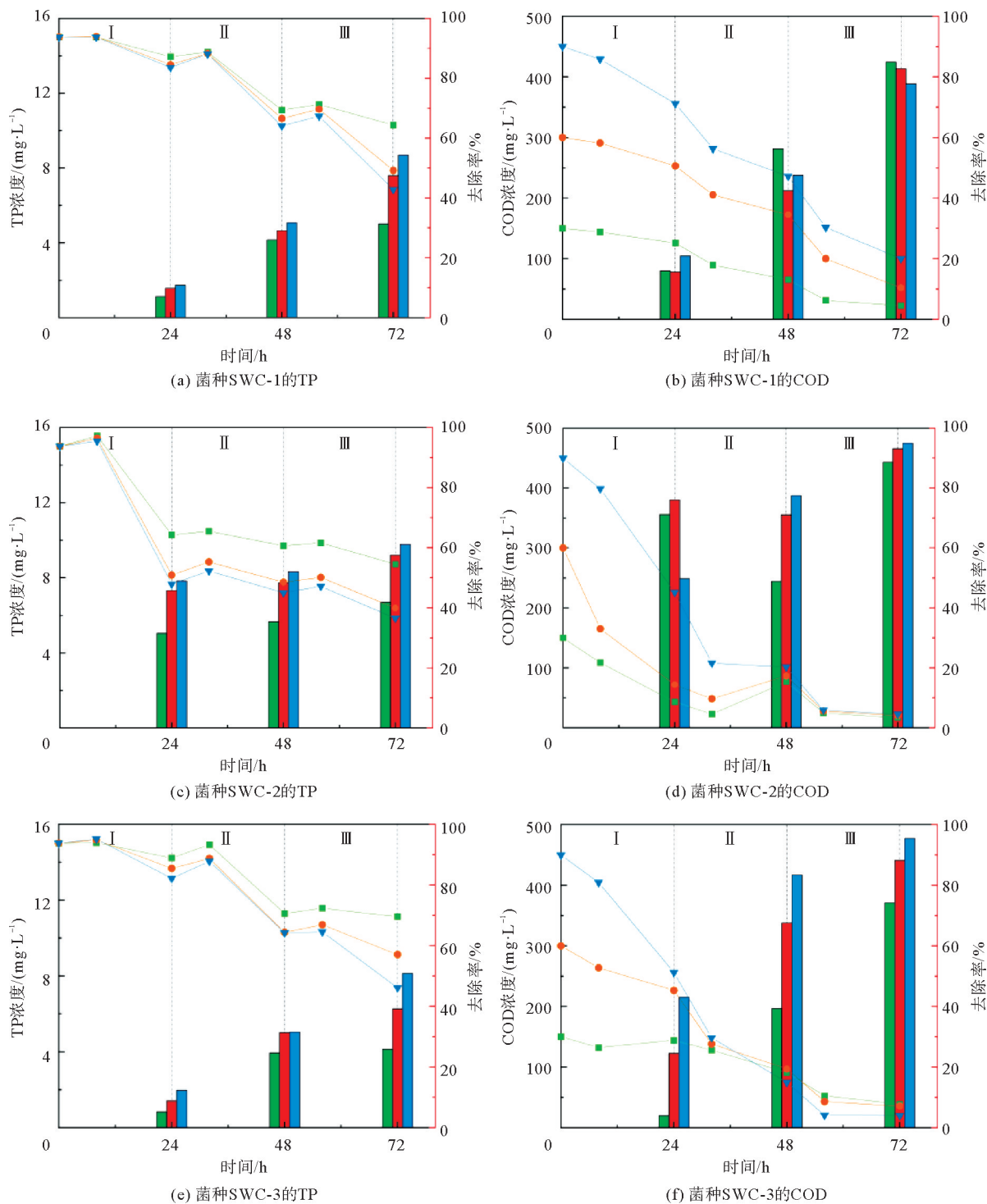


图 3 不同菌种在不同碳磷比下TP与COD浓度变化及去除率

■ 碳磷比为10:1时, TP或COD浓度变化; ■ 碳磷比为10:1时, TP或COD去除率;
● 碳磷比为20:1时, TP或COD浓度变化; ■ 碳磷比为20:1时, TP或COD去除率;
▼ 碳磷比为30:1时, TP或COD浓度变化; ■ 碳磷比为30:1时, TP或COD去除率

由图 3(c)(d)可知,菌种 SWC-2 在第 I 周期内的厌氧释磷、好氧聚磷效果高于第 II、III 周期,COD 在第 I 周期被大量消耗。在第 III 周期内,菌种 SWC-2 厌氧释磷、好氧聚磷效果略高于第 II 周期,COD 浓度在 32~48 h 升高,可能是菌种处于内源呼吸过程,菌体细胞发生解体,从而导致 COD 浓度升高。由于细菌内源呼吸为聚磷菌提供了碳源,故菌种 SWC-2 在第 III 周期的除磷能力有所提高。本研究过程中未额外

补充碳源,水力停留时间为72 h,远高于实际工艺中水力停留时间,后续需在正常水力停留时间下探究菌种 SWC-2 是否还会进行内源呼吸。本研究结果与已有相关研究具有一致性,即在没有 VFA 的情况下,EBPR 系统通过活性污泥的腐烂、水解和发酵来促进挥发酸的产生,从而提高系统的处理效能及运行稳定性^[18]。72 h 时,菌种 SWC-2 在碳磷比为 30 : 1、20 : 1 和 10 : 1 条件下的除磷率分别为 61.07%、57.47%、40.13%,COD 去除率分别为 94.94%、93.14%、88.64%。与菌种 SWC-1 和菌种 SWC-3 相比,低碳磷比条件下 SWC-2 的除磷效率相对较高。因此,本研究以菌种 SWC-2 为典型聚磷菌,开展后续低碳磷比条件下的除磷效率条件优化试验。

2.3 响应面分析

试验采用响应面分析法研究了接种量、pH 值和氨氮浓度对磷去除率的影响,采用三因素三水平 Box-Behnken Design 对试验结果进行分析,结果见表 4。

用 Design-Expert 13.0 软件对表 4 数据进行多元回归拟合,得到除磷率(Y)对接种量(X_1)、pH 值(X_2)、氨氮浓度(X_3)的二次多元回归模型:

$$Y = 45.92 - 1.23X_1 + 1.07X_2 + 6.37X_3 + 0.50X_1X_2 - 0.10X_1X_3 - 1.70X_2X_3 - 2.08X_1^2 - 4.81X_2^2 + 0.26X_3^2$$

由表 5 的方差分析可知,回归模型显著($P < 0.0001$),且失拟项不显著($P = 0.2286$)。模型系数 $R^2 = 0.9803$,表明该模型拟合程度好,具有统计学意义,可以用此模型来对除磷率进行预测和分析。从表 5 可以看出,3 个因素对除磷率的显著性影响依次为氨氮浓度 > 接种量 > pH 值,氨氮浓度对除磷率的影响显著($P < 0.0001$),接种量、pH 值对除磷率的影响较显著($P < 0.05$)。根据交互作用系数可知, X_2X_3 在 $P < 0.05$ 水平上,差异较显著,说明氨氮浓度与 pH 值的交互作用对低碳磷比废水总磷去除率具有显著影响。

为了进一步分析各因素交互作用对低碳磷比废水除磷效果的影响,进行了响应面分析,结果如图 4 所示。响应曲面和等高线能直观反映交互作用对响应值的影响程度,曲面越陡,等高线越密集,影响越显著;等高线越接近椭圆形,两个因素的交互作用越强。

模型首先分析了接种量和 pH 值交互作用对除磷效果的影响,结果如图 4(a)所示,随着接种量从 5% 提高到 10%、pH 值从 7.5 提高到 9.5,除磷率呈现先升高后降低的趋势,等高线呈椭圆形,接种量和 pH 值呈现显著交互作用。从图 4(b)可知,接种量从 5% 提高到 10%、氨氮浓度从 15 mg/L 提高到 45 mg/L,除磷率呈

表 4 聚磷菌 SWC-2 除磷效果试验结果

序号	接种量/%	pH 值	氨氮浓度/(mg · L ⁻¹)	除磷率/%
1	5	7.5	30	40.53
2	5	8.5	15	38.00
3	5	8.5	45	52.13
4	5	9.5	30	40.53
5	7.5	7.5	15	32.27
6	7.5	7.5	45	47.20
7	7.5	8.5	30	45.20
8	7.5	8.5	30	46.27
9	7.5	8.5	30	44.93
10	7.5	8.5	30	45.87
11	7.5	8.5	30	47.33
12	7.5	9.5	15	38.93
13	7.5	9.5	45	47.07
14	10	7.5	30	36.53
15	10	8.5	15	36.27
16	10	8.5	45	50.00
17	10	9.5	30	38.53

表 5 回归方程的方差分析

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
模型	478.54	9	53.17	38.70	<0.0001**
X_1	12.15	1	12.15	8.85	0.0207*
X_2	9.10	1	9.10	6.62	0.0368*
X_3	324.23	1	324.23	236.00	<0.0001**
X_1X_2	1.00	1	1.00	0.73	0.4218
X_1X_3	0.04	1	0.04	0.029	0.8693
X_2X_3	11.53	1	11.53	8.39	0.0231*
X_1^2	18.19	1	18.19	13.24	0.0083*
X_2^2	97.47	1	97.47	70.94	<0.0001**
X_3^2	0.28	1	0.28	0.21	0.6643
残差	9.62	7	1.37		
失拟项	6.01	3	2.00	2.22	0.2286
纯误差	3.61	4	0.90		
总离差	488.16	16			

注: ** 差异显著, $P < 0.0001$; * 差异较显著, $P < 0.05$ 。 $R^2 = 0.9803$, 校正 $R^2 = 0.9550$, 预测 $R^2 = 0.7916$ 。

现先升高后降低的趋势。从图4(c)可知,pH值从7.5提高到9.5、氨氮浓度从15 mg/L提高到45 mg/L,除磷率呈现先升高后降低的趋势。由响应曲面可知,氨氮浓度与pH值的交互项最陡峭,表明氨氮浓度与pH值的交互作用对除磷率的影响最显著,其结果与回归方程方差分析结果一致。有研究表明,高pH值下高浓度的氨氮会抑制聚磷菌好氧聚磷效果^[19]。本研究虽然在pH值为8.5下交互作用最好,但氨氮浓度较低,未出现抑制作用。由此认为,氨氮浓度以及氨氮浓度与pH值的合理配比是保证聚磷菌SWC-2在低碳磷比条件下高效聚磷的关键因素。

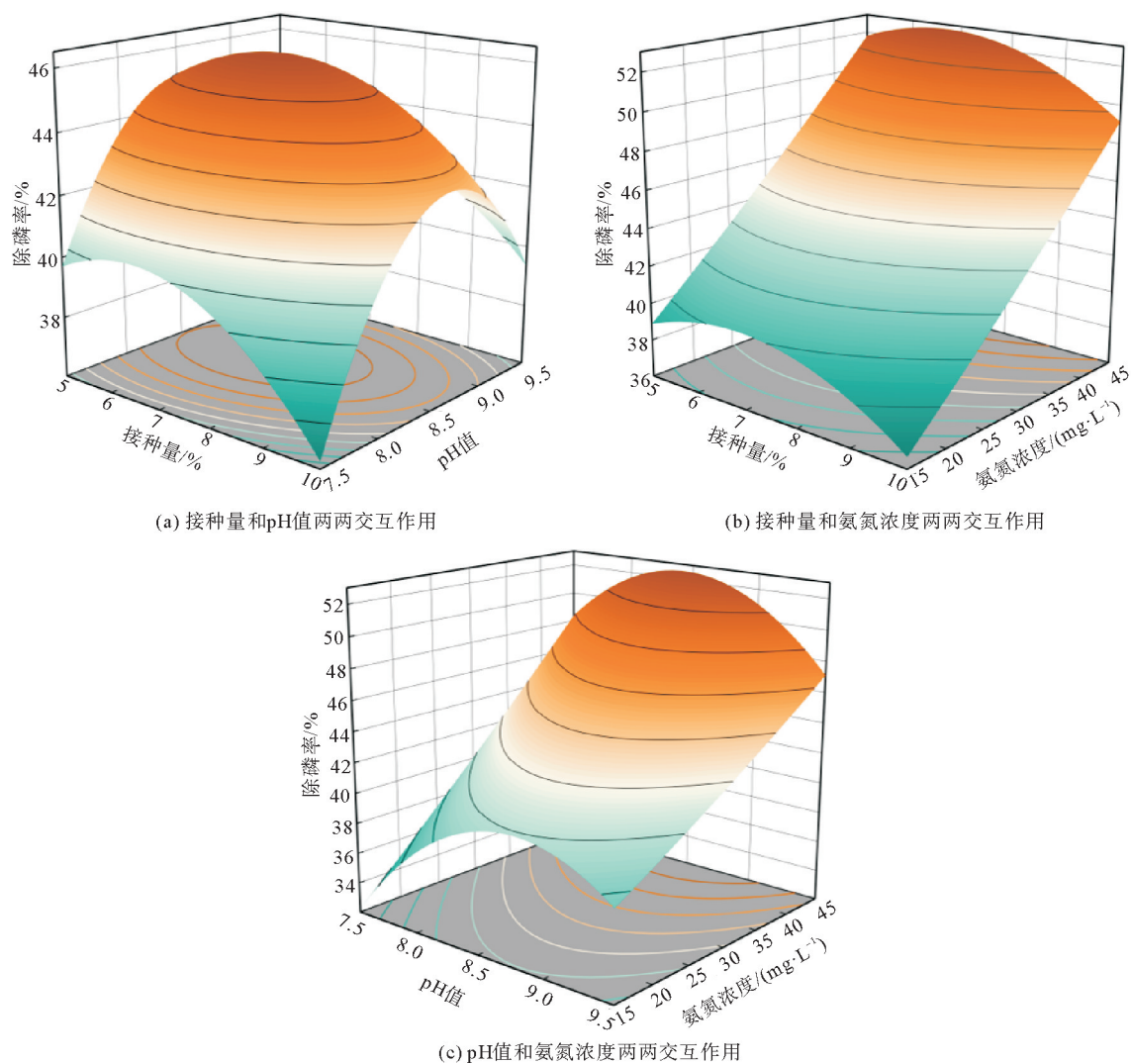


图4 各因素两两交互作用对除磷率的响应曲面

在试验因素取值范围内,通过模型分析可以得到聚磷菌SWC-2在低碳磷比(10:1)条件下最佳反应条件为:菌种接种量为7%、pH值为8.43、氨氮浓度为44.45 mg/L,此条件下预测除磷率为52.50%。对响应面分析法得到的最佳除磷条件进行验证,所得聚磷菌SWC-2对总磷的去除量为7.86 mg/L,对应的除磷率可达52.40%。已有研究报道,假单胞菌属在碳磷比为60:1(初始COD为300 mg/L)条件下的除磷效率为34.63%^[20]。相比而言,本研究通过聚磷条件优化调控后,聚磷菌SWC-2在低碳磷比条件下具有更高的除磷效率。

3 结论

本研究从海产养殖表层沉积物中筛选出1株高效聚磷菌SWC-2,经16S rDNA鉴定与系统发育树分析,确定聚磷菌SWC-2为假单胞菌属(*Pseudomonas* sp.)。聚磷菌SWC-2对碳源有较高的需求,碳磷比

越高除磷率越高。当碳源不足时,菌种会通过解体等方式产生VFA,保证菌种的聚磷特性。通过响应面分析优化可知,氨氮浓度与pH值的交互作用对聚磷菌SWC-2除磷效果具有显著影响,在碳磷比为10:1条件下,聚磷菌SWC-2最佳除磷条件为:菌种接种量为7%、pH值为8.43、氨氮浓度为44.45 mg/L,在此条件下聚磷菌SWC-2的除磷效率可达到52.40%。

参考文献(References):

- [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(11): 2271-2300.
- [2] ZHAO Q, YU M, LU H, et al. Formation and characterization of the micro-size granular sludge in denitrifying sulfur-conversion associated enhanced biological phosphorus removal (DS-EBPR) process[J]. *Bioresource Technology*, 2019, 291: 121871.
- [3] 郭众一, 赵晓莉, 李金成, 等. 基于层次分析法的化学除磷方案选择研究[J]. 青岛理工大学学报, 2021, 42(1): 86-90.
GUO Zhongyi, ZHAO Xiaoli, LI Jincheng, et al. Study on selection of phosphorus removal scheme based on analytic hierarchy process[J]. *Journal of Qingdao University of Technology*, 2021, 42(1): 86-90.
- [4] COATS E R, DEYO B, BROWER N, et al. Effects of anaerobic HRT and VFA loading on the kinetics and stoichiometry of enhanced biological phosphorus removal[J]. *Water Environment Research*, 2021, 93(9): 1608-1618.
- [5] KOBYLINSKI E A, DURME G P V, BARNARD J L, et al. How biological phosphorus removal is inhibited by collection system corrosion and odor control practices[J]. *Proceedings of the Water Environment Federation*, 2008(15): 1719-1735.
- [6] BARNARD J L, DUNLAP P, STEICHEN M. Rethinking the mechanisms of biological phosphorus removal[J]. *Water Environment Research*, 2017, 89(11): 2043-2054.
- [7] ZHAO W H, BI X J, PENG Y Z, et al. Research advances of the phosphorus-accumulating organisms of *Candidatus Accumulibacter*, *Dechloromonas* and *Tetrasphaera*: Metabolic mechanisms, applications and influencing factors[J]. *Chemosphere*, 2022, 307: 135675.
- [8] DAUDA A B, AJADI A, TOLA-FABUNMI A S, et al. Waste production in aquaculture: Sources, components and managements in different culture systems[J]. *Aquaculture and Fisheries*, 2019, 4(3): 81-88.
- [9] FUHS G W, CHEN M. Microbiological basis of phosphate removal in the activated sludge process for the treatment of wastewater[J]. *Microbial Ecology*, 1975, 2(2): 119-138.
- [10] MOROHOSHI T, YAMASHITA T, KATO J, et al. A method for screening remove polyphosphate-accumulating mutants which remove phosphate efficiently from synthetic wastewater[J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2003, 95(6): 637-640.
- [11] NEIDHARDT F C, BLOCH P L, SMITH D F. Culture medium for enterobacteria[J]. *Journal of Bacteriology*, 1974, 119(3): 736-747.
- [12] CHAUDHRY V, NAUTIYAL C S. A high throughput method and culture medium for rapid screening of phosphate accumulating microorganisms[J]. *Bioresource Technology*, 2011, 102(17): 8057-8062.
- [13] PLACKETT R L, BURMAN J P. The design of optimum multifactorial experiments[J]. *Biometrika*, 1946, 33(4): 305-325.
- [14] 国家环保总局. 水和废水监测分析方法[M]. 4版. 北京: 中国环境科学出版社, 2002.
The State Environmental Protection Administration. *Water and wastewater monitoring analysis method*[M]. 4th ed. Beijing: China Environmental Science Press, 2002.
- [15] 连丽丽. 聚磷菌的筛选及其对污水的除磷特性研究[D]. 大连: 辽宁师范大学, 2009: 10-21.
LIAN Lili. *Screening of phosphate-accumulating organisms and study on removing phosphate characteristic in sewage water*[D]. Dalian: Liaoning Normal University, 2009: 10-21.
- [16] CHEN J Y, WANG J, WANG X N, et al. Strengthening anoxic glycogen consumption in SNEDPR-CW as a strategy to control PAO-GAO competition under carbon limited condition[J]. *Chemosphere*, 2022, 288: 132617.
- [17] 田淑媛, 王景峰, 杨睿, 等. 厌氧下的PHB和聚磷酸盐及其生化机理研究[J]. 中国给水排水, 2000(7): 5-7.
TIAN Shuyuan, WANG Jingfeng, YANG Rui, et al. Relationship between PHB and polyphosphate under anaerobic condition and related biochemical mechanisms[J]. *China Water & Wastewater*, 2000(7): 5-7.
- [18] LI G Y, TOOKER N, WANG D Q, et al. Modeling versatile and dynamic anaerobic metabolism for PAOs/GAOs competition using a agent-based model and verification via single cell Raman Micro-spectroscopy[J]. *BioRxiv*, 2023, 245: 120540.
- [19] ANDREADAKIS D, NOUTSOPOULOS C, FRAGKISKATOS G, et al. Inhibition of free nitrous acid and free ammonia on polyphosphate accumulating organisms: Evidence of insufficient phosphorus removal through nitrification-denitrification[J]. *Journal of Environmental Management*, 2021, 297: 113390.
- [20] 吴丁山. 好氧反硝化聚磷菌的筛选及其脱氮除磷性能研究[D]. 武汉: 华中科技大学, 2019.
WU Dingshan. *Screening of aerobic denitrifying phosphorus accumulating bacteria and its nitrogen and phosphorus removal performance*[D]. Wuhan: Huazhong University of Science and Technology, 2019.

(责任编辑 赵金环; 英文校审 程文华)