

## ◆ 生物科学 ◆

## 一株耐高氨氮菌株的筛选及脱氮性能研究\*

刘庆宇<sup>1</sup>, 杨雯婷<sup>1</sup>, 盘兆慧<sup>1</sup>, 韦爽<sup>2</sup>, 潘世优<sup>1</sup>, 韦宇拓<sup>1\*\*</sup>

(1. 广西大学生命科学与技术学院, 广西南宁 530004; 2. 广西柏湾农牧有限公司, 广西南宁 530201)

**摘要:**硝化-反硝化生物脱氮被认为是目前有效的氨氮废水处理技术之一, 其关键是高效脱氮微生物的筛选。本研究从养猪厂污水处理池中筛选异养硝化-好氧反硝化细菌, 并探究其生长性能和脱氮性能。结果筛选出一株异养硝化-好氧反硝化细菌 *Acinetobacter junii* YQ-1, 当温度为 30 °C、转速为 200 r/min、初始 pH 值为 8、接种量为 2.0% (V/V)、培养时间为 48 h 时, 菌株 YQ-1 具有最高的菌体密度 ( $OD_{595} = 0.999$ ), 且脱氮效果最好。在最佳生长条件下, 当初始氨氮浓度、亚硝态氮和硝态氮浓度均为 200 mg/L 时, 菌株 YQ-1 在 48 h 对这 3 种形式氮素的降解率分别达到 89.73%、63.51% 和 70.19%。且当氨氮浓度为 1 000 mg/L 时, 菌株 YQ-1 仍能较好地生长, 其生长情况符合 BidoseResp 模型, 培养基中化学需氧量 (Chemical Oxygen Demand, COD) 变化情况符合 ExpDec2 模型, 培养基中化学需氧量 (Chemical Oxygen Demand, COD) 的减少速率与菌株 YQ-1 的生长速率呈正相关关系。本研究为异养硝化-好氧反硝化菌处理高浓度氨氮污水的实际应用提供了参考。

**关键词:**氨氮; 生物脱氮; 硝化-反硝化; *Acinetobacter junii*; 降解性能

中图分类号: Q89 文献标识码: A 文章编号: 1005-9164(2024)03-0478-08

DOI: 10.13656/j.cnki.gxkx.20240910.008

氨氮是水体中的主要污染物之一, 其来源包括农业排放、工业废水和生活污水等, 对水体生态环境和人类健康造成严重影响。目前, 对于氨氮废水的处理方法有物理化学法和生物法两类, 其中物理化学法包括吸附法、膜分离法、吹脱法、离子交换法、化学沉淀法等<sup>[1]</sup>。生物法主要为微生物法, 微生物脱氮是目前脱氮技术中的一种重要手段, 具有脱氮彻底、易操作、

经济安全等特点, 其中硝化-反硝化是处理含氨氮废水的有效方法<sup>[2]</sup>。通过筛选高耐氨氮菌株, 可以有效提高脱氮效率, 降低脱氮成本, 对解决水体氨氮污染问题具有重要意义。

目前, 国内外已有较多关于氨氮降解菌株筛选及其脱氮性能的研究。蒋慧慧等<sup>[3]</sup>从福建某水产养殖池底的污泥中筛选出氨氮降解菌株阿氏芽孢杆菌

收稿日期: 2024-03-09

修回日期: 2024-04-09

\* 广西壮族自治区大学生创新创业训练计划项目 (S202310593168) 资助。

【第一作者简介】

刘庆宇 (2002—), 男, 在读本科生, 主要从事生物技术研究, E-mail: 1409893207@qq.com。

【\*\*通信作者简介】

韦宇拓 (1971—), 男, 教授, 主要从事生物技术研究, E-mail: weiyutuo@gxu.edu.cn。

【引用本文】

刘庆宇, 杨雯婷, 盘兆慧, 等. 一株耐高氨氮菌株的筛选及脱氮性能研究[J]. 广西科学, 2024, 31(3): 478-485.

LIU Q Y, YANG W T, PAN Z H, et al. Screening and Denitrification Performance of a Highly Ammonia Nitrogen-Tolerant Strain [J]. Guangxi Sciences, 2024, 31(3): 478-485.

(*Bacillus aryabhattai* JN01), 在氨氮初始浓度为 200 mg/L 时, 该菌株对氨氮的降解率可达 92.78%, 并且具有良好的好氧反硝化特性。张国伟等<sup>[4]</sup>从北京南宫垃圾堆肥厂的垃圾渗滤液中筛选出具有氨氮降解能力的褐红篮状菌(*Talaromyces pinophilus*) 菌株 Z-5, 当接种量为 1.0%、氨氮初始浓度为 100 mg/L、碳源为红糖、pH 值为 7 时, 该菌株对氨氮的去除率达到了 94.75%。一些特定的微生物菌株在脱氮过程中具有较高的耐受性和脱氮效率。如向书迪<sup>[5]</sup>从水田土壤中筛选分离得到一株变形假单胞菌(*Pseudomonas plecoglossicida* Y-1), 在温度仅为 15 °C 且 pH 值高达 12 的条件下, 该菌株仍能有效去除硝态氮; 高雅娟等<sup>[6]</sup>从垃圾渗滤液中筛选出一株高效脱氮的铜绿假单胞菌(*P. aeruginosa* U1), 在氨氮浓度为 1 000 mg/L 的培养基中, 该菌对氨氮的去除率为 76.73%; Wang 等<sup>[7]</sup>从污泥混合物中筛选出一株高效脱氮的香茅假单胞菌(*P. citronellolis* WXP-4), 该细菌可以耐受硝态氮浓度为 100—1 000 mg/L, 最大氮去除率为 32.05 mg/(L·h)。此外, 从自然环境中筛选出的氨氮降解菌种类还有枯草芽孢杆菌(*B. subtilis*)<sup>[8]</sup>、克雷伯氏菌属(*Klebsiella*)<sup>[9]</sup>、假单胞菌属(*Pseudomonas*)<sup>[10]</sup>、不动杆菌属(*Acinetobacter*)<sup>[11]</sup>等。然而, 目前大部分已筛选到的氨氮降解菌株因生长缓慢、对高氨氮环境适应性差等原因, 仍然无法满足实际应用。因此, 高效脱氮菌株的筛选及其脱氮性能的探究仍有待深入。本研究拟从污水生化处理池水样中筛选耐高氨氮菌株, 并探究不同环境因子对其生长和氨氮降解效率的影响, 同时对其生长过程及培养基中化学需氧量(Chemical Oxygen Demand, COD)的变化进行动力学分析。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

#### 1.1.1 样 品

实验所用污水样品取样于广西贵港市港北区港泰种猪场的污水生化处理池。

#### 1.1.2 培 养 基

异养硝化富集培养基:  $\text{NH}_4\text{Cl}$  0.5 g,  $\text{CH}_3\text{COONa}$  3.5 g,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.05 g,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  0.2 g,  $\text{NaCl}$  0.12 g,  $\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.01 g,  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.01 g, 蒸馏水 1 000 mL, pH 值为 7。

异养硝化液体培养基:  $\text{NH}_4\text{Cl}$  0.382 g,

$\text{CH}_3\text{COONa}$  5.67 g,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.05 g,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  0.2 g,  $\text{NaCl}$  0.12 g,  $\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.01 g,  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.01 g, 蒸馏水 1 000 mL, pH 值为 7。

异养硝化固体培养基: 在异养硝化液体培养基的基础上添加琼脂粉 20 g。

### 1.2 方 法

#### 1.2.1 菌 株 的 驯 化 及 分 离 纯 化

取回的污水样品立即进行富集培养: 取 200  $\mu\text{L}$  污水悬浊液转接于 50 mL 异养硝化富集培养基, 在 30 °C、200 r/min 的条件下培养 24 h, 进行两次富集培养后将菌液依次接种于氨氮浓度分别为 100、200、500、800、1 000 mg/L 的异养硝化液体培养基中进行驯化。将驯化后的菌液稀释涂布于异养硝化固体平板, 挑取单菌落进行多次划线分离。

#### 1.2.2 菌 株 鉴 定

观察纯化后的菌株的菌落颜色和形态等特征, 并参考《伯杰细菌鉴定手册(第八版)》<sup>[12]</sup> 以及《常见细菌系统鉴定手册》<sup>[13]</sup> 对菌株进行初步鉴定。

取纯化后的菌液送至生工生物工程(上海)股份有限公司进行 16S rRNA 序列鉴定, 将测序结果与 GenBank 中已提交的 16S rRNA 序列进行核苷酸同源性比较, 然后应用软件 MEGA 7.0 构建菌株系统发育树。

#### 1.2.3 不同因素对菌株生长和氨氮降解效率的影响

选取温度、初始 pH 值、摇床转速、接种量、初始氨氮浓度 5 个因素, 探究不同因素对菌株生长情况和氨氮降解效率的影响。在初始条件为温度 30 °C、转速 200 r/min、接种量 1.0%(V/V)、pH 值 7、初始氨氮浓度 200 mg/L 的基础上, 温度梯度设置为 10、20、30、37、40 °C, 摇床转速梯度设置为 80、120、160、200、240 r/min, 接种量梯度设置为 0.5%、1.0%、1.5%、2.0%、2.5%(V/V), 初始 pH 值梯度设置为 5、6、7、8、9, 初始氨氮浓度梯度设置为 200、500、1 000 mg/L。以初始条件作为对照组, 根据不同的因素水平设置单一变量, 将菌株接种于异养硝化液体培养基中, 摇床振荡培养 48 h 后, 取样检测培养液  $OD_{595}$  值, 采用靛酚蓝比色法<sup>[14]</sup> 检测培养液氨氮浓度, 并使用公式(1)计算菌株氨氮降解效率。

氨氮降解效率 =  $(A_1 - A_2) / A_1 \times 100\%$ , (1)  
式中,  $A_1$  表示空白培养基反应液在 620 nm 下的吸光度值,  $A_2$  表示菌液上清反应液在 620 nm 下的吸光度值。

#### 1.2.4 最适氨氮降解条件下菌株硝化-反硝化能力的测定

##### ① 菌株氨氮降解能力测定

根据 1.2.3 节所得结果,将菌株接种于异养硝化液体培养基中,培养条件为温度 30 ℃、转速 200 r/min、接种量 2.0%(V/V)、初始 pH 值 8、初始氨氮浓度 200 mg/L。培养 48 h 后取样检测培养液  $OD_{595}$  值和氨氮浓度,并计算菌株氨氮的降解效率。

##### ② 菌株亚硝态氮降解能力测定

将菌株按 2.0%(V/V)接种量接种到 10 mL 初始亚硝态氮浓度为 200 mg/L 的亚硝酸盐异养反硝化液体培养基中(将异养硝化液体培养基中的  $NH_4Cl$  替换为  $NaNO_2$ ),在 30 ℃、200 r/min、pH 值为 8 的条件下培养 48 h,采用盐酸萘乙二胺分光光度法<sup>[15]</sup>测定培养液中亚硝酸盐浓度,按公式(2)计算菌株亚硝态氮的降解效率。

$$\text{亚硝态氮降解效率} = (A_3 - A_4) / A_3 \times 100\%, \quad (2)$$

式中,  $A_3$  表示空白培养基反应液在 540 nm 下的吸光度值,  $A_4$  表示菌液上清反应液在 540 nm 下的吸光度值。

##### ③ 菌株硝态氮降解能力测定

将菌株按 2.0%(V/V)接种量接种到 10 mL 初始硝态氮浓度为 200 mg/L 的硝酸盐异养反硝化液体培养基中(将异养硝化液体培养基中的  $NH_4Cl$  替换为  $KNO_3$ ),在 30 ℃、200 r/min、pH 值为 8 的培养条件下培养 48 h,采用分光光度法<sup>[16]</sup>测定菌液中硝酸盐浓度,按公式(3)计算菌株硝态氮的降解效率。

$$\text{硝态氮降解效率} = (A_5 - A_6) / A_5 \times 100\%, \quad (3)$$

式中,  $A_5 = A_{220}$  (空白) -  $2A_{275}$  (空白),  $A_6 = A_{220}$  (菌液) -  $2A_{275}$  (菌液)。其中,  $A_{220}$  (空白) 和  $A_{275}$  (空白) 表示空白培养基反应液分别在 220 和 275 nm 下的吸光度值,  $A_{220}$  (菌液) 和  $A_{275}$  (菌液) 表示菌液上清反应液分别在 220 和 275 nm 下的吸光度值。

#### 1.2.5 菌株生长及 COD 变化动力学分析

##### ① 菌株生长动力学分析

采用 Biosan 公司生长曲线测定仪器 RTS-1C,将菌株按 2.0%(V/V)接种量接种到含 15 mL 异养硝化液体培养基的仪器配套反应器 TubeSpin® Bioreactor 中,在 30 ℃、200 r/min 培养条件下,每隔 30 min 检测 1 次  $OD_{850}$  值,测定菌株的生长情况,绘制生长曲线,并采用公式(4)拟合菌株生长动力学曲线。

$$OD_{850} = -0.100 + 2.100 \times [0.869 / (1 +$$

$$10^{(29.981-t) \times 0.040}) + 0.131 / (1 + 10^{(64.361-t) \times 0.080})], \quad (4)$$

式中,  $t$  表示菌液的培养时间。

##### ② 菌株 COD 变化动力学分析

将菌株按 2.0%(V/V)接种量接种到 100 mL 异养硝化液体培养基中,30 ℃、200 r/min 培养条件下,每隔 6 h 取一次样,采用快速消解分光光度法<sup>[17]</sup>测定样品 COD 值,绘制样品 COD 变化曲线,采用公式(5)拟合 COD 变化曲线并进行动力学分析。

$$COD(\text{mg/L}) = -232722.865 + 233594.502e^{(-t/73603.936)} + 460.607e^{(-t/32.183)}. \quad (5)$$

## 2 结果与分析

### 2.1 菌株鉴定结果

菌株 YQ-1 菌落表面光滑、呈乳白色、不透明,直径约 2 mm。根据图 1 的系统发育树分析鉴定结果,菌株 YQ-1 为琼氏不动杆菌(*Acinetobacter junii*)。

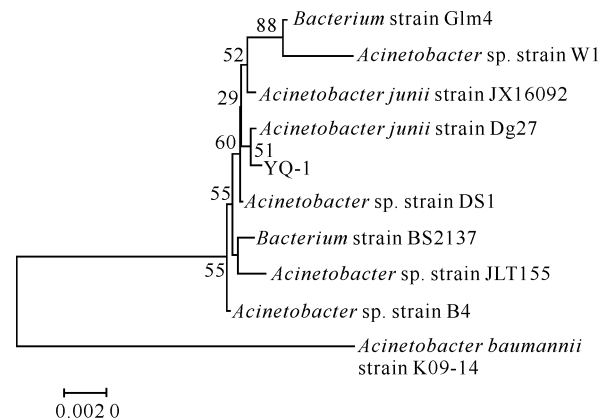


图 1 菌株 YQ-1 的系统发育树

Fig. 1 Phylogenetic tree of strain YQ-1

### 2.2 不同因素下菌株生长及氨氮降解效率

#### 2.2.1 温度对菌株生长及氨氮降解效率的影响

如图 2 所示,菌株 YQ-1 在 10 ℃ 几乎不生长,  $OD_{595}$  为 0.365,氨氮降解效率仅 7.98%。随着温度升高,菌株 YQ-1 生长和氨氮降解效率均呈现先上升后下降趋势,在温度为 30 和 37 ℃ 条件下生长旺盛,有较好的降解效率。最适生长温度为 37 ℃,  $OD_{595}$  为 0.712,降解效率为 68.86%,且在温度为 30 和 37 ℃ 条件下,菌株生长  $OD_{595}$  数值相差不大。依据现实温度情况,取其最适生长温度为 30 ℃。但随着温度升高到 40 ℃,菌株 YQ-1 的生长和氨氮降解效率下降,说明过高温度对菌株生长和氨氮降解有抑制作用。

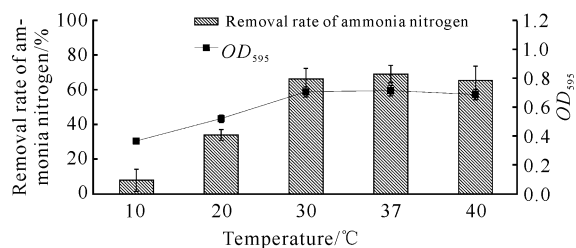


图2 温度对菌株 YQ-1 生长和氨氮降解效率的影响

Fig. 2 Effects of temperature on the growth and ammonia nitrogen removal efficiency of strain YQ-1

### 2.2.2 接种量对菌株生长及氨氮降解效率的影响

如图3所示,菌株 YQ-1 在接种量从 0.5% 上升到 2.0% 过程中,氨氮降解效率逐渐增大,当接种量为 2.0% (V/V) 时,菌株生长最好,  $OD_{595}$  达到 0.936,氨氮降解效率最高,达到 82.64%。当接种量达到 2.5% 时,菌株  $OD_{595}$  为 0.891,氨氮降解效率为 74.72%,均出现下降趋势。

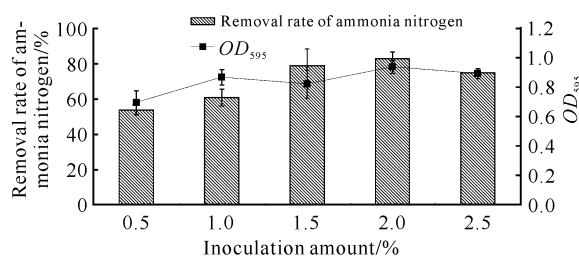


图3 接种量对菌株 YQ-1 生长和氨氮降解效率的影响

Fig. 3 Effects of inoculum amount on the growth and ammonia nitrogen removal efficiency of strain YQ-1

### 2.2.3 转速对菌株生长及氨氮降解效率的影响

由图4可知,菌株 YQ-1 在摇床转速为 80 r/min 时的  $OD_{595}$  值最小,仅为 0.292,氨氮降解速率为 44.00%,原因可能是溶氧不足导致菌株生长受限。随着转速的提高, $OD_{595}$  总体呈增大趋势,并在 200 r/min 达到最大,为 1.125,此时氨氮降解效率为 89.43%,这与不动杆菌 *Acinetobacter* sp. YN3<sup>[11]</sup> 生长最适转速相同。然而,随着转速的继续增加,菌株 YQ-1 的生长情况和降解效率均降低,但变化不大,可能是在 200 r/min 左右时已达到临界饱和氧浓度。

### 2.2.4 pH 值对菌株生长及氨氮降解效率的影响

由图5可知,菌株 YQ-1 对酸性环境的耐受性较差,在 pH 值为 5-6 条件下几乎不生长,当 pH 值逐渐变为中性时,菌株 YQ-1 的生长和氨氮降解效率才逐渐提高。菌株 YQ-1 对碱性环境有着较强的耐受性,在 pH 值为 9 时  $OD_{595}$  最大,为 1.042;在 pH 值为 8 时氨氮降解率最高,为 89.43%。

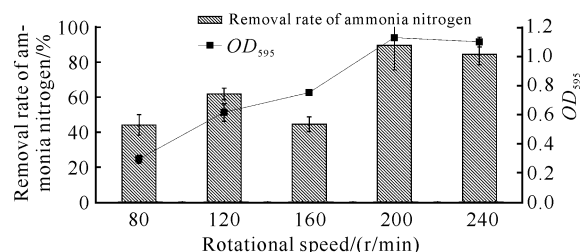


图4 转速对菌株 YQ-1 生长和氨氮降解效率的影响

Fig. 4 Effects of rotation speed on the growth and ammonia nitrogen removal efficiency of strain YQ-1

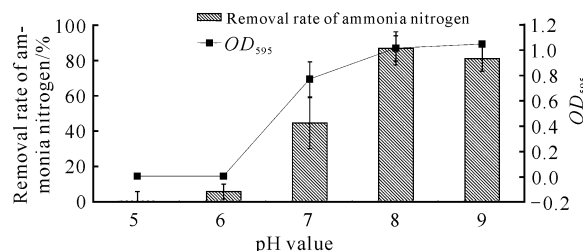


图5 pH 值对菌株 YQ-1 生长和氨氮降解效率的影响

Fig. 5 Effects of pH value on the growth and ammonia nitrogen removal efficiency of strain YQ-1

### 2.2.5 氨氮浓度对菌株生长及氨氮降解效率的影响

由图6可知,在低浓度的氨氮条件下菌株 YQ-1 的氨氮降解能力较强。随着氨氮浓度的增加,菌株 YQ-1 的生长情况和氨氮降解效率均呈下降趋势。当氨氮浓度为 200 mg/L 时,菌株 YQ-1 的  $OD_{595}$  为 0.821,氨氮降解效率为 79.07%;当氨氮浓度为 1 000 mg/L 时,菌株 YQ-1 的  $OD_{595}$  降至 0.662,氨氮降解效率为 19.90%,但其氨氮降解的绝对浓度并无明显变化,表明菌株 YQ-1 可耐受高氨氮浓度,可用于高氨氮浓度废水脱氮。

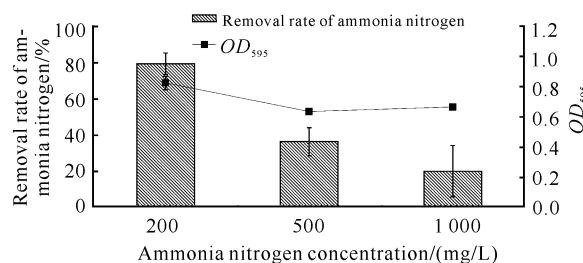


图6 氨氮浓度对菌株 YQ-1 生长和氨氮降解效率的影响

Fig. 6 Effects of ammonia nitrogen concentration on the growth and ammonia nitrogen removal efficiency of strain YQ-1

## 2.3 最适降解条件下菌株硝化-反硝化能力的测定

根据单因素优化的结果,将菌株 YQ-1 按 2.0% (V/V) 接种量分别接种于异养硝化液体培养基、以亚硝酸钠和硝酸钾为唯一氮源的异养反硝化液体培养基中,置于温度为 30 °C、摇床转速为 200 r/min、初始

pH 值设置为 8, 初始氨氮、硝态氮和亚硝态氮浓度均设置为 200 mg/L 条件下培养 48 h。结果显示, 菌株 YQ-1 在异养硝化液体培养基中  $OD_{595}$  为 0.999, 氨氮降解效率达 89.73%; 菌株 YQ-1 亚硝态氮和硝态氮降解效率分别达到 63.51% 和 70.19%, 降解速率分别为 2.75 和 2.79 mg/(L·h), 有较好的反硝化能力(图 7)。

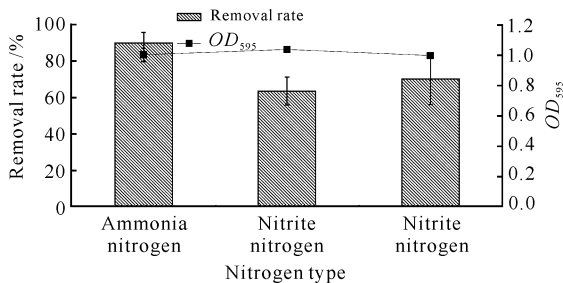


图 7 菌株 YQ-1 硝化-反硝化能力的测定

Fig. 7 Nitrification-denitrification capability of strain YQ-1

## 2.4 菌株生长及 COD 变化动力学分析结果

如图 8 和图 9 所示, 菌株 YQ-1 经 6 h 延滞期后迅速生长, 与之相应培养基中 COD 迅速下降, 48 h 后随着菌株 YQ-1 生长速率减慢, 培养基中 COD 下降速率也逐渐减慢, 约 72 h 后菌株 YQ-1 生长到达稳定期, 最大  $OD_{850}$  为 1.988, 此时培养基中的 COD 变化也趋于稳定, 约为 711.25 mg/L。分别采用软件 Origin 中的 BidoseResp 模型和 ExpDec2 模型模拟菌株 YQ-1 的生长及培养基中 COD 变化动力学分析情况, 拟合结果  $R^2$  分别大于 0.999 和 0.970。说明这两种模型适用于模拟菌株 YQ-1 的生长情况和培养基中 COD 变化情况。

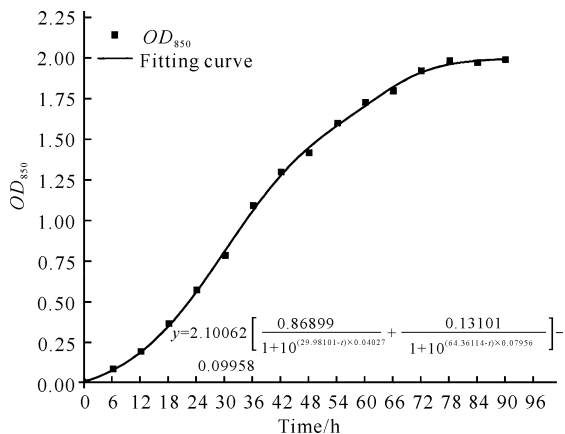


图 8 菌株 YQ-1 生长曲线

Fig. 8 Growth curve of strain YQ-1

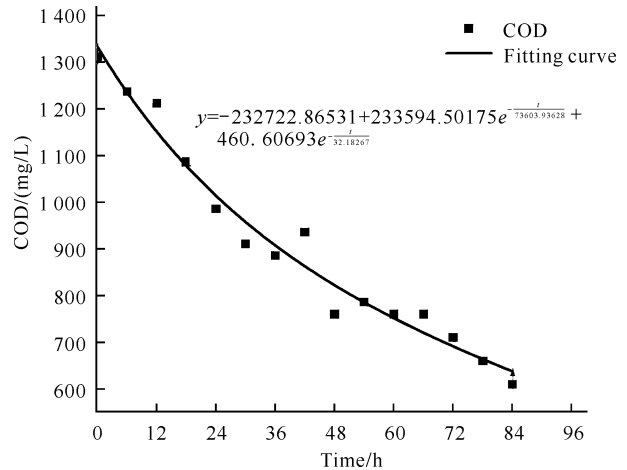


图 9 菌株 YQ-1 培养液 COD 变化曲线

Fig. 9 Trend of COD in the culture medium of strain YQ-1

## 3 讨论

### 3.1 温度

温度是影响生物脱氮的一个重要因素, Rodriguez-caballero 等<sup>[18]</sup>的研究表明低温能减缓或抑制硝化细菌的生长和功能, 这可能导致硝化过程受到抑制, 从而使得氨氮降解效率下降。于雪等<sup>[19]</sup>的研究表明当温度过高时, 微生物体内对温度敏感的细胞组分会发生变性, 并使其生长停止, 甚至最终死亡, 同时也会使其氨氮降解效率降低。菌株 YQ-1 在温度低于 30 °C 和高于 37 °C 时, 氨氮降解效率均呈下降趋势, 与上述研究结果相同。菌株 YQ-1 的最适降解温度为 30–37 °C, 与不动杆菌(*Acinetobacter* sp. XJ-1)<sup>[20]</sup>、枯草芽孢杆菌(*B. subtilis* ZF2-3)<sup>[21]</sup>和皱褶念珠菌(*Diutina rugosa* DW-1)<sup>[22]</sup>最适生长温度相似。

### 3.2 接种量

接种量过大或过小, 都会影响菌株的氨氮降解效果。接种量过大会造成溶氧不足, 影响产物的合成, 随之产生更多代谢中间产物, 不利于菌株生长; 过小会延长培养时间, 影响氨氮降解速率<sup>[20]</sup>。菌株 YQ-1 的最适接种量为 2.0% (V/V), 与不动杆菌(*Acinetobacter* sp. L-1)<sup>[23]</sup>最适接种量相同, 此时菌株 YQ-1 的氨氮降解效率达到 82.64%。在一定的范围内, 增加接种量可以缩短菌株生长的延滞期, 使菌株快速进入对数生长期, 但由于培养基中的营养物质有限, 继续增加接种量反而会影响微生物的生长速度。

### 3.3 溶解氧

溶解氧是氨氧化过程中的重要因素, 是好氧微生物进行硝化反应的重要电子受体, 对微生物生长和氨氧化效率具有重要影响。不同的脱氮菌株具有不同

的最佳溶解氧浓度,一旦偏离最佳溶解氧浓度,菌株的生长繁殖和脱氮性能将会受到抑制。在未达饱和情况下,溶氧量越大,微生物对氨氮的利用率越高<sup>[24]</sup>。Baumann<sup>[25]</sup>的研究表明强烈的曝气更有利于不动杆菌的生长,与之相符的,随着转速的提高,菌株 YQ-1 的生长和氨氮降解效率均增加,当转速为 200 r/min 时达到最大值。但是随着转速继续增加,菌株 YQ-1 的生长和氨氮降解效率呈现下降趋势,说明溶解氧浓度可能已经超过菌株 YQ-1 的最佳溶解氧浓度。

### 3.4 pH 值

pH 值会影响细胞膜的渗透性、有机物的电离程度和微生物酶的活性<sup>[26]</sup>。菌株 YQ-1 对酸性环境的耐受性较差,pH 值在 6 以下几乎不生长,但在中性和弱碱性条件下生长较好,最适 pH 值为 8,与 Duan 等<sup>[27]</sup>发现的菌株 *Vibrio diabolicus* SF16 的最佳 pH 值为 7.5—9.5 和白洁等<sup>[28]</sup>发现的 *Zobellella* sp. B307 最适 pH 值为 9 的研究结果类似,可能原因是在中性和弱碱性条件下,游离的  $\text{NH}_4^+$  有利于微生物的硝化作用<sup>[29]</sup>。

### 3.5 氨氮

氮是所有生物体的重要组成部分,大多数生物体依靠生物利用度更高的氮形式(如铵和硝酸盐)来生长<sup>[30]</sup>。胡锦涛等<sup>[31]</sup>和夏远舰等<sup>[32]</sup>的研究结果表明,高浓度氨氮会抑制菌株的生长速率和脱氮效率。与上述研究结果相符,随着初始氨氮浓度的提高,YQ-1 的生长受到抑制,但其在初始氨氮浓度为 1 000 mg/L 时仍有较好的生长状况, $OD_{595}$  为 0.662,且氨氮降解效率为 19.90%,降解氨氮的绝对浓度未发生明显变化,说明其在高浓度氨氮条件下仍有较好的降解性能,在处理高浓度氨氮废水上具有一定的应用价值与潜力。

异养硝化-好氧反硝化菌的发现解决了传统脱氮过程中自养硝化过程和厌氧反硝化过程分离的问题,显著降低了废水脱氮处理成本,提升了脱氮效率,为污水生物脱氮提供了新思路<sup>[33]</sup>。菌株 YQ-1 在初始氨氮浓度为 200 mg/L 的条件下,在 48 h 内氨氮降解率达到 89.73%,高于菌株 *Klebsiella quasipneumoniae* subsp. *quasipneumoniae* HY3-2<sup>[34]</sup>、*Talaromyces pinophilus* Z-5<sup>[4]</sup> 和 *Talaromyces pinophilus* BZ-95<sup>[35]</sup> 的降解效率,具有高效降解氨氮的能力。在亚硝态氮和硝态氮浓度均为 200 mg/L 的条件下,菌株 YQ-1 亚硝态氮和硝态氮降解率分别达到 63.51%

和 70.19%,降解速率分别为 2.75 和 2.79 mg/(L·h),远高于菌株 *Pseudomonas veronii* DH-3<sup>[36]</sup> 的硝态氮降解速率[0.95 mg/(L·h)],以及菌株 *Burkholderia* sp. ZH8<sup>[37]</sup> 的亚硝态氮降解速率[0.78 mg/(L·h)],具有良好的异养硝化-好氧反硝化性能。

## 4 结论

本研究从养猪场废水中分离出 1 株异养硝化-好氧反硝化菌,命名为 YQ-1,依据菌株 16S rRNA 基因序列比对结果构建系统发育树,鉴定该菌株为琼氏不动杆菌(*Acinetobacter junii*)。对菌株 YQ-1 氨氮降解条件进行单因素优化后,结果表明,当温度为 30 ℃、摇床转速为 200 r/min、初始 pH 值为 8、接种量为 2.0%(V/V),培养时间为 48 h 时,菌株 YQ-1 脱氮效果最好,当初始氨氮浓度、亚硝态氮和硝态氮浓度均为 200 mg/L 时,菌株 YQ-1 在 48 h 时对这 3 种形式的氮素降解率分别达到 89.73%、63.51% 和 70.19%,且当氨氮浓度 1 000 mg/L 时,菌株 YQ-1 仍有较好的生长情况。对菌株 YQ-1 生长情况及 COD 变化情况进行动力学分析,结果表明,菌株 YQ-1 经 6 h 延滞期后迅速生长,约 72 h 后到达稳定期,且培养基中 COD 的减少速率与菌株 YQ-1 的生长速率呈正相关关系。

### 参考文献

- [1] 韩晓宇,黄伟,陈默,等. 污水中的氨氮去除研究进展[J]. 材料导报,2023,37(S1):99-102.
- [2] 赵翠娟,宋文军,朱高雄,等. 除氨氮菌在污水处理中的研究进展[J]. 生物技术通报,2013(2):31-34.
- [3] 蒋慧慧,王强,付维来,等. 一株异养硝化-好氧反硝化细菌的筛选及氮转化特性研究[J]. 生物技术通报,2023,39(12):250-260.
- [4] 张国伟,靳静晨,李晨晨,等. 氨氮降解菌株的筛选及降解性能研究[J]. 生物技术进展,2022,12(5):746-753.
- [5] 向书迪. 耐冷好氧反硝化菌 *Pseudomonas plecoglossicida* Y-1 的特性及对不同氮源和生活污水脱氮特性研究[D]. 重庆:西南大学,2020.
- [6] 高雅娟,靳静晨,高洁,等. 耐高浓度氨氮的异养硝化好氧反硝化菌株 U1 的鉴定及其脱氮特性[J]. 微生物学通报,2022,49(7):2442-2456.
- [7] WANG X P, DUO Y K, HE J J, et al. A newly isolated and rapid denitrifier *Pseudomonas citronellolis* WXP-4: difference in  $\text{N}_2\text{O}$  emissions under aerobic and anaerobic conditions [J]. Bioprocess and Biosystems Engineering, 2020,43(5):811-820.

- [8] YU C H, WANG Y, GUO T, et al. Isolation and identification of ammonia nitrogen degradation strains from industrial wastewater [J]. *Engineering*, 2012; 4(11): 790-793.
- [9] 刘智慧, 赵佳男, 王雪, 等. 高效氨氮降解克雷伯菌筛选鉴定和适宜条件研究[J]. *黑龙江畜牧兽医*, 2023(15): 64-71, 136.
- [10] 孙筱君, 沈琦, 吴逸飞, 等. 氨氮降解微生物的筛选和初步应用[J]. *浙江农业学报*, 2020, 32(9): 1683-1691.
- [11] 杨垒, 陈宁, 任勇翔, 等. 异养硝化细菌 *Acinetobacter junii* NP1 的同步脱氮除磷特性及动力学分析[J]. *环境科学*, 2019, 40(8): 3713-3721.
- [12] 布坎南 R E, 吉本斯 N E. 伯杰细菌鉴定手册: 第八版 [M]. 中国科学院微生物研究所《伯杰细菌鉴定手册》翻译组译. 北京: 科学出版社, 1984.
- [13] 东秀珠, 蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册 [M]. 北京: 科学出版社, 2001.
- [14] 郭文森, 辛宇, 张金尧, 等. 全波长扫描式多功能读数仪-靛酚蓝比色法测定水样铵态氮含量[J]. *中国土壤与肥料*, 2018(4): 166-170.
- [15] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局. 食品安全国家标准 食品中亚硝酸盐与硝酸盐的测定: GB 5009. 33-2016 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.
- [16] 丁香通. 水中硝酸盐氮测定实验 [EB/OL]. (2024-1-27) [2024-1-27]. <https://pro.biomart.cn/lab-web/exp/316nrkago405u/316nrl4go45s0.html>.
- [17] 国家环境保护总局. 水质 化学需氧量的测定 快速消解分光光度法: HJ/T 399-2007 [S]. 北京: 中国环境科学出版社, 2008.
- [18] RODRIGUEZ-CABALLERO A, HALLIN S, PÅHLSON C, et al. Ammonia oxidizing bacterial community composition and process performance in wastewater treatment plants under low temperature conditions [J]. *Water Science and Technology*, 2012, 65(2): 197-204.
- [19] 于雪, 孙洪伟, 李维维, 等. 温度对硝化杆菌 (*Nitrobacter*) 活性动力学影响 [J]. *环境科学*, 2019, 40(3): 1426-1430.
- [20] 阮明君, 钟梓杰, 余发杰, 等. 一株异养硝化细菌的分离鉴定及其在垃圾渗滤液中的应用 [J]. *广东农业科学*, 2022, 49(3): 68-76.
- [21] 陈猛, 李安章, 张明霞, 等. 一株异养硝化-好氧反硝化菌的分离鉴定及其对养殖废水中氮的去除特性 [J]. *农业资源与环境学报*, 2020, 37(2): 270-279.
- [22] 杜全能, 朱文娟, 兰时乐. 一株异养硝化-好氧反硝化皱褶念珠菌 (*Diutina rugosa*) 的分离及脱氮特性 [J]. *生物技术通报*, 2020, 36(1): 60-65.
- [23] 利勇, 代群威, 王维富, 等. 一株异养硝化菌的筛选鉴定及其在农村养殖废水处理中的应用 [J]. *广东农业科学*, 2022, 49(12): 90-98.
- [24] WEI B H, LUO X, MA W K, et al. Biological nitrogen removal and metabolic characteristics of a novel cold-resistant heterotrophic nitrification and aerobic denitrification *Rhizobium* sp. WS7 [J]. *Bioresource Technology*, 2022, 362: 127756.
- [25] BAUMANN P. Isolation of *Acinetobacter* from soil and water [J]. *Journal of Bacteriology*, 1968, 96(1): 39-42.
- [26] HU J, YAN J B, WU L, et al. Isolated heterotrophic nitrifying and aerobic denitrifying bacterium for treating actual refinery wastewater with low C/N ratio [J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2021, 132(1): 41-48.
- [27] DUAN J M, FANG H D, SU B, et al. Characterization of a halophilic heterotrophic nitrification-aerobic denitrification bacterium and its application on treatment of saline wastewater [J]. *Bioresource Technology*, 2015, 179: 421-428.
- [28] 白洁, 陈琳, 黄潇, 等. 1株耐盐异养硝化-好氧反硝化菌 *Zobellella* sp. B307 的分离及脱氮特性 [J]. *环境科学*, 2018, 39(10): 4793-4801.
- [29] MÉVEL G, PRIEUR D. Heterotrophic nitrification by a thermophilic *Bacillus* species as influenced by different culture conditions [J]. *Canadian Journal of Microbiology*, 2000, 46(5): 465-473.
- [30] KUYPERS M M M, MARCHANT K H, KARTAL B. The microbial nitrogen-cycling network [J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2018, 16: 263-276.
- [31] 胡锦涛, 肖春桥, 邓祥意, 等. 稀土浸矿场地土壤异养硝化-好氧反硝化菌株 K3 的分离及脱氮研究 [J]. *稀土*, 2021, 42(5): 1-12.
- [32] 夏远舰, 杨小丽, 李海华, 等. 异养硝化-好氧反硝化菌 *Acinetobacter johnsonii* sp. N26 的脱氮性能及代谢途径 [J]. *微生物学通报*, 2023, 50(4): 1374-1395.
- [33] 马咏琪, 台喜生, 王佳丽, 等. 极端水质条件下异养硝化-好氧反硝化微生物的研究进展 [J]. *微生物学通报*, 2024, 51(3): 743-757.
- [34] 杨静丹, 祝铭韩, 刘琳, 等. 异养硝化-好氧反硝化菌 HY3-2 的分离及脱氮特性 [J]. *中国环境科学*, 2020, 40(1): 294-304.
- [35] 郑珂. 氨氮降解菌株的筛选及脱氮效果评价 [D]. 泰安: 山东农业大学, 2023.
- [36] 董怡华, 王凌潇, 任涵雪, 等. 一株耐低温异养硝化-好氧反硝化菌的分离鉴定及其脱氮特性 [J]. *生物技术通*

报, 2023, 39(12): 237-249.  
[37] 李艳丽, 杨垒, 张志昊, 等. 好氧反硝化细菌 *Burkholderia* sp. ZH8 的脱氮特性与生物强化作用研究[J/OL].

中国环境科学: 1-11[2024-04-02]. <https://doi.org/10.19674/j.cnki.issn1000-6923.20240015.003>.

## Screening and Denitrification Performance of a Highly Ammonia Nitrogen-Tolerant Strain

LIU Qingyu<sup>1</sup>, YANG Wenting<sup>1</sup>, PAN Zhaohui<sup>1</sup>, WEI Shuang<sup>2</sup>, PAN Shiyou<sup>1</sup>, WEI Yutuo<sup>1\* \*</sup>

(1. College of Life Science and Technology, Guangxi University, Nanning, Guangxi, 530004, China; 2. Guangxi Baiwan Agriculture and Animal Husbandry Co., Ltd., Nanning, Guangxi, 530201, China)

**Abstract:** Biological nitrogen removal by nitrification and denitrification is considered as one of the effective technologies of ammonia nitrogen-containing wastewater treatment, the key of which is the screening of efficient denitrifying microorganisms. In this study, a heterotrophic nitrifying-aerobic denitrifying bacterial strain, named *Acinetobacter junii* YQ-1, was isolated from a swine wastewater treatment pond, and the growth performance and denitrification capability of strain YQ-1 were investigated. The results showed that the highest cell density ( $OD_{595} = 0.999$ ) was achieved at 30 °C after 48 h of cultivation with a rotation speed of 200 r/min, initial pH value 8, and an inoculum amount of 2.0% (V/V). Under the optimal growth conditions, strain YQ-1 showed the nitrogen removal rates of 89.73%, 63.51%, and 70.19% within 48 h against ammonia nitrogen, nitrite nitrogen, and nitrate nitrogen at the initial concentration of 200 mg/L, respectively. Strain YQ-1 exhibited good growth even when the ammonia nitrogen concentration was 1 000 mg/L, with the growth fitting the BidoseResp model. The changes in Chemical Oxygen Demand (COD) in the culture medium followed the ExpDec2 model, and the rate of decrease in COD was positively correlated with the growth rate of YQ-1. This study provides a reference for the application of heterotrophic nitrifying-aerobic denitrifying bacteria in processing the wastewater containing high-concentration ammonia nitrogen.

**Key words:** ammonia nitrogen; biological denitrification; nitrification-denitrification; *Acinetobacter junii*; degradation performance

责任编辑: 陆雁



微信公众号投稿更便捷

联系电话: 0771-2503923

邮箱: gxxk@gxas.cn

投稿系统网址: <http://gxxk.ijournal.cn/gxxk/ch>