ISSN 0250-3301 CODEN HCKHDV

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第37卷 第3期

Vol.37 No.3

2016

中国科学院生态环境研究中心 主办

科学出版社 出版

中国期刊方阵

双奖期刊

中华人民共和国新闻出版总署

环境科学
(HUANJING KEXUE)
ENVIRONMENTAL SCIENCE
第 37 卷 第 3 期
2016 年 3 月 15 日

目 次

第37卷第3期
2016年3月

环　境　科　学
ENVIRONMENTAL SCIENCE

Vol. 37, No. 3
Mar., 2016

1株 *Arthrobacter arilaitensis* 菌的耐冷异养硝化和好氧反硝化作用

何腾霞[1],倪九派[1],李振轮[1*],孙权[2],冶青[1],徐义[1]

(1.西南大学资源环境学院,土壤多尺度界面过程与调控重庆市重点实验室,重庆　400716; 2.贵州省德江县中等职业学校,德江　565200)

摘要:分别采用高浓度的铵态氮、硝态氮、亚硝态氮、有机氮模拟废水和铵态氮与硝态氮、铵态氮与亚硝态氮混合模拟废水,研究耐冷反硝化细菌 *Arthrobacter arilaitensis* Y-10 的异养硝化、好氧反硝化以及同时硝化和反硝化能力,通过测定 Y-10 菌株在整个脱氮过程中的 D_{600} 值,分析细菌生长与生物脱氮之间的联系.结果表明,耐冷菌株 *Arthrobacter arilaitensis* Y-10 具有很强的硝化和反硝化能力,15℃条件下,4 d 内分别可将铵态氮由 208.43 mg·L^{-1}降至 72.92 mg·L^{-1},去除率 65.0%;硝态氮由 201.16 mg·L^{-1} 降至 0 mg·L^{-1},去除率为 100%;亚硝态氮由 194.33 mg·L^{-1}降至 75.43 mg·L^{-1},去除率为 61.2%.该菌只在含硝态氮的模拟废水中才会产生亚硝态氮积累;此外,在混合模拟废水中,以去除铵态氮为主.总之,*Arthrobacter arilaitensis* Y-10 能在 15℃条件下有效进行异养硝化和好氧反硝化作用,在不同无机氮混合模拟废水中对铵态氮的去除率高达 80.0% 以上.

关键词:异养硝化作用;阿氏节杆菌;好氧反硝化;氮转化;耐冷

中图分类号:X172　**文献标识码**:A　**文章编号**:0250-3301(2016)03-1082-07　**DOI**:10.13227/j.hjkx.2016.03.038

Heterotrophic Nitrification and Aerobic Denitrification of the Hypothermia Aerobic Denitrification Bacterium: *Arthrobacter arilaitensis*

HE Teng-xia[1], NI Jiu-pai[1], LI Zhen-lun[1*], SUN Quan[2], YE Qing[1], XU Yi[1]

(1. Chongqing Key Laboratory of Soil Multiscale Interfacial Process, College of Resources and Environments, Southwest University, Chongqing 400716, China; 2. Guizhou Dejiang Secondary Vocational School, Dejiang 565200, China)

Abstract: High concentrations of ammonium, nitrate and nitrite nitrogen were employed to clarify the abilities of heterotrophic nitrification and aerobic denitrification of *Arthrobacter arilaitensis* strain Y-10. Meanwhile, by means of inoculating the strain suspension into the mixed ammonium and nitrate, ammonium and nitrite nitrogen simulated wastewater, we studied the simultaneous nitrification and denitrification ability of *Arthrobacter arilaitensis* strain Y-10. In addition, cell optical density was assayed in each nitrogen removal process to analyze the relationship of cell growth and nitrogen removal efficiency. The results showed that the hypothermia denitrification strain *Arthrobacter arilaitensis* Y-10 exhibited high nitrogen removal efficiency during heterotrophic nitrification and aerobic denitrification. The ammonium, nitrate and nitrite removal rates were 65.0%, 100% and 61.2% respectively when strain Y-10 was cultivated for 4 d at 15℃ with initial ammonium, nitrate and nitrite nitrogen concentrations of 208.43 mg·L^{-1}, 201.16 mg·L^{-1} and 194.33 mg·L^{-1} and initial pH of 7.2. Nitrite nitrogen could only be accumulated in the medium containing nitrate nitrogen during heterotrophic nitrification and aerobic denitrification process. Additionally, the ammonium nitrogen was mainly removed in the inorganic nitrogen mixed synthetic wastewater. In short, *Arthrobacter arilaitensis* Y-10 could conduct nitrification and denitrification effectively under aerobic condition and the ammonium nitrogen removal rate was more than 80.0% in the inorganic nitrogen mixed synthetic wastewater.

Key words: heterotrophic nitrification; *Arthrobacter arilaitensis*; aerobic denitrification; nitrogen conversion; hypothermia

生物脱氮技术因其简单高效且成本低廉而得到了广大研究者的青睐[1],传统的生物脱氨技术分为自养硝化($NH_4^+ \longrightarrow NH_2OH \longrightarrow NO_2^- \longrightarrow NO_3^-$)和厌氧反硝化($NO_3^- \longrightarrow NO_2^- \longrightarrow NO \longrightarrow N_2O \longrightarrow N_2$)两个过程,需要自养硝化细菌和厌氧反硝化细菌分别在严格好氧和厌氧两种不同的环境条件才能顺利完成脱氮过程,因而常被认为是一种耗能且耗时的生物脱氮方式[2,3].近年发现的好氧反硝化细菌,如泛养硫球菌(*Thiosphaera pantotropha*)[4]、硫化氢氧化菌(*Paracoccus pantotrophus*)[5]、嗜吡啶红球菌(*Rhodococuus pyridinivorans*)[6]、施氏假单胞菌(*Pseudomonas stutzeri*)[7,8]、雷氏普罗威登斯菌(*Providencia rettgeri*)[9]和枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)[10]等,能使硝化和反硝化过程在同一反应器中同时进行,可大大降低污水处理成本.此外,有

收稿日期:2015-10-15; **修订日期**:2015-11-05
基金项目:国家科技支撑计划项目(2013BAJ11B03);中央高校基本业务费专项(XDJK2015D040)
作者简介:何腾霞(1988~),女,硕士研究生,主要研究方向为应用微生物,E-mail:hetengxia5153@163.com
* 通讯联系人,E-mail:lizhlun4740@sina.com

的好氧反硝化细菌在有氧条件下不仅能还原硝态氮和亚硝态氮，对铵态氮也具有脱氮作用，如 2015 年 Zhang 等[11]报道的善变副球菌（*Paracoccus versutus*）可同时降解铵态氮和硝态氮，各自去除率均在 95% 以上，这种能进行同时硝化和反硝化作用的细菌不仅能减少传统生物脱氮中需要厌氧反应器的投入成本，而且硝化作用产生的酸可中和反硝化作用产生的碱，进而还可减少添加 pH 调节剂的成本.

然而，同时硝化和反硝化作用会受很多条件的影响，其中低温是影响其脱氮效率的关键因素之一，是导致冬季污水脱氮处理失败的根本原因，前人研究表明，当温度低于 20℃时，细菌的硝化和反硝化性能将会急剧下降，当温度低于 15℃时，硝化和反硝化性能会变得很微弱，当温度低于 10℃时，将会强烈抑制细菌硝化作用和反硝化作用的进行[12,13]，如 2012 年 Zhu 等[14]报道的门多萨假单胞菌（*Pseudomonas mendocina*）在 30℃条件下对铵态氮和硝酸盐氮去除率分别为 85.7% 和 97.7%，但当温度下降至 10℃时，铵态氮和硝酸盐氮的去除率显著下降至 10.1% 和 9.2%，表明该菌在高温条件下具有良好的硝化和反硝化活性，但低温强烈的抑制了该菌株的硝化和反硝化性能. 然而，目前报道的好氧脱氮菌多为嗜温菌，其最适脱氮温度多在 30℃以上[15~17].

本实验利用前期分离的 1 株能在 15℃条件下高效去除亚硝酸盐氮的好氧反硝化菌株：*Arthrobacter arilaitensis* Y-10[18]，研究该菌对高浓度的铵态氮、硝态氮、亚硝态氮、有机氮以及混合氮源模拟废水中无机氮的转化能力和脱氮能力，为高浓度氮污水治理提供一种新的生物资源，实验结果表明 Y-10 能在 15℃条件下有效进行异养硝化和好氧反硝化作用，在混合氮源模拟废水中对铵态氮的去除率高达 80.0% 以上. 目前还未见该种菌能进行异养硝化作用以及同时硝化与反硝化的研究报道，本工作为后期该菌在南方冬季污水脱氮处理奠定了理论基础.

1　材料与方法

1.1　材料

1.1.1　菌株来源

前期分离筛选菌株 *Arthrobacter arilaitensis* Y-10，该菌已保存在武汉中国典型培养物保藏中心，其保藏号为 CGMCC NO.10536，在国际基因库中 16S rRNA基因登录号为 KP410739.

1.1.2　模拟废水[19]

硝化模拟废水配制（$g\cdot L^{-1}$）：K_2HPO_4 7.0，KH_2PO_4 3.0，$MgSO_4\cdot 7H_2O$ 0.1，$(NH_4)_2SO_4$ 1.0，$FeSO_4\cdot 7H_2O$ 0.05 和 CH_3COONa 10（NM）.

反硝化模拟废水配制（$g\cdot L^{-1}$）：K_2HPO_4 7.0，KH_2PO_4 3.0，$MgSO_4\cdot 7H_2O$ 0.1，$FeSO_4\cdot 7H_2O$ 0.05 和 CH_3COONa 10，KNO_3 1.8（DM-1）或 $NaNO_2$ 0.986（DM-2）.

有机氮降解能力测试模拟废水配制（$g\cdot L^{-1}$）：K_2HPO_4 7.0，KH_2PO_4 3.0，$MgSO_4\cdot 7H_2O$ 0.1，蛋白胨 1.575，$FeSO_4\cdot 7H_2O$ 0.05 和 CH_3COONa 10（OM）.

同时硝化和反硝化模拟废水配制（$g\cdot L^{-1}$）：K_2HPO_4 7.0，KH_2PO_4 3.0，$MgSO_4\cdot 7H_2O$ 0.1，$FeSO_4\cdot 7H_2O$ 0.05 和 CH_3COONa 10，$(NH_4)_2SO_4$ 1.0 + KNO_3 1.8（SND-1）或 $(NH_4)_2SO_4$ 1.0 + $NaNO_2$ 0.986（SND-2），pH 调为 7.2.

Luria-Bertani（LB）培养基[20]（$g\cdot L^{-1}$）：蛋白胨 10，NaCl 10，yeast extract 5. 以上所有培养基均在 0.11 MPa、121℃下灭菌 30 min，冷却后备用.

1.1.3　主要试剂与仪器

主要化学试剂购买于国药集团化学试剂有限公司；ZHWY-211B 恒温培养振荡器（上海智诚分析仪器有限公司）；722 可见分光光度计（上海菁华科技仪器有限公司）；UV755B 可见紫外分光光度计（上海分析仪器总厂）；DU800 紫外/可见光分光光度计（BECKMAN COULTER）.

1.2　菌株对不同氮源的去除能力以及转化关系

挑取单菌落接种于装有 100 mL LB 培养基的 250 mL 锥形瓶中，15℃、150 $r\cdot min^{-1}$ 摇床振荡培养 36 h，取出 8 mL 菌悬液以4 000 $r\cdot min^{-1}$离心 5 min，弃去上清液，取 5 mL 无菌水将细菌混匀洗涤一遍，再离心，弃去上清液，取 2 mL 无菌水，将留在离心管底部菌体悬浮混匀后全部转移到装有 100 mL 模拟废水的 250 mL 锥形瓶中，于 15℃、150 $r\cdot min^{-1}$条件下振荡培养，每 24 h 测定铵态氮、硝态氮、亚硝态氮等各种氮浓度以及细菌生长的 D_{600} 值. 总氮和细菌 D_{600} 值是不经过任何处理直接摇匀取样分析测定，其它指标均将样品以8 000 $r\cdot min^{-1}$离心 8 min 后取上清液测定，测定结果用以下公式计算脱氮率：

$$R_v = (T_1 - T_2)/T_1 \times 100\%$$

式中，R_v 为脱氮率，T_1 为模拟废水氮的初始浓度，T_2 为模拟废水中氮的终浓度.

1.3　检测方法

总氮和有机氮浓度采用碱性过硫酸钾消解紫外

分光光度法测定[22]；铵态氮采用靛酚蓝比色法测定[23]，硝酸盐氮采用紫外分光光度比色法，亚硝酸盐氮浓度采用 *N*-(1-萘基)-乙二胺光度法测定[24]；菌体生长量采用 D_{600} 光电比浊法.

1.4 数据处理与分析

每组实验设 3 组平行，采用 Excel、SPSS 17.0 和 Origin 8.6 软件对实验结果进行统计分析与作图.

2 结果与分析

2.1 菌株 Y-10 对铵态氮的去除能力

Y-10 菌株在 NM 模拟废水中的生长状况以及对铵态氮的转化能力如图 1 所示，接菌后 2 d 内，该菌的 D_{600} 值快速增长到 1.46，随后缓慢增至 1.73，铵态氮和总氮的去除量随细菌的生长繁殖而增加，总体表现为：4 d 内，铵态氮由 208.43 mg·L^{-1} 降至 72.92 mg·L^{-1}，去除率为 65.0%，相应的去除速率为 1.88 mg·(L·h)$^{-1}$；总氮由 220.08 mg·L^{-1} 降至 155.49 mg·L^{-1}，去除率为 29.3%，在整个硝化反应过程中，没有检测到硝态氮和亚硝态氮等中间脱氮产物，总氮降低表明部分铵态氮转化为气态氮释放入空气中. 据报道，铵态氮可以通过两种途径被转化为气态氮，其一为：$NH_4^+ \longrightarrow NH_2OH \longrightarrow NO_2^- \longrightarrow NO_3^-$，然后再还原为气态氮；其二为：$NH_4^+ \longrightarrow NH_2OH \longrightarrow NO \longrightarrow N_2O$[25] 直接产生气态氮，通过这一途径进行生物脱氮作用，不会产生硝态氮和亚硝态氮的积累，因此，根据菌株 Y-10 对去除铵态氮时中间产物和总氮含量检测分析推测，铵态氮可能是以第二条途径去除的，这不同于 Jin 等[20]报道的 *Pseudomonas* sp. 是以硝化作用产物(硝态氮或亚硝态氮)进行反硝化作用的报道.

2.2 菌株 Y-10 对硝酸盐氮的去除能力

Y-10 菌株在 DM-1 模拟废水中的生长繁殖和对高浓度硝态氮的去除能力如图 2 所示，在 15℃、3 d 内能将 201.16 mg·L^{-1} 的硝态氮降至 0.01 mg·L^{-1}，去除速率为 2.79 mg·(L·h)$^{-1}$，但硝态氮会迅速地转化为亚硝态氮，刚接种就检测到 4 mg·L^{-1} 左右的亚硝态氮积累，随着培养时间延长，亚硝态氮由最初的 4.52 mg·L^{-1} 增加至第 2 d 的 130.41 mg·L^{-1}，随后到第 4 d 又降至 101.05 mg·L^{-1}. 总氮去除率为 48.9%，比以铵态氮为唯一氮源时要高，表明 Y-10 菌株好氧反硝化脱氮能力比异养硝化脱氮能力更强. 根据以上研究结果分析，该菌去除硝态氮的途径为：NO_3^--N $\longrightarrow$ NO_2^--N，然后再被还原为气态氮.

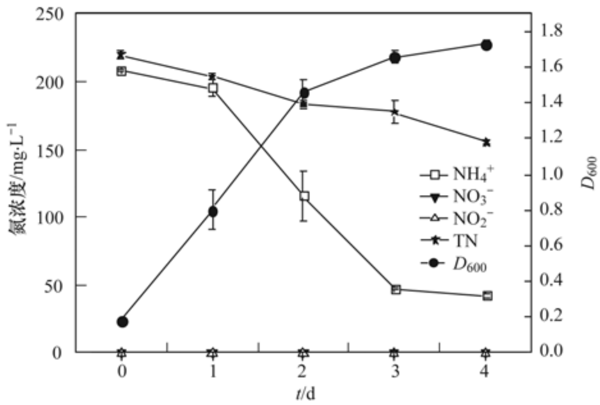

图 1 菌株 Y-10 对铵态氮的去除能力

Fig. 1 Ammonium nitrogen removal ability of strain Y-10

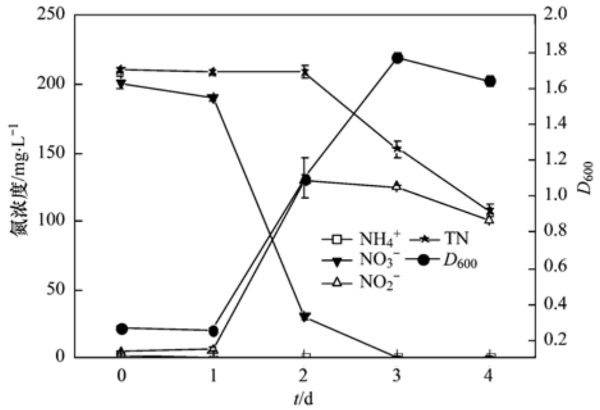

图 2 菌株 Y-10 对硝酸盐氮的去除能力

Fig. 2 Nitrate nitrogen removal ability of strain Y-10

2.3 菌株 Y-10 对亚硝酸盐氮的转化

菌株 Y-10 接种在 DM-2 模拟废水中的硝态氮去除能力以及相应的氮转化关系如图 3 所示，在以亚硝态氮为唯一氮源的培养基中生长时，其延滞期明显较短且 4 d 内未进入衰亡期，表明高浓度的小硝态氮对细菌的生长没有抑制作用. 菌株 Y-10 的生长与亚硝酸盐氮的去除量表现出了正相关关系，在 4 d 内，细菌的 D_{600} 值由 0.16 增长至 1.67，相应的亚硝态氮由 194.33 mg·L^{-1} 降至 75.43 mg·L^{-1}，去除率为 61.2%；总氮由 213.26 mg·L^{-1} 降至 125.38 mg·L^{-1}，去除率为 41.2%，比以硝态氮为唯一氮源时去除率低；此外，脱氮过程中有微量的铵态氮积累，这部分氮源可能源于少量死亡的细菌，与 He 等[26]和 Li 等[27]报道的反硝化过程中具有少量铵态氮积累一致. 在整个脱氮过程中没有检测到硝态氮，因此，该菌去除亚硝酸盐氮主要途径为：NO_2^--N $\longrightarrow$ 气态氮，这与 2001 年 Philippot 等[28]报道反硝化脱氮酶系催化亚硝酸盐氮还原途径一致.

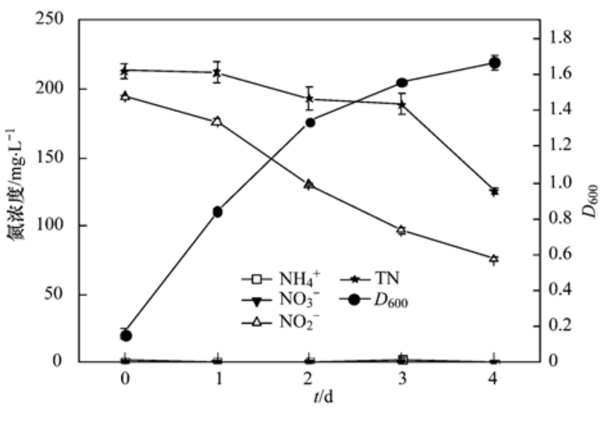

图 3　菌株 Y-10 对亚硝酸盐氮的去除能力

Fig. 3　Nitrite nitrogen removal ability of strain Y-10

2.4　菌株 Y-10 对有机氮的利用能力

据报道，水体中有机氮占总氮含量的 14% ~ 90%，会促进藻类大量繁殖和水体富营养化[29]，本实验以蛋白胨为有机氮源（OM），检验 Y-10 菌株对有机氮的利用及脱氮能力，由图 4 所示，蛋白胨包含微量的铵态氮和少量的硝态氮，但不含亚硝态氮. 接菌后，细菌可利用蛋白胨为氮源，进行快速生长，1 d 内细菌的 D_{600} 值由 0.52 快速增长至 1.55，随后增长至 1.76 进入稳定期，其脱氮能力表现为：铵态氮由 0.83 mg·L^{-1} 下降至 0.07 mg·L^{-1}，去除率为 91.6%；硝态氮由 48.22 mg·L^{-1} 降至 25.53 mg·L^{-1}，去除率为 47.1%；总氮由 227.08 mg·L^{-1} 降至 205.11 mg·L^{-1}，去除率仅为 9.7%，铵态氮由于量少表现出了较高的脱氮率，硝态氮和总氮的去除率较低，其原因可能是有机氮需先转化成为铵态氮和硝态氮后，才能被细菌快速地还原，而很难直接在短时间内将其还原为气态氮. 实验结果表明，菌株可利用有机氮进行快速繁殖，降低水体中有机氮含量，同时促进其它无机氮的降解，进而降低水体富营养化程度.

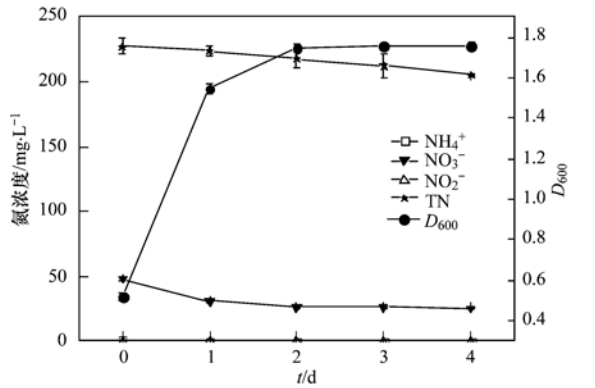

图 4　菌株 Y-10 对有机氮的利用能力

Fig. 4　Organic nitrogen utilization ability of strain Y-10

2.5　菌株 Y-10 在无机氮混合模拟废水中的脱氮能力

菌株 Y-10 在铵态氮和硝态氮为混合氮源模拟废水（SND-1）中对氮的转化能力如图 5 所示，结果表明该菌能同时降解模拟废水中的铵态氮和硝态氮，15℃、4 d 内该菌能将铵态氮由 198.06 mg·L^{-1} 降至 39.56 mg·L^{-1}，去除率为 80.0%；硝态氮由 206.26 mg·L^{-1} 降至 158.54 mg·L^{-1}，去除率为 23.2%，脱氮过程有亚硝态氮积累，其浓度由最初的 0.4 mg·L^{-1} 增至 25 mg·L^{-1} 左右；总氮由 410.27 mg·L^{-1} 降至 350.45 mg·L^{-1}，去除率为 14.6%；此外，Y-10 菌株在混合模拟废水中的生长延滞期比以硝态氮为唯一氮源时短，表明铵态氮更有利于细菌生长繁殖.

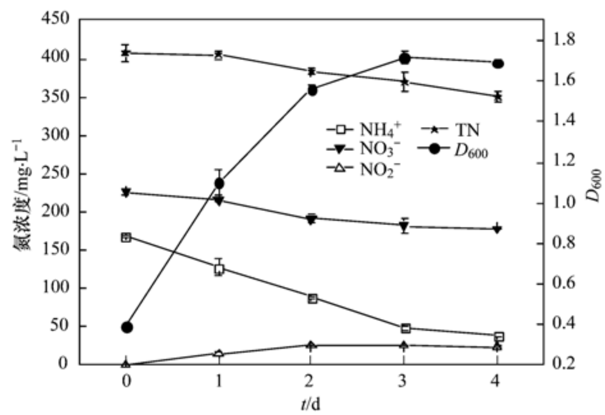

图 5　菌株 Y-10 在铵态氮和硝酸盐氮混合模拟废水中的脱氮能力

Fig. 5　Nitrogen removal capacity of strain Y-10 in simulated wastewater containing ammonium nitrogen and nitrate nitrogen

菌株 Y-10 对以铵态氮与亚硝态氮为混合氮源的模拟废水（SND-2）中氮转化能力如图 6 所示，随着培养时间延长铵态氮逐渐降低，4 d 内由 194.16

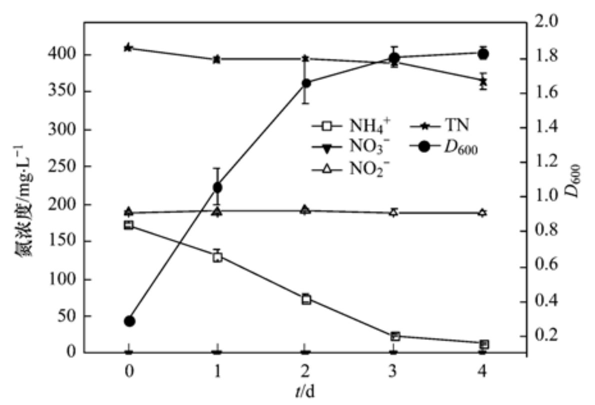

图 6　菌株 Y-10 在铵态氮和亚硝酸盐氮混合模拟废水中的脱氮能力

Fig. 6　Nitrogen removal capacity of strain Y-10 in simulated wastewater containing ammonium nitrogen and nitrite nitrogen mg·L^{-1}降至 13.82 mg·L^{-1},去除率为 92.9%；亚硝态氮由 199.25 mg·L^{-1}降至 188.26 mg·L^{-1},去除率仅有 5.5%；总氮由 408.71 mg·L^{-1}降至 364.02 mg·L^{-1},去除率仅为 10.9%,整个脱氮过程中没有硝态氮的积累. 混合氮源模拟废水研究表明菌株 Y-10 在具有优先利用铵态氮的能力.

3 讨论

本文对菌株 Y-10 的异养硝化、好氧反硝化以及同时硝化和反硝化作用进行了探讨,研究发现该菌具有较强的异养硝化作用,高效去除铵态氮的特点显著不同于 2015 年 Ji 等[30]报道的菌株 *Pseudomonas stutzeri* C3,菌株 C3 虽然能进行反硝化作用去除硝态氮,但却因为该菌不含氨单加氧酶基因(*amoA*)而不能进行异养硝化脱铵作用,菌株 Y-10 的脱氨效率较高,在 15℃条件下,4 d 内对铵态氮的去除率达 65.0% 以上,高于 Huang 等[31]报道的耐冷菌(*Acinetobacter* sp.) Y16,该菌在其最优温度(20℃)条件下,对铵氮的去除率为(61.40 ± 1.01)%；菌株 Y-10 对铵态氮的去除速率为 1.88 mg·(L·h)$^{-1}$,明显高于已报道的多种异养硝化菌株,如 *Pesudomonas alcaligenes* AS-1 [1.15 mg·(L·h)$^{-1}$][32], *Pesudomonas* sp. [1.38 mg·(L·h)$^{-1}$][20] 和 *Bacillus* sp. LY [0.43 mg·(L·h)$^{-1}$][33]等. 表明 Y-10 菌株是 1 株具有较强异养硝化功能的菌株.

硝态氮因其具有较好的稳定性而成为难以彻底去除的含氮化合物[32],菌株 Y-10 在 3 d 内对硝态氮的去除速率为 2.79 mg·(L·h)$^{-1}$,显著高于菌株 *Rhodococcus* sp. CPZ24 对硝态氮的去除速率[0.93 mg·(L·h)$^{-1}$,30℃][33]；菌株 Y-10 对亚硝态氮和相应的总氮去除率分别为 61.2% 和 41.2%,其总氮去除率显著高于 Zheng 等[36]报道的耐冷菌(*Psychrobacter* sp.),该菌在其最适温度(20℃)条件下,对总氮的去除率只有 31.89%,但两株菌对亚硝态氮的去除率相近,*Psychrobacter* sp. 对亚硝态氮的去除率为 63.50%；菌株 Y-10 对亚硝态氮的去除速率为 29.73 mg·(L·d)$^{-1}$,显著高于 Wan 等[37]报道的好氧反硝化菌株 *Pseudomonas* sp. yy7 脱氮速率,该菌在 25℃条件下对亚硝态氮的去除速率仅为 18.20 mg·(L·d)$^{-1}$. 菌株 Y-10 能还原硝态氮和亚硝态氮的特点,与 2015 年 Zhang 等[11]研究报道的具有同时硝化和反硝化功能的 *Paracoccus versutus* LYM 菌株不能单独利用亚硝态氮进行生物脱氮作用不同,总之,菌株 Y-10 能在低温条件下快速高效进行硝化和反硝化作用,且克服了低温导致生物脱氮效率低的问题.

此外,根据对菌株 Y-10 脱氮中间产物检测分析,以铵态氮和亚硝态氮为唯一氮源时,无其它无机氮积累,这与 Sun 等[38]报道的异养硝化-好氧反硝化菌株 *Pseudomonas stutzeri* T13 脱铵态氮一致,但显著不同于 Chen 等[35]报道的异养硝化-好氧反硝化菌株 *Rhodococcus* sp. CPZ24,该菌脱铵态氮时有明显的硝态氮和亚硝态氮积累,这表明具有异养硝化和好氧反硝化能力的不同菌株脱铵态氮的方式不同. 根据脱铵态氮的中间产物分析,菌株 Y-10 对铵态氮去除途径可能为 NH_4^+-N $\longrightarrow$ NH_2OH $\longrightarrow$NO $\longrightarrow$$N_2O$；研究结果还发现,菌株 Y-10 在含有硝态氮的模拟废水中进行生物脱氮时均会有亚硝态氮的积累,这与 Liang 等[39]报道的好氧反硝化细菌 *Paracoccus denitrificans* DL-23 脱氮积累中间产物一致,表明菌株 Y-10 的反硝化途径必经亚硝态氮中间过程,推测其反硝化途径可能为 NO_3^--N $\longrightarrow$$NO_2^-$-N $\longrightarrow$NO $\longrightarrow$$N_2O$ $\longrightarrow$$N_2$.

4 结论

(1)在 15℃条件下,菌株 *Arthrobacter arilaitensis* Y-10 能以单一氮源进行高效异养硝化和好氧反硝化作用,4 d 内分别可将 208.43 mg·L^{-1}铵态氮降至 72.92 mg·L^{-1},去除率 65.0%；对 201.16 mg·L^{-1}硝态氮去除率为 100%,194.33 mg·L^{-1}亚硝态氮降至 75.43 mg·L^{-1},去除率为 61.2%.

(3)根据菌株 Y-10 对单一氮源的脱氮中间产物分析,异养硝化脱铵过程无硝态氮和亚硝态氮的积累,好氧反硝化还原硝态氮过程有亚硝态氮的积累.

(4)在混合模拟废水中,铵态氮的去除率可达 80% 以上,硝态氮和亚硝态氮的去除率分别只有 23.2% 和 10.9%. 此外,Y-10 菌株对高浓度的铵态氮、硝态氮以及亚硝态氮均具有较高的耐受性.

参考文献:

[1] Takenaka S, Zhou Q, Kuntiya A, *et al*. Isolation and characterization of thermotolerant bacterium utilizing ammonium and nitrate ions under aerobic conditions [J]. Biotechnology Letters, 2007, **29**(3): 385-390.

[2] Khardenavis A A, Kapley A, Purohit H J. Simultaneous nitrification and denitrification by diverse *Diaphorobacter* sp. [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2007, **77**(2): 403-409.

[3] Khin T, Annachhatre A P. Novel microbial nitrogen removal processes[J]. Biotechnology Advances, 2004, **22**(7): 519-532.

[4] Robertson L A, Kuenen J G. Combined heterotrophic nitrification and aerobic denitrification in *Thiosphaera pantotropha* and other bacteria[J]. Antonie van Leeuwenhoek, 1990, **57**(3): 139-152.

[5] 杨航, 黄钧, 刘博. 异养硝化 - 好氧反硝化菌 *Paracoccus pantotrophus* ATCC 35512 的研究进展[J]. 应用生态学报, 2008, **14**(4): 585-592.

[6] 陈咄圳, 王立刚, 王迎春, 等. 异养硝化-好氧反硝化菌的筛选及脱氮性能的实验研究[J]. 环境科学, 2009, **30**(12): 3614-3618.

[7] Takaya N, Catalan-Sakairi M A B, Sakaguchi Y, *et al*. Aerobic denitrifying bacteria that produce low levels of nitrous oxide[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2003, **69**(6): 3152-3157.

[8] 李焱生, 魏民, 张艾晓, 等. 一株异养型亚硝酸盐氧化细菌的分离及其降解特性的研究[J]. 生物技术通报, 2010, (5): 196-202.

[9] Taylor S M, He Y L, Zhao B, *et al*. Heterotrophic ammonium removal characteristics of an aerobic heterotrophic nitrifying-denitrifying bacterium, *Providencia rettgeri* YL[J]. Journal of Environmental Sciences, 2009, **21**(10): 1336-1341.

[10] Yang X P, Wang S M, Zhang D W, *et al*. Isolation and nitrogen removal characteristics of an aerobic heterotrophic nitrifying-denitrifying bacterium, *Bacillus subtilis* A1 [J]. Bioresource Technology, 2011, **102**(2): 854-862.

[11] Zhang Y, Shi Z, Chen M X, *et al*. Evaluation of simultaneous nitrification and denitrification under controlled conditions by an aerobic denitrifier culture[J]. Bioresource Technology, 2015, **175**: 602-605.

[12] Kroupova H K, Machova J, Svobodova Z. Nitrite influence on fish: a review[J]. Veterinární Medicína, 2005, **50**(11): 461-471.

[13] 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 & Technology, 2012, **65**(2): 197-204.

[14] Zhu L, Ding W, Feng L J, *et al*. Characteristics of an aerobic denitrifier that utilizes ammonium and nitrate simultaneously under the oligotrophic niche[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2012, **19**(8): 3185-3191.

[15] 张苗, 黄少斌. 高温好氧反硝化菌的分离鉴定及其反硝化性能研究[J]. 环境科学, 2011, **32**(1): 259-265.

[16] Shi Z, Zhang Y, Zhou J T, *et al*. Biological removal of nitrate and ammonium under aerobic atmosphere by *Paracoccus versutus* LYM[J]. Bioresource Technology, 2013, **148**: 144-148.

[17] Guo Y, Zhou X M, Li Y G, *et al*. Heterotrophic nitrification and aerobic denitrification by a novel *Halomonas campisalis* [J]. Biotechnology Letters, 2013, **35**(12): 2045-2049.

[18] He T X, Li Z L. Identification and denitrification characterization of a novel hypothermia and aerobic nitrite-denitrifying bacterium, *Arthrobacter arilaitensis* strain Y-10[J]. Desalination and Water Treatment, 2015: 1-9, doi: 10.1080/19443994.2015.1099471.

[19] Pal R R, Khardenavis A A, Purohit H J. Identification and monitoring of nitrification and denitrification genes in *Klebsiella pneumoniae* EGD-HP_{19}-C for its ability to perform heterotrophic nitrification and aerobic denitrification [J]. Functional & Integrative Genomics, 2015, **15**(1): 63-76.

[20] Jin R F, Liu T Q, Liu G F, *et al*. Simultaneous heterotrophic nitrification and aerobic denitrification by the marine origin bacterium *Pseudomonas* sp. ADN-42[J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2015, **175**(4): 2000-2011.

[21] Song Z F, An J, Fu G H, *et al*. Isolation and characterization of an aerobic denitrifying *Bacillus* sp. YX-6 from shrimp culture ponds[J]. Aquaculture, 2011, **319**(1-2): 188-193.

[22] HJ 636-2012, 水质 总氮的测定 碱性过硫酸钾消解紫外分光光度法[S].

[23] Kempers A J, Kok C J. Re-examination of the determination of ammonium as the indophenol blue complex using salicylate[J]. Analytica Chimica Acta, 1989, **221**: 147-155.

[24] 国家环境保护总局. 水和废水监测分析方法[M]. (第四版). 北京: 中国环境科学出版社, 2002.

[25] Hu Z, Lee J W, Chandran K, *et al*. Nitrous oxide (N_2O) emission from aquaculture: A review[J]. Environmental Science & Technology, 2012, **46**(12): 6470-6480.

[26] He T, Li Z, Sun Q, *et al*. Heterotrophic nitrification and aerobic denitrification by *Pseudomonas tolaasii* Y-11 without nitrite accumulation during nitrogen conversion [J]. Bioresource Technology, 2016, **200**: 493-499.

[27] Li C E, Yang J S, Wang X, *et al*. Removal of nitrogen by heterotrophic nitrification-aerobic denitrification of a phosphate accumulating bacterium *Pseudomonas stutzeri* YG-24 [J]. Bioresource Technology, 2015, **182**: 18-25.

[28] Philippot L, Mirleau P, Mazurier S, *et al*. Characterization and transcriptional analysis of *Pseudomonas fluorescens* denitrifying clusters containing the *nar*, *nir*, *nor* and *nos* genes [J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Gene Structure and Expression, 2001, **1517**(3): 436-440.

[29] Seitzinger S P, Sanders R W. Contribution of dissolved organic nitrogen from rivers to estuarine eutrophication [J]. Marine Ecology Progress Series, 1997, **159**: 1-12.

[30] Ji B, Yang K, Wang H Y, *et al*. Aerobic denitrification by *Pseudomonas stutzeri* C3 incapable of heterotrophic nitrification [J]. Bioprocess and Biosystems Engineering, 2015, **38**(2): 407-409.

[31] Huang X F, Li W G, Zhang D Y, *et al*. Ammonium removal by a novel oligotrophic *Acinetobacter* sp. Y16 capable of heterotrophic nitrification-aerobic denitrification at low temperature [J]. Bioresource Technology, 2013, **146**: 44-50.

[32] Su J J, Yeh K S, Tseng P W. A Strain of *Pseudomonas* sp. isolated from piggery wastewater treatment systems with heterotrophic nitrification capability in Taiwan [J]. Current Microbiology, 2006, **53**(1): 77-81.

[33] Zhao B, He Y L, Zhang X F. Nitrogen removal capability through simultaneous heterotrophic nitrification and aerobic denitrification by *Bacillus* sp. LY [J]. Environmental Technology, 2010, **31**(4): 409-416.

[34] Rossi F, Motta O, Matrella S, *et al*. Nitrate removal from wastewater through biological denitrification with OGA 24 in a batch reactor[J]. Water, 2015, **7**(1): 15-62.

[35] Chen P Z, Li J, Li Q X, *et al*. Simultaneous heterotrophic nitrification and aerobic denitrification by bacterium *Rhodococcus* sp. CPZ24[J]. Bioresource Technology, 2012, **166**: 266-270.

[36] Zheng H Y, Liu Y, Sun G D, *et al*. Denitrification characteristics of a marine origin psychrophilic aerobic denitrifying bacterium[J]. Journal of Environmental Sciences, 2011, **23**(11): 1888-1893.

[37] Wan C L, Yang X, Lee D J, *et al*. Aerobic denitrification by novel isolated strain using NO_2^--N as nitrogen source [J]. Bioresource Technology, 2011, **102**(15): 7244-7248.

[38] Sun Y L, Li A, Zhang X N, *et al*. Regulation of dissolved oxygen from accumulated nitrite during the heterotrophic nitrification and aerobic denitrification of *Pseudomonas stutzeri* T_{13} [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2015, **99**(7): 3243-3248.

[39] Liang S C, Zhao M, Lu L, *et al*. Isolation and characteristic of an aerobic denitrifier with high nitrogen removal efficiency[J]. African Journal of Biotechnology, 2011, **10**(52): 10648-10656.

HUANJING KEXUE

Environmental Science (monthly)

Vol. 37 No. 3

Mar. 15, 2016

CONTENTS

环境科学

（HUANJING KEXUE）

（月刊　1976 年 8 月创刊）

2016 年 3 月 15 日　第 37 卷　第 3 期

ENVIRONMENTAL SCIENCE

（Monthly　Started in 1976）

Vol. 37　No. 3　Mar. 15, 2016

主　管	中国科学院
主　办	中国科学院生态环境研究中心
协　办	（以参加先后为序） 北京市环境保护科学研究院 清华大学环境学院
主　编	欧阳自远
编　辑	《环境科学》编辑委员会 北京市 2871 信箱（海淀区双清路 18 号，邮政编码：100085） 电话：010-62941102，010-62849343 传真：010-62849343 E-mail：hjkx@ rcees. ac. cn http://www. hjkx. ac. cn
出　版	科学出版社 北京东黄城根北街 16 号 邮政编码：100717
印刷装订	北京北林印刷厂
发　行	科学出版社 电话：010-64017032 E-mail：journal@ mail. sciencep. com
订购处	全国各地邮电局
国外总发行	中国国际图书贸易总公司 （北京 399 信箱）

Superintended	by	Chinese Academy of Sciences
Sponsored	by	Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences
Co-Sponsored	by	Beijing Municipal Research Institute of Environmental Protection School of Environment, Tsinghua University
Editor-in -Chief		OUYANG Zi-yuan
Edited	by	The Editorial Board of Environmental Science (HUANJING KEXUE) P. O. Box 2871, Beijing 100085, China Tel:010-62941102, 010-62849343; Fax:010-62849343 E-mail: hjkx@ rcees. ac. cn http://www. hjkx. ac. cn
Published	by	Science Press 16 Donghuangchenggen North Street, Beijing　100717, China
Printed	by	Beijing Bei Lin Printing House
Distributed	by	Science Press Tel:010-64017032 E-mail: journal@ mail. sciencep. com
Domestic		All Local Post Offices in China
Foreign		China International Book Trading Corporation (Guoji Shudian), P. O. Box 399, Beijing 100044, China

中国标准刊号：ISSN　0250-3301 / CN　11-1895/X　　**国内邮发代号**：2-821

国内定价：120.00 元　　**国外发行代号**：M 205

国内外公开发行