

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第38卷 第11期

Vol.38 No.11

2017

中国科学院生态环境研究中心 主办
科学出版社 出版



目次

天津市非道路移动源污染物排放清单开发	张意, Andre Michel, 李东, 张欣, 吴琳, 张衍杰, 马超, 邹超, 毛洪钧 (4447)
基于移动监测和土地利用回归模型的上海市近地面黑碳浓度空间模拟	彭霞, 余倩楠, 龙凌波, 刘敏, 徐茜, 魏宁, 周陶冶 (4454)
鄂东典型工业城市大气 PM ₁₀ 中元素浓度特征和来源分析	占长林, 张家泉, 郑敬茹, 姚瑞珍, 刘红霞, 肖文胜, 刘先利, 曹军骥 (4463)
常州夏秋季 PM _{2.5} 中碳质气溶胶特征及来源	叶招莲, 刘佳澍, 李清, 马帅帅, 许澎 (4469)
徐州市冬季大气细颗粒物水溶性无机离子污染特征及来源解析	范美益, 曹芳, 张园园, 鲍孟盈, 刘晓妍, 张雯淇, 高嵩, 章炎麟 (4478)
南宁市一次污染过程大气颗粒物理化特性及来源	刘慧琳, 陈志明, 李宏姣, 蒋靖坤, 张强, 黄炯丽, 毛敬英, 梁桂云, 杨俊超, 张达标, 莫招育 (4486)
西安市秋冬季不同空气质量下可培养微生物气溶胶浓度和粒径分布	李婉欣, 路瑞, 谢铮胜, 王金龙, 范春兰, 刘鹏霞, 李彦鹏 (4494)
黄渤海海域秋季营养盐及有色溶解有机物分布特征	唐永, 孙语嫣, 石晓勇, 韩秀荣, 苏荣国 (4501)
华东沿海滩涂区表层沉积物重金属含量特征及风险评价	张明, 鲍征宇, 陈国光, 雍太健, 朱意萍, 梁晓红 (4513)
基于地球化学特性的海州湾海洋牧场沉积物重金属研究	李大鹏, 张硕, 张中发, 罗娜, 魏青青, 张瑞, 黄宏 (4525)
尼洋河流域水化学特征及其控制因素	张涛, 蔡五田, 李颖智, 张智印, 耿婷婷, 边超, 赵森, 蔡月梅 (4537)
南亚热带地区水库夏季铁、锰垂直分布特征	杨思远, 赵剑, 余华章, 彭亮, 肖利娟 (4546)
辽河流域地表水中典型抗生素污染特征及生态风险评估	张晓娇, 柏杨巍, 张远, 马淑芹, 郭昌胜, 张莉 (4553)
东太湖渔业养殖对沉积物营养盐的影响	何肖微, 储瑜, 曾巾, 赵大勇, 陆建明, 曹萍, 吴庆龙 (4562)
浑太河不同水生态区营养盐对底栖硅藻的影响及阈值	张莉, 林佳宁, 张远, 王书平, 臧小苗, 张晓娇 (4570)
水环境条件对三峡库区消落带狗牙根根磷养分淹水浸泡释放的影响	肖丽微, 朱波 (4580)
野鸭湖湿地芦苇根际微生物多样性与磷素形态关系	滕泽栋, 李敏, 朱静, 宋明阳 (4589)
人为扰动背景下城市边缘溪流底质硝化-反硝化潜力分析	李如忠, 郑侠, 高苏蒂, 叶舟 (4598)
不同扰动下外源磷在形态磷间的分布规律	蔡顺智, 李大鹏, 唐鑫煜, 李浩冉, 朱伟, 黄勇 (4607)
伊乐藻-高效脱氮微生物协同作用对污染水体氮素脱除机制的影响	王浩, 李正魁, 张一品, 丁帮璟 (4617)
零价铁活化过硫酸钠去除废水中的砷(V)	周孜迈, 邓文娜, 杨艺琳, 孙艳秋, 王悦, 柳听义, 王中良 (4623)
nZVI/AC 复合材料对水中锑的去除	蒋婷, 鲍玥, 李威, 方荣业, 史惠祥 (4632)
流态对生物添加强化硝化效果的影响	于莉芳, 杜倩倩, 张茹, 杨秀玲, 李初, 渭思思, 冯云堂 (4641)
温度对 SBR 生物脱氮效能及胞外聚合物的影响	孙洪伟, 陈翠忠, 吴长峰, 赵华南, 于雪, 方晓航 (4648)
温度对间歇曝气 SBR 短程硝化及硝化活性的影响	刘宏, 彭永臻, 卢炯元, 李慧, 南彦斌, 王瑾, 陈永志 (4656)
不同诱导模式下 CAST 工艺的亚硝酸盐型反硝化除磷能力	马娟, 王谨, 俞小军, 张伟, 魏雪芬, 陈永志, 田文清 (4664)
污水处理厂 CANON 工艺小试	李冬, 赵世勋, 王俊安, 朱金凤, 关宏伟, 张杰 (4673)
SBR 加载不同粒径磁性活性炭对其污泥颗粒化进程的影响机制	信欣, 管蕾, 郭俊元, 刘洁, 冯梅, 余婷婷 (4679)
常温下厌氧氨氧化污泥的储存及活性恢复	黄佳路, 王小龙, 高大文 (4687)
同步脱氮除磷好氧颗粒污泥培养过程微生物群落变化	高景峰, 王时杰, 樊晓燕, 潘凯玲, 张丽芳, 张树军, 高永青, 张帅 (4696)
硫酸盐和 Fe(II) EDTA-NO ₃ /Fe(III) EDTA 厌氧还原过程特性及微生物群落分析	张玉, 万方, 周集体 (4706)
SBR 系统外加磁场对微生物群落多样性和处理效果的影响	耿淑英, 付伟章, 王静, 郑书联 (4715)
安徽某铁矿排土场废矿石中产酸微生物群落	杜泽瑞, 郝春博, 裴理鑫, 卫朋飞, 张鑫, 鲁艳春 (4725)
典型集雨人饮地区窖水微生物群落多样性及差异解析	杨浩, 张国珍, 杨晓妮, 武福平, 赵炜, 张洪伟, 张翔 (4733)
表层沉积物中 6:2 氟调醇生物降解对细菌群落结构的影响	王丹, 侯珍, 张琪, 周莹, 卢晓霞 (4747)
外源环烷酸在土壤中的降解过程及对微生物群落结构的影响	刘艳秋, 赵嫣然, 刘梦娇, 樊灏, 黄艺 (4756)
1 株异养硝化-好氧反硝化细菌 DK1 的分离鉴定及其脱氮特性	牟东阳, 靳鹏飞, 彭永臻, 李夕耀, 张琼, 何建中 (4763)
重庆缙云山 4 种典型植被覆盖下汞的释放通量及影响因素	杨光, 孙涛, 安思危, 马明 (4774)
模拟氮沉降对闽江口淡水感潮沼泽湿地 CO ₂ 、CH ₄ 排放通量的短期影响	李冬冬, 仝川, 谭立山, 陈坤龙, 孙东耀, 黄佳芳 (4782)
地膜覆盖对稻-油轮作农田 CH ₄ 和 N ₂ O 排放的影响	石将来, 郝庆菊, 冯迪, 张凯莉, 石孝均, 江长胜 (4790)
西安市公园土壤多环芳烃污染特征、来源及风险评价	周燕, 卢新卫 (4800)
不同沙生灌木下土壤颗粒及重金属空间分布特征	代豫杰, 郭建英, 董智, 李锦荣, 李红丽 (4809)
不同水分梯度下 UV-B 辐射对 2 个稻田土壤碳氮转化的影响	蒋梦蝶, 王秋敏, 徐鹏, 周维, 郭磊, 胡荣桂 (4819)
喀斯特灌丛土壤丛枝菌根真菌群落结构及丰度的影响因子	梁月明, 苏以荣, 何寻阳, 陈香碧, 胡亚军 (4828)
生物炭和草酸活化磷矿粉对镉镍复合污染土壤的应用效果	段然, 胡红青, 付庆灵, 寇长林 (4836)
反复冻融与高温老化对神污染土壤固化稳定化效果的影响	杨洁, 钱赵秋, 王旌 (4844)
皂角苷和柠檬酸联合对污泥中 Cu、Pb 和 Zn 的去除及其稳定性特征	叶涛, 黄丽, 张克强, 张斌, 常红, 刘智杰, 杜连柱 (4850)
针铁矿与胡敏酸的交互作用及其复合物的稳定性	王锐, 朱朝菊, 向文军, 方敦, 杨小洪, 吴少尉, 魏世勇 (4860)
塑胶跑道中有机磷酸酯的含量及健康风险	印红玲, 刘琴, 廖林群, 王震, 罗怡, 邓旭, 丁凌刚, 唐铭 (4868)
农业废物堆肥中理化参数对 GH6 家族基因影响	陈耀宁, 苟宇, 黎媛萍, 伍艳馨, 陈艳容, 李辉, 刘耀, 汪元南, 张道利, 朱福造, 曾光明 (4874)
F/M 及 HRT 对果蔬垃圾厌氧发酵产氢的影响	李标, 孔晓英, 李连华, 袁振宏, 孙永明, 吕鹏梅 (4882)
环境模型中敏感性分析方法评述	陈卫平, 涂宏志, 彭驰, 侯鹰 (4889)
《环境科学》征稿简则 (4462) 《环境科学》征订启事 (4672) 信息 (4647, 4705, 4789)	

1 株异养硝化-好氧反硝化细菌 DK1 的分离鉴定及其脱氮特性

牟东阳¹, 靳鹏飞¹, 彭永臻^{1*}, 李夕耀¹, 张琼¹, 何建中²

(1. 北京工业大学城镇污水深度处理与资源化利用技术国家工程实验室, 北京市污水脱氮除磷处理与过程控制工程技术研究中心, 北京 100124; 2. 新加坡国立大学土木与环境工程学院, 新加坡 117576)

摘要: 从某反应器活性污泥中分离筛选出 1 株假单胞菌属 (*Pseudomonas* sp.) 细菌, 命名为 DK1, 并对该菌进行脱氮特性研究。在以葡萄糖为碳源, C/N 量比为 5 时, 分别以 NaNO_3 和 NaNO_2 为氮源, 二者的好氧反硝化速率为 $4.09 \text{ mg} \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1}$ 和 $4.43 \text{ mg} \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1}$ 。以二者同时为氮源脱氮率为 100%; 此外, 菌株 DK1 具有异养硝化性能, $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 平均去除速率为 $2.32 \text{ mg} \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1}$ 。缺氧时以 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 为氮源菌株 DK1 可将一系列梯度浓度 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ (约 $100 \sim 300 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 在 36 h 内降为 0。当 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 和 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 同时存在时, 菌株 DK1 会优先利用 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 进行反硝化。同时该菌株还具有同步硝化反硝化 (SND) 性能, 可同时去除 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 、 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 或 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 、 $\text{NO}_3^- - \text{N}$, 30 h 内脱氮率分别达 95.06% 和 94.69%。相同时间内在 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 、 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 和 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 三者均存在时, 脱氮效果最佳, 达 100%。菌株 DK1 的高效 SND 及反硝化性能表明其在处理含氮废水方面有一定的潜力和应用价值。

关键词: 异养硝化; 好氧/缺氧反硝化; 同步硝化反硝化; 混合氮源; 脱氮细菌

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2017)11-4763-11 DOI: 10.13227/j.hjxx.201704131

Identification and Nitrogen Removal Characteristics of the Heterotrophic Nitrification and Aerobic Denitrification Bacterial Strain DK1

MU Dong-yang¹, JIN Peng-fei¹, PENG Yong-zhen^{1*}, LI Xi-yao¹, ZHANG Qiong¹, HE Jian-zhong²

(1. National Engineering Laboratory for Advanced Municipal Wastewater Treatment and Reuse Technology, Engineering Research Center of Beijing, Beijing University of Technology, Beijing 100124, China; 2. Department of Civil & Environmental Engineering, National University of Singapore, Singapore 117576, Singapore)

Abstract: Nitrogen removal by a newly discovered *Pseudomonas* sp. strain, DK1, isolated from activated sludge was investigated. Using glucose as a carbon source and a $n(\text{C})/n(\text{N})$ ratio of five, batch experiments showed that the aerobic denitrification removal rate was $4.09 \text{ mg} \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1}$ and $4.43 \text{ mg} \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1}$ with NaNO_3 or NaNO_2 , respectively. Completely nitrogen removal was achieved when using these two nitrogen sources. DK1 was also found to heterotrophically remove $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ at a rate of $2.32 \text{ mg} \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1}$ and to carry out anoxic denitrification of a range of concentrations of $\text{NO}_2^- - \text{N}$ (from about 100 to $300 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) within a maximum of 36 hours of inoculation. In the presence of both $\text{NO}_3^- - \text{N}$ and $\text{NO}_2^- - \text{N}$, DK1 was found to preferentially denitrify $\text{NO}_3^- - \text{N}$. Simultaneous nitrification and denitrification (SND) capacity of the DK1 strain was observed when using ammonium and nitrate or ammonium and nitrite and the corresponding nitrogen removal rates reached as high as 95.06% and 94.69% within 30 hours of inoculation, respectively. Ammonium with both nitrate and nitrite resulted in a 100% nitrogen removal within the same time frame. The ability to achieve SND and to denitrify both $\text{NO}_3^- - \text{N}$ and $\text{NO}_2^- - \text{N}$ makes the DK1 strain potentially useful for future application in nitrogenous wastewater treatment.

Key words: heterotrophic nitrification; aerobic/anoxic denitrification; simultaneous nitrification and denitrification; mixed nitrogen sources; nitrogen removal bacterial strain

在污水脱氮处理研究中,以微生物为主的活性污泥法一直占主导地位。传统的脱氮工艺是先依靠硝化细菌的硝化作用将污水中的 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 氧化为 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 或 $\text{NO}_3^- - \text{N}$, 然后再利用反硝化菌将它们反硝化为 N_2 ; 近年来利用异养硝化-好氧反硝化菌的同步硝化反硝化功能等新型脱氮方式现在也备受关注。国内外学者近来筛选出多种异养硝化-好氧反硝化菌^[1~4]。异养硝化是指微生物利用有机物作为碳源同时将 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 转化为 NH_2OH 、 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 、 $\text{NO}_3^- - \text{N}$

等的过程^[5]; 好氧反硝化是指微生物在有氧气和碳源存在的条件下,利用氧气和 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 或 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 作为电子受体的呼吸作用^[6], 这与反硝化作用只能在缺

收稿日期: 2017-04-13; 修订日期: 2017-05-31

基金项目: 国家重点研发计划项目(2016YFC0401103); 高等学校学科创新引智计划项目(005000522106); 北京市教委资助项目

作者简介: 牟东阳(1992~), 女, 硕士, 主要研究方向为污水生物处理, E-mail: mudongyang@emails.bjut.edu.cn

* 通信作者, E-mail: pyz@bjut.edu.cn

氧或厌氧条件下进行这一传统观点不同,也使 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 在好氧条件下直接转化为气体即同步硝化反硝化作用成为可能.

迄今为止关于异养硝化-好氧反硝化菌的报道大多数都将重点放在菌株的最适生长条件如温度、pH、C/N 上^[7~9],或将异养硝化作用和好氧反硝化作用分开研究;而将二者同时研究或与缺氧反硝化相比较的报道较少. 本实验从缺氧污泥中筛选出 1 株具有异养硝化-好氧反硝化和厌氧反硝化功能的菌株进行鉴定,并深入探究了其脱氮性能,以期异养硝化-好氧反硝化脱氮技术及其在污水生物处理工程中的应用提供理论支持.

1 材料与方法

1.1 培养基

基础培养液 ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$): NaCl 1.0, $\text{MgCl}_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.5, KH_2PO_4 0.2, KCl 0.3, $\text{CaCl}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.015, TES 2.292, $\text{Na}_2\text{S}\cdot 9\text{H}_2\text{O}$ 0.012, NaHCO_3 2.52. 微量元素溶液 1 mL, Se/W 溶液 1 mL, Vitamin 溶液 5 mL. 其中微量元素溶液 ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$): HCl (1:4) 10 mL, $\text{FeCl}_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 1.5, $\text{CoCl}_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.19, $\text{MnCl}_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0.1, ZnCl_2 0.07, H_3BO_3 0.006, $\text{Na}_2\text{MoO}_4\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.036, $\text{NiCl}_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.024, $\text{CuCl}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.002; Se/W 溶液 ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$): $\text{Na}_2\text{SeO}_3\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.006, $\text{Na}_2\text{WO}_4\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.008, NaOH 0.5. Vitamin 溶液 ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$): 维生素 H 0.02, 维生素 B 0.02, 维生素 B6 0.10, 维生素 B2 0.05, 维生素 B1 0.05, 维生素 B3 0.05, 维生素 B5 0.05, 对氨基苯甲酸 0.05, 硫辛酸 0.05, 维生素 B12 0.001. 碳源和氮源根据实验要求进行调整,如表 1 所示.

表 1 不同培养基中碳源、氮源投加量/ $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$

Table 1 Amounts of nitrogen and carbon sources added to the different mediums/ $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$

培养基类别	基质名称			
	NH_4Cl	NaNO_2	NaNO_3	葡萄糖
硝化培养基	6	—	—	5
反硝化培养基 1	—	6	—	5
反硝化培养基 2	—	—	6	5
反硝化培养基 3	—	6	6	10
SND 培养基 1	6	6	—	10
SND 培养基 2	6	—	6	10
SND 培养基 3	6	6	6	15

菌株分离固体培养基:基础培养液 10 mL, $0.3\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}\text{ NH}_4\text{Cl}$, 琼脂 5 g.

1.2 分析方法

$\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 浓度采用美国 DIONEX IC S-2000 离子色谱仪进行定量分析,离子交换柱为 Dionex IonPac AS18-4 μm ,柱温 30°C ,流速 $1.0\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$;葡萄糖浓度采用美国 Agilent 公司 HPLC 1260 Infinity 高效液相色谱仪进行定量分析,所用色谱柱为 BIO-RAD Amenix HP 76X, RID 检测器 (50°C),柱温 80°C ,流速 $0.8\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$;菌体生长用 DNA 浓度 ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) 表示,用美国 Thermo 公司 Nanodrop Spectrophotometer 1000 分光光度计测量.

1.3 菌株的分离和鉴定

菌株的分离:取 1 mL 缺氧反应器中的污泥样品加入至装有 45 mL 基础培养液的血清瓶内,并加入 $6\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{ NaNO}_3$ 和 $15\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 琥珀酸钠制成筛选培养液,使目的菌群逐渐成为优势菌群. 当筛选培养液中 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 降为 0 时,取 5 mL 菌液到新的筛选培养液中,如此重复 5 个周期. 5 个周期后取 1 mL 菌液从 10^{-1} ~ 10^{-7} 进行梯度稀释,分别注入琼脂待凝固的分离固体培养基中,缓慢摇匀至琼脂凝固,约一星期后生长出若干单一菌落. 用经灭菌后的注射器将单一菌落从培养基中吸出,经数次梯度稀释后得到纯菌株.

生态学鉴定:对菌体进行革兰氏染色,在 NIKON ECLIPSE E200 显微镜下观察染色结果并拍照;以及通过 Hitachi S-4300 扫描电子显微镜拍摄照片来观察菌株 DK1 的形态.

分子生物学鉴定:菌株 DNA 提取方法参照 QIAGEN 公司 DNeasy Blood&Tissue 试剂盒,16S rDNA 的 PCR 扩增采用细菌通用引物 (27f: 5'-AGAGTTTGTATCMTGGCTCAG-3', 1492r: 5'-GGYTA CCTTGTACGACTT-3'). PCR 反应体系为 $100\text{ }\mu\text{L}$,即 DNA 模板 $3\text{ }\mu\text{L}$, $10\times\text{ buffer}$ $20\text{ }\mu\text{L}$, BSA $1.34\text{ }\mu\text{L}$, MgCl_2 $12\text{ }\mu\text{L}$, dNTP 混合物 $2\text{ }\mu\text{L}$, 正向引物 ($10\text{ pmol}\cdot\text{L}^{-1}$) $2\text{ }\mu\text{L}$, 反向引物 ($10\text{ pmol}\cdot\text{L}^{-1}$) $2\text{ }\mu\text{L}$, Taq DNA 聚合酶 $0.5\text{ }\mu\text{L}$, 无菌水 $57.16\text{ }\mu\text{L}$. PCR 反应条件为: 95°C 预变性 130 s , 95°C 变性 30 s , 55°C 退火 30 s , 72°C 延伸 90 s , 进行 30 个循环, 72°C 延伸 6 min . 将获得的 PCR 产物参照 QIAGEN 公司 PCR Purification 试剂盒中的方法纯化后交由 1st base 公司进行测序.

1.4 脱氮特性研究

1.4.1 菌株 DK1 在好氧条件下的脱氮特性研究

实验在 160 mL 血清瓶中进行,瓶中加入 45 mL

基础培养液,4 mL 经活化后的菌液及相应浓度氮源和 C/N 量比为 5 葡萄糖(见表 1). 为保证瓶中空气与外界气体的交换,用经高压灭菌后的锡纸将血清瓶封口,在 32℃、140 r·min⁻¹ 恒温摇床中培养 30 h,通过每 3 h 测定 NH₄⁺-N、NO₂⁻-N、NO₃⁻-N 及葡萄糖和 DNA 的浓度变化来考察菌株的脱氮能力,每个实验做 3 个平行样品.

1.4.2 菌株 DK1 的缺氧反硝化特性研究

实验在 60 mL 血清瓶中进行,瓶中加入 36 mL 基础培养液,3 mL 经活化后的菌液及相应浓度氮源和葡萄糖(见表 1). 在 32℃、140 r·min⁻¹ 恒温摇床中培养. 为避免 O₂ 对实验结果的影响,基础培养液的制备时在曝 N₂ 的条件下煮沸以去除 O₂ 并冷却至室温后注入充满 N₂ 的血清瓶中,用丁基橡胶塞和铝盖密封,高压灭菌 20 min. 通过测定 NH₄⁺-N、NO₂⁻-N、NO₃⁻-N 及葡萄糖浓度变化来考察菌株的反

硝化能力,每个实验做 3 个平行样品.

2 结果与讨论

2.1 DK1 的形态学特征及鉴定

以琥珀酸钠为氮源的固体培养基,菌株 DK1 呈白色球状颗粒. 经革兰氏染色通过显微镜观察如图 1(a) 左所示,鉴定其为革兰氏阴性菌;通过扫描电镜如图 1(b) 观察到菌体为杆状,大小约为 2 μm × 0.4 μm,无鞭毛和芽孢.

对菌株 DK1 测序获得长度为 1390bp 的部分 16S rRNA 基因序列,菌株的 GenBank 的登录号:KY910428,将所得的菌株序列提交至 GenBank 中通过 BLAST 检索,应用 MEGA7 软件,以 Neighbor-Joining 法^[10] 绘制系统发育树,结果如图 2 所示,菌株 DK1 与 *Pseudomonas* sp. 在同一分支,同源性达 99%. 可基本确定菌株 DK1 属于假单胞菌

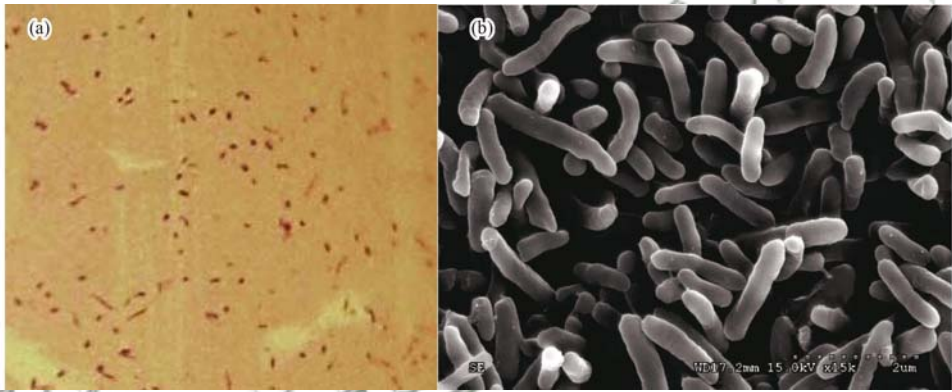


图 1 菌株 DK1 的形态特征
Fig. 1 Morphological characteristics of the DK1 strain

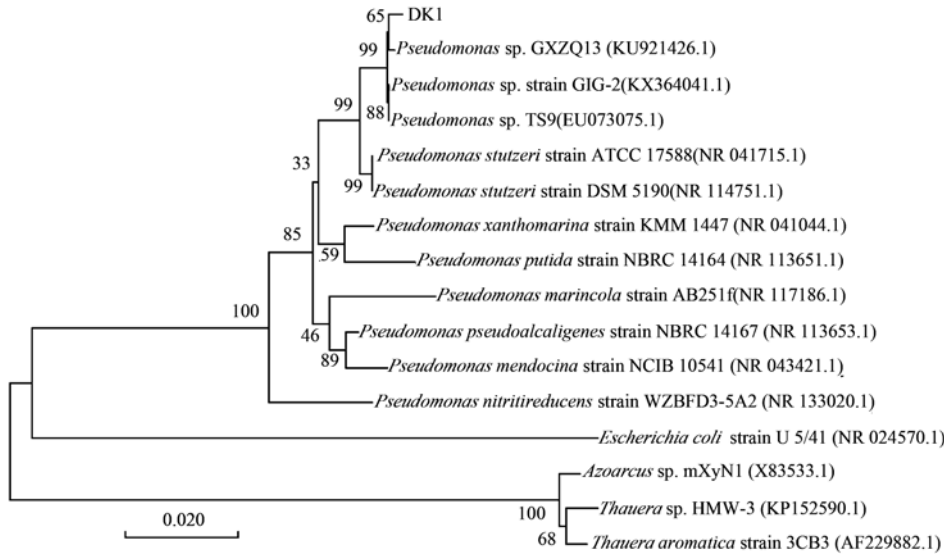


图 2 基于 16S rRNA 序列同源性构建菌株 DK1 与其他相关好氧反硝化菌的系统发育树

Fig. 2 Phylogenetic trees of the DK1 strain and other related bacteria based on the partial 16S rRNA sequence with adjoining neighbors

属(*Pseudomonas* sp.), 将其命名为 DK1.

2.2 菌株 DK1 的好氧反硝化特性

菌株 DK1 在以 NaNO_3 为氮源反硝化过程如图 3 所示. 从中可看出, NO_3^- -N 的初始浓度为 $87.07 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 在 $0\sim9 \text{ h}$ 下降速率较为缓慢, 从 $9\sim12 \text{ h}$ 起下降速率逐渐加快, 在 $15\sim21 \text{ h}$ 间尤为明显, 并在 21 h 时降为 0, NO_3^- -N 在 21 h 内平均去除速率达到 $4.09 \text{ mg}\cdot(\text{L}\cdot\text{h})^{-1}$, 远快于文献[11,12]中菌株的反硝化速率. 结合 DNA 变化曲线可认为菌株 DK1 的对数生长期为 $12\sim18 \text{ h}$, 并主要在这一时期以 NO_3^- -N 为唯一氮源发生反硝化过程. 但从 15 h 开始, 随着 NO_3^- -N 逐渐降低至 0, NO_2^- -N 也开始有了较为明显的积累现象, 在 21 h 左右达到了最大值 $28.30 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 而后又逐渐下降, 在 30 h 降至 $15.68 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. 这与肖继波等^[13]的几乎无 NO_2^- -N 的积累现象研究结果不同. 本组实验在 30 h 时 NO_2^- -N 并没有完全被去除, 但 DK1 在以 NaNO_2 为氮源的培养基中反硝化效果较好, 如图 4 所示, NO_2^- -N 的初始浓度为 $92.90 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 经过 $0\sim9 \text{ h}$ 的生长适应期, NO_2^- -N 在 9 h 后迅速下降并在 21 h 时降为 0, NO_2^- -N 去除率为 100%, 平均去除速率达到 $4.43 \text{ mg}\cdot(\text{L}\cdot\text{h})^{-1}$, 较连红民等^[14]研究的 *Pseudomonas* sp. HN 和 Zhang 等^[15]研究的 *Bacillus methylotrophicus* L7 的菌速率快; 期间未检测到 NO_3^- -N 和 NH_4^+ -N.

从葡萄糖变化曲线可知, 两组反硝化过程消耗葡萄糖的速率基本相等, 均约为 $20.02 \text{ mg}\cdot(\text{L}\cdot\text{h})^{-1}$; 第一组菌株的 21 h 平均生长速率

$1.08 \text{ }\mu\text{g}\cdot(\text{mL}\cdot\text{h})^{-1}$ 略高于第二组的 $0.83 \text{ }\mu\text{g}\cdot(\text{mL}\cdot\text{h})^{-1}$. 在 30 h 第一组 NO_2^- -N 还未降为 0 的原因可能是由于葡萄糖在 NO_3^- -N 还原为 NO_2^- -N 时已被大量消耗, 剩余浓度较低(约 $0.84 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) 以致菌体难以快速生长并利用 NO_2^- -N 进行反硝化. 为证明这一推测, 在 12 d 后向第一组后的血清瓶中添加 $6 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的葡萄糖, 继续监测 NO_2^- -N 浓度变化, 约经 15 h 后, NO_2^- -N 降为 0 (图 3 中未标出, 具体数据见表 2 中 a 组), 假设成立.

菌株 DK1 以 NO_2^- -N 和 NO_3^- -N 为氮源的好氧反硝化特性如图 5 所示. 其中 NO_3^- -N 的下降与图 3 相似, 在初始浓度为 $85.35 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时 21 h 内降解完全; 但 NO_2^- -N 浓度从初始的 $94.95 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 在 18 h 前始终在上升, 在 18 h 时达到最大值 $109.21 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 后又迅速下降, 在 24 h 降为 0. 而 DNA 浓度在 24 h 前较稳定增长, 在 NO_2^- -N 和 NO_3^- -N 均降为 0 后略有下降, 可能是缺乏氮源所致; 24 h 的平均生长速率 $0.75 \text{ }\mu\text{g}\cdot(\text{mL}\cdot\text{h})^{-1}$, 略低于前两组, 可能是由于 NO_2^- -N 在前 18 h 的积累对菌株生长有一定的抑制作用; 葡萄糖在 30 h 内的平均消耗速率为 $46.22 \text{ mg}\cdot(\text{L}\cdot\text{h})^{-1}$, 远大于前两组只加一种氮源的实验. 此外, 可知在培养基的初始底物同时含有 NO_2^- -N 和 NO_3^- -N 两种氮源的条件下, 菌株 DK1 会优先利用 NO_3^- -N. 以上实验说明菌株 DK1 均可利用 NO_2^- -N 和 NO_3^- -N 进行代谢, 与周迎芹等^[16]的实验结果一致.

2.3 菌株 DK1 的异养硝化特性

为了考察菌株 DK1 是否具有异养硝化性能, 将

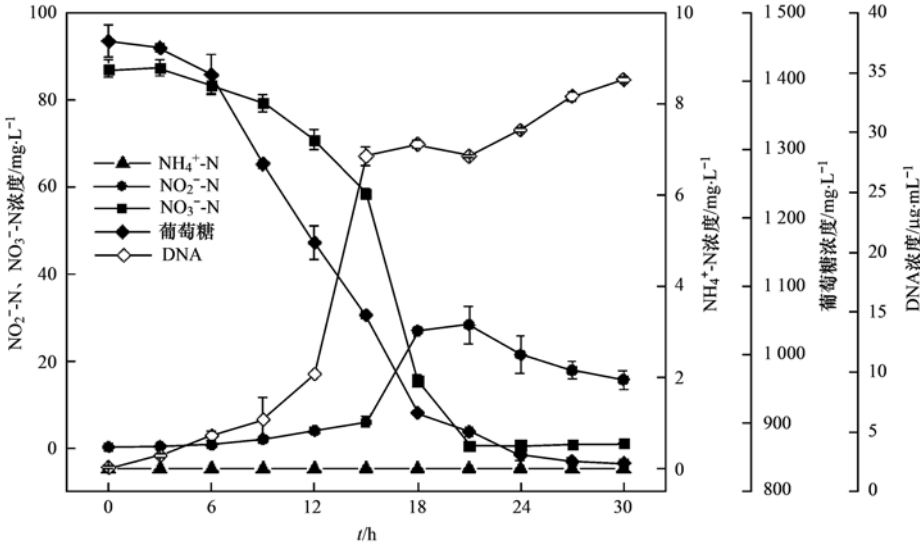


图3 菌株 DK1 在以 NO_3^- -N 为唯一氮源的好氧反硝化特性

Fig. 3 Aerobic denitrification ability of the DK1 strain with NO_3^- -N used as the sole nitrogen source

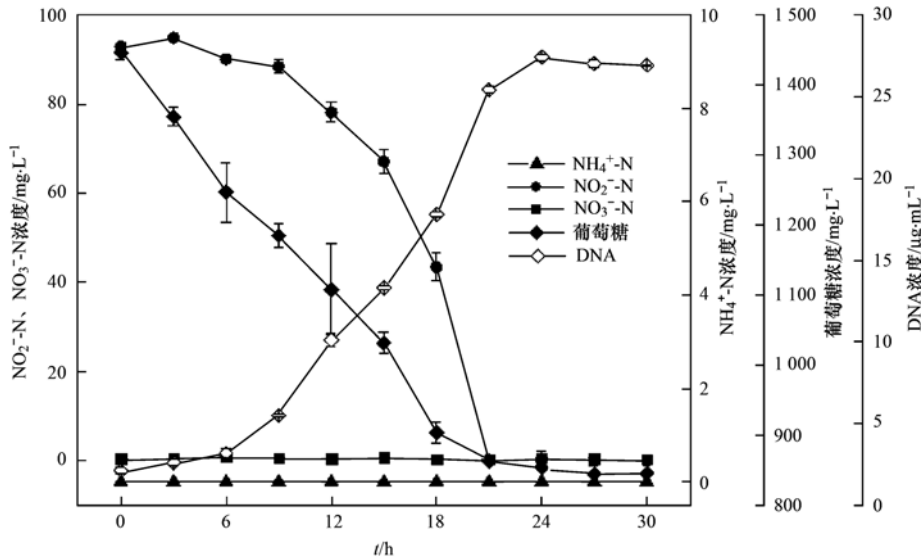


图4 菌株 DK1 在以 NO_2^- -N 为唯一氮源的好氧反硝化特性

Fig. 4 Aerobic denitrification ability of the DK1 strain with NO_2^- -N used as the sole nitrogen source

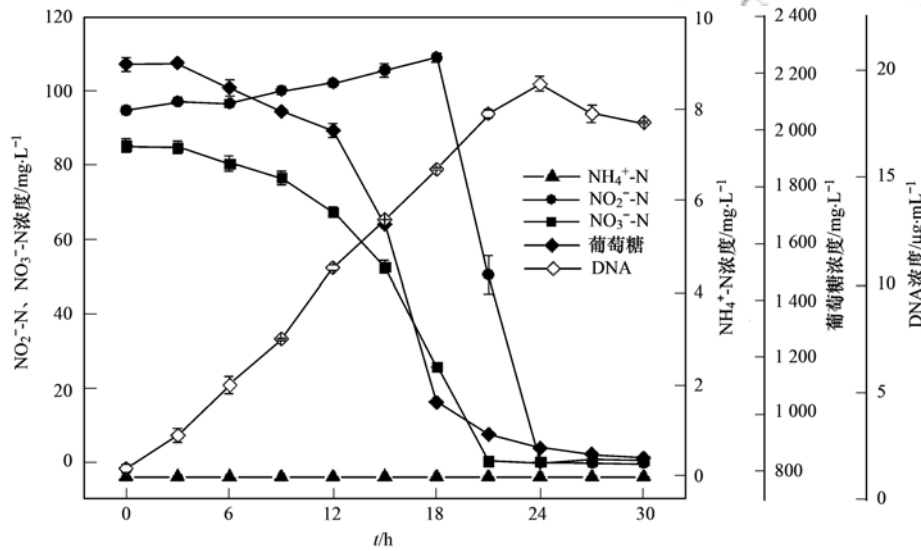


图5 菌株 DK1 在以 NO_2^- -N 和 NO_3^- -N 为氮源的好氧反硝化特性

Fig. 5 Aerobic denitrification ability of the DK1 strain with NO_2^- -N and NO_3^- -N used as the nitrogen sources

活化后的菌株接种到以 NH_4Cl 为唯一氮源的硝化培养基中进行培养,结果如图 6 所示. NH_4^+ -N 在 0 ~ 12 h 内下降缓慢,从 $96.14 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 只降至 $91.24 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,但 12 h 后去除速率明显加快,从 12 ~ 21 h 期间从 $91.23 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 降至约 $45.63 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, NH_4^+ -N 去除率为 49.98%,21 h 的平均去除速率为 $2.32 \text{ mg}\cdot(\text{L}\cdot\text{h})^{-1}$,与文献[9][$0.67 \text{ mg}\cdot(\text{L}\cdot\text{h})^{-1}$]和文献[17][$1.38 \text{ mg}\cdot(\text{L}\cdot\text{h})^{-1}$]的菌属相比较快. NH_4^+ -N 的下降与菌株的 DNA 浓度曲线也基本吻合,即前 12 h 为生长迟缓期,12 ~ 18 h 为生长对数期,18 h 的平均生长速率为 $2.17 \text{ }\mu\text{g}\cdot(\text{mL}\cdot\text{h})^{-1}$. 从 21 h 后, NH_4^+ -N 一直维持在 $48.00 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 左右不再下

降,葡萄糖也在 24 h 后停止下降,平均消耗速率为 $25.83 \text{ mg}\cdot(\text{L}\cdot\text{h})^{-1}$,较单一氮源反硝化的消耗速率稍快;推测不再下降原因仍可能是碳源浓度较低,菌体难以继续生长. 而 12 d 后再向血清瓶中添加 $6 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的葡萄糖, NH_4^+ -N 在 20 h 后降为 0 (具体数据见表 2 中 b 组),这一现象与好氧反硝化组的结果一致.

整个实验过程中几乎没有检测到 NO_2^- -N 和 NO_3^- -N. 这可能是因为 NH_4^+ -N 是在氨单加氧酶 (AMO) 作用下氧化为羟胺 (NH_2OH) 再经羟胺氧化酶作用将其氧化直接转化为 N_2O 和 N_2 等气体并排出^[18]. 这比较符合 Richardson 等^[19] 的异养硝化脱

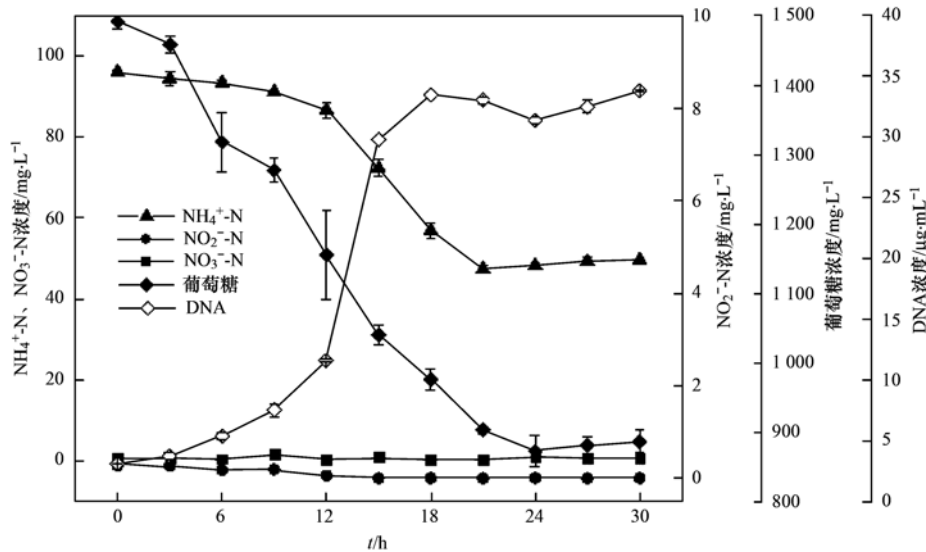


图6 菌株DK1在以NH₄⁺-N为唯一氮源的异养硝化特性

Fig. 6 Heterotrophic nitrification ability of the DK1 strain with NH₄⁺-N used as the sole nitrogen source

氮模型. 造成这种现象的原因可能是菌体在长期对外界特殊环境(例如高盐环境)进行调整和适应的过程中,逐渐形成的优先选择氮素转化过程中最便捷的代谢方式;还可能是由于菌株其较高的反硝化活性将硝化产生的中间产物立即利用所以检测不到NO₂⁻-N和NO₃⁻-N的存在^[20]. 结合2.3节中菌株DK1的两组高效反硝化速率,均大于本组实验中的硝化速率,分析后者的可能性较大. NH₄⁺-N和碳源同时去除是异养硝化异于自养硝化最明显的特征^[24],所以综上,菌株DK1可以进行异养硝化及同步硝化反硝化.

2.4 同步硝化反硝化(SND)特性

为了研究在不同培养条件下同步硝化反硝化效果,实验采取将菌株接入含有NH₄⁺-N和NO₂⁻-N的培养基(S1)中、含NH₄⁺-N和NO₃⁻-N的培养基(S2)中以及含NH₄⁺-N、NO₂⁻-N和NO₃⁻-N的培养基(S3)中观察脱氮效果. 每隔3h取样测定NH₄⁺-N、NO₂⁻-N、NO₃⁻-N、葡萄糖及DNA浓度,S1~S3组的结果见图7~9.

在3组实验中,S1组的NH₄⁺-N和NO₂⁻-N(初始浓度为93.52 mg·L⁻¹和90.29 mg·L⁻¹)及S2、S3组的NH₄⁺-N和NO₃⁻-N(初始浓度分别为90.65 mg·L⁻¹、85.93 mg·L⁻¹和95.31 mg·L⁻¹、85.37 mg·L⁻¹)在前12h的下降速率较缓慢且相近,但S1组在15h后NO₂⁻-N下降速率加快,在21h已经降为0,平均下降速率为4.31 mg·(L·h)⁻¹;S2、S3组培养基在12h后NO₃⁻-N下降速率加快,在18h时即降为0,平均下降速率为4.75 mg·(L·h)⁻¹和4.72

mg·(L·h)⁻¹. S2、S3组的反应过程中均伴随NO₂⁻-N积累(S3组NO₂⁻-N初始浓度为96.48 mg·L⁻¹)且在15h时达到最大值(52.21 mg·L⁻¹和128.91 mg·L⁻¹),但随即下降并在21h时降为0.可以看出,与好氧反硝化特性的实验结果一致,若培养基的初始底物同时含有NO₂⁻-N和NO₃⁻-N两种氮源,菌株DK1会优先利用NO₃⁻-N. Kim等^[22]的实验表明当NH₄⁺-N和NO₂⁻-N两种氮源同时存在时,菌株会优先选择NO₂⁻-N进行反硝化;而赵丹等^[23]的菌株ZD8在此条件下NH₄⁺-N的存在对NO₂⁻-N的反硝化有抑制,菌株会利用NH₄⁺-N先发生硝化作用. 本实验结果与此二者均不同,菌株DK1可同时将二者降解;张培玉等^[24]的实验表明NO₂⁻-N的加入不但没有抑制异养硝化作用,反而加速了NH₄⁺-N的降解,而本实验结果于此也不同,NO₂⁻-N的加入对异养硝化作用几乎无影响,NH₄⁺-N的降解速率与不加NO₂⁻-N时几乎相等.

而S1、S2组的NH₄⁺-N下降速率在12h后虽然较前有所加快,但始终低于该组中NO₂⁻-N或NO₃⁻-N的下降速率,且在27h后停止下降,前27h的平均下降速率为3.04 mg·(L·h)⁻¹和3.12 mg·(L·h)⁻¹,远高于He等^[25]研究的菌;而S3组的NH₄⁺-N在30h时降为0,30h的平均下降速率为3.18 mg·(L·h)⁻¹.

S1、S2组前30h和S3组前27h的葡萄糖消耗速率与DNA生长速率趋势基本相符;S3组的DNA浓度在27h后开始下降,可能原因是氮源已基本耗

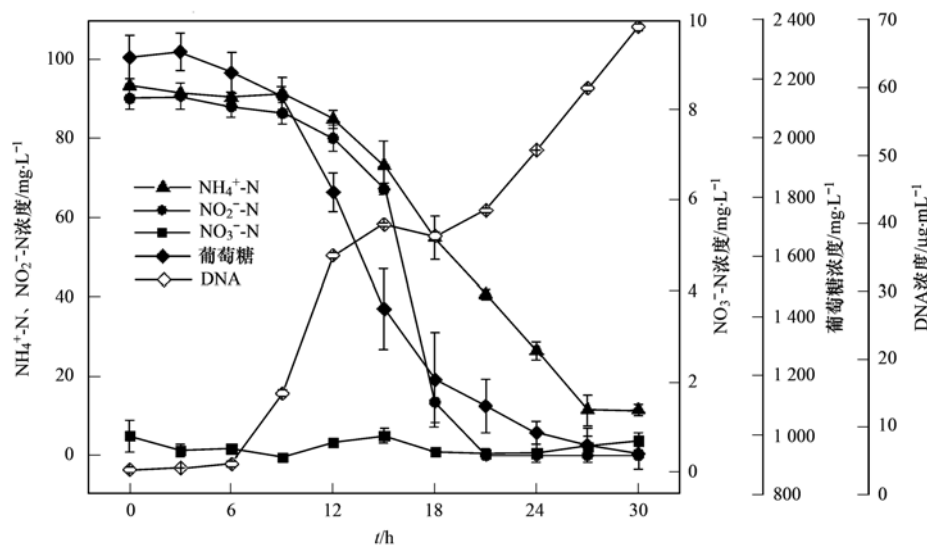


图7 菌株 DK1 在以 NH_4^+ -N 和 NO_2^- -N 为氮源的同步硝化反硝化 (SND) 特性

Fig. 7 Simultaneous heterotrophic nitrification and aerobic denitrification ability of the DK1 strain with NH_4^+ -N and NO_2^- -N used as the nitrogen sources

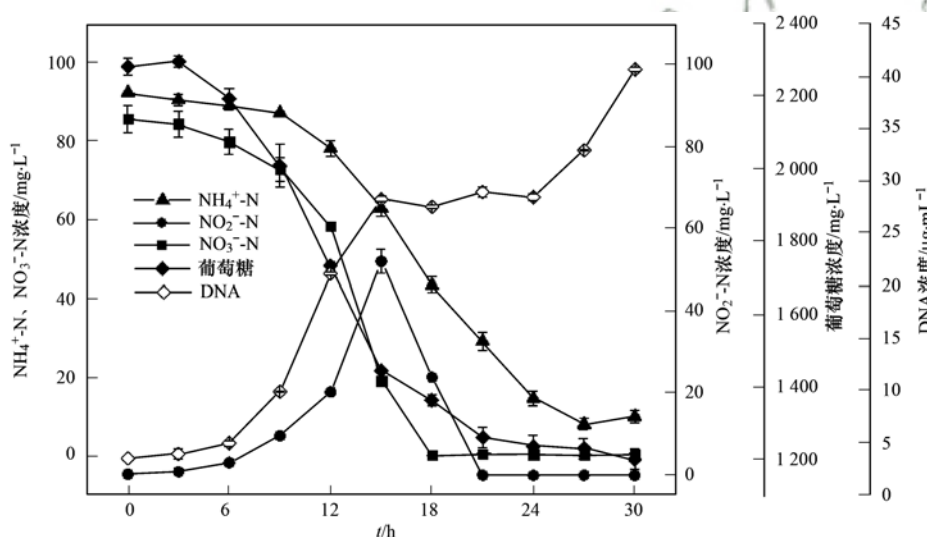


图8 菌株 DK1 在以 NH_4^+ -N 和 NO_3^- -N 为氮源的同步硝化反硝化 (SND) 特性

Fig. 8 Simultaneous heterotrophic nitrification and aerobic denitrification ability of the DK1 strain with NH_4^+ -N and NO_3^- -N used as the nitrogen sources

尽. 同异养硝化和好氧反硝化两部分实验的方法, 12 d 后再向血清瓶中添加葡萄糖, NH_4^+ -N 在 11 h 后也降为 0 (具体数据见表 2 中 c 组和 d 组). 比较 S1、S2 两组培养基的脱氮效果, NO_2^- -N、 NO_3^- -N 去除率均达 100%, NH_4^+ -N 去除率也相近, 分别为 90.30% 和 89.65%, 可知这两组系统脱氮效果基本相同. 在 C/N 量比为 5 的条件下, S3 组系统的脱氮效率最高, 30 h 内 3 种氮源均达到了 100%, 高于王骁静等^[26]的研究结果.

2.5 菌株 DK1 的缺氧反硝化特性

由图 10 可知, 与好氧反硝化相似, 菌株 DK1 在

缺氧条件下初始 NO_3^- -N 浓度为 $83.75 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时也在 21 h 左右将 NO_3^- -N 降为 0, NO_3^- -N 的平均去除速率为 $3.99 \text{ mg} \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1}$, 但在 21 h 时 NO_2^- -N 也为 0 (虽然在 12 ~ 21 h 间有少量积累), 脱氮率达 100%, 高于好氧条件. 由图 11 可知在以 NO_2^- -N 和 NO_3^- -N 为氮源的缺氧反硝化实验中 (初始浓度分别为 $80.19 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $84.20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), 菌株 DK1 仍优先利用 NO_3^- -N 进行反硝化并且伴有 NO_2^- -N 积累现象, 且 NO_3^- -N 平均去除速率与好氧基本相同, 为 $4.01 \text{ mg} \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1}$. NO_2^- -N 在 21 h 降为 0, 去除速率相比好氧组的 24 h 仍较高.

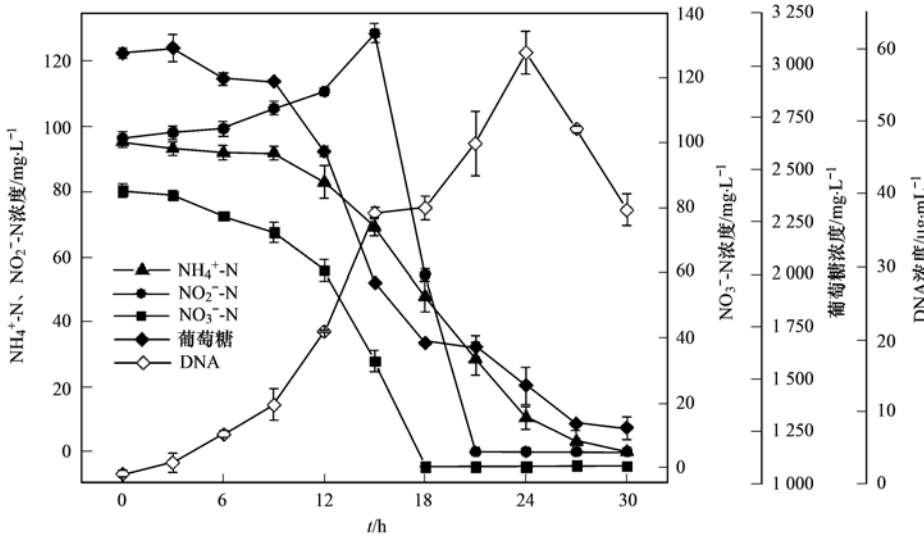


图 9 菌株 DK1 在以 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 为氮源的同步硝化反硝化(SND)特性

Fig. 9 Simultaneous heterotrophic nitrification and aerobic denitrification ability of the DK1 strain with $\text{NH}_4^+\text{-N}$, $\text{NO}_2^-\text{-N}$ and $\text{NO}_3^-\text{-N}$ used as the nitrogen sources

表 2 补加葡萄糖后各组氮素浓度变化表/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$

Table 2 Change in the nitrogen concentration after adding glucose/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$

时间/h	a 组 $\text{NO}_2^-\text{-N}$	b 组 $\text{NH}_4^+\text{-N}$	c 组 $\text{NH}_4^+\text{-N}$	d 组 $\text{NH}_4^+\text{-N}$
0	14.01 ± 0.26	40.82 ± 1.02	9.07 ± 0.17	9.38 ± 0.23
2	13.97 ± 0.30	40.89 ± 3.91	8.66 ± 0.31	7.89 ± 0.18
4	13.91 ± 0.32	36.30 ± 3.91	6.43 ± 0.14	7.23 ± 0.22
7	13.87 ± 0.33	31.49 ± 3.55	2.71 ± 0.11	2.08 ± 0.36
11	6.27 ± 0.33	18.27 ± 0.97	0	0
15	0	9.33 ± 2.18	—	—
20	—	0	—	—

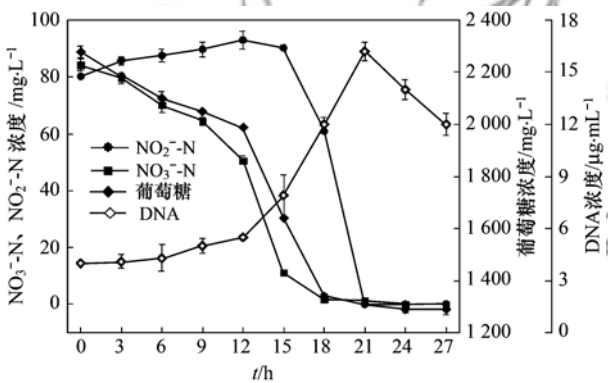


图 11 菌株 DK1 在以 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 为氮源的缺氧反硝化特性

Fig. 11 Anoxic denitrification ability of the DK1 strain with $\text{NO}_2^-\text{-N}$ and $\text{NO}_3^-\text{-N}$ used as the nitrogen sources

2.6 菌株 DK1 在不同 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 浓度下的缺氧反硝化特性

根据 DK1 在 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 同时存在时会优先利用 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 并存在 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 积累现象, $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 的反硝化速率在缺氧和好氧条件下也有所不同,且一定量的 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 会对多种微生物的新陈代谢产生抑制作用^[27],本组实验以 NaNO_2 为唯一氮源(初始浓度分别为 6、9、12、15 和 20 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$),以葡萄糖为唯一碳源,在 C/N 量比为 5 的条件下,探究菌株 DK1 在较高浓度 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 缺氧条件下的反硝化能力,每 4 h 取样测量 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 及葡萄糖浓度,结果如图 12 所示。

5 组 NaNO_2 初始浓度从低至高的培养基 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 浓度依次在 16、16、24、32 和 36 h 时降为 0,相应

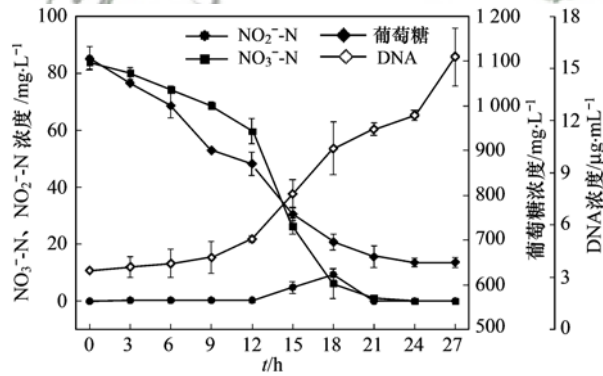


图 10 菌株 DK1 在以 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 为唯一氮源的缺氧反硝化特性

Fig. 10 Anoxic denitrification ability of the DK1 strain with $\text{NO}_3^-\text{-N}$ used as the sole nitrogen source

但是此缺氧条件下的两组 DNA 浓度均低于好氧条件,所以,从这两组含有 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 的缺氧反硝化实验可以推测, O_2 的存在对于 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 反硝化到 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 的速率并无太大影响,但对于 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 的反硝化速率和碳源的利用有一定的抑制作用。

的 NO_2^- -N平均去除速率分别为 6.31、9.15、7.80、7.38 和 8.27 $\text{mg} \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1}$, 葡萄糖的下降趋势与 NO_2^- -N基本一致。可见在初始 NO_2^- -N = 9 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时的反硝化速率最高, 且反硝化速率并没有受到高 NO_2^- -N浓度(297.65 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)的抑制。根据 NO_2^- -N和 FNA 的换算公式(1)可得出(实验温度为 32℃, 系统 pH 为 7.2 ~ 7.4), 系统最高浓度的 FNA 为 0.023 ~ 0.035 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 已经超过了抑制菌体生命活动的浓度^[28], 也超过了张培玉等^[24]、何腾霞等^[29]

的菌株所能承受的 FNA 和 NO_2^- -N浓度。说明菌株 DK1 在处理高 NO_2^- -N浓度废水方面也有很大的潜力和应用价值。整个实验过程中未检测到 NH_4^+ -N且 NO_3^- -N浓度始终保持在 1 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 以下(图 12 中未给出), 而在 NO_2^- -N = 6 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的条件下与以 NO_2^- -N为唯一氮源好氧反硝化的实验比较, 缺氧反硝化 6.31 $\text{mg} \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1}$ 的平均去除速率高于好氧反硝化的 4.43 $\text{mg} \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1}$, 说明菌株 DK1 在以 NaNO_2 为唯一氮源的系统中缺氧生长得更快。

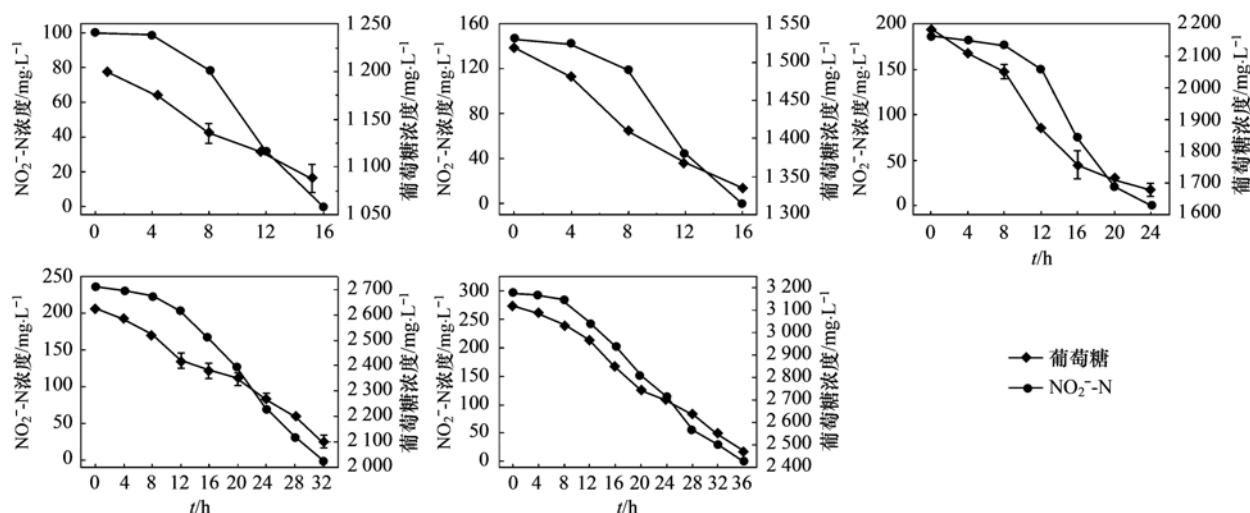


图 12 菌株 DK1 在以不同浓度 NO_2^- -N为唯一氮源的厌氧反硝化特性

Fig. 12 Anaerobic denitrification ability of the DK1 strain with different concentrations of NO_2^- -N used as the sole nitrogen source

$$\rho(\text{FNA}) = \frac{\rho(\text{NO}_2^- \text{-N})}{\exp\left(-\frac{2300}{273 + T}\right) \times 10^{\text{pH}}} \quad (1)$$

式中, $\rho(\text{FNA})$ 为游离亚硝酸质量浓度(以 HNO_2^- -N计), $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$; $\rho(\text{NO}_2^- \text{-N})$ 为亚硝酸盐质量浓度, $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$; T 为温度, $^{\circ}\text{C}$; pH 为系统内的 pH。

3 结论

(1) 从厌氧污泥中筛选出 1 株高效异养硝化-好氧反硝化细菌 DK1, 经形态学观察及 16S rRNA 序列分析确定其属于假单胞菌属(*Pseudomonas* sp.) 命名为 *Pseudomonas* sp. DK1。

(2) 对菌株 DK1 在好氧条件下进行脱氮性能分析, 以葡萄糖为碳源且 C/N 量比为 5 时, 分别以 NO_3^- -N、 NO_2^- -N为唯一氮源均有较高的脱氮效果, 平均去除率分别为 81.99% 和 100%; 以 NH_4^+ -N为唯一氮源时 NH_4^+ -N去除率为 49.98%; 在同步硝化反硝化(SND)实验中, 同时加入 NH_4^+ -N、 NO_2^- -N和 NO_3^- -N的系统脱氮效率最高, 30 h 内 3 种氮源均达

到了 100%; 以 NO_2^- -N为唯一氮源时进行反硝化特性分析, 初始 NO_2^- 不同浓度的 5 组 NO_2^- -N最终均降为 0, 菌株 DK1 没有受到高 NO_2^- -N浓度的抑制。

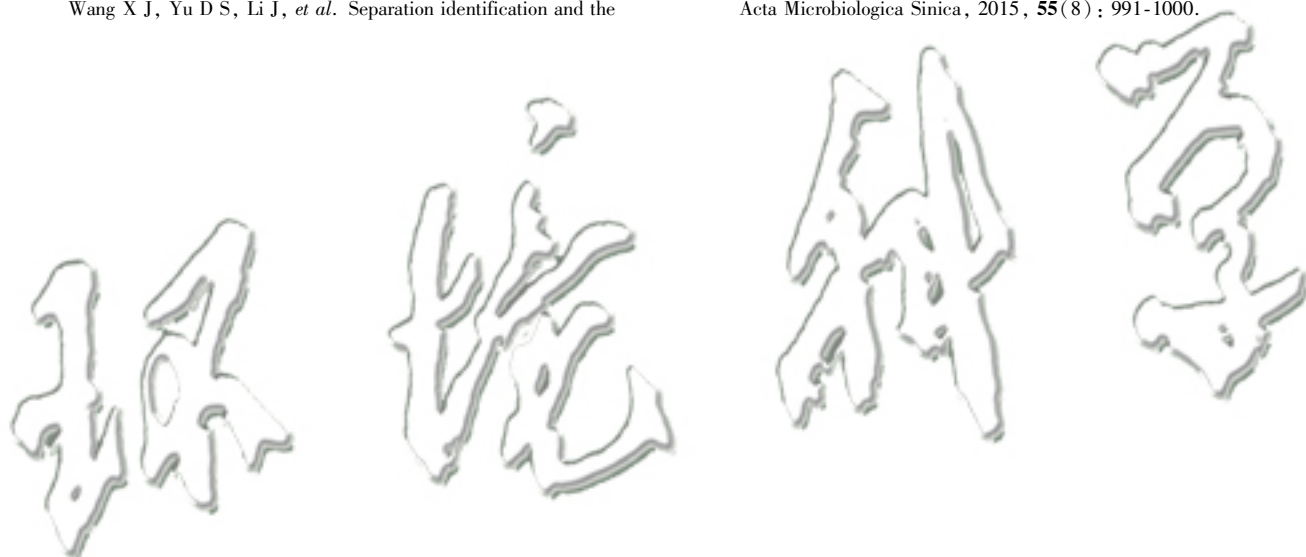
(3) 菌株 DK1 在以葡萄糖为碳源、C/N 量比为 5 的反硝化实验中, NO_3^- -N的反硝化速率缺氧与好氧条件相比基本相同, 但 NO_2^- -N的缺氧反硝化速率和碳源的利用效果要高于好氧条件; 无论在好氧还是缺氧条件下, 若培养基的初始底物同时含有 NO_2^- -N和 NO_3^- -N两种氮源, 菌株 DK1 均会优先利用 NO_3^- -N。对于同步硝化反硝化(SND), NH_4^+ -N的去除率较异养硝化高, NO_2^- -N和 NO_3^- -N的去除速率也较好氧反硝化时高, 认为菌株 DK1 在菌体生长和能量利用方面在 SND 中有较大优势。

参考文献:

- [1] 黄廷林, 张丽娜, 张海涵, 等. 一株贫营养异养硝化-好氧反硝化菌的筛选及脱氮特性[J]. 生态环境学报, 2015, 24(1): 113-120.
Huang T L, Zhang L N, Zhang H H, et al. Screening and nitrogen removal characteristics of a heterotrophic nitrification-aerobic denitrification strain [J]. Ecology and Environmental Sciences, 2015, 24(1): 113-120.

- [2] Shoda M, Ishikawa Y. Heterotrophic nitrification and aerobic denitrification of high-strength ammonium in anaerobically digested sludge by *Alcaligenes faecalis* strain No. 4[J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2014, **117**(6): 737-741.
- [3] Yang L, Ren Y X, Zhao S Q, et al. Isolation and characterization of three heterotrophic nitrifying-aerobic denitrifying bacteria from a sequencing batch reactor[J]. Annals of Microbiology, 2016, **66**(2): 737-747.
- [4] Zhou M H, Ye H R, Zhao X W. Ammonium removal by a novel heterotrophic nitrifying and aerobic denitrifying bacterium *Pseudomonas stutzeri* KTB from wastewater[J]. Water Quality Research Journal of Canada, 2015, **50**(3): 219-227.
- [5] Schmidt I, Slikers O, Schmid M, et al. New concepts of microbial treatment processes for the nitrogen removal in wastewater[J]. FEMS Microbiology Reviews, 2003, **27**(4): 481-492.
- [6] Bernat K, Wojnowska-Baryła I. Carbon source in aerobic denitrification[J]. Biochemical Engineering Journal, 2007, **36**(2): 116-122.
- [7] 孙庆花, 于德爽, 张培玉, 等. 1 株海洋异养硝化-好氧反硝化菌的分离鉴定及其脱氮特性[J]. 环境科学, 2016, **37**(2): 647-654.
Sun Q H, Yu D S, Zhang P Y, et al. Identification and nitrogen removal characteristics of a heterotrophic nitrification-aerobic denitrification strain isolated from marine environment[J]. Environmental Science, 2016, **37**(2): 647-654.
- [8] 颜薇芝, 郝健, 孙俊松, 等. 拉乌尔菌 sari01 的分离及其异养硝化好氧反硝化特性[J]. 环境科学, 2016, **37**(7): 2673-2680.
Yan W Z, Hao J, Sun J S, et al. Isolation of *Raoultella* sp. sari01 and its heterotrophic nitrification-aerobic denitrification characteristics[J]. Environmental Science, 2016, **37**(7): 2673-2680.
- [9] Kundu P, Pramanik A, Dasgupta A, et al. Simultaneous heterotrophic nitrification and aerobic denitrification by *Chryseobacterium* sp. R31 isolated from abattoir wastewater[J]. BioMed Research International, 2014, 2014: 436056.
- [10] Saitou N, Nei M. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees[J]. Molecular Biology and Evolution, 1987, **4**(4): 406-425.
- [11] 项慕飞, 汪苹, 李秀婷, 等. 废水脱氮系统中好氧反硝化菌的筛选与鉴定[J]. 食品科技, 2006, **31**(7): 153-156.
Xiang M F, Wang P, Li X T, et al. Selection and identification of aerobic denitrifiers in denitrification process of wastewater[J]. Food Science and Technology, 2006, **31**(7): 153-156.
- [12] 黄菲菲. 异养硝化-好氧反硝化菌的筛选与脱氮性能研究[D]. 南京: 南京理工大学, 2013.
Huang F F. Identification and nitrogen removal characteristic of two heterotrophic nitrification-aerobic denitrification strains[D]. Nanjing: Nanjing University of Science & Technology, 2013.
- [13] 肖继波, 江惠霞, 褚淑祎. 不同氮源下好氧反硝化菌 *Deffluibacter lusatiensis* str. DN7 的脱氮特性[J]. 生态学报, 2012, **32**(20): 6463-6470.
Xiao J B, Jiang H X, Chu S Y. Denitrification characteristics of an aerobic denitrifying bacterium *Deffluibacter lusatiensis* str. DN7 using different sources of nitrogen[J]. Acta Ecologica Sinica, 2012, **32**(20): 6463-6470.
- [14] 连红民, 邱忠平, 何昆明, 等. 一株好氧反硝化-异养硝化菌的筛选及脱氮特性研究[J]. 生物技术通报, 2015, **31**(6): 138-143.
Lian H M, Qiu Z P, He K M, et al. Screening and denitrification characteristics of an aerobic denitrifying-heterotrophic nitrification bacterium[J]. Biotechnology Bulletin, 2015, **31**(6): 138-143.
- [15] Zhang Q L, Liu Y, Ai G M, et al. The characteristics of a novel heterotrophic nitrification-aerobic denitrification bacterium, *Bacillus methylotrophicus* strain L7[J]. Bioresource Technology, 2012, **108**: 35-44.
- [16] 周迎芹, 信欣, 姚力, 等. 一株高效异养硝化-好氧反硝化菌的分离鉴定及脱氮性能[J]. 环境工程学报, 2013, **7**(10): 4127-4132.
Zhou Y Q, Xin X, Yao L, et al. Isolation and identification of a heterotrophic nitrification-aerobic denitrification bacteria with high efficiency and its denitrification characteristics[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2013, **7**(10): 4127-4132.
- [17] 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.
- [18] 孙庆花, 于德爽, 张培玉, 等. 海洋菌株 y3 的分离鉴定及其异养硝化-好氧反硝化特性[J]. 环境科学, 2016, **37**(3): 1089-1097.
Sun Q H, Yu D S, Zhang P Y, et al. Isolation, identification and nitrogen removal characteristics of a heterotrophic nitrification-aerobic denitrification strain y3 isolated from marine environment[J]. Environmental Science, 2016, **37**(3): 1089-1097.
- [19] Richardson D J, Wehrfritz J M, Keech A, et al. The diversity of redox proteins involved in bacterial heterotrophic nitrification and aerobic denitrification[J]. Biochemical Society Transactions, 1998, **26**(3): 401-408.
- [20] 王兆阳, 陈国耀, 姜珂, 等. 1 株耐冷兼性嗜碱好氧反硝化菌的分离鉴定及反硝化特性[J]. 环境科学, 2014, **35**(6): 2341-2348.
Wang Z Y, Chen G Y, Jiang K, et al. Identification and denitrification characteristics of a psychrotolerant facultative basophilic aerobic denitrifier[J]. Environmental Science, 2014, **35**(6): 2341-2348.
- [21] 黄廷林, 白士远, 张海涵, 等. 一株贫营养异养硝化-好氧反硝化细菌的分离鉴定及脱氮特性[J]. 环境工程学报, 2015, **9**(12): 5665-5671.
Huang T L, Bai S Y, Zhang H H, et al. Identification and denitrification characteristics of an oligotrophic heterotrophic nitrification and aerobic denitrification bacteria[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2015, **9**(12): 5665-5671.
- [22] Kim Y J, Yoshizawa M, Takenaka S, et al. Isolation and culture conditions of a *Klebsiella pneumoniae* strain that can utilize ammonium and nitrate ions simultaneously with controlled iron and molybdate ion concentrations[J]. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 2002, **66**(5): 996-1001.
- [23] 赵丹, 于德爽, 李津, 等. 菌株 ZD8 的分离鉴定及其异养硝化和缺氧/好氧反硝化特性研究[J]. 环境科学学报, 2013,

- 33(11): 3007-3016.
- Zhao D, Yu D S, Li J, *et al.* Isolation and identification of a bacterial strain ZD8 and its characteristics of heterotrophic nitrification and anoxic/oxic denitrification[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2013, **33**(11): 3007-3016.
- [24] 张培玉, 曲洋, 于德爽, 等. 菌株 qy37 的异养硝化/好氧反硝化机制比较及氨氮加速降解特性研究[J]. *环境科学*, 2010, **31**(8): 1819-1826.
- Zhang P Y, Qu Y, Yu D S, *et al.* Comparison of heterotrophic nitrification and aerobic denitrification system by strain qy37 and its accelerating removal characteristic of $\text{NH}_4^+\text{-N}$ [J]. *Environmental Science*, 2010, **31**(8): 1819-1826.
- [25] He T X, Li Z L, 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.
- [26] 王骁静, 于德爽, 李津, 等. 海洋异养硝化-好氧反硝化菌 y6 同步脱氮除碳特性[J]. *中国环境科学*, 2017, **37**(2): 686-695.
- Wang X J, Yu D S, Li J, *et al.* Separation identification and the characteristics research of simultaneous removal of nitrogen and carbon about marine heterotrophic nitrification and aerobic denitrification strain y6 [J]. *China Environmental Science*, 2017, **37**(2): 686-695.
- [27] Van Hulle S W, Volcke E I, Teruel J L, *et al.* Influence of temperature and pH on the kinetics of the Sharon nitrification process[J]. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 2007, **82**(5): 471-480.
- [28] 李璐, 马娟, 宋相蕊. FNA 在污水生物脱氮除磷中的抑制效应[J]. *工业水处理*, 2014, **34**(6): 5-9.
- Li L, Ma J, Song X R. Inhibitory effect of free nitrous acid (FNA) on wastewater biological denitrification and dephosphorization[J]. *Industrial Water Treatment*, 2014, **34**(6): 5-9.
- [29] 何腾霞, 徐义, 李振轮. 耐冷亚硝酸盐型反硝化菌 *Pseudomonas tolaasii* Y-11 的鉴定及其脱氮特性[J]. *微生物学报*, 2015, **55**(8): 991-1000.
- He T X, Xu Y, Li Z L. Identification and characterization of a hypothermia nitrite bacterium *Pseudomonas tolaasii* Y-11 [J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2015, **55**(8): 991-1000.



CONTENTS

Development of a Non-Road Mobile Source Emissions Inventory for Tianjin	ZHANG Yi, Andre Michel, LI Dong, <i>et al.</i> (4447)
Spatial Simulation of Black Carbon Concentrations Based on a Land Use Regression Model and Mobile Monitoring over Shanghai, China	PENG Xia, SHE Qian-nan, LONG Ling-bo, <i>et al.</i> (4454)
Characteristics and Sources of Elements of a PM ₁₀ Measurements from a Typical Industrial City in Eastern Hubei Province	ZHAN Chang-lin, ZHANG Jia-quan, ZHENG Jing-ru, <i>et al.</i> (4463)
Characteristics and Source Identification of Carbonaceous Aerosols in PM _{2.5} Measurements During Summer and Fall in Changzhou	YE Zhao-lian, LIU Jia-shu, LI Qing, <i>et al.</i> (4469)
Characteristics and Sources of Water Soluble Inorganic Ions in Fine Particulate Matter During Winter in Xuzhou	FAN Mei-yi, CAO Fang, ZHANG Yuan-yuan, <i>et al.</i> (4478)
Physicochemical Properties and Sources of Atmospheric Particulate Matter During Pollution Monitoring in Nanning, China	LIU Hui-lin, CHEN Zhi-ming, LI Hong-jiao, <i>et al.</i> (4486)
Concentration and Size Distribution Characteristics of Culturable Bioaerosols at Various Air Quality Levels During Fall and Winter in Xi'an, China	LI Wan-xin, LU Rui, XIE Zheng-sheng, <i>et al.</i> (4494)
Distribution Characteristics of Chromophoric Dissolved Organic Matter and Nutrients from the Yellow Sea and Bohai Sea in Autumn	TANG Yong, SUN Yu-yan, SHI Xiao-yong, <i>et al.</i> (4501)
Characteristics and Risks of Heavy Metals Content in Surface Sediment of Tidal Flat Areas in Eastern China	ZHANG Ming, BAO Zhen-yu, CHEN Guo-guang, <i>et al.</i> (4513)
Heavy Metals in Sediments from the Haizhou Bay Marine Ranching Based on Geochemical Characteristics	LI Da-peng, ZHANG Shuo, ZHANG Zhong-fa, <i>et al.</i> (4525)
Major Ionic Features and Their Possible Controls in the Water of the Niyang River Basin	ZHANG Tao, CAI Wu-tian, LI Ying-zhi, <i>et al.</i> (4537)
Vertical Distribution Characteristics of Fe and Mn in Subtropical Reservoirs During Summer	YANG Si-yuan, ZHAO Jian, YU Hua-zhang, <i>et al.</i> (4546)
Occurrence, Distribution, and Ecological Risk of Antibiotics in Surface Water in the Liaohe River Basin, China	ZHANG Xiao-jiao, BAI Yang-wei, ZHANG Yuan, <i>et al.</i> (4553)
Effects of Optimized Fish Farming on the Sediment Nutrients of Eastern Lake Taihu	HE Xiao-wei, CHU Yu, ZENG Jin, <i>et al.</i> (4562)
Responses of the Benthic Diatom Community to Nutrients and the Identification of Nutrient Thresholds in Three Aquatic Ecoregions of the Huntai River, Northeast China	ZHANG Li, LIN Jia-ning, ZHANG Yuan, <i>et al.</i> (4570)
Impacts of Environmental Conditions on the Soaking Release of Nitrogen and Phosphorus from <i>Cynodon dactylon</i> (Linn.) Pers. in the Water-level Fluctuation Zone of the Three Gorges Reservoir Region	XIAO Li-wei, ZHU Bo (4580)
Effects of Soil Microbial Diversity on the Phosphate Fraction in the Rhizosphere of <i>Phragmites communis</i> in the Yeyahu Wetland in Beijing, China	TENG Ze-dong, LI Min, ZHU Jing, <i>et al.</i> (4589)
Nitrification and Denitrification Potential of Benthic Sediments in a Suburban Stream under Intense Human Disturbance Scenarios	LI Ru-zhong, ZHENG Xia, GAO Su-di, <i>et al.</i> (4598)
Distribution of External Phosphorus in the Sedimentary Phosphorus forms Under Different Disturbances	CAI Shun-zhi, LI Da-peng, TANG Xin-yu, <i>et al.</i> (4607)
Effect of <i>Elodea nuttallii</i> -Immobilized Nitrogen Cycling Bacteria on the Mechanism of Nitrogen Removal in Polluted River Water	WANG Hao, LI Zheng-kui, ZHANG Yi-pin, <i>et al.</i> (4617)
Zero-Valent Iron (ZVI) Activation of Persulfate (PS) for Oxidation of Arsenic (V) Form Aqueous Solutions	ZHOU Zi-mai, DENG Wen-na, YANG Yi-lin, <i>et al.</i> (4623)
Removal of Antimony from Water by Nano Zero-Valent Iron/Activated Carbon Composites	JIANG Ting, BAO Yue, LI Wei, <i>et al.</i> (4632)
Effect of the Flow Patterns of Main-stream Reactors on the Efficiency of Nitrification Enhancement with Bioaugmentation	YU Li-fang, DU Qian-qian, ZHANG Ru, <i>et al.</i> (4641)
Effect of Temperature on Nitrogen Removal Performance and the Extracellular Polymeric Substance (EPS) in a Sequencing Batch Reactor (SBR)	SUN Hong-wei, CHEN Cui-zhong, WU Chang-feng, <i>et al.</i> (4648)
Effects of Temperature on Shortcut Nitrification and Nitrification Activity of Nitrification in an Intermittent Aeration Sequencing Batch Reactor	LIU Hong, PENG Yong-zhen, LU Jiong-yuan, <i>et al.</i> (4656)
Nitrite Type Denitrifying Phosphorus Removal Capacity of Cycle Activated Sludge Technology Processes Under Different Inducing Patterns	MA Juan, WANG Jin, YU Xiao-jun, <i>et al.</i> (4664)
Laboratory-scale CANON Processes Applied to Wastewater Treatment Plants	LI Dong, ZHAO Shi-xun, WANG Jun-an, <i>et al.</i> (4673)
Effects of Magnetic Activated Carbon with Different Particle Sizes on Sludge Granulation in a SBR System	XIN Xin, GUAN Lei, GUO Jun-yuan, <i>et al.</i> (4679)
Storage and Reactivation of Anaerobic Ammonium Oxidation (ANAMMOX) Sludge at Room Temperature	HUANG Jia-lu, WANG Xiao-long, GAO Da-wen (4687)
Microbial Population Dynamics During Sludge Granulation in a Simultaneous Nitrogen and Phosphorus Removal System	GAO Jing-feng, WANG Shi-jie, FAN Xiao-yan, <i>et al.</i> (4696)
Anaerobic Reduction Process Characteristics and Microbial Community Analysis for Sulfate and Fe(II) EDTA-NO ₃ /Fe(III) EDTA	ZHANG Yu, WAN Fang, ZHOU Ji-ti (4706)
Treatment Efficiency and Microbial Community Diversity in a Magnetic Field Enhanced Sequencing Batch Reactor (SBR)	GENG Shu-ying, FU Wei-zhang, WANG Jing, <i>et al.</i> (4715)
Molecular Research of Acid-Generating Microbial Communities in Abandoned Ores in the Waste Dump of an Iron Mine in Anhui Province	DU Ze-rui, HAO Chun-bo, PEI Li-xin, <i>et al.</i> (4725)
Microbial Community Diversity and Differences in Cellar water of Typical Rainwater Harvesting Area	YANG Hao, ZHANG Guo-zhen, YANG Xiao-ni, <i>et al.</i> (4733)
Impact of the Biodegradation of 6:2 Fluorotelomer Alcohol on the Bacterial Community Structure of Surface Sediment	WANG Dan, HOU Zhen, ZHANG Qi, <i>et al.</i> (4747)
Degradation Process of Exogenous Naphthenic Acids and Their Effects on Microbial Community Structure in Soil	LIU Yan-qiu, ZHAO Yan-ran, LIU Meng-jiao, <i>et al.</i> (4756)
Identification and Nitrogen Removal Characteristics of the Heterotrophic Nitrification and Aerobic Denitrification Bacterial Strain DK1	MU Dong-yang, JIN Peng-fei, PENG Yong-zhen, <i>et al.</i> (4763)
Mercury Release Flux and Its Influencing Factors Under Four Typical Vegetation Covers at Jinyun Mountain, Chongqing	YANG Guang, SUN Tao, AN Si-wei, <i>et al.</i> (4774)
Short-term Effects of Nitrogen Deposition on CO ₂ and CH ₄ Fluxes from Wetlands in the Minjiang River Estuary	LI Dong-dong, TONG Chuan, TAN Li-shan, <i>et al.</i> (4782)
Effects of Plastic Film Mulching on Methane and Nitrous Oxide Emissions from a Rice-Rapeseed Crop Rotation	SHI Jiang-lai, HAO Qing-ju, FENG Di, <i>et al.</i> (4790)
Assessment of Pollution, Sources, and Risks of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Soil from Urban Parks in Xi'an City, China	ZHOU Yan, LU Xin-wei (4800)
Spatial Distribution of Soil Particles and Heavy Metals Under Different Psammophilic Shrubs in the Ulan Buh Desert	DAI Yu-jie, GUO Jian-ying, DONG Zhi, <i>et al.</i> (4809)
Effects of UV-B Radiation on Soil Carbon and Nitrogen Transformation under Different Soil Moisture Contents from Two Paddy Fields	JIANG Meng-die, WANG Qiu-min, XU Peng, <i>et al.</i> (4819)
Various effects on the Abundance and Composition of Arbuscular Mycorrhizal Fungal Communities in Soils in Karst Shrub Ecosystems	LIANG Yue-ming, SU Yi-rong, HE Xun-yang, <i>et al.</i> (4828)
Remediation of Cd/Ni Contaminated Soil by Biochar and Oxalic Acid Activated Phosphate Rock	DUAN Ran, HU Hong-qing, FU Qing-ling, <i>et al.</i> (4836)
Effects of Repeated Freezing and Thawing and High Temperature Aging on the Solidification and Stabilization of Arsenic Contaminated Soil	YANG Jie, QIAN Zhao-qiu, WANG Jing (4844)
Evaluation of the Combined Removal of Heavy Metals by Saponin and Citric Acid from Municipal Sewage Sludges and Metal Stability Features	YE Tao, HUANG Li, ZHANG Ke-qiang, <i>et al.</i> (4850)
Interactions between Goethite and Humic Acid and the Stability of Goethite-Humic Acid Complex	WANG Rui, ZHU Chao-ju, XIANG Wen-jun, <i>et al.</i> (4860)
Contents and Health Risks of Organic Phosphorus Esters in Plastic Runway Products	YIN Hong-ling, LIU Qin, LIAO Lin-qun, <i>et al.</i> (4868)
Effects on Physico-chemical Parameters of Glycoside Hydrolase Family 6 Genes During Composting of Agricultural Waste	CHEN Yao-ning, GOU Yu, LI Yuan-ping, <i>et al.</i> (4874)
Effect of the Food to Mass Ratio and Hydraulic Retention Time on Hydrogen Production from Fruit and Vegetable Waste	LI Biao, KONG Xiao-ying, LI Lian-hua, <i>et al.</i> (4882)
Comment on Sensitivity Analysis Methods for Environmental Models	CHEN Wei-ping, TU Hong-zhi, PENG Chi, <i>et al.</i> (4889)