



天津科技大学学报

Journal of Tianjin University of Science & Technology

ISSN 1672-6510, CN 12-1355/N

《天津科技大学学报》网络首发论文

题目：低温下高效氨氮降解菌群的脱氮特性
作者：刘迪，侍浏洋，张小霞，任艳燕，黄志勇，何希宏
DOI：10.13364/j.issn.1672-6510.20250041
收稿日期：2025-03-07
网络首发日期：2026-02-02
引用格式：刘迪，侍浏洋，张小霞，任艳燕，黄志勇，何希宏. 低温下高效氨氮降解菌群的脱氮特性[J/OL]. 天津科技大学学报.
<https://doi.org/10.13364/j.issn.1672-6510.20250041>



网络首发：在编辑部工作流程中，稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定，且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式（包括网络呈现版式）排版后的稿件，可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定；学术研究成果具有创新性、科学性和先进性，符合编辑部对刊文的录用要求，不存在学术不端行为及其他侵权行为；稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准，正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性，录用定稿一经发布，不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容，只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

出版确认：纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊（光盘版）》电子杂志社有限公司签约，在《中国学术期刊（网络版）》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版，以单篇或整期出版形式，在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊（网络版）》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物（ISSN 2096-4188，CN 11-6037/Z），所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。



低温下高效氨氮降解菌群的脱氮特性

刘迪^{1,2}, 侍浏洋², 张小霞², 任艳燕^{1,2}, 黄志勇², 何希宏¹

(1. 天津科技大学生物工程学院, 天津 300457;

2. 中国科学院天津工业生物技术研究所, 天津工业生物系统与过程工程重点实验室, 天津 300308)

摘要: 针对冬季污水处理厂生物脱氮效率降低问题, 通过富集驯化得到耐低温高效氨氮降解菌群 JJ, 系统探究该菌群在 15 °C 对不同氮源的代谢特性, 分析环境参数对其脱氮性能的影响与低温驯化前后菌群结构变化, 并结合氮平衡分析与功能预测揭示其低温脱氮机制。结果表明: 菌群 JJ 在 15 °C 对氨氮 ($\text{NH}_4^+\text{-N}$)、硝态氮 ($\text{NO}_3^-\text{-N}$) 及混合氮源均表现出高效去除能力; 其最适环境参数为 pH 7、乙酸钠为碳源、碳氮比 20、溶解氧 6.5 mg/L、温度 15 °C, 且能够耐受高氨氮负荷 (>200 mg/L); 同化与异养硝化-好氧反硝化的协同作用是其低温脱氮的主要途径; 驯化过程中假单胞菌门(Pseudomonadota)的不动杆菌属(*Acinetobacter*)的相对丰度从 68.4% 提升至 74.6%, 通过上调脂肪酸代谢与 ABC 转运蛋白通路增强了低温适应性。本研究为低温污水生物强化脱氮技术的开发提供了理论依据与候选菌群资源。

关键词: 氨氮降解; 耐低温; 除氮特性; 代谢途径

中图分类号: X703; Q939.9 文献标志码: A 文章编号: 1672-6510 (0000)00-0000-00

High-Efficient Ammonia-Degrading Bacteria and Its Nitrogen Removal Performance at Low Temperature

LIU Di^{1,2}, SHI Liuyang², ZHANG Xiaoxia², REN Yanyan^{1,2}, HUANG Zhiyong², HE Xihong¹

(1. College of Biotechnology, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China;

2. Tianjin Key Laboratory for Industrial Biology System and Process Engineering, Tianjin Institute of Industrial Biotechnology, Chinese Academy of Sciences, Tianjin 300308, China)

Abstract: To address the decline in biological nitrogen removal efficiency in wastewater treatment plants during winter, a low-temperature-tolerant, highly efficient ammonia-degrading microbial consortium, JJ, was enriched and domesticated. Its metabolic characteristics toward various nitrogen sources at 15 °C were investigated, and the influences of key environmental parameters on its nitrogen removal performance were evaluated. Furthermore, changes in microbial community structure before and after low-temperature domestication were analyzed, and its low-temperature nitrogen removal mechanism was elucidated through nitrogen balance analysis and functional prediction. The results demonstrated that consortium JJ effectively removed $\text{NH}_4^+\text{-N}$, $\text{NO}_3^-\text{-N}$, and mixed nitrogen sources at 15 °C. The optimal operating conditions were as follows: pH 7.0, sodium acetate as the carbon source, a C/N ratio of 20, dissolved oxygen concentration of 6.5 mg/L, and temperature of 15 °C. In addition, the consortium exhibited strong tolerance to high ammonia loads (>200 mg/L). A synergistic mechanism involving assimilation and heterotrophic nitrification-aerobic denitrification was identified as the predominant pathway for

收稿日期: 2025-03-07; 修回日期: 2025-07-21

基金项目: 国家重点研发计划项目(2021YFC2102200), 中国科学院天津工业生物所农业合成微生物组技术中哈联合研究中心建设项目(24PTLYHZ00300)

作者简介: 刘迪(1999—), 男(土家族), 贵州遵义人, 硕士研究生; 通信作者: 何希宏, 副研究员, hexihong@tust.edu.cn

nitrogen removal under low-temperature conditions. During domestication, the relative abundance of *Acinetobacter* (phylum *Pseudomonadota*) increased from 68.4% to 74.6%. The enhanced expression of fatty acid metabolism and ABC transporter pathways likely contributed to improved cold adaptation. This study provides theoretical support and microbial resources for the development of bioaugmentation strategies in low-temperature wastewater treatment.

Keywords: ammonia degradation; cold-resistant; nitrogen removal characteristics; metabolic pathways

由于农业化肥的过度使用、工业含氮废水的大量排放以及生活污水的增加,水体氮素污染问题日益严峻,对人类健康和生态环境造成了严重危害^[1],因此我国对污水处理厂出水中的含氮物质浓度制定了严格的排放标准^[2]。在现有的脱氮技术中,生物脱氮法因其环保性、较低能耗及稳定的处理效果,在污水处理中得到了广泛应用。

然而,生物脱氮效率受温度影响较大。当温度低于 15 °C 时微生物生长代谢和脱氮性能受到明显抑制,如皮特不动杆菌 (*Acinetobacter pittii*) SY9^[3] 在温度从 20 °C 下降到 15 °C 时,氨氮去除率下降 40%。*Bacillus* 属菌株 N31^[4] 在 15 °C 时氨氮降解率只有 5.41%。脱氮效率的显著下降将导致出水含氮浓度过高,进一步加剧水体污染的风险。目前,大多数已知的脱氮微生物都是中温菌,主要在 25~37 °C 下发挥脱氮功能,在低温条件下仍具备高效脱氮能力的菌种资源相对匮乏^[5]。虽然使用加热设备或调整运行参数可以在一定程度上提高低温下的脱氮效率,但这无疑会增加投资和运行成本。因此,从生物强化的角度出发,挖掘更多适应低温环境的脱氮菌种显得尤为关键^[6]。

近些年,一系列低温高效氨氮降解菌株被分离报道,如紫色杆菌 (*Janthinobacterium* sp.) J1-1^[7]、*Achromobacterspiritus* HS2^[8] 等。鉴于污水处理系统中的温度、pH、溶解氧等参数的动态波动特性,单一菌株可能难以在所有条件下保持高效的脱氮能力,菌群在相同条件下的脱氮效率和适应能力要高于单一菌株^[9-10],这主要得益于群落中不同微生物间的协同作用,使菌群能够更好地适应低温环境并保持较高的脱氮效率。此外,菌群多样性在低温或高污染负荷等极端条件下对维持系统稳定运行具有重要作用^[11]。因此,研究低温下氨氮降解菌群的脱氮特性对于应用生物法进行污水脱氮具有重要意义。

本研究从环境中筛选获得高效的低温氨氮降解菌群,在 15 °C 下系统考察该菌群对不同氮源的氨氮降解特性,探究环境因子对其低温氨氮降解性能的影响规律,并通过氮平衡分析推测该菌群对不同氮源的

代谢途径,同时对该菌群进行群落组成解析与功能预测,以期氨氮降解菌群在低温污水处理中的技术应用和降本增效提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 样品来源

用于菌群筛选的样品来自污水处理厂和自然环境(表 1)。

表 1 菌群筛选的样品来源及其类型

Tab. 1 Sample sources and types for microbial community screening

样品名称	来源	类型
JJ	山东某造纸公司	硝化废水
CZ	天津市陈塘庄	绿道公园土壤
HY	石家庄市某污水处理厂	活性污泥
SJ	天津市城区某河道	河底污泥
BX\L	天津市某水处理厂	活性污泥

1.1.2 培养基

LB 培养基: 蛋白胨 3 g, 酵母提取物 1.5 g, NaCl 3 g, (NH₄)₂SO₄ 0.5g, 蒸馏水 1 L。

氨氮降解培养基 (HN)^[12]: (NH₄)₂SO₄ 0.472 g, CH₃COONa 2.6 g, KH₂PO₄ 0.113 g, MgSO₄·7H₂O 1.0 g, 微量元素溶液 2 mL, 蒸馏水 1 L。

硝态氮降解培养基 (DM)^[12]: CH₃COONa 2.6 g, KNO₃ 0.722 g, KH₂PO₄ 0.113 g, MgSO₄·7H₂O 0.7 g, 微量元素溶液 2 mL, 蒸馏水 1 L。

混合氮源培养基 (HNDM)^[12]: CH₃COONa 2.6 g, (NH₄)₂SO₄ 0.472 g, KNO₃ 0.722 g, KH₂PO₄ 0.113 g, MgSO₄·7H₂O 0.7 g, 微量元素溶液 2 mL, 蒸馏水 1 L。

微量元素溶液^[13]: EDTA 50.0 g, ZnSO₄ 2.2 g, CaCl₂ 5.5 g, MnCl₂·4H₂O 5.06 g, FeSO₄·7H₂O 5.0 g, (NH₄)₆Mo₇O₂₄·4H₂O 1.1 g, CuSO₄·5H₂O 1.57 g, CoCl₂·6H₂O 1.61 g, 蒸馏水 1 L。

1.1.3 试剂与仪器

氨氮、总氮、硝态氮、亚硝态氮预制管试剂、COD(化学需氧量)预制管试剂,哈维森(苏州)环境科技有限公司。

DR-1900型便携式分光光度计,美国HACH公司;KN-HEA12型智能消解仪,北京科诺科仪分析仪器有限公司;JY92-IIN型超声波细胞粉碎机,宁波新芝生物科技股份有限公司;PHSJ-3F型pH计,上海仪电科学仪器股份有限公司;MLS-3750型自动蒸汽灭菌锅,日本三洋公司;MQD-P3RT型恒温恒湿振动摇床,上海旻泉仪器有限公司;Micro-17型微量离心机,赛默飞世尔科技公司;PL3002型电子天平,梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司;YT-CT-1ND型超净工作台,苏净集团苏州安泰空气技术有限公司。

1.2 方法

1.2.1 菌群的富集筛选和驯化

取上述污泥、水样和土壤各10 mL(g)分别加入90 mL无菌水,在180 r/min、30 °C摇床中混合2 h后,取10 mL样品加入90 mL LB培养基中,180 r/min、15 °C富集培养1 d后转入HN培养基,每隔1 d取10 mL菌液接种至新鲜HN培养基中继续培养。连续驯化7代后,取10 mL菌液接种至90 mL灭菌HN培养基中,培养24 h后取样,使用分光光度法测定600nm处吸光度(A_{600}),离心后取上清液,使用试剂盒检测氨氮质量浓度。

1.2.2 氨氮和硝态氮的降解性能

从6个样品中筛选出降解效果最佳的菌群JJ。为了分析菌群JJ以不同氮源生长时的脱氮特性,按5%接种量将菌群JJ接种至灭菌后的HN培养基、DM培养基和HNDM培养基中,180 r/min、15 °C摇床培养,固定时间取样,使用分光光度法测定 A_{600} ,离心后取上清液,使用试剂盒检测溶解性总氮(TDN)、硝态氮(NO_3^- -N)、亚硝态氮(NO_2^- -N)、氨氮(NH_4^+ -N)和COD浓度。

1.2.3 不同环境因子对菌群JJ脱氮性能的影响

按5%接种量将菌群JJ接种至灭菌的HN培养基中,基础培养条件为:碳源采用无水乙酸钠(碳氮比为20),初始pH为7.0,培养温度15 °C,摇床转速180 r/min。为探究不同环境因子对菌群脱氮性能的影响,分别考察初始pH(5.0~11.0)、碳源类型(琥珀酸钠、柠檬酸钠、乙酸钠、葡萄糖和蔗糖)、碳氮比(C/N, 10~30)、摇床转速(50~220 r/min)、培养温度(10~30 °C)、初始氨氮质量浓度(100、200、400、600、800 mg/L)条件下菌群的脱氮性能。培养过程

中每隔12 h取样一次,使用分光光度法测定 A_{600} ,离心后取上清液,使用试剂盒检测氨氮质量浓度,系统研究环境因子对菌群脱氮性能的影响规律。

1.2.4 氮平衡分析

按5%接种量将菌群JJ接种至灭菌的HN培养基、DM培养基和HNDM培养基中,180 r/min、15 °C培养36 h,分别于培养初始(0 h)和培养结束时(36 h)采集样品,其中4 mL样品经10000 r/min离心3 min后,收集上清液,使用试剂盒测定 NO_3^- -N、 NO_2^- -N、 NH_4^+ -N和TDN含量;余下样品在250 W超声处理10 min后离心,取上清液,使用试剂盒测定TN(总氮)含量。同时,测定各时间点样品的 A_{600} 。细胞氮和气态氮的计算方法参考文献[14]。

1.2.5 菌群的多样性分析和功能预测

收集驯化前和驯化后且功能活性稳定的菌群样品,送至上海美吉生物检测公司,对16S rRNA的V3-V4区进行双端测序,并进行微生物组成分析。借助工具Tax4Fun对菌群的功能特征进行预测分析,再使用Welch T检验评估两组间的显著性差异,采用Benjamini-Hochberg方法对多重检验结果进行FDR校正。

2 结果与分析

2.1 高效低温氨氮降解菌群的筛选

将来自6种不同环境(污水处理系统、河道污泥等)的样品接种于以 NH_4^+ -N为唯一氮源的培养基中,在15 °C进行连续转接驯化。驯化完成后,在15 °C低温下以硫酸铵为氮源,对6种菌群进行24 h培养,并比较其氨氮去除率与生物量增长(图1),从中筛选出低温下氨氮降解能力最佳的菌群。结果表明,菌群JJ表现出显著的低温脱氮能力,在6个菌群中表现出最佳的氨氮去除率,24h时氨氮去除率分别达到79.3%,另外菌群JJ的 A_{600} 从0.274增长到1.585,基于以上结果,选择了氨氮降解能力最优的JJ菌群进行后续研究。

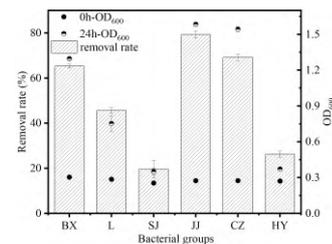
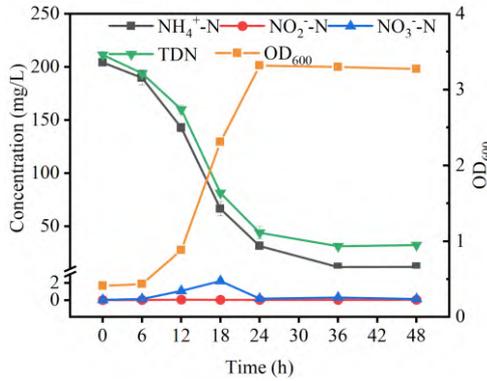


图1 不同菌群氨氮去除率和吸光度

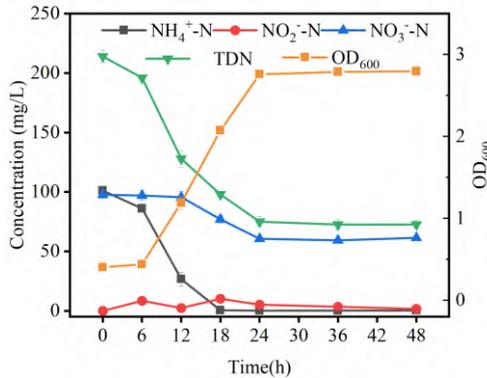
Fig. 1 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ removal rate and absorbance of different bacterial consortium

2.2 低温下的脱氮特性

为评估菌群 JJ 在低温条件下对不同形态氮源的

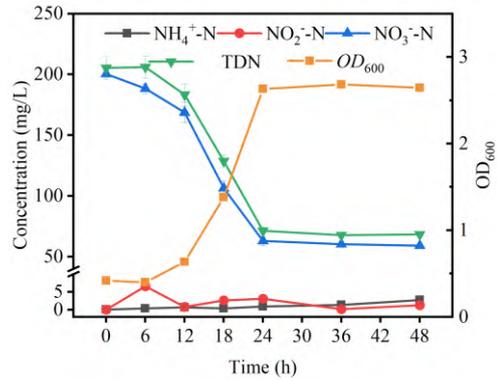


(a) 以 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 为氮源

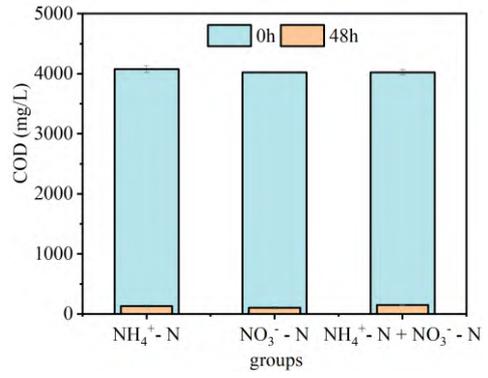


(c) 以 $\text{NH}_4^+\text{-N} + \text{NO}_3^-\text{-N}$ 为氮源

降解能力, 分别以 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 及其混合物为氮源, 在 15°C 下探究了菌群的生长特性与脱氮性能, 结果如图 2 所示。



(b) 以 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 为氮源



(d) COD 浓度变化

图 2 菌群对不同氮源的去除特性与 COD 浓度变化

Fig. 2 Removal characteristics of flora in different nitrogen sources and changes in COD concentration

由图 2 (a) 可知, 使用 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 作为唯一氮源在 15°C 下培养时, 菌群 JJ 在 6 h 后进入对数生长期, 24 h 达到稳定期。 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度在 36 h 内从 204.2 mg/L 降至 11.8 mg/L, 去除率达 94.22%, 显著高于 *Rhizobium* sp. WS7 (1.49 mg/L/h)^[15] 和 *Pseudomonas tolaasii* Y-11 (2.04 mg/L/h)^[16] 在 15°C 的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 去除速率。溶解性总氮 (TDN) 平均去除速率为 4.97 mg/L/h, 去除率达 84.7%。此外在 12-18 h 观察到 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 短暂性积累后逐渐降低, 表明菌群具有异养硝化-反硝化的潜在能力。

由图 2 (b) 可知, 当以 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 为单一氮源时 (图 2b), $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 在 36 h 内的平均去除速率为 3.89 mg/L/h, 高于许多以往报道的细菌, 例如 *Paracoccus denitrificans* XW11 (3.78 mg/L/h)^[17] 和 *Acinetobacter*

*pittii*J08 (2.70 mg/L/h)^[18]。 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 的积累通常被视为反硝化过程发生的标志, 实验过程中在 6 h 检测到 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 浓度峰值 (6.60 mg/L), 表明菌群在此时发生了好氧反硝化作用。此外 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度在实验后期略有升高, 可能与异化 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 还原、同化 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 还原^[19] 或实验中细胞死亡分解有关^[16]。综合分析表明, 菌群 JJ 在低温下表现出良好的 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 去除能力。

为进一步探究菌群 JJ 在低温条件下对氮源的综合利用能力, 将 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 按 1:1 比例混合, 在 15°C 下进行培养。由图 2 (c) 可知, 菌群 JJ 表现出明显的氮源利用偏好性: 优先降解 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ (18 h 内从 101.2 mg/L 降至 0.5 mg/L), 待 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 去除率达 73.64% 后才开始显著降解 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 。这种序贯式氮源利用模式与 *Glutamicibacter* sp. WS1^[20] 相似。此外

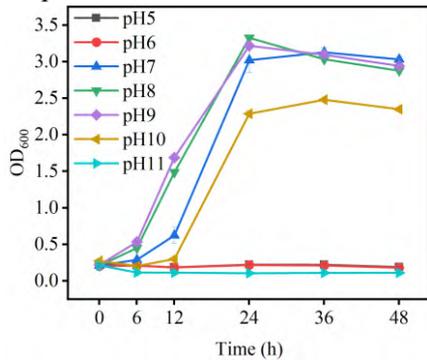
NO_2^- -N 在过程中出现积累,随后逐渐被去除,18 h 时浓度达到峰值 10.25 mg/L,高于体系中仅有 NH_4^+ -N/ NO_3^- -N 为初始氮源时的积累浓度,表明 NO_3^- -N 对某些氨氧化细菌产生了抑制作用导致 NO_2^- -N 的转化速率变慢,促使了 NO_2^- -N 的积累。

由图 2 (d) 可知,在以 NH_4^+ -N、 NO_3^- -N 及其混合形式为氮源的实验中,随着氮源浓度的下降,菌群 JJ 分别消耗了 96.79%、97.44%和 96.32%的 COD。综上所述,菌群 JJ 在 15 °C 下可有效利用不同形式的氮源,展现出异养脱氮功能,这有助于其在多变的水体环境中保持良好的适应性。

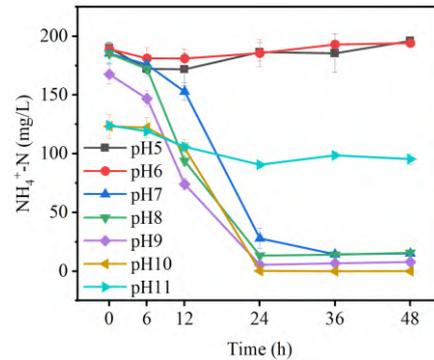
2.3 不同环境因子对菌群 JJ 氨氮降解性能的影响

2.3.1 pH

pH 不仅影响氨氮在水体中的形态分布,还会改变微生物氮代谢相关酶的活性和结构稳定性,同时可通过改变细胞膜的电化学梯度调节微生物的生长和代谢过程^[21]。pH 对菌群 JJ 生长和脱氮性能的影响如



(a) A_{600} 变化



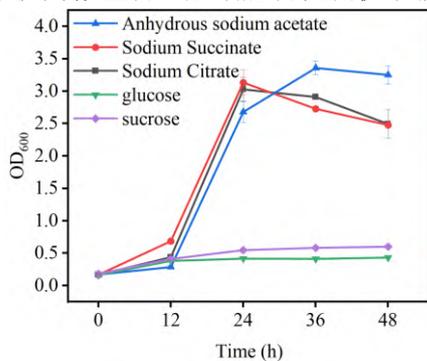
(b) NH_4^+ -N 浓度变化

图 3 pH 对菌群 JJ 生长和脱氮性能的影响

Fig. 3 Effect of pH on the growth and nitrogen removal performance of JJ

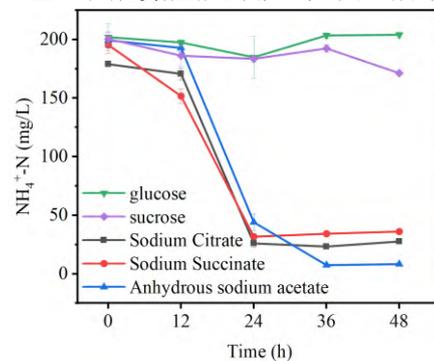
2.3.2 碳源

碳源不仅为微生物合成细胞物质提供了碳骨架,



(a) A_{600} 变化

同时也为硝化反硝化过程提供了电子供体^[25]。碳源对菌群 JJ 生长和脱氮性能的影响如图 4 所示。



(b) NH_4^+ -N 浓度变化

图 4 碳源对菌群 JJ 生长和脱氮性能的影响

Fig. 4 Effect of carbon sources on the growth and nitrogen removal performance of JJ

在以无水乙酸钠为唯一碳源时氨氮去除率和 A_{600} 达到最高, 分别为 95.8% 和 3.36, 其次为柠檬酸钠(氨氮去除率为 84.5%)、丁二酸钠(氨氮去除率为 81.5%)。葡萄糖和蔗糖的利用效率很低, 可能是受到不同碳源的分子结构和化学性质影响^[14]。已有研究^[26]表明, 异养脱氮微生物普遍倾向于利用有机酸盐进行生长代谢, 这可能是由于有机酸盐具有相对简单的分子结构, 能够直接参与三羧酸循环, 从而更高效地生成 ATP 为细胞生长提供能量支持, 因此丁二酸钠与柠檬酸钠在 12~24 h 的生物量和氨氮去除率高于乙酸钠。然而, 随着培养时间延长, 乙酸钠在实验结束时对氨氮的去除率和最大 A_{600} 均超过了前两者, 且乙酸钠的成本低于丁二酸钠, 综合考虑到氨氮降解效果和成本效益, 因此选择乙酸钠为最佳碳源。

2.3.3 碳氮比

碳氮比 (C/N) 是影响微生物脱氮的重要因素。通过改变培养基中的无水乙酸钠含量来控制 C/N, 探

究 C/N 对脱氮性能的影响, 结果如图 5 所示。在一定范围内菌群的生物量和氨氮去除速率随着 C/N 的升高均呈现升高的趋势。当 C/N 为 10 时, 菌群的最大 A_{600} 为 2.10, 氨氮去除率为 62.6%, 表明菌群 JJ 在低 C/N 下也具有较强的脱氮能力, C/N 为 15 时菌群 A_{600} 增加到 2.91, 氨氮去除率达到 84.8%; C/N 达到 20 时, 菌体最大 A_{600} 值为 3.32, 氨氮去除率高达 98%; 当 C/N 进一步增加到 25 和 30 时, 菌群的氨氮去除率(均达到 99.9%)和生物量(A_{600} 分别为 3.58 和 3.79)相比于 C/N 为 20 时均有所提高, 但 C/N 过高时容易导致碳源过剩, 不仅增加培养成本, 还可能改变功能菌群的群落结构^[27]。因此, C/N 为 20 为最佳培养条件。实验结果表明, 15 °C 低温条件下, 当 C/N 为 15-30 时, 菌群 JJ 具有良好的生长和脱氮效果, 说明该菌群能适应不同有机质浓度的环境, 并具备耐受较高浓度有机碳的能力。

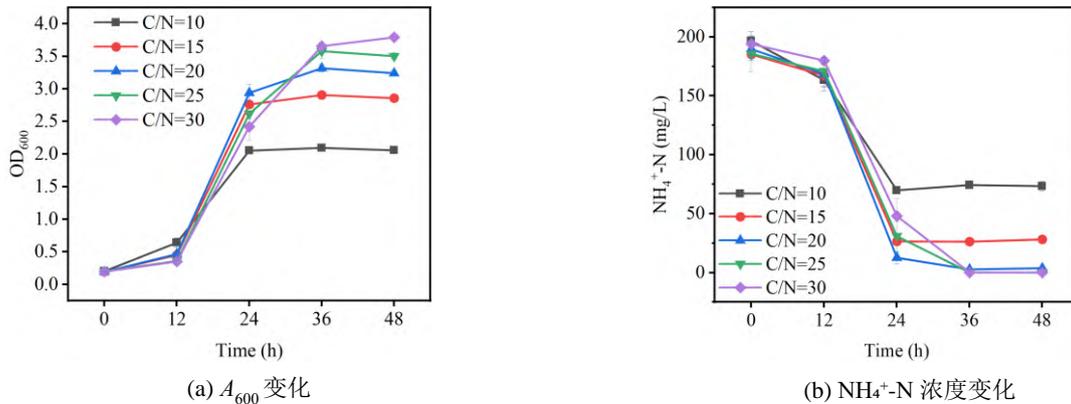


图 5 碳氮比对菌群 JJ 生长和脱氮性能的影响

Fig. 5 Effect of C/N on the growth and nitrogen removal performance of JJ

2.3.4 转速

溶解氧 (DO) 在微生物生长过程中不仅作为电子受体发挥关键作用, 而且对反硝化酶的活性具有重要影响^[28], 因此维持适宜的 DO 水平是实现高效脱氮的必要条件。通过调节摇床转速以改变培养基的 DO 水平, 探究不同 DO 水平对菌群 JJ 脱氮效果的影响, 结果如图 6 所示。当转速为 50 r/min 时, 氨氮去除率仅为 4.1%, 推测主要由于转速较低导致氧气传质效率不足, 培养基中溶解氧供应受限, 抑制了氨氮的去除; 随着转速增加到 100 r/min, 氨氮去除率显著提升, 达到 84.5%, 相比 50 r/min 时提高了 80.4%; 在转速

进一步增大到 150~220 r/min 范围内时, 氨氮去除率均超过 91%, A_{600} 峰值在 3.10~3.32 之间。这主要原因是高转速加快了氧气的溶解提高了传质速率^[29], 加速了体系中氨氮的去除过程。然而过高的 DO 水平通常需要更大的曝气强度来维持, 而曝气成本通常占生物处理技术运行成本的比重较大, 因此菌群 JJ 培养的最佳转速选择为 180 r/min, 对应溶解氧约为 6.5 mg/L。

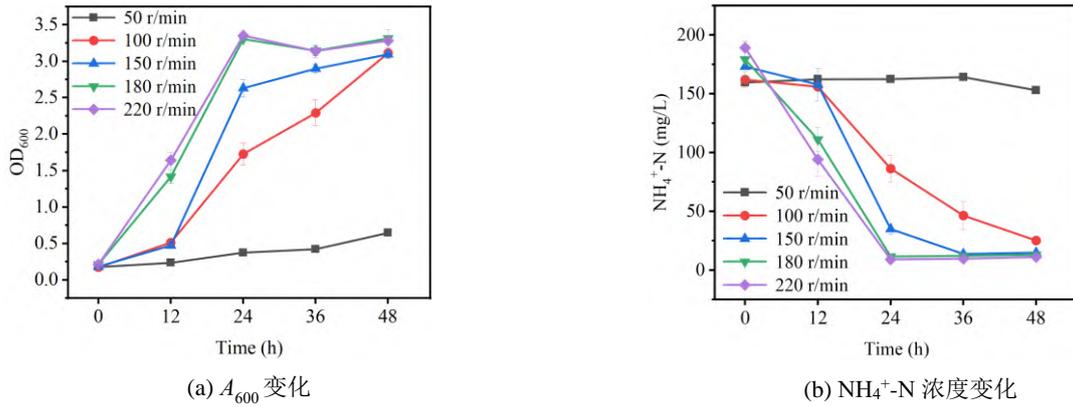


图 6 转速对菌群 JJ 生长和脱氮性能的影响

Fig. 6 Effect of rotational speed on the growth and nitrogen removal performance of JJ

2.3.5 温度

温度通过影响关键酶的活性和细胞膜流动性调节微生物的生长速率和新陈代谢^[30]。温度对菌群 JJ 生长和脱氮性能的影响如图 7 所示。在 10℃低温条件下, 菌群表现出较长的生长延滞期, 12 h 时的生物量 ($A_{600}=0.60$) 显著低于 15~30℃条件下的水平, COD 去除在 12 h 和 24 h 时段同样表现出较低的效率。然而在培养结束时, 菌群在 10℃条件下仍达到了较高的生物量 ($A_{600}=3.08$) 和氨氮去除率 (91.14%), 与

15℃条件下的脱氮效率 (91.10%) 相当。20℃氨氮去除率略有下降, 随着温度升高到 30℃, 最大生物量略有降低, 但氨氮降解率仍有 70.01%, 说明菌群 JJ 在 10-20℃范围内对氨氮具有较好的利用能力, 而 30℃可能对其生长和代谢产生抑制作用。因此, 最佳培养温度为 15℃。菌群 JJ 在中低温条件下展现出较强的脱氮潜力, 具有在中低温环境中应用的良好前景。

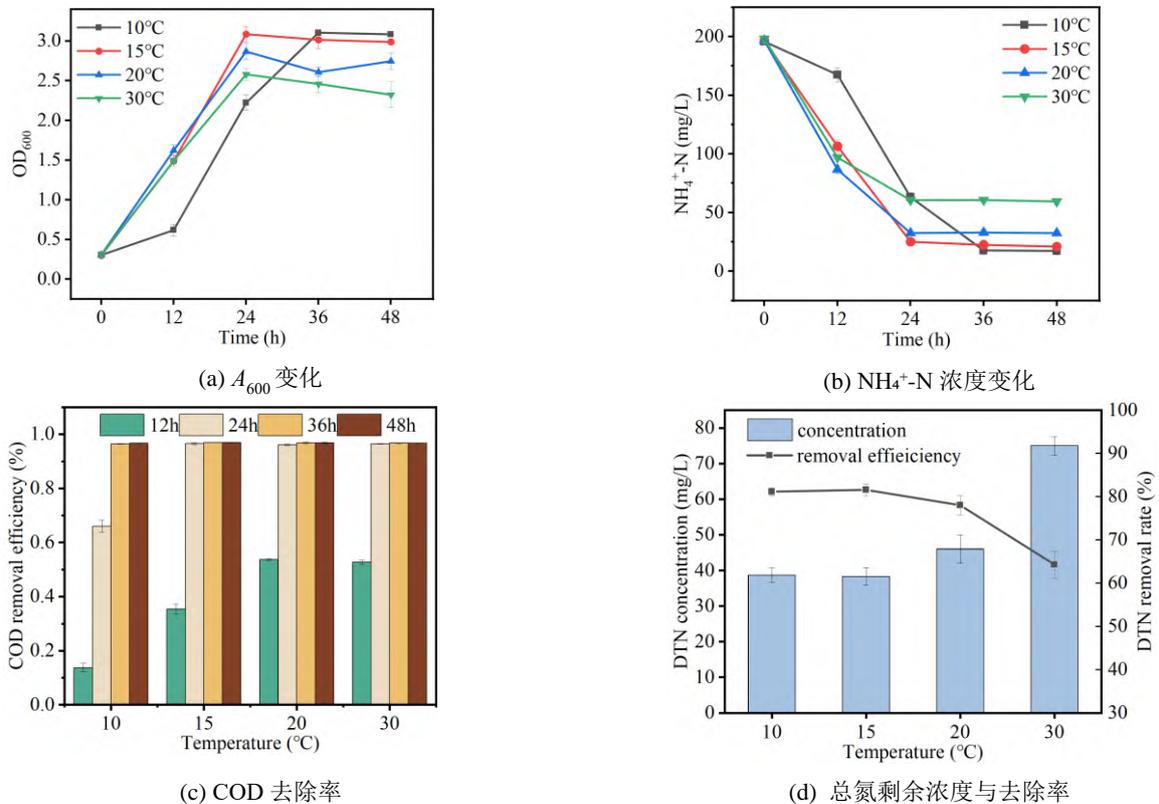


图 7 温度对菌群 JJ 生长和脱氮性能的影响

Fig. 7 Effect of temperature on the growth and nitrogen removal performance of JJ

2.3.6 氨氮质量浓度去除效果

在 15 °C 下, 菌群 JJ 对不同浓度氨氮的降解如图 8 所示。当初始氨氮质量浓度为 100~800 mg/L 时, A_{600} 先上升后略微下降, 600 mg/L 时 A_{600} 达到最大值, 为 6.62; 氨氮去除率呈逐步下降的趋势, 当初始氨氮质量浓度为 100、200 mg/L 时, 氨氮去除率分别达到 99.8% 和 98.1%; 随着氨氮质量浓度升高, 氨氮去除率虽有下降, 但在浓度为 800 mg/L 时, 仍维持 43.4% 的去除率。这些结果表明菌群 JJ 在低温下仍具有较宽的氨氮质量浓度适应范围, 表现出较强的高氨氮耐受能力, 为其在实际废水处理中的潜在应用优势提供了依据。

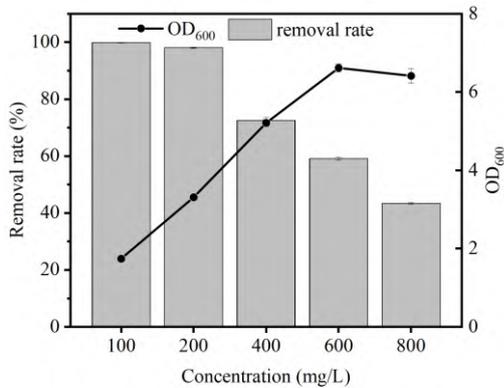


图 8 菌群 JJ 对不同浓度氨氮的降解

Fig. 8 Degradation of ammonia nitrogen at different concentrations by JJ

2.4 氮平衡分析

通过氮平衡实验分析了菌群 JJ 在不同氮源条件下的氮代谢情况 (图 9), 以 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 为唯一氮源培养 36h 后, 菌群 JJ 在 36h 内将 81.16% 的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 通过同化作用转化为了细胞氮, 其同化效率显著高于另外两种氮源条件, 相比于 $\text{NO}_3^-\text{-N}$, 菌群 JJ 更容易同化利用 $\text{NH}_4^+\text{-N}$, 相似的结果见于 *Pseudomonas putida* Y-9^[31]。此外, 约有 13.64% 的初始 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 转化为气态氮, 可见菌群 JJ 以 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 为氮源通过异养硝化作用产生 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 后, 再通过好氧反硝化作用生成了气态氮。结果表明菌群 JJ 转化 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的主要途径是同化作用, 同时也具备异养硝化-好氧反硝化功能。当以 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 为唯一氮源时, 约有 63.62% 的初始氮转化为细胞氮, 有 6.18% 的初始氮被转化为气态氮在系统中被去除。结果表明, 菌群 JJ 也主要通过同化作用转化 $\text{NO}_3^-\text{-N}$, 同时具有好氧反硝化功能。以 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 为氮源培养结束时的细胞氮占培养基初始

氮的 41.48%, 显著低于以 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 为唯一氮源培养时的同化效率, 表明当培养基中 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 共存时, 菌群 JJ 主要通过同化作用去除大量的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和少量的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 。

综上所述, 菌群 JJ 在 15 °C 时主要通过同化作用去除 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$, 同时具备异养硝化和好氧反硝化能力, 相比于 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 更倾向于吸收 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 参与合成细胞, 表现出明显的氮源选择性。

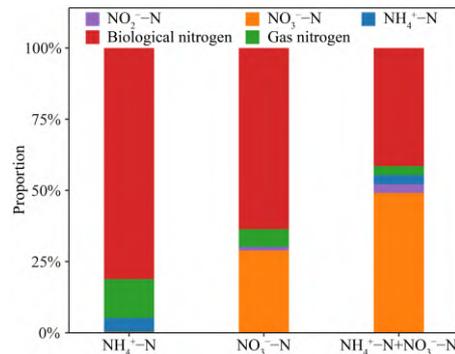


图 9 菌群 JJ 在不同氮源条件下不同形态氮的比例

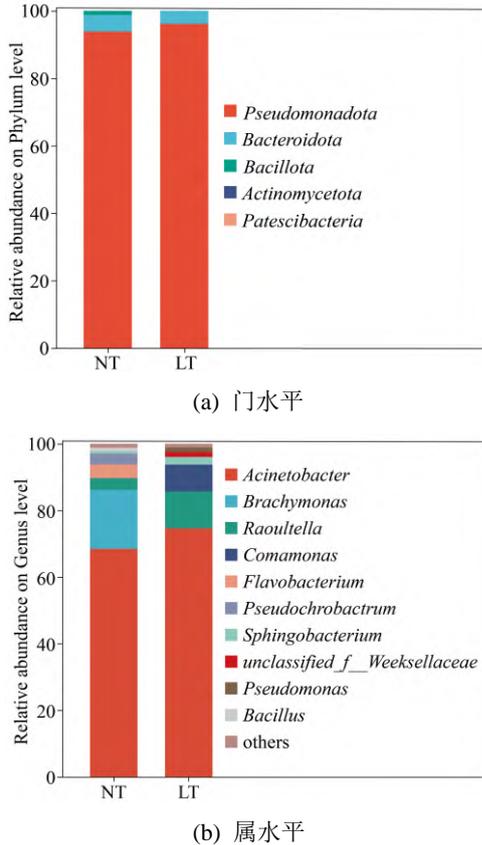
Fig. 9 The proportion of different nitrogen forms in JJ under different nitrogen source conditions

2.5 群落组成分析与代谢功能

对菌群 JJ 进行了低温驯化前后的多样性分析, 从门水平组成来看 (图 10a), 驯化前菌群 JJ 的主要菌门为假单胞菌门 (*Pseudomonadota*) [旧名: 变形菌门 (*Proteobacteria*)^[32]与拟杆菌门 (*Bacteroidota*)。驯化后, 假单胞菌门的相对丰度有所上升。假单胞菌门是污水处理系统中最普遍的微生物门类, 在有机物降解和氮循环过程中发挥关键作用^[33], 本研究观察到假单胞菌门丰度的上升说明其在低温脱氮处理中发挥着重要的作用。另一优势菌门拟杆菌门同样是重要的脱氮细菌, 在驯化过程中相对丰度略有下降。图 10b 显示了属水平的群落组成差异。不动杆菌属 (*Acinetobacter*) 在驯化前后始终占据主导地位, 且经过低温富集后相对丰度从 68.4% 上升至 74.6%。不动杆菌属是一种典型具有脱氮功能的菌属, 能够在转化去除氮的同时实现磷的去除^[34], 例如 *Acinetobacter* sp. Z1 在 10 °C 条件下对氨氮和磷的去除效果可达 95% 以上^[35]。拉乌尔菌属 (*Raoultella*)、丛毛单胞菌属 (*Comamonas*)、鞘氨醇杆菌属 (*Sphingobacterium*) 和假单胞菌属 (*Pseudomonas*) 的相对丰度增加, 虽然拉乌尔菌属在低温条件下的脱氮功能尚未见报道, 但其丰度的增加暗示了低温环境中微生物群落可能

通过协同代谢机制实现氮的降解^[36]。相反, 短单胞菌属 (*Brachymonas*)、黄杆菌属 (*Flavobacterium*)、假苍白杆菌属 (*Pseudochrobactrum*) 和芽孢杆菌属 (*Bacillus*) 的相对丰度在富集后下降, 表明这些菌属可能对低温的适应性相对较差。

综上所述, 低温驯化显著改变了菌群 JJ 的群落结构, 促进了具有低温脱氮功能菌属的富集, 为深入理解低温生物脱氮机制提供了重要依据。



注: NT 和 LT 分别代表驯化前和驯化后

图 10 菌群 JJ 中细菌在门和属水平相对丰度图

Fig. 10 Relative abundances of bacteria in the JJ at phylum and genus levels

菌群 JJ 的 KEGG Level 3 功能差异如图 11 所示, 展示了菌群 JJ 在低温驯化前后的主要代谢通路变化。由图 11 可知, 双组分系统、碳代谢、群体感应与脂肪酸降解通路差异不显著, 而次级代谢产物的生物合成、氨基酸生物合成、丙酮酸代谢与丁酸代谢等多个代谢通路发生了显著变化。其中, 脂肪酸代谢通路的相对丰度在驯化后显著升高, 提示该通路可能通过为细胞提供额外的能量和碳源, 以及调节细胞膜的流动性, 增强微生物对低温环境的适应能力。此外, ABC 转运蛋白通路在驯化后亦显著上调, 该类转运系统可

介导多种底物的跨膜转运, 在提高微生物的抗逆性中起到重要作用^[37]。综上所述, 低温富集驯化显著改变了菌群的代谢功能, 部分代谢通路的变化可能参与了微生物对低温胁迫的响应过程。

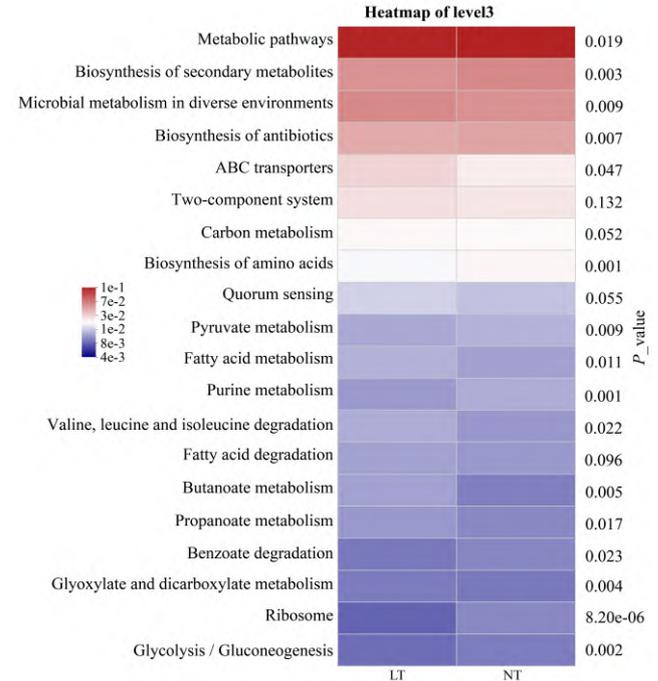


图 11 菌群 JJ 的 KEGG Level 3 功能差异

Fig. 11 Functional differences in KEGG level 3 in JJ

3 结论

本研究在 15 °C 富集驯化获得了具有高效氨氮降解能力的菌群 JJ, 系统探究了该菌群在 15 °C 时对不同氮源的代谢特性, 分析了环境参数对其脱氮性能的影响, 解析了驯化过程中的群落演替规律, 并结合氮平衡分析与功能预测揭示了其低温脱氮机制。研究表明: 菌群 JJ 在 15 °C 时对 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 及混合氮源均表现出高效去除能力, 在 pH 为 7, 以无水乙酸钠为碳源、C/N 为 20、溶解氧 6.5 mg/L、温度 15 °C 时, 菌群 JJ 能够实现最优的氨氮去除效率和生物量积累, 且能够耐受高氨氮负荷 (>200 mg/L)。代谢途径分析表明, 同化与异养硝化-好氧反硝化的协同效应是其低温脱氮的主要途径。群落分析显示, *Pseudomonadota* 门的 *Acinetobacter* 属在驯化前后均为优势菌属, 其相对丰度从 68.4% 提升至 74.6%。功能预测显示该菌群能够通过调控脂肪酸代谢等通路增强低温适应性。本研究为寒冷地区污水处理系统中高效脱氮菌群的筛选与应用提供了理论依据和实践参考。

参考文献:

- [1] KUYPERS M MM, MARCHANT H K, KARTAL B. The microbial nitrogen-cycling network[J]. Nature reviews. microbiology, 2018, 16(5): 263-276.
- [2] 黄声宇, 吴小琼, 赵全保, 等. 吹脱法处理高浓度氨氮废水研究进展[J]. 工业水处理, 2024, 44(9): 31-40.
- [3] SHI Y, HU Y, LIANG D, et al. Enhanced denitrification of sewage via bio-microcapsules embedding heterotrophic nitrification-aerobic denitrification bacteria *Acinetobacter pittii* SY9 and corn cob[J]. Bioresource technology, 2022, 358: 127260.
- [4] HUANG F, PAN L, LV N, et al. Characterization of novel *Bacillus* strain N31 from mariculture water capable of halophilic heterotrophic nitrification-aerobic denitrification[J]. Journal of bioscience and bioengineering, 2017, 124(5): 564-571.
- [5] SONG T, ZHANG X, LI J, et al. A review of research progress of heterotrophic nitrification and aerobic denitrification microorganisms (HNADMs)[J]. Science of the total environment, 2021, 801: 149319.
- [6] ZHA X, MA J, LU X. Use of a low-cost and energy-efficient device for treating low-strength wastewater at low temperatures focusing on nitrogen removal and microbial community[J]. Science of the total environment, 2020, 722: 137916.
- [7] YANG J, XIE X, MIU Y, et al. Isolation and characterization of a cold-tolerant heterotrophic nitrification-aerobic denitrification bacterium and evaluation of its nitrogen-removal efficiency[J]. Environmental research, 2023: 117674.
- [8] GAO Y J, ZHANG T, HU L K, et al. Denitrification characteristics of the low-temperature tolerant denitrification strain *Achromobacterspiritus* HS2 and its application[J]. Microorganisms, 2024, 12(3): 451.
- [9] 孙菲, 方金武, 蔡昌凤, 等. 好氧反硝化菌群的筛选及其培养条件的研究[J]. 安徽工程科技学院学报(自然科学版), 2010, 25(2): 36-39.
- [10] 刘玉香, 王瑶, 李屹, 等. 复合异养脱氮菌群脱氮性能研究[J]. 太原理工大学学报, 2012, 43(4): 421-424.
- [11] XI H, ZHOU X, ARSLAN M, et al. Heterotrophic nitrification and aerobic denitrification process: promising but a long way to go in the wastewater treatment[J]. The science of the total environment, 2022, 805: 150212.
- [12] ROUT P R, BHUNIA P, DASH R R. Simultaneous removal of nitrogen and phosphorous from domestic wastewater using *Bacillus cereus* GS-5 strain exhibiting heterotrophic nitrification, aerobic denitrification and denitrifying phosphorous removal[J]. Bioresource technology, 2017, 244(Pt 1): 484-495.
- [13] 朱婉瑜, 侍浏洋, 赵维, 等. Zn(II)对好氧反硝化菌 *Acinetobacter* sp. JR-142 的代谢活性影响[J]. 微生物学报, 2022, 62(1): 275-290.
- [14] XIA L, LI X, FAN W, et al. Heterotrophic nitrification and aerobic denitrification by a novel *Acinetobacter* sp. ND7 isolated from municipal activated sludge[J]. Bioresource technology, 2020, 301: 122749.
- [15] WEI B, LUO X, MA W, 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.
- [16] 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.
- [17] WU Y, CUI Y, LI D, et al. Fulvic acid mediated highly efficient heterotrophic nitrification-aerobic denitrification by *Paracoccus denitrificans* XW11 with reduced C/N ratio[J]. Water research, 2024, 267: 122557.
- [18] OU J, XIE Q, ZHONG Z R, et al. Genomic analysis and metabolic characteristics provide insights into inorganic nitrogen metabolism of novel bacterium *Acinetobacter pittii* J08[J]. Bioresource technology, 2024, 408: 131228.
- [19] 杨丽, 何腾霞, 张漫漫, 等. 好氧反硝化细菌碳氮代谢特点及途径的研究进展[J]. 微生物学报, 2022, 62(12): 4781-4797.
- [20] 魏渤惠, 罗晓, 吕鹏翼, 等. 高效异养硝化-好氧反硝化菌 *Glutamicibacter* sp. WS1 低温下对多种氮源的脱氮特性及氮代谢机制[J]. 环境科学, 2023, 44(9): 5006-5016.
- [21] YUE X, LIU H, WEI H, et al. Reactive and microbial inhibitory mechanisms depicting the panoramic view of pH stress effect on common biological nitrification[J]. Water research, 2023, 231: 119660.

- [22] LIU Y, NGO H H, GUO W, et al. The roles of free ammonia (FA) in biological wastewater treatment processes: a review[J]. *Environment international*, 2019, 123: 10-19.
- [23] WANG L, CHEN C, TANG Y, et al. A novel hypothermic strain, *Pseudomonas reactans* WL20-3 with high nitrate removal from actual sewage, and its synergistic resistance mechanism for efficient nitrate removal at 4 °C [J]. *Bioresource technology*, 2023, 385: 129389.
- [24] CHEN H, ZHOU W, ZHU S, et al. Biological nitrogen and phosphorus removal by a phosphorus-accumulating bacteria *Acinetobacter* sp. strain C-13 with the ability of heterotrophic nitrification-aerobic denitrification[J]. *Bioresource technology*, 2021, 322: 124507.
- [25] OUYANG L, WANG K, LIU X, et al. A study on the nitrogen removal efficacy of bacterium *Acinetobacter tandoii* MZ-5 from a contaminated river of Shenzhen, Guangdong Province, China[J]. *Bioresource technology*, 2020, 315: 123888.
- [26] HOU P, SUN X, FANG Z, et al. Simultaneous removal of phosphorous and nitrogen by ammonium assimilation and aerobic denitrification of novel phosphate-accumulating organism *Pseudomonas chloritidismutans* K14[J]. *Bioresource technology*, 2021, 340: 125621.
- [27] GU X, LENG J, ZHU J, et al. Influence mechanism of C/N ratio on heterotrophic nitrification- aerobic denitrification process[J]. *Bioresource technology*, 2022, 343: 126116.
- [28] ZHENG M, HE D, MA T, et al. Reducing NO and N₂O emission during aerobic denitrification by newly isolated *Pseudomonas stutzeri* PCN-1[J]. *Bioresource technology*, 2014, 162: 80-88.
- [29] ZHAO B, CHENG D Y, TAN P, et al. Characterization of an aerobic denitrifier *Pseudomonas stutzeri* strain XL-2 to achieve efficient nitrate removal[J]. *Bioresource technology*, 2018, 250: 564-573.
- [30] 单潇清, 武继文, 尤世界, 等. 低温菌剂在农村粪污及污水处理中的研究进展[J]. *环境科学与技术*, 2024, 47(10): 109-116.
- [31] HUANG X, JIANG D, NI J, et al. Removal of ammonium and nitrate by the hypothermia bacterium *Pseudomonas putida* Y-9 mainly through assimilation[J]. *Environmental technology & innovation*, 2021, 22: 101458.
- [32] OREN A, GARRITY G M. Valid publication of the names of forty-two phyla of prokaryotes[J]. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 2021, 71(10).
- [33] 倪千涵, 马涛, 陈滢, 等. 低温下复合菌剂处理生活污水效果对比[J]. *应用与环境生物学报*, 2023, 29(4): 829-835.
- [34] CHEN Z, HU Y, QIU G, et al. Genomics and metabolic characteristics of simultaneous heterotrophic nitrification aerobic denitrification and aerobic phosphorus removal by *Acinetobacter indicus* CZH-5[J]. *Bioresource technology*, 2024, 395: 130322.
- [35] 赵紫荆, 张玉, 周集体. 菌株 *Acinetobacter* sp. Z1 低温脱氮除磷性能及氮磷转化途径[J]. *大连理工大学学报*, 2023, 63(2): 261-272.
- [36] ZHOU L, ZHANG X, ZHANG X, et al. Insights into the carbon and nitrogen metabolism pathways in mixed-autotrophy/heterotrophy anammox consortia in response to temperature reduction[J]. *Water research*, 2025, 268: 122642.
- [37] 刘艳青, 赵永芳. ABC 转运蛋白结构与转运机制的研究进展[J]. *生命科学*, 2017, 29(3): 223-229.