

一株贝氏不动杆菌的脱氮特性及 废水处理研究

颜家静, 廖钰婷, 桂元, 刘根侨, 李仲玄, 王川*
(四川轻化工大学食品与酿酒工程学院, 四川自贡 643000)

摘要:从活性污泥中筛选出一株具备高效异养硝化-好氧反硝化能力的菌株,并深入研究其脱氮性能及实际应用潜力。最终筛选出一株高效异养硝化-好氧反硝化菌株 NM3, 鉴定为贝氏不动杆菌(*Acinetobacter baylyi*)。该菌株优先利用氨氮, 降解过程无硝态氮累积。在丁二酸钠为碳源、C/N 质量比=14、32℃、pH=7.82 最优条件下, 氨氮去除率达 97.37%, 对猪场、水产养殖废水氨氮去除率分别为 77.14%、86.67%, 具备良好的废水处理应用潜力。

关键词: 贝氏不动杆菌; 异养硝化; 脱氮特性; 氨氮去除; 废水处理

中图分类号: X703; X172

文献标志码: A

文章编号: 0253-4320(2026)S1-0131-08

DOI: 10.16606/j.cnki.iissn0253-4320.2026.S1.023

Study on denitrification characteristics and wastewater treatment of a strain of *Acinetobacter baylyi*

YAN Jia-jing, LIAO Yu-ting, GUI Yuan, LIU Gen-qiao, LI Zhong-xuan, WANG Chuan*

(School of Food and Liquor Engineering, Sichuan University of Science & Engineering, Zigong 643000, China)

Abstract: A strain with high-efficiency heterotrophic nitrification-aerobic denitrification capacity was isolated from activated sludge, and its nitrogen removal performance and practical application potential were investigated in depth. Eventually, a high-efficiency heterotrophic nitrification-aerobic denitrification strain, designated as NM3, was screened out and identified as *Acinetobacter baylyi*. This strain preferentially utilizes ammonia nitrogen, with no accumulation of nitrate nitrogen during the degradation process. Under the optimal conditions of sodium succinate as the carbon source, C/N ratio of 14, temperature of 32℃ and pH of 7.82, the ammonia nitrogen removal rate reached 97.37%. Moreover, it achieved ammonia nitrogen removal rates of 77.14% and 86.67% for piggery wastewater and aquaculture wastewater respectively demonstrating favorable application potential in wastewater treatment.

Key words: *Acinetobacter baylyi*; heterotrophic nitrification; denitrification characteristics; ammonia nitrogen removal; wastewater treatment

氮是导致水体富营养化的主要元素之一,过量氮引发的氮污染会破坏水体生态系统,如藻类大量繁殖、水体缺氧、鱼类死亡等,进而影响整个生态系统的平衡和人类的生存环境。因此,如何高效、经济地去除水体中的过量氮成为环境科学研究的热点和难点问题。

脱氮方法主要包括物理化学法和生物法。物理化学法虽然具有处理速度快、效果显著等优点,但往往伴随着高成本、易产生二次污染等问题。生物脱氮法因其成本低、环境友好、可持续性等优点而备受关注。生物脱氮主要依赖于微生物的代谢作用,通过硝化和反硝化等过程将水体中的氨氮和

硝态氮转化为氮气,从而实现氮的去除^[1]。在众多参与脱氮过程的微生物中,异养硝化-好氧反硝化(Heterotrophic Nitrifying-Aerobic Denitrifying, HN-AD)菌株是一类能够在好氧条件下同时进行硝化和反硝化反应的微生物,HN-AD菌能同时完成硝化和反硝化过程,减少了工艺复杂性,降低了能耗和基建费用^[2]。

常见的 HN-AD 菌有芽孢杆菌属、假单胞菌属、产碱杆菌属、副球菌属、不动杆菌属等。其中,不动杆菌具有较强的异养硝化和好氧反硝化能力,在处理含氮污染物时表现出高效的脱氮能力^[3-4],不动杆菌对环境的耐受性强,能够在不同水质条件下发

收稿日期:2025-12-26;修回日期:2026-03-09

基金项目:四川轻化工大学“652”科研创新团队计划(SUSE652B003)

作者简介:颜家静(2000-),女,硕士生,研究方向为生物技术与工程,1418682834@qq.com;王川(1970-),男,博士,教授,研究方向为微生物合成生物学及生物反应器和畜禽及水产养殖废弃物废水处理,通讯联系人,watpc57944@163.com。

挥作用,包括贫营养水体。不动杆菌在脱氮过程中只产生氮气,不产生温室气体 N_2O ,对环境友好,使用不动杆菌进行脱氮处理通常只需要一个好氧过程,操作和维护简便,因此不动杆菌被广泛应用于循环水养殖系统和养殖尾水的脱氮处理^[5-6]。

不动杆菌稳定性和持续性可能受到环境因素的影响,因此寻找具有独特脱氮性能的不动杆菌仍是处理一些特殊废水的有效途径,不动杆菌在这些实际水体的复杂环境中的适应性和脱氮效率仍需进一步研究。

本研究从活性污泥中分离了一株具有较强异养硝化-好氧反硝化功能的贝氏不动杆菌,通过研究其脱氮能力和环境及营养因素对该不动杆菌生长及脱氮的影响,确定最适脱氮条件,为其应用于污水处理提供参考。

1 材料与试剂

1.1 样品来源

菌株分离样品采自内蒙古地区某酒厂废水处理的活性污泥。

1.2 培养基

(1) LB 培养基(g/L):蛋白胨 10 g,酵母浸粉 5 g,氯化钠 10 g。

(2) BTB-反硝化培养基(g/L):硝酸钾 1.0 g,丁二酸钠 2.6 g,溴百里酚蓝(BTB,1%乙醇溶液) 1 mL,磷酸二氢钾 1.2 g,硫酸镁 1.2 g,硫酸亚铁 0.9 g,氯化钙 0.1 g。

(3) 氨氮硝化培养基(g/L):硫酸铵 0.47 g,丁二酸钠 3.36 g,维氏盐溶液 100 mL。

(4) 硝酸盐反硝化培养基(g/L):硝酸钠 2 g,丁二酸钠 3.36 g,维氏盐溶液 100 mL。

(5) 亚硝酸盐反硝化培养基:亚硝酸钠 0.5 g,丁二酸钠 3.36 g,维氏盐溶液 100 mL。

(6) 维氏盐溶液(g/L):磷酸氢二钾 2.5 g,硫酸镁 1.25 g,氯化钠 1.25 g,硫酸锰 0.03 g,硫酸铁 0.03 g。

相应的固体培养基在液体培养基中加入质量分数 3%的琼脂条即可。

2 实验方法

2.1 菌株的分离与纯化

取 1 g 活性污泥样品置于 100 mL 氨氮硝化培养基中,在 30℃、150 r/min 条件下培养 48 h。取

5 mL 培养液,接入新的氨氮硝化培养基中进行富集,然后取 1 mL 富集液梯度稀释($10^{-1} \sim 10^{-8}$ 倍),将其涂布于 BTB-反硝化培养基平板,于 30℃ 下培养 48 h,挑取能使平板变蓝的单菌落进行划线分离纯化,筛选出脱氮能力较强的目的菌株。

2.2 菌株的筛选与鉴定

将筛选得到的目的菌株涂布于氨氮硝化的固体培养基中,观察平板中的菌落形态。提取目的菌株的 DNA,以细菌 16S rDNA 通用引物 27 F 和 1492 R,按以下条件进行聚合酶链式反应(PCR)反应:94℃ 预变性 5 min、94℃ 变性 30 s、54℃ 退火 30 s、72℃ 延伸 2 min、变性到延伸共 30 个循环、72℃ 终延伸 10 min。将 PCR 产物送至上海生工生物工程公司进行测序,测序结果在美国国家生物技术信息中心(NCBI)中的基本局部比对搜索工具(Blast)进行序列比对分析,然后通过 MEGA12 软件用 NJ 法构建进化树。

2.3 菌株的生长曲线

将在氨氮硝化培养基中活化的菌液,接入分别以硝酸盐、亚硝酸盐和氨氮为唯一氮源的培养基,在 30℃、120 r/min 的条件下培养,每隔 1 h 测定一次菌液 OD_{600} 值,以制作菌株生长曲线。

2.4 菌株对氮源的利用顺序

将 1 mL 活化后的菌液接种到混合氮源培养基中,培养基包含浓度均为 100 mg/L 的硝酸盐、亚硝酸盐和氨氮,于 30℃、150 r/min 的条件下培养,每隔 3 h 测定培养基中硝酸盐、亚硝酸盐和氨氮浓度,确定菌株的氮源利用顺序。再将菌株接种到以氨氮为唯一氮源的培养基中,于 30℃、150 r/min 的条件下培养,每隔 3 h 测定培养基中硝酸盐、亚硝酸盐和氨氮浓度。

2.5 菌株的脱氮条件优化

将菌株活化后接种于 100 mL 氨氮硝化培养基中,培养 24 h。设置以下单因素实验:不同碳源(丁二酸钠、乙酸钠、碳酸钙、柠檬酸钠、乳糖、葡萄糖、琥珀酸钠)、不同碳氮质量比(C/N)(1、2、4、8、12、16)、不同初始 pH(3、4、5、6、7、8、9、10)、不同温度(15、20、25、30、35、40℃)、不同转速(60、80、100、120、140 r/min)、不同接种量(2%、6%、10%、14%、18%)、不同装液量(8%、20%、40%、60%、80%)。测定培养液的氨氮含量以确定菌株脱氮的最佳条件。以上实验均设置 3 组平行。

2.6 响应面实验

以 C/N (12)、pH (7)、温度 (30℃)、装液量 (40%) 作为中心点, 响应值 (Y) 值为氨氮去除率, 设计响应面实验。具体试验设计方案如表 1 所示。

表 1 响应面实验设计

水平	因素			
	A (C/N)	B (pH)	C (温度)/℃	D (装液量)/%
1	8	6	25	20
2	12	7	30	40
3	16	8	35	60

2.7 菌株对不同废水的处理效果

将菌株活化后按 6% 接种比例分别接种于装有 50 mL 的含盐芽菜废水、水产养殖废水、猪场废水和造纸废水的 250 mL 三角瓶中, 在 30℃、120 r/min 条件下处理 48 h, 检测废水的氨氮浓度。以不接种菌株的废水在同样条件进行培养作为对照。

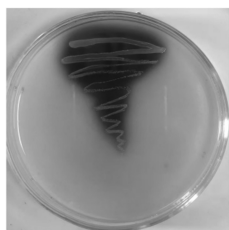
2.8 分析方法

氨氮采用纳氏试剂分光光度法 (HJ 535—2009)、硝酸盐采用紫外分光光度法 (HJ/T 346—2007)、亚硝酸盐采用分光光度法 (GB 7493—1987)、 OD_{600} 采用分光光度法、以上实验检测方法结果均使用微孔板光度计检测仪进行测定。使用 Excel 软件做数据统计、使用 DPS 数据处理系统对数据进行分析、使用 OriginPro2024 软件进行作图。

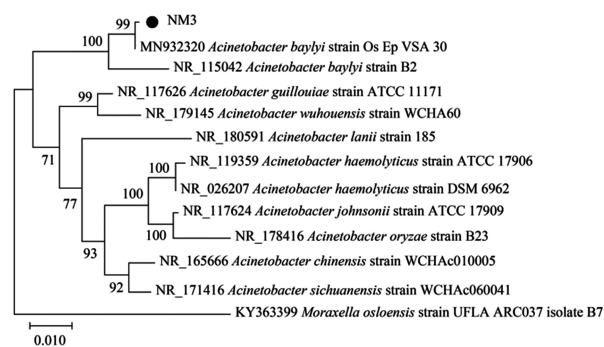
3 结果与分析

3.1 异养硝化-好氧反硝化菌的筛选及鉴定

通过富集培养和分离纯化, 筛选出 1 株具有较强 HN-AD 特性的菌株并将其命名为 NM3。NM3 对硝酸盐、亚硝酸盐和氨氮的去除率分别为 63.60%、67.31% 和 79.48%。NM3 能使黄色的 BTB-反硝化培养基变为深蓝色, 显示出其反硝化能力。菌株呈淡黄色、非透明性状, 表面隆起且光滑, 边缘整齐, 菌落粘稠 [图 1(a)]。基于菌株 16S rDNA 序列的比对和进化树结果显示 [图 1(b)], 该菌株为贝氏不动杆菌 (*Acinetobacter baylyi*)。



(a) NM3 菌落形态图

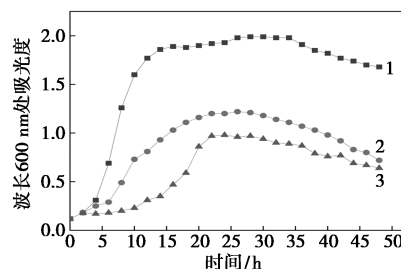


(b) NM3 系统发育树

图 1 NM3 的菌落形态和系统发育树

3.2 NM3 的生长曲线

在氨氮培养基中, NM3 在 2 h 后即进入对数生长期直到 15 h, 然后进入生长稳定期; 在亚硝酸盐培养基中, NM3 在 5 h 内处于生长迟缓期, 然后进入生长对数期直到 20 h, 稳定期维持 10 h 后进入衰亡期; 在硝酸盐培养基中, NM3 在 10 h 内都处于生长迟缓期, 10~20 h 处于生长对数期, 并在 25 h 后开始衰亡 (图 2)。



1—氨氮培养基; 2—亚硝酸盐培养基; 3—硝酸盐培养基

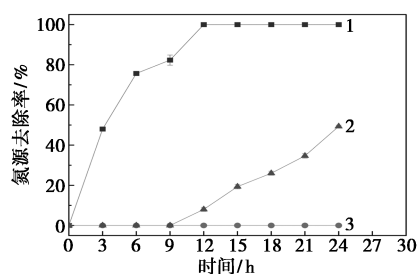
图 2 NM3 在不同氮源培养基中的生长情况

NM3 在氨氮培养基中生长速度最快, 能迅速进入对数期, 表明该菌可能更偏好利用氨氮作为氮源。菌株在亚盐培养基中的生长速度适中, 表明该菌种也能较好地利用亚硝酸氮作为氮源。菌株在硝酸盐培养基中的生长速度最慢, 对数期最短, 表明该菌种对硝酸盐的利用能力相对较弱。

3.3 NM3 的脱氮能力

NM3 在接种培养的 3 h 内, 氨氮的去除率逐渐增加, 在 12 h 时氨氮的去除率达到 100%。NM3 对亚硝酸盐的利用从第 9 h 开始, 并随培养时间增加利用率逐渐增加, 在第 24 h 时, NM3 对亚硝酸盐的去除率达到 49.33%, NM3 未对硝酸盐进行利用, 24 h 内硝酸盐的含量一直未变化 (图 3)。进一步对 NM3 在以氨氮为单一氮源的培养基中培养时, NM3 迅速利用氨氮, 氨氮含量随培养时间逐渐减少, 在 12 h 时氨氮的含量降为 0, 并且在整个过程中, 没有

检测到亚硝酸盐和硝酸盐的存在(表 2)。NM3 在混合氮源中的培养表明该菌对氮源的利用顺序为氨氮、亚硝酸盐和硝酸盐,这符合 NM3 在不同氮源中的生长曲线。



1—氨氮去除率;2—亚硝酸盐去除率;3—硝酸盐去除率

图 3 NM3 在混合氮源培养基中氮源去除率情况

表 2 NM3 在氨氮培养基中对氮源的去除情况

时间/h	氮源含量		
	$\text{NH}_4^+-\text{N}/$ ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	$\text{NO}_3^--\text{N}/$ ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	$\text{NO}_2^--\text{N}/$ ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)
0	100.00	0	0
3	52.00	0	0
6	24.33	0	0
9	17.67	0	0
12	0	0	0

在以往文献中的不动杆菌也有类似的脱氮顺序,如 *A. junii* NP1 在同时存在氨氮和硝态氮时,会优先利用氨氮进行异养硝化^[7]; *Acinetobacter* sp. 菌株先利用氨氮进行异养硝化,随后将生成的 $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ 反硝化为 N_2 ^[8]。本研究是首次在贝氏不动杆菌中确认其脱氮顺序。部分不动杆菌在脱氮过程中会有硝酸盐及亚硝酸盐的累积^[9],而 NM3 在利用氨氮时没有亚硝酸盐和硝酸盐中间产物产生,表明其脱氮时可能不经过反硝化过程,这种途径在 *Acinetobacter* sp. C-13^[10] 和 *Acinetobacter* sp. Y16^[11] 对氨氮的去除中也有发现。在这种脱氮过程中,氨氮一部分通过同化作用合成细胞物质,另一部分通过异养硝化-好氧反硝化途径直接转化为氮气,无中间产物累积。通过进一步的基因表达分析可以确定 NM3 的脱氮途径。

3.4 NM3 的脱氮条件优化

3.4.1 碳源对 NM3 脱氮的影响

NM3 对乙酸钠、乳糖、葡萄糖、丁二酸钠、柠檬酸钠、碳酸钙、琥珀酸钠等 7 种碳源均可利用,以葡萄糖和乳糖为唯一碳源时的氨氮的去除率较低,小于 40%;以碳酸钙、柠檬酸钠和琥珀酸钠为唯一碳

源时,菌株对氨氮的去除率有所增加,在 55%~80% 之间;以丁二酸钠和乙酸钠为唯一氮源的氨氮的去除率较高,均大于 85%,其中丁二酸钠碳源下的氨氮的去除率最高达到了 91.62%(图 4)。不同的不动杆菌其最适的碳源种类不同,这些物质大都为三羧酸(TCA)循环的中间体,被菌体利用后可以直接参与 TCA 循环,从而促进菌株的生长。NM3 的最适碳源为丁二酸钠,容易进入三羧酸循环,快速提供能量^[12]。丁二酸钠也是其他 HN-AD 菌的碳源,如 *Thauera* sp.SND5 菌株^[13]。

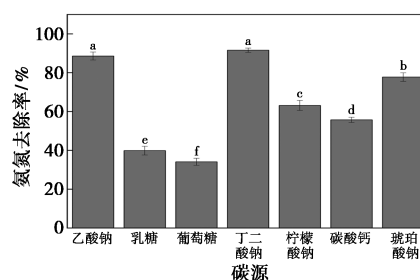


图 4 碳源对氨氮去除率的影响

3.4.2 C/N 对 NM3 脱氮的影响

NM3 在 C/N 处于 1~12 区间时,氨氮的去除率随着 C/N 的增大而提升,并在 C/N 为 12 时氨氮去除率达到最大值 95%;当 C/N 大于 12 之后,氨氮的去除率降低到 81.30% [图 5(a)]。较高的 C/N 表明其对碳源的利用的高效率,也使 NM3 有潜力应用于一些高碳含量的有机废水的处理。

C/N 上升意味着碳源增加,可以满足菌株生长和代谢的需求,但碳源过量,会使培养基中的渗透压升高,进而抑制菌株的生长和代谢^[14]。以往研究中的 HN-AD 菌的最适 C/N 通常为 6~15^[15],如 *A. junii* 5-2 的最佳的 C/N 是 12^[16]。

3.4.3 pH 对 NM3 脱氮的影响

NM3 对氨氮的去除率随 pH 的升高呈持续上升的状态,在 pH 为 7 时,菌株对氨氮的去除率达到了最大值 94.26%;pH 继续增大,氨氮的去除率开始有所下降;在 pH 为 10 时下降到 81.44%,对比酸性环境,NM3 在碱性环境中对氨氮的去除率更高,在 pH 范围在 3~6 时氨氮的去除效率在 19%~72%,pH 范围在 7~10 之间时氨氮的去除效率在 80%~95% [图 5(b)]。综上所述,NM3 去除氨氮的最适 pH 为 7,且更适应在中性和弱碱性环境生长和脱氮。

pH 对脱氮过程的影响主要通过影响微生物的生长和酶活性,例如异养硝化过程中的关键酶羟胺氧化还原酶(HAO)。 *Acinetobacter* sp.Y1 的 HAO 在

pH=3.0~10.0 范围内均具有活性,但在 pH=6.0~9.0 时活性较强,且在 pH=8.0 时活性最强^[17]。*A. junii* WZ17 在 pH 为 4~6 时基本不生长,而当 pH 为 7~8 时,对氨氮的去除能力逐渐增强^[18]。

3.4.4 温度对 NM3 脱氮的影响

当温度 15℃ 时, NM3 的氨氮去除率极低约为 33%;当温度升高至 20℃ 时,氨氮去除率显著上升至 91%;随着温度升高,氨氮去除率持续升高,在 30℃ 时达到了最高为 95.10%;温度继续上升,氨氮的去除率有所下降,在 20~35℃ 的温度范围内氨氮的去除率始终处于 90% 以上;温度上升至 40℃ 时,氨氮的去除率才下降为 76.3% [图 5(c)]。温度通过影响酶活性对菌株生长及脱氮的能力有很大的影响。NM3 在低温下的脱氮能力较差,其脱氮的最适温度为 30℃,与 *Acinetobacter* sp.ZH7^[19] 和 *A. junii* YQ-1^[20] 类似,同时氨氮去除率高于这些菌株。NM3 在 20~35℃ 范围内的高氨氮去除率高于一些已报道的 HN-AD 菌,如 *Acinetobacter* sp.L-1^[21], *Rhodococcus* sp.LS-2^[22], *A. harbinensis* HITLi7T^[23]。NM3 较宽的最适温度范围,表明其具有良好的环境适应性和应用潜力。

3.4.5 接种量对 NM3 脱氮的影响

NM3 的氨氮去除率随接种量增加而增加,当接种量为 6% 时,其氨氮去除率达到最大为 96.40%。随着接种量的继续增加,氨氮的去除率稍有下降,在 18% 接种量下的去除率为 92.32% [图 5(d)]。NM3 在不同接种量条件下对氨氮的去除率的影响差异不明显,氨氮去除率均在 92% 以上,其生长和对氨氮利用的效率较高。接种量反映菌株的生长速度和脱氮效率,不同的菌株接种量有所不同,这与菌株特性有关,如 *A. junii* YQ-1 最佳接种量为 2.0%,此时氨氮去除效率最高,达到 82.64%^[22]。*A. johnsonii* N26 接种量为 15% 时,24 h 后氨氮去除率可达 98.9%^[4]。

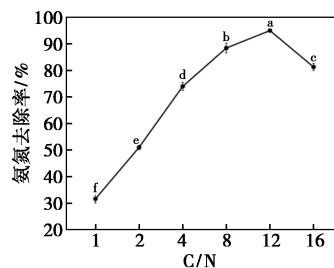
3.4.6 装液量对 NM3 脱氮的影响

NM3 的氨氮去除率随装液量增加而增加,当装液量为 20% 时, NM3 去除氨氮的能力最强,对氨氮的去除率达到 97.05%,随着装液量的不断增加, NM3 的氨氮去除率逐渐下降,装液量 80% 时氨氮去除率降到 43.31% [图 5(e)]。装液量对氨氮去除的影响主要体现在溶解氧浓度、传质效率以及代谢产物积累等方面。

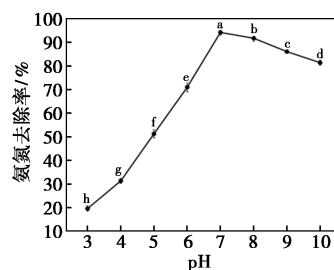
3.4.7 转速对 NM3 脱氮的影响

转速从 60 r/min 开始增加,菌株对氨氮的去除率逐渐上升,当转速为 120 r/min 时,菌株对氨氮的

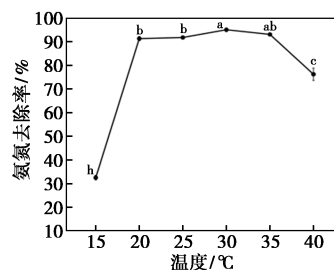
去除率最高达到 97.30%,当转速为 140 r/min 时,氨氮去除率下降至 95.87%,在不同转速下氨氮去除效果均处于较高的水平,氨氮去除率均在 90% 以上 [图 5(f)]。转速主要通过影响溶解氧浓度从而影响菌株的生长以及脱氮效果。



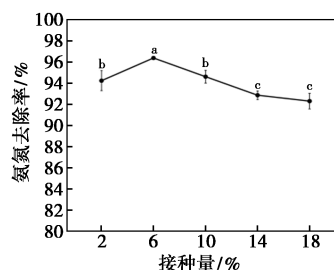
(a) 不同 C/N 下的氨氮去除率



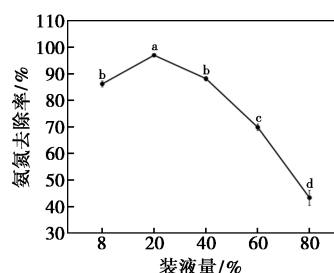
(b) 不同 pH 下的氨氮去除率



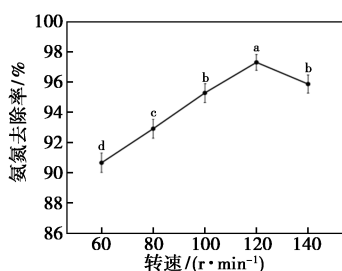
(c) 不同温度下的氨氮去除率



(d) 不同接种量下的氨氮去除率



(e) 不同装液量下的氨氮去除率



(f) 不同转速下的氨氮去除率

图 5 C/N、pH、温度、接种量、装液量和转速对氨氮去除率的影响

3.5 响应面试验

以 C/N (12)、pH (7)、温度 (30℃)、装液量 (20%) 作为中心点, 响应值 (Y) 值为氨氮去除率, 对表 3 的试验数据进行多元回归拟合, 得到回归方程如式 (1) 所示。

$$\begin{aligned}
 X = & 96.52 + 2.31A + 2.55B + 0.1733C - 0.6892D + \\
 & 0.3875AB + 0.5272AC - 0.3775AD + 1.49BC - \\
 & 0.9325BD + 2.23CD - 0.5145A^2 - 3.35B^2 - \\
 & 4.82C^2 - 2.05D^2 \quad (1)
 \end{aligned}$$

由表 4 可知, 该回归模型极显著 ($P < 0.0001$), 失拟项不显著 ($P > 0.05$), 说明拟合程度良好。模型回归系数的决定系数 $R^2 = 0.9786$, 调整决定系数 $R_{adj} = 0.9571$, 变异系数 $C.V.\% = 0.8414$, 进一步验证了该方程的可靠性。通过比较各因素的主效应大小, 得到主效应关系为 $B(\text{pH}) > A(\text{C/N}) > D(\text{装液量}) > C(\text{温度})$ 。基于构建的回归模型, 通过响应面分析及其对应的曲面图 (图 6), 探究了 C/N、pH、温度、装液量这 4 个因素之间的交互作用如何共同影响氨氮去除率的动态变化过程。基于试验结果可知响应面实验最优条件为 C/N = 13.987、pH = 7.818、温度 32.118℃、装液量 38.357%, 在此条件下预测氨氮去除率为 97.43%。为方便实际操作, 将条件修正为 C/N = 14、pH = 7.82、温度 32℃、装液量 38.36%, 在此条件下实际测得氨氮去除率为 97.37%。与装液量为 20% 时的氨氮去除率相比, 响应面验证试验时 38.36% 的装液量时的氨氮去除率提高了 0.32%, 同一批能够处理的废水量提高了 18.36%, 所以最终选择的装液量为 38.36%。

表 3 响应面试验设计与结果

实验号	A	B	C	D	X(氨氮去除率)/%
1	2	3	2	1	95.66
2	3	2	1	2	94.87
3	2	3	1	2	89.64
4	2	2	1	3	86.66

5	2	2	2	2	97.12
6	2	2	2	2	96.39
7	2	2	2	2	97.12
8	3	3	2	2	97.18
9	3	2	2	1	97.11
10	2	1	3	2	83.68
11	2	2	1	1	91.86
12	1	2	2	3	91.16
13	3	2	2	3	94.87
14	1	2	2	1	91.89
15	1	2	3	2	88.18
16	2	2	2	2	97.12
17	2	2	3	1	88.18
18	1	3	2	2	92.62
19	2	2	2	2	94.87
20	1	1	2	2	88.91
21	2	3	3	2	92.62
22	2	2	3	3	91.89
23	2	1	2	1	88.91
24	2	3	2	3	91.89
25	3	2	3	2	94.87
26	3	1	2	2	91.92
27	2	1	1	2	86.66
28	2	1	2	3	88.87
29	1	2	1	2	88.97

表 4 氨氮去除率回归方程方差分析

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
Model	383.39	14	27.39	45.63	<0.0001	**
A-C/N	64.26	1	64.26	107.07	<0.0001	**
B-pH	78.34	1	78.34	130.51	<0.0001	**
C-温度	0.3605	1	0.3605	0.6007	0.4512	
D-装液量	5.70	1	5.70	9.50	0.0081	**
AB	0.6006	1	0.6006	1.00	0.3341	
AC	1.11	1	1.11	1.85	0.1948	
AD	0.5700	1	0.5700	0.9497	0.3463	
BC	8.88	1	8.88	14.80	0.0018	**
BD	3.48	1	3.48	5.79	0.0304	*
CD	19.85	1	19.85	33.07	<0.0001	**
A ²	1.72	1	1.72	2.86	0.1129	

续表

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
B^2	72.72	1	72.72	121.15	<0.0001	**
C^2	150.90	1	150.90	251.41	<0.0001	**
D^2	27.25	1	27.25	45.39	<0.0001	**
残差	8.40	14	0.6002			
失拟项	4.58	10	0.4584	0.4801	0.8420	
纯误差	3.82	4	0.9548			
总和	391.79	28				

$R^2=0.9786$ $R^2_{Adj}=0.9571$ $C.V.\%=0.8414$

注: * 表示差异显著 ($P<0.05$), ** 表示差异极显著 ($P<0.01$)。

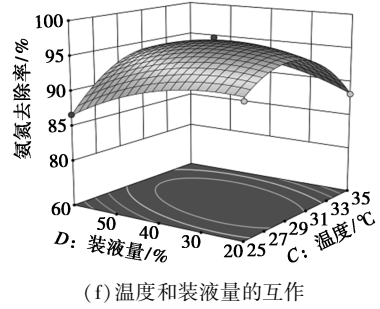
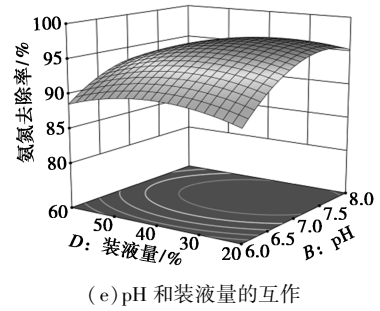
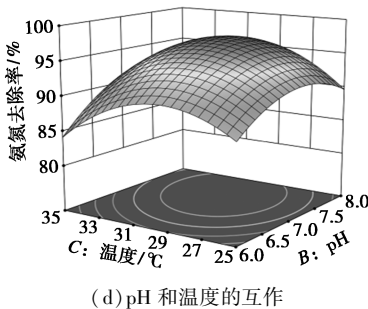
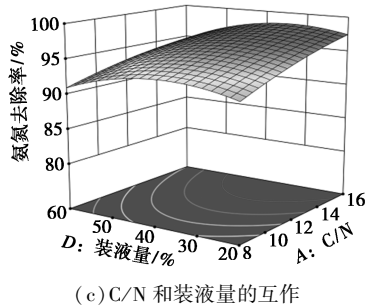
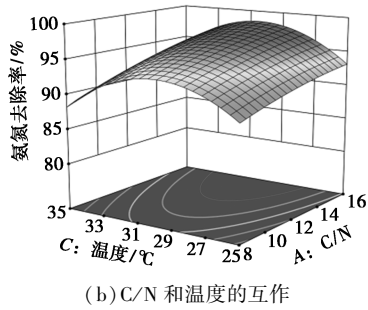
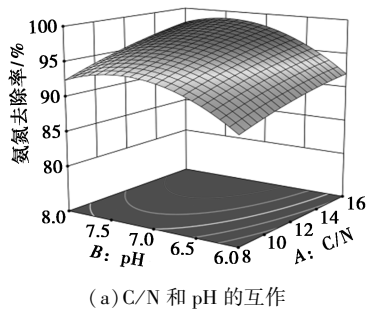


图 6 C/N、pH、温度和装液量之间的交互对氨氮去除率的影响

3.6 NM3 对实际废水的应用

NM3 对含盐芽菜废水和造纸废水处理效果较低,对猪场废水和水产养殖废水有良好的脱氮效果(表 5),在 48 h 内 NM3 对猪场废水的去除率达到了 70% 以上,显示出对高氨氮的猪场废水的耐受和氨氮去除能力。NM3 对水产养殖废水的氨氮去除率较为明显,48 h 内可使废水中的氨氮降至 1.6 mg/L,接近我国渔业水质标准,可实现对水产养殖废水的再利用。NM3 对两种典型养殖废水的脱氮能力,相比一些不动杆菌处理废水的案例体现出了一定的优势,如对处理养猪废水的处理,NM3 相比 *Acinetobacter* sp.L-1^[23] 和 *Acinetobacter haemolyticus* X-4^[24],具有处理时间短和氨氮去除率高的特点。对于一些高氨氮的废水和垃圾渗滤液,NM3 比 *Acinetobacter* sp.

表 5 NM3 对不同废水的氨氮去除率

菌株类型	废水类型	氨氮去除率/%	初始氨氮/(mg·L ⁻¹)	剩余氨氮/(mg·L ⁻¹)	处理时间/h	参考文献
<i>A.baylyi</i> NM3	水产养殖废水	86.67	12.00	1.60	48	本研究
<i>A.baylyi</i> NM3	猪场废水	77.14	780.00	200.00	48	本研究
<i>A.sp.L-1</i>	养猪废水	70.15	1000.00	298.46	96	[21]
<i>A.sp.TAC-1</i>	高氨氮废水	94.60	400.00	21.60	—	[25]
<i>A.sp.XJ-1</i>	垃圾渗滤液	62.82	545.91	317.58	96	[26]
<i>A.Calcoaceticus</i> A1	水产养殖用水	43.31	—	—	6	[5]
<i>A.haemolyticus</i> X-4	医药废水	52.62	75.77	47.38	24	[24]

TAC-1^[25]和 *Acinetobacter* sp.XJ-1^[26]显著缩短了处理时间。NM3 对水产养殖废水的高效脱氮,相比 *A. calcoaceticus* A1^[5],NM3 处理的废水接近渔业水质标准。NM3 能同时处理高氨氮的猪场废水和低氨氮的水产养殖废水,这在以往的不动杆菌中还鲜见报道,这表明其在处理养殖废水方面的潜力。

4 结论

(1)从活性污泥样品中筛选分离了一株高效异养硝化-好氧反硝化菌 *Acinetobacter baylyi* NM3, NM3 优先去除氨氮,其次是亚硝酸盐和硝酸盐,在去除氨氮过程中没有亚硝酸盐和硝酸盐累积。NM3 脱氮的最优条件为碳源丁二酸钠, C/N = 14、温度 32℃、pH = 7.82、转速 120 r/min、接种量 6%、装液量 38.36%。NM3 在 20~35℃ 温度范围内具有较高的氨氮去除率,该温度区间涵盖了大多数城市污水和工业废水的实际运行温度,这有利于 NM3 在废水处理的应用。

(2)NM3 对水产养殖废水中的氨氮去除效果较好,达到了 86.67%。NM3 对于高氨氮的猪场废水显示了一定的处理能力,氨氮去除率达到 70% 以上。研究结果表明 NM3 能处理高氨氮和低氨氮的养殖废水,将 NM3 与其他 HN-AD 菌或藻类联合使用,有望进一步降解废水中的氨氮。

参考文献

- [1] 武金发,何梦园.微生物脱氮机理与应用研究进展[J].微生物前沿,2024,13(2):75-81.
- [2] 赵天涛,陈沛沛,张晟,等.异养硝化-好氧反硝化菌氮代谢机理的研究进展[J].重庆理工大学学报(自然科学),2022,36(1):194-203.
- [3] 辛玉峰,曲晓华,袁梦冬,等.一株异养硝化-反硝化不动杆菌的分离鉴定及脱氮活性[J].微生物学报,2011,51(12):1646-1654.
- [4] 夏远舰,杨小丽,李海华,等.异养硝化-好氧反硝化菌 *Acinetobacter johnsonii* sp.N26 的脱氮性能及代谢途径[J].微生物学通报,2023,50(4):1374-1395.
- [5] 罗国芝,陈家捷,于文杰,等.一株新型异养硝化细菌处理养殖废水的效果[J].环境工程学报,2016,10(8):4206-4212.
- [6] 潘碧文,佟要斌,徐涛,等.不动杆菌 CN-D1 分离菌株及其应用;CN 202411976316.4[P].2025-06-03.
- [7] 杨垒,陈宁,任勇翔,等.异养硝化细菌 *Acinetobacter junii* NP1 的同步脱氮除磷特性及动力学分析[J].环境科学,2019,40(8):3713-3721.
- [8] Zhong Y, Xia H.Characterization of the nitrogen removal potential of two newly isolated *Acinetobacter* strains under low temperature [J].Water,2023,15(16):2990.
- [9] Chen S, He S, Wu C, et al.Characteristics of heterotrophic nitrification and aerobic denitrification bacterium *Acinetobacter* sp.T1 and its application for pig farm wastewater treatment[J].Journal of Bioscience and Bioengineering,2019,127(2):201-205.
- [10] 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.
- [11] Huang X, Li W, Zhang D, 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.
- [12] 齐睿洁,王健鑫.海洋环境异养硝化-好氧反硝化菌的研究进展[J].微生物学通报,2024,51(1):66-76.
- [13] 谭丰佚,刘新颖,党岩,等.有机碳源对异养硝化-好氧反硝化生物脱氮的影响及其优化[J].环境工程学报,2024,18(4):1183-1191.
- [14] 郑泽嘉,李伟光,张淑梅,等.碳源对耐低温哈尔滨不动杆菌 HITLi 7T 氨氮代谢以及胞外分泌物的影响[J].环境科学学报,2019,39(12):3950-3955.
- [15] 吴彦成,冷俊彤,张凯,等.异养硝化好氧反硝化菌的研究进展[J].中国给水排水,2023,39(22):37-45.
- [16] 段兴帆,亢昕,赵毅彪,等.一株耐碱好氧反硝化菌的分离鉴定及其脱氮性能[J].东华大学学报(自然科学版),2024,50(1):101-109.
- [17] 吴启凤,丁晨雨,何腾霞,等.羟胺氧化还原酶在生物脱氮中的研究进展[J].微生物学通报,2022,49(3):1120-1134.
- [18] 刘方剑.一株高效异养硝化-好氧反硝化细菌 WZ17 的筛选及其脱氮特性研究[D].温州:温州大学,2020.
- [19] 杨宗政,孟珠,焦永杰,等.异养硝化-好氧反硝化菌 ZH7 的分离鉴定及脱氮特性研究[J].生物学杂志,2024,41(5):34-41.
- [20] 刘庆宇,杨雯婷,盘兆慧,等.一株耐高氨氮菌株的筛选及脱氮性能研究[J].广西科学,2024,31(3):478-485.
- [21] 利勇,代群威,王维富,等.一株异养硝化菌的筛选鉴定及其在农村养殖废水处理中的应用[J].广东农业科学,2022,49(12):90-98.
- [22] 侯冬梅,张兰,李春成,等.一株耐盐异养硝化-好氧反硝化菌 *Rhodococcus* sp.LS-2 的分离鉴定与脱氮性能研究[J].南昌航空大学学报(自然科学版),2023,37(3):50-58,102.
- [23] Bai C, Li W, Lv L, et al.Enhancing low-temperature nitrification biofilter with *Acinetobacter harbinensis* HITLi7T for efficient ammonia nitrogen removal in engineering applications [J]. Bioresource Technology,2024,414:131587.
- [24] 熊凯,文鹤,张盼文,等.耐药异养硝化-好氧反硝化菌筛选及脱氮研究[J].环境科学与技术,2022,45(4):61-68.
- [25] Zhao T, Chen P, Zhang L, et al.Heterotrophic nitrification and aerobic denitrification by a novel *Acinetobacter* sp.TAC-1 at low temperature and high ammonia nitrogen [J]. Bioresource Technology,2021,339:125620.
- [26] 阮明君,钟梓杰,余发杰,等.一株异养硝化细菌的分离鉴定及其在垃圾渗滤液中的应用[J].广东农业科学,2022,49(3):68-76.■