

菌株 *Acinetobacter* sp. Z1 低温脱氮除磷性能及氮磷转化途径

赵紫荆, 张玉*, 周集体

(大连理工大学 环境学院 工业生态与环境工程教育部重点实验室, 辽宁 大连 116024)

摘要: 从冬季污水处理厂活性污泥中筛选出一株在低温及好氧条件下具有脱氮除磷功能的菌株, 经 16S rDNA 序列分析鉴定为不动杆菌, 命名为 *Acinetobacter* sp. Z1. 在 10 ℃ 条件下探究菌株 Z1 的脱氮除磷性能及氮磷转化途径. 结果表明, 菌株 Z1 能够利用 NH_4^+-N 或 NO_3^--N 为唯一氮源, 以及 NH_4^+-N 和 NO_3^--N 为混合氮源进行脱氮除磷. 菌株 Z1 在碳源为乙酸钠, $m(\text{COD})/m(\text{N}) \geq 20$, $m(\text{P})/m(\text{N}) = 0.2$, 中性或弱碱性溶液中, 摇床转速 $n \geq 100$ r/min 的条件下具有良好的氮磷去除效果, NH_4^+-N 和 $\text{PO}_4^{3-}-\text{P}$ 最大去除率可分别达 96.0% 和 97.9%. 菌株 Z1 的氮转化途径主要是同化, 同时也能通过异养硝化-好氧反硝化作用脱氮. 菌株 Z1 可以在好氧条件下除磷, 在厌氧条件下不释放磷. 实验结果表明菌株 Z1 在低温条件下具有良好的脱氮除磷能力, 在冬季污水生物处理中有良好的应用前景.

关键词: 低温; 脱氮除磷; 同化; 异养硝化-好氧反硝化; 不动杆菌

中图分类号: X172

文献标识码: A

doi: 10.7511/dllgxb202302006

0 引言

在污水处理中, 生物法因其经济、高效、环境友好等优点被广泛应用, 其中温度是影响污水生物处理效果的关键因素之一. 低温条件会导致微生物活性降低, 生长代谢速率减慢, 微生物群落结构发生改变, 污染物去除能力受到严重影响^[1]. 我国北方地区冬季气候寒冷, 污水温度一般不超过 15 ℃, 污水生物处理系统常因低温冲击导致运行不稳定, 脱氮除磷效率大大降低, 出水难以达标^[2]. 因此, 如何提高低温条件下生物脱氮除磷效果, 是近年来污水生物处理亟须解决的问题. 其中, 通过将高活性的低温微生物投加到污水生物处理系统, 提高低温条件下功能菌的活性和生物量的低温微生物强化, 是改善低温脱氮除磷效果的有效途径^[3].

传统生物脱氮包括好氧自养硝化过程和厌氧/缺氧异养反硝化过程. 近年来, 能够同时能在好氧条件下进行硝化和反硝化的异养硝化-好氧反

硝化菌受到广泛关注. 这类菌具有环境适应性强, 生长代谢迅速, 能够同步去除 COD 和氨氮, 且能在同一空间内实现硝化和反硝化作用^[4-5]等优势. 目前已报道的异养硝化-好氧反硝化菌主要有假单胞菌属、不动杆菌属、产碱杆菌属、芽孢杆菌属等^[6]. 除硝化、反硝化以外, 同化也是生物脱氮的一个重要途径, 微生物通过同化性硝酸盐还原作用和氨同化作用, 将氮素作为营养物质用于合成自身细胞物质^[7], 不仅可以实现污水中氮素的有效去除, 还为从废水中回收利用资源奠定了基础^[8]. 此外有研究报道, 部分异养硝化-好氧反硝化菌还具有除磷功能, 如 *Pseudomonas putida* strain NP5^[9]、*Pseudomonas stutzeri* ADP-19^[10]等.

近年来, 研究人员从低温环境中分离筛选出一些具有高效脱氮能力的低温脱氮微生物, 如 *Acinetobacter* sp. TAC-1(5 ℃)^[11]、*Pseudomonas* sp. M-33(10 ℃)^[12]、*Pseudomonas putida* Y-9(15 ℃)^[13]等. 但目前能够在低温条件下同步脱氮除磷的菌株较少.

收稿日期: 2022-03-19; 修回日期: 2023-01-15.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(51578106).

作者简介: 赵紫荆(1997-), 女, 硕士生, E-mail: zhaozj9706@163.com; 张玉* (1973-), 男, 副教授, 博士生导师, E-mail: zhangyu@dlut.edu.cn; 周集体(1956-), 男, 教授, 博士生导师, E-mail: zjiti@dlut.edu.cn.

本研究从冬季污水处理厂活性污泥中筛选出一株在低温及好氧条件下具有脱氮除磷功能的菌株,考察不同条件对菌株生长及氮磷去除效果的影响,及菌株在单一和混合氮源中的脱氮除磷性能,并对菌株的氮磷转化途径进行探究,为强化冬季低温污水生物处理提供菌种资源和研究基础。

1 材料与方 法

1.1 菌种来源

新疆某污水处理厂冬季活性污泥。

1.2 培养基

LB培养基(g/L):蛋白胨 10、酵母浸粉 5、NaCl 10,pH 7.0。

富集培养基(g/L): NH_4Cl 0.535、 $\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7$ 8.5、 KH_2PO_4 1.0、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1.0、 $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.05、 $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.2,pH 7.0。

初筛培养基(g/L): KNO_3 1.01、 $\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7$ 8.5、 KH_2PO_4 1.0、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1.0、 $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.05、 $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.2,1 mL 1% BTB 酒精溶液,pH 7.0。

复筛培养基(g/L): $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.66、 CH_3COONa 2.763、 KH_2PO_4 1.5、 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 7.9、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.1,微量元素溶液 1 mL,pH 7.0。微量元素溶液(g/L):EDTA 50、 ZnSO_4 22、 CaCl_2 5.54、 MnCl_2 5.06、 FeSO_4 4.99、 $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$ 1.1、 CuSO_4 1.57、 CoCl_2 1.61。

实验培养基 I(g/L): $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.33、 CH_3COONa 1.842、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05、NaCl 0.12、 K_2HPO_4 0.079、 MnSO_4 0.01、 FeSO_4 0.01,pH 7.2。

实验培养基 II(g/L): $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.33、 CH_3COONa 2.303、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05、NaCl 0.12、 K_2HPO_4 0.079、 MnSO_4 0.01、 FeSO_4 0.01,pH 8.0。

1.3 菌株的分离与鉴定

取 10 mL 活性污泥接种于 100 mL 富集培养基中,于 10 ℃、150 r/min 摇床富集培养,待体系中 NH_4^+-N 去除率稳定后,取 10 mL 富集液接种于新鲜培养基中,如此连续富集培养 6 次。将最终得到的富集液稀释不同梯度后涂布于富集固体培养基,于 10 ℃培养 3 d 后,挑取形态各异单菌

落重复多次划线,进行分离纯化。

挑取经分离纯化得到的菌株于初筛固体培养基划线,在 10 ℃培养 3 d,选取能使培养基变蓝的菌株作为初筛菌株。将初筛菌株接种于复筛培养基中,在 10 ℃、150 r/min 摇床培养 3 d,每隔 24 h 取样测定 NH_4^+-N 浓度,选取 NH_4^+-N 去除效果最好的菌株进一步研究。

采用平板划线法观察目的菌株的菌落形态;对菌株进行革兰氏染色并用显微镜观察;采用扫描电镜观察菌株微观形貌;采用 16S rDNA 序列测序方法对菌株进行种属鉴定,提取细菌基因组 DNA,利用通用引物 27F/1492R 进行 16S rDNA 的 PCR 扩增,将产物纯化后对其进行 DNA 测序。通过 BLAST 检索,将得到的菌株基因序列与 GenBank 中已知序列进行同源性比对,利用 MEGA 7.0 软件构建该菌株的系统发育树。

1.4 单因素实验

1.4.1 $m(\text{COD})/m(\text{N})$ 对菌株生长和脱氮除磷性能的影响 除碳源外,其余按实验培养基 I 配制,保持碳源为乙酸钠, $m(\text{P})/m(\text{N})=0.2$,pH=7.2,分别向其中加入 0.921、1.382、1.842、2.303、2.763 g/L 乙酸钠,使得 $m(\text{COD})/m(\text{N})$ 分别为 10、15、20、25、30。将菌株接种于 LB 培养基中培养至对数末期,在 10 000 r/min 下离心 10 min,倒掉上清液,用生理盐水清洗菌饼两次,最后用生理盐水重悬,制得菌悬液(下同)。接种一定量菌悬液于各培养基中(保持初始 OD_{660} 约 0.24,下同),于 10 ℃、150 r/min 摇床培养,间隔一定时间取样测定 OD_{660} 、 NH_4^+-N 浓度、 $\text{PO}_4^{3-}-\text{P}$ 浓度。

1.4.2 碳源对菌株生长和脱氮除磷性能的影响 除碳源外,其余按实验培养基 I 配制,保持 $m(\text{COD})/m(\text{N})=20$, $m(\text{P})/m(\text{N})=0.2$,pH=7.2,分别向其中加入 1.842 g/L 乙酸钠、2.772 g/L 柠檬酸钠、1.514 g/L 葡萄糖、1.273 g/L 蔗糖、2.789 g/L 乳酸钠。接种一定量菌悬液于各培养基中,于 10 ℃、150 r/min 摇床培养,间隔一定时间取样测定 OD_{660} 、 NH_4^+-N 浓度、 $\text{PO}_4^{3-}-\text{P}$ 浓度。

1.4.3 pH 对菌株生长和脱氮除磷性能的影响 除 pH 外,其余按实验培养基 I 配制,保持

$m(\text{COD})/m(\text{N}) = 20$, 碳源为乙酸钠, $m(\text{P})/m(\text{N}) = 0.2$, 调节各培养基初始 pH 分别为 5.0、6.0、7.2、8.0、9.0. 接种一定量菌悬液于各培养基中, 于 10 °C、150 r/min 摇床培养, 间隔一定时间取样测定 OD_{660} 、 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 浓度、 $\text{PO}_4^{3-} - \text{P}$ 浓度.

1.4.4 $m(\text{P})/m(\text{N})$ 对菌株生长和脱氮除磷性能的影响 除磷源外, 其余按实验培养基 I 配制, 保持 $m(\text{COD})/m(\text{N}) = 20$, 碳源为乙酸钠, pH = 7.2, 分别向其中加入 0、0.040、0.079、0.198、0.395 g/L 磷酸氢二钾, 使得 $m(\text{P})/m(\text{N})$ 分别为 0、0.1、0.2、0.5、1.0. 接种一定量菌悬液于各培养基中, 于 10 °C、150 r/min 摇床培养, 间隔一定时间取样测定 OD_{660} 、 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 浓度、 $\text{PO}_4^{3-} - \text{P}$ 浓度.

1.4.5 摇床转速对菌株生长和脱氮除磷性能的影响 按实验培养基 I 配制培养基, 保持 $m(\text{COD})/m(\text{N}) = 20$, 碳源为乙酸钠, $m(\text{P})/m(\text{N}) = 0.2$, pH = 7.2. 接种一定量菌悬液于各培养基中, 在 10 °C 条件下, 分别于 50、100、150、200 r/min 摇床培养, 间隔一定时间取样测定 OD_{660} 、 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 浓度、 $\text{PO}_4^{3-} - \text{P}$ 浓度.

1.5 不同氮源条件下菌株的脱氮除磷性能

1.5.1 以 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 为唯一氮源 按实验培养基 II 配制以 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 为唯一氮源的培养基, 其中 $m(\text{COD})/m(\text{N}) = 25$, 碳源为乙酸钠, $m(\text{P})/m(\text{N}) = 0.2$, pH = 8.0. 接种一定量菌悬液于培养基中, 于 10 °C、150 r/min 摇床培养, 间隔一定时间取样测定 OD_{660} 、 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 浓度、 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 浓度、 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 浓度、 NH_2OH 浓度、TN 浓度、 $\text{PO}_4^{3-} - \text{P}$ 浓度、COD 浓度.

1.5.2 以 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 为唯一氮源 除氮源外, 其余按实验培养基 II 配制, 向其中加入 0.505 g/L 硝酸钾, 得到以 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 为唯一氮源的培养基, 其中 $m(\text{COD})/m(\text{N}) = 25$, 碳源为乙酸钠, $m(\text{P})/m(\text{N}) = 0.2$, pH = 8.0. 接种一定量菌悬液于培养基中, 于 10 °C、150 r/min 摇床培养, 间隔一定时间取样测定 OD_{660} 、 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 浓度、 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 浓度、 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 浓度、 NH_2OH 浓度、TN 浓度、 $\text{PO}_4^{3-} - \text{P}$ 浓度、COD 浓度.

1.5.3 以 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 和 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 为混合氮源 除氮源外, 其余按实验培养基 II 配制, 向其中加入 0.165 g/L 硫酸铵和 0.253 g/L 硝酸钾, 得到以

$\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 和 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 为混合氮源的培养基, 其中 $m(\text{COD})/m(\text{N}) = 25$, 碳源为乙酸钠, $m(\text{P})/m(\text{N}) = 0.2$, pH = 8.0. 接种一定量菌悬液于培养基中, 于 10 °C、150 r/min 摇床培养, 间隔一定时间取样测定 OD_{660} 、 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 浓度、 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 浓度、 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 浓度、 NH_2OH 浓度、TN 浓度、 $\text{PO}_4^{3-} - \text{P}$ 浓度、COD 浓度.

1.6 菌株的氮转化途径

在 100 mL 西林瓶中加入 40 mL 以 70 mg/L $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 为唯一氮源的实验培养基 II, 用 99% 纯氧曝气至顶空充满 O_2 , 灭菌后接入一定量菌悬液, 于 10 °C、150 r/min 摇床密闭培养 96 h, 采集反应前后体系的顶空气体, 利用气相色谱仪检测 O_2 、 N_2 、 N_2O , 同时取样测定体系 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 、 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 、 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 、 NH_2OH 及菌体内源氮浓度.

1.7 菌株的磷转化途径

取一定量菌悬液接种于以 70 mg/L $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 为唯一氮源的实验培养基 II 中, 设置 4 种氧气条件: 持续好氧 (78 h)、好氧/厌氧 (24 h/54 h)、厌氧/好氧 (24 h/54 h)、持续厌氧 (78 h), 于 10 °C、150 r/min 摇床培养, 间隔一定时间取样测定 OD_{660} 和 $\text{PO}_4^{3-} - \text{P}$ 浓度.

1.8 菌株处理污水厂实际废水的应用效果

实验废水取自新疆某污水处理厂, 废水水质指标如下: $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 46 mg/L, COD 220 mg/L, $\text{PO}_4^{3-} - \text{P}$ 85 mg/L, pH 7.6. 设置两组实验, A 组保持 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 浓度不变, 用乙酸钠将废水 $m(\text{COD})/m(\text{N})$ 调整为 20, B 组用硫酸铵将 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 浓度调整为 70 mg/L, 用乙酸钠将废水 $m(\text{COD})/m(\text{N})$ 调整为 20. 实验前用 0.22 μm 滤膜对废水进行过滤, 用于排除废水中原有微生物的干扰. 接种一定量菌悬液于废水中, 于 10 °C、150 r/min 摇床培养, 测定反应前后 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 浓度、 $\text{PO}_4^{3-} - \text{P}$ 浓度.

1.9 分析方法

OD_{660} 采用分光光度法测定; $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 浓度采用水杨酸分光光度法测定; $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 浓度采用 N-(1-萘基)-乙二胺光度法测定; $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 浓度采用浓硫酸-水杨酸法测定; NH_2OH 浓度采用 8-羟基喹啉光度法测定; TN 浓度采用碱性过硫酸钾消解紫外分光光度法测定; 菌体内源氮由未离心样品与离心样品的 TN 浓度差值计算^[14]; $\text{PO}_4^{3-} - \text{P}$

浓度采用钼酸铵分光光度法测定;COD 浓度采用重铬酸钾法测定。

2 结果与讨论

2.1 菌株的分离与鉴定

经富集和分离纯化,共得到 8 株具有氨氮去除能力的纯菌株。经初筛发现这 8 株菌均能使培养基变蓝,即 8 株菌均具有硝酸盐还原能力。经复筛得到一株低温条件下 NH_4^+-N 去除效果最好的菌株。如图 1 所示,菌株菌落呈圆形,乳白色,边缘整齐,表面光滑、湿润。菌株为革兰氏阴性菌,短杆状,大小约为 $0.71\ \mu\text{m} \times 1.27\ \mu\text{m}$ 。

获得的菌株 16S rDNA 基因序列长度约为 1 483 bp,将该基因序列与 GenBank 中已知序列

进行基因同源性比对,结果显示菌株与多株不动杆菌同源性高达 99%,结合形态学特征,判断其为不动杆菌,命名为 *Acinetobacter* sp. Z1。利用 MEGA 7.0 软件构建菌株 Z1 的系统发育树(见图 2)。

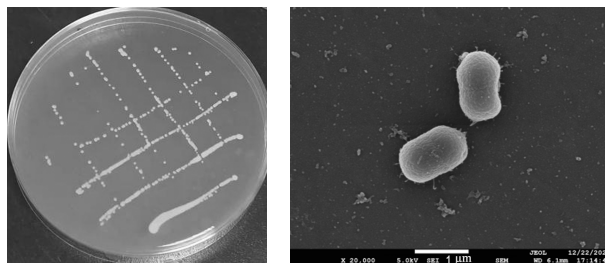


图 1 菌株的形态特征

Fig. 1 Morphological characteristics of strain

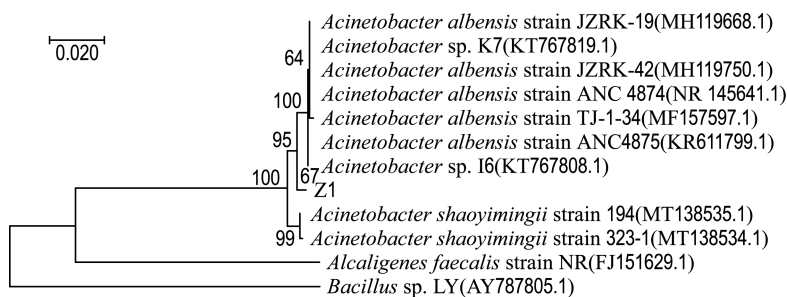


图 2 菌株 Z1 系统发育树

Fig. 2 Phylogenetic tree of strain Z1

2.2 单因素实验

2.2.1 $m(\text{COD})/m(\text{N})$ 对菌株生长和脱氮除磷性能的影响 对于异养型细菌,不同的 $m(\text{COD})/m(\text{N})$ 会影响菌株的生长和氮磷去除能力,因此为获得高效的生长及脱氮除磷效果,同时减少碳源的浪费,有必要探究菌株适宜的 $m(\text{COD})/m(\text{N})$ 。如图 3 所示, $m(\text{COD})/m(\text{N})=10$ 时,菌株 Z1 培养 60 h 后 OD_{660} 、 NH_4^+-N 去除率、 $\text{PO}_4^{3-}-\text{P}$ 去除率仅为 0.643、52.3%、59.0%,这是由于碳源不足,菌株缺乏生长代谢所需的能源,导致菌株生长受限,氮磷去除能力降低^[15]。随着 $m(\text{COD})/m(\text{N})$ 增大,菌株的生物量增大,脱氮除磷效果提升,说明适当提高 $m(\text{COD})/m(\text{N})$ 能够促进菌株的生长和脱氮除磷效果,这与王田野等^[16]的研究结果一致。 $m(\text{COD})/m(\text{N})=20$ 时,菌株培养 60 h

后 OD_{660} 、 NH_4^+-N 去除率、 $\text{PO}_4^{3-}-\text{P}$ 去除率为 0.981、89.5%、96.5%。当 $m(\text{COD})/m(\text{N})$ 增加到 25 和 30 时,培养 60 h 后菌株的 OD_{660} 及氮磷去除率相近,这是由于在 $m(\text{COD})/m(\text{N})$ 较高的情况下,提供的碳源量高于菌株脱氮除磷的需求,因此不再显著影响氮磷去除效果。结果表明,菌株 Z1 在 $m(\text{COD})/m(\text{N}) \geq 20$ 时具有良好的生长及脱氮除磷效果,这也表明菌株 Z1 能够适应有机物浓度较高的环境。

2.2.2 碳源对菌株生长和脱氮除磷性能的影响 碳源通常是异养细菌的能量来源和电子来源^[17],在微生物生长代谢过程中起着重要作用。如图 4 所示,以葡萄糖和蔗糖为碳源时,菌株 Z1 基本不生长。以柠檬酸钠为碳源时,菌株仅在培养后期略有生长。以乙酸钠为碳源时,菌株培养 60 h 后

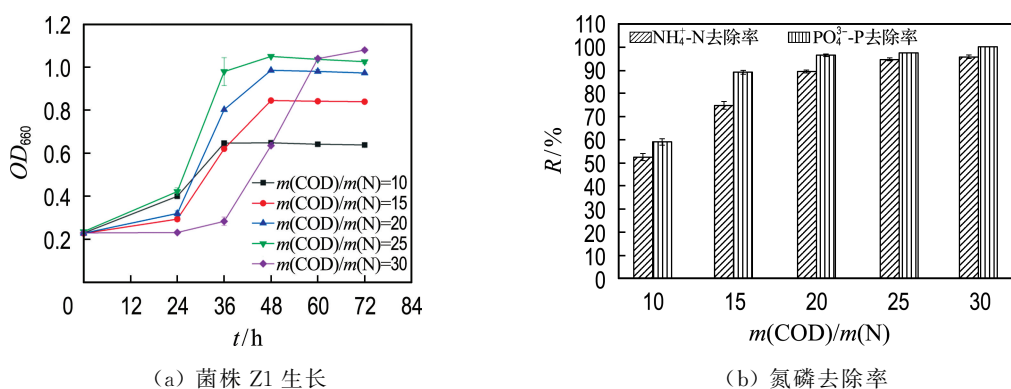
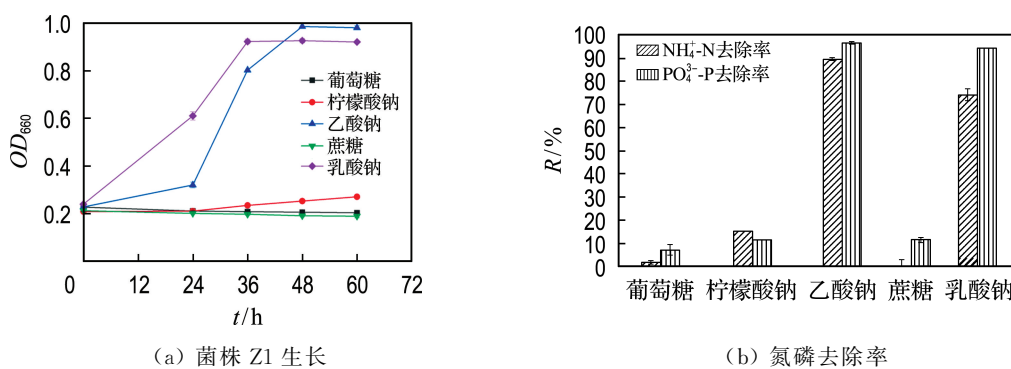
图3 $m(\text{COD})/m(\text{N})$ 对菌株 Z1 生长及氮磷去除率(60 h)的影响Fig. 3 Effects of $m(\text{COD})/m(\text{N})$ on the growth of strain Z1, nitrogen and phosphorus removal rate (60 h)

图4 碳源对菌株 Z1 生长及氮磷去除率(60 h)的影响

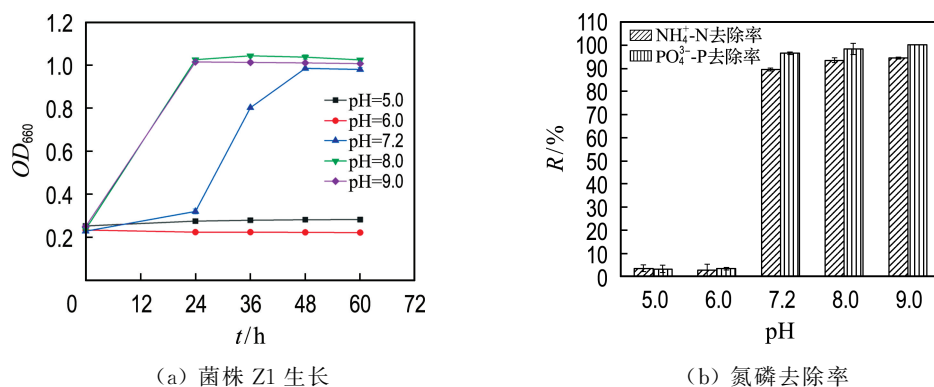
Fig. 4 Effects of carbon source on the growth of strain Z1, nitrogen and phosphorus removal rate (60 h)

OD_{660} 、 NH_4^+-N 去除率、 $\text{PO}_4^{3--}\text{P}$ 去除率为 0.981、89.5%、96.5%。以乳酸钠为碳源时,菌株的生长代谢虽快于以乙酸钠为碳源的,但 NH_4^+-N 去除率较低。可见菌株 Z1 利用有机酸比糖类更有优势,这是由于相比于糖类,有机酸的分子结构简单、相对分子质量小,更有利于被菌体直接利用^[18],这与 *Acinetobacter junii* NP1^[19]对有机酸的利用率高于糖类的结论一致。结果表明乙酸钠是菌株 Z1 的适宜碳源。

2.2.3 pH 对菌株生长和脱氮除磷性能的影响
pH 会影响微生物的生长代谢活动,适宜的 pH 是保证菌株脱氮除磷效果的重要条件之一。如图 5 所示,菌株 Z1 在偏酸性条件(pH 5.0、6.0)下活性受到严重抑制,生长代谢能力差。pH 为 7.2 时,菌株培养 24 h 后进入对数生长期,pH 增大到 8.0~9.0 时,菌株的生长速度明显加快,培养 24 h 后进入稳定期。pH 为 7.2~9.0 时,培养 60 h

后菌株的生长情况和氮磷去除率相差不大,pH 为 8.0 时, OD_{660} 、 NH_4^+-N 去除率、 $\text{PO}_4^{3--}\text{P}$ 去除率为 1.026、93.5%、98.3%。说明菌株 Z1 在中性及弱碱性条件下具有良好的生长和脱氮除磷效果。已报道的许多异养硝化-好氧反硝化菌均适宜在弱碱性条件下生长代谢,如 *Bacillus* sp. X1-L 在 pH 为 8.0 时 NH_4^+-N 去除率最高^[20],这可能是由于弱碱性环境中具有更多可利用的游离氨^[21]。

2.2.4 $m(\text{P})/m(\text{N})$ 对菌株生长和脱氮除磷性能的影响
磷是微生物生长过程中不可或缺的元素,因此合适的 $m(\text{P})/m(\text{N})$ 是保证菌株正常生长代谢的重要条件之一。如图 6 所示, $m(\text{P})/m(\text{N})=0$ 时,体系中磷元素的缺乏导致菌株 Z1 无法生长。 $m(\text{P})/m(\text{N})=0.1$ 时,菌株生长速度较慢,培养 60 h 后 NH_4^+-N 去除率仅为 46.2%,但 $\text{PO}_4^{3--}\text{P}$ 基本消耗完全,说明此条件下由于磷源不足影响了菌株生长和脱氮效果。 $m(\text{P})/m(\text{N})=$

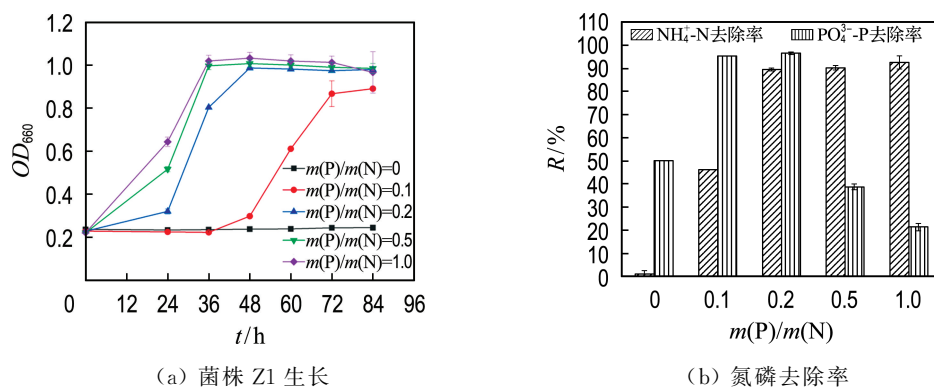


(a) 菌株 Z1 生长

(b) 氮磷去除率

图 5 pH 对菌株 Z1 生长及氮磷去除率(60 h)的影响

Fig. 5 Effects of pH on the growth of strain Z1, nitrogen and phosphorus removal rate (60 h)



(a) 菌株 Z1 生长

(b) 氮磷去除率

图 6 $m(P)/m(N)$ 对菌株 Z1 生长及氮磷去除率(60 h)的影响Fig. 6 Effects of $m(P)/m(N)$ on the growth of strain Z1, nitrogen and phosphorus removal rate (60 h)

0.2 时,菌株培养 60 h 后 OD_{660} 、 NH_4^+ -N 去除率、 PO_4^{3-} -P 去除率达到 0.981、89.5%、96.5%。随着 $m(P)/m(N)$ 增加到 0.5 和 1.0,菌株的生长代谢速度加快,但培养 60 h 后菌株的 OD_{660} 和 NH_4^+ -N 去除率变化不大, PO_4^{3-} -P 去除率反而大幅下降,可能是由于体系中碳源或氮源短缺导致生物量不足,因而菌株无法转化体系中含有过高的磷^[22]。因此,菌株 Z1 的适宜 $m(P)/m(N)$ 为 0.2,与 *Pseudomonas putida* strain NP5^[9] 的结果一致。

2.2.5 摇床转速对菌株生长和脱氮除磷性能的影响 通过调节摇床转速 n ,研究溶解氧对菌株 Z1 的生长及氮磷去除能力的影响。如图 7 所示,摇床转速 $n=50$ r/min 时菌株生长代谢缓慢,培养 60 h 后 OD_{660} 、 NH_4^+ -N 去除率、 PO_4^{3-} -P 去除率仅为 0.468、21.3%、30.2%,这是由于菌株 Z1 是好氧菌,溶解氧较低不利于菌株的生长代谢。摇床转速 $n=100\sim 200$ r/min 时,培养 60 h 后

OD_{660} 约为 1, NH_4^+ -N 和 PO_4^{3-} -P 去除率均在 86% 和 96% 以上,显著高于 50 r/min 的,说明适当提高摇床转速能够促进菌株的生长和脱氮除磷,与 *Pseudomonas stutzeri* YG-24^[23] 结果一致,即溶解氧浓度的增大可以促进菌株的脱氮效果,这与高转速条件可以提高氧气和底物间的转移速率有关^[24]。结果表明,菌株 Z1 在摇床转速 $n\geq 100$ r/min 时具有良好的生长及脱氮除磷效果。

2.3 不同氮源条件下菌株的脱氮除磷性能

如图 8 所示,在以 NH_4^+ -N 为唯一氮源的培养体系中,菌株 Z1 的停滞期不明显,培养 24 h 后进入稳定期,菌体最大 OD_{660} 约为 1.149。在菌株增殖过程中, NH_4^+ -N 和 TN 浓度迅速降低,说明 NH_4^+ -N 去除与菌株生长密切相关。培养 24 h 后, NH_4^+ -N 浓度从 70.31 mg/L 降至 2.84 mg/L, NH_4^+ -N 和 TN 去除率分别达到 96% 和 90%,平均 NH_4^+ -N 去除速率为 $2.81 \text{ mg} \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1}$,菌株

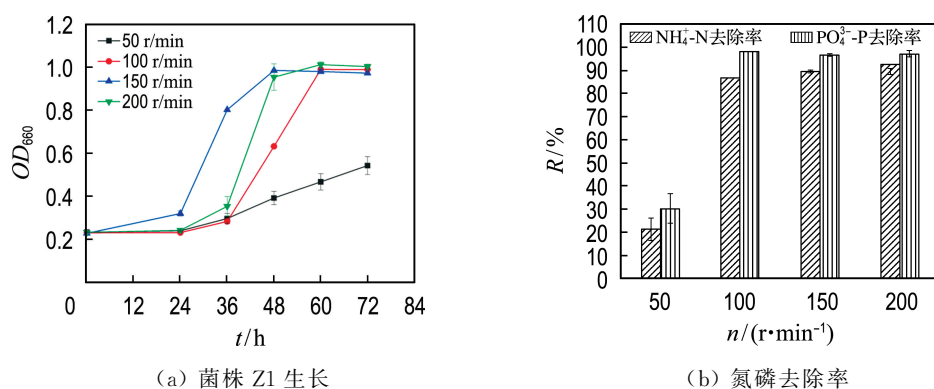
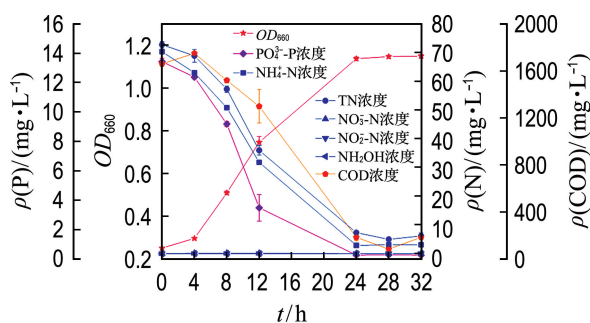


图7 摇床转速对菌株 Z1 生长及氮磷去除率(60 h)的影响

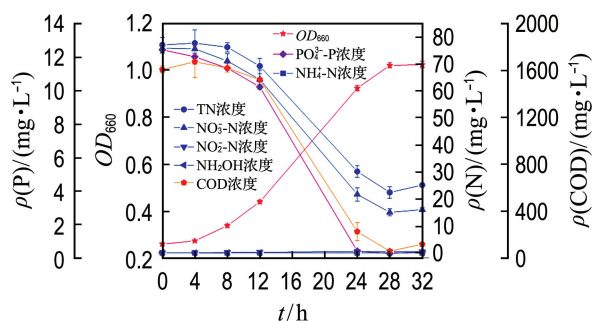
Fig. 7 Effects of shaking speed on the growth of strain Z1, nitrogen and phosphorus removal rate (60 h)

图8 以 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 为唯一氮源时菌株 Z1 的生长及污染物降解情况Fig. 8 Growth of strain Z1 and pollutants degradation with $\text{NH}_4^+\text{-N}$ as the sole nitrogen source

Z1 在 $10\text{ }^\circ\text{C}$ 条件下的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 去除速率甚至略高于一些常温脱氮菌, 如 *Bacillus cereus* GS-5 ($2.65\text{ mg}\cdot(\text{L}\cdot\text{h})^{-1}$)^[24]、*Exiguobacterium mexicanum* strain SND-01 ($2.24\text{ mg}\cdot(\text{L}\cdot\text{h})^{-1}$)^[25]。同时 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 浓度也随菌株生长从 13.43 mg/L 降至 0.28 mg/L , 去除率达到 97.9% , 说明菌株 Z1 在好氧条件下可以实现氮磷的同步去除, 与报道的 *Pseudomonas stutzeri* ADP-19^[10] 相似。菌株 Z1 作为异养型细菌, 生长代谢过程中会消耗碳源, COD 最大去除率为 94.8% 。在整个反应过程中, 基本未检测到 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 、 NH_2OH 的积累, 与之前的一些研究结果相似^[26]。

如图 9 所示, 在以 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 为唯一氮源的培养体系中, 菌株 Z1 存在 4 h 的停滞期, 与 *Pseudomonas chloritidismutans* K14^[27] 在培养初期对 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 的适应现象相似。随后菌株 Z1 进入对数生长期, 培养至 28 h 后进入稳定期, 菌体最大

OD_{660} 约为 1.024 , 可见菌株以 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 为唯一氮源时生长状况良好。 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 和 TN 浓度随菌株生长逐渐降低, 培养 28 h 后 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 浓度从 75.82 mg/L 下降至 15 mg/L , 平均 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 去除速率为 $2.17\text{ mg}\cdot(\text{L}\cdot\text{h})^{-1}$, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 和 TN 去除率分别为 80.2% 和 70.9% 。 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 和 COD 浓度变化与 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 的类似, 最大去除率分别达到 97.7% 和 96.3% 。反应过程中, 基本未检测到中间产物的积累, 不同于 *Pseudomonas stutzeri* AD-1^[28] 在好氧反硝化过程中有大量 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 的积累。

图9 以 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 为唯一氮源时菌株 Z1 的生长及污染物降解情况Fig. 9 Growth of strain Z1 and pollutants degradation with $\text{NO}_3^-\text{-N}$ as the sole nitrogen source

如图 10 所示, 以 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 为混合氮源时, 菌株 Z1 生长状况良好, 基本不存在停滞期, 培养 24 h 后进入稳定期, 菌体最大 OD_{660} 约为 1.118 。在此体系中, 菌株 Z1 优先利用 $\text{NH}_4^+\text{-N}$, 培养 4 h 后开始迅速去除 $\text{NH}_4^+\text{-N}$, 最大 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 去除速率出现在 $4\sim 12\text{ h}$, 为 $3.8\text{ mg}\cdot(\text{L}\cdot\text{h})^{-1}$ 。

NO_3^- -N 浓度在 4~12 h 略有降低,当 NH_4^+ -N 几乎耗尽时, NO_3^- -N 开始迅速去除,最大 NO_3^- -N 去除速率出现在 12~24 h,为 $2.39 \text{ mg} \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1}$,这与 *Acinetobacter* sp. JR1^[29] 在 NH_4^+ -N 和 NO_3^- -N 共存时优先利用 NH_4^+ -N 的现象一致,可能是由于 NH_4^+ -N 更容易被细胞吸收参与细胞生物大分子的合成^[27],或者是由于菌株 Z1 的氨氧化酶活性高于硝酸盐还原酶活性^[29]. 培养 24 h 后菌株 Z1 对 NH_4^+ -N 的去除率为 91.1%, NO_3^- -N 去除率为 97.5%,TN 去除率为 88.4%. 与单独以 NO_3^- -N 为氮源相比,此共存体系提高了菌株 Z1 对 NO_3^- -N 和 TN 降解效果. 此外,随着菌株的生长, PO_4^{3-} -P 和 COD 浓度也逐渐降低,最大去除率分别为 97.9%和 95.5%.

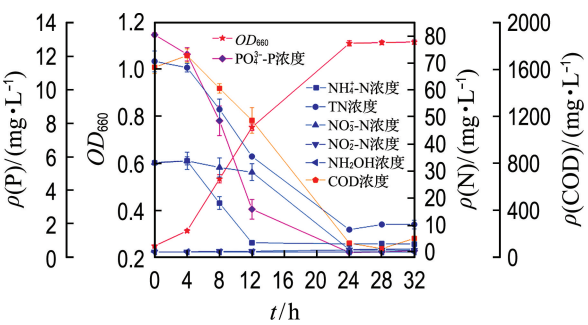


图 10 混合氮源体系中菌株 Z1 的生长及污染物降解情况

Fig. 10 Growth of strain Z1 and pollutants degradation in the mixed nitrogen source system

2.4 菌株的氮转化途径

为探究菌株 Z1 的氮转化途径,以 NH_4^+ -N 为唯一氮源进行了氮平衡分析. 实验结果见表 1,反应结束后体系中 93.2%的 NH_4^+ -N 被去除,菌体内源氮增加了 56.36 mg/L,在去除的 NH_4^+ -N 中有 85.8 %被菌株 Z1 同化利用,14%的氮消失,而通过反应前后对密闭体系的顶空气体成分检测,发现了 O_2 的减少与 N_2 的增加,且并未检测到 N_2O ,说明消失的氮是以 N_2 的形式逸出,即菌株进行了异养硝化-好氧反硝化过程. 结果表明菌株 Z1 的氮转化途径主要是同化,同时也能通过异养硝化-好氧反硝化作用脱氮. 以同化为主的氮转化途径,表明菌株 Z1 在高效去除污水中氮素的同时,还具有污水资源回收利用的潜力. 与本研究类

似,Chen 等^[26]发现 *Acinetobacter* sp. strain C-13 的 NH_4^+ -N 同化作用占 86.1%,Huang 等^[30]发现 15 °C 条件下 *Pseudomonas putida* Y-9 通过同化作用将 78.03%的 NH_4^+ -N 转化为生物质氮. 已有研究表明,在高浓度 COD 条件下氨同化在脱氮过程中的作用更加显著^[31].

表 1 菌株 Z1 的氮平衡实验

Tab. 1 Nitrogen balance experiment of strain Z1

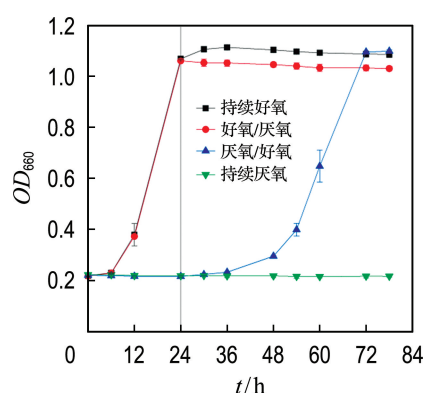
时刻	$\rho/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$				
	NH_4^+ -N	NH_2OH	NO_2^- -N	NO_3^- -N	生物质 N
初始	70.46	—	—	—	12.51
最终	4.80	0.01	—	0.11	68.87

2.5 菌株的磷转化途径

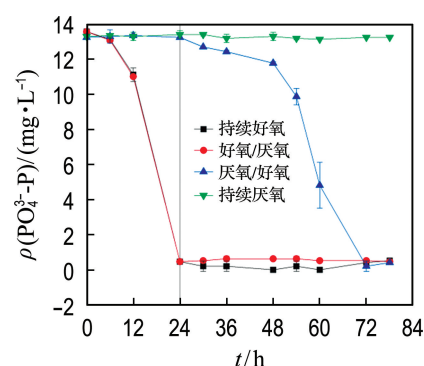
如图 11 所示,菌株 Z1 首先接种于好氧环境(持续好氧、好氧/厌氧)时,菌株能够正常生长并除磷,24 h 进入稳定期. 若持续好氧培养,菌体最大 OD_{660} 及 PO_4^{3-} -P 最大去除率分别达到 1.114 和 100%. 若 24 h 后将其培养环境转为厌氧,体系中生物量和 PO_4^{3-} -P 浓度基本不变,菌株在厌氧条件下不释放磷. 菌株 Z1 首先接种于厌氧环境(厌氧/好氧、持续厌氧)时,在厌氧条件下体系中生物量和 PO_4^{3-} -P 浓度基本不变. 若 24 h 后将其培养环境转为好氧,生物量逐渐增加,体系中磷含量逐渐减少,最终 OD_{660} 和 PO_4^{3-} -P 最大去除率与持续好氧条件基本一致,但由于厌氧环境对菌株活性有影响,转变为好氧条件后需要一段时间恢复适应. 传统的聚磷菌一般需要经过厌氧释磷和好氧吸磷两步来完成除磷过程^[9],本实验结果表明,菌株 Z1 能够在好氧条件下实现磷的去除,在厌氧环境下不释放磷,与传统的聚磷菌需要厌氧/好氧循环有所不同,这与报道的 *Vibrio* sp. Y1-5^[32]、*Arthrobacter* sp. HHEP5^[33]、*Bacillus subtilis* GHSP10^[34]能够在好氧条件下除磷一致.

2.6 菌株处理污水厂实际废水的应用效果

为考察菌株 Z1 的应用潜能,研究了其在实际废水中的脱氮除磷能力. 如图 12 所示,在实际废水中培养 24 h 后,菌株 Z1 不调整和调整 NH_4^+ -N 浓度实验的 NH_4^+ -N 去除率分别为 72.7%和 81.0%, PO_4^{3-} -P 去除率均为 43.7%. 菌株 Z1 的脱氮除磷效果与在培养基中培养相比较差,这是



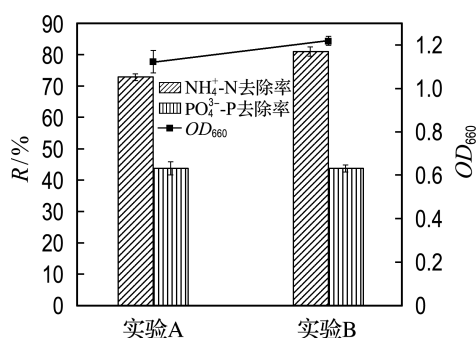
(a) 菌株 Z1 生长



(b) 除磷情况

图 11 不同氧气条件下菌株 Z1 生长及除磷情况

Fig. 11 Growth and phosphorus removal of strain Z1 under different oxygen conditions

图 12 菌株 Z1 在实际废水中的生长及氮磷去除率 (实验 A: 不调整 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度; 实验 B: 调整 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度)Fig. 12 Growth, nitrogen and phosphorus removal rate of strain Z1 in actual wastewater (Experiment A: No adjustment of $\text{NH}_4^+\text{-N}$ concentration; Experiment B: Adjustment of $\text{NH}_4^+\text{-N}$ concentration)

由于实际废水水质成分复杂,对菌株的脱氮除磷性能有所影响.但菌株 Z1 仍然生长情况良好,并

能降解 70% 以上的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 40% 以上的 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$,且 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 去除率不高是由于初始 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 浓度过高,表明菌株 Z1 具有在实际废水中脱氮除磷的能力,其在冬季污水生物处理中有良好的应用前景.

3 结 论

(1)从冬季污水处理厂活性污泥中筛选出一株在低温及好氧条件下具有脱氮除磷功能的菌株,经鉴定命名为 *Acinetobacter* sp. Z1.

(2)菌株 Z1 在碳源为乙酸钠, $m(\text{COD})/m(\text{N}) \geq 20$, $m(\text{P})/m(\text{N}) = 0.2$,中性或弱碱性溶液中,摇床转速 $n \geq 100$ r/min 的条件下具有良好的生长及氮磷去除效果.

(3)菌株 Z1 能够利用 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 或 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 为唯一氮源,以及 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 为混合氮源,进行生长和脱氮除磷.

(4)菌株 Z1 的氮转化途径主要是同化,同时也能够通过异养硝化-好氧反硝化作用脱氮.菌株 Z1 可在好氧条件下除磷,在厌氧条件下不释放磷.

参考文献:

- [1] 李思琦,李珍阳,刘琳,等.三株低温硝化菌的筛选及其固定化脱氮性能[J].环境工程,2021,39(12): 51-58, 78.
LI Siqi, LI Zhenyang, LIU Lin, et al. The screening of low-temperature nitrifying bacteria strains and their immobilization and denitrification performance [J]. **Environmental Engineering**, 2021, 39(12): 51-58, 78. (in Chinese)
- [2] 尚越飞,王申,宗倪,等.污水生物处理工艺低温下微生物种群结构[J].环境科学,2020,41(10): 4636-4643.
SHANG Yuefei, WANG Shen, ZONG Ni, et al. Microbial community structure for sewage wastewater treatment plants in winter [J]. **Environmental Science**, 2020, 41(10): 4636-4643. (in Chinese)
- [3] 陈翰,马放,李昂,等.低温条件下污水生物脱氮处理研究进展[J].中国给水排水,2016,32(8): 37-43.
CHEN Han, MA Fang, LI Ang, et al. Research

- progress in biological nitrogen removal from wastewater under low temperature condition [J]. **China Water and Wastewater**, 2016, **32**(8): 37-43. (in Chinese)
- [4] 周英萍, 唐美珍, 曹彦雪, 等. 一株耐冷异养硝化菌的分离鉴定及脱氮特性 [J]. 湖泊科学, 2019, **31**(3): 746-754.
ZHOU Yingping, TANG Meizhen, CAO Yanxue, *et al.* Isolation and denitrification characteristics of a psychrotrophic and heterotrophic nitrification bacterium [J]. **Journal of Lake Sciences**, 2019, **31**(3): 746-754. (in Chinese)
- [5] 乔 森, 刘雪洁, 周集体. 异养硝化-好氧反硝化在生物脱氮方面的研究进展 [J]. 安全与环境学报, 2014, **14**(2): 128-135.
QIAO Sen, LIU Xuejie, ZHOU Jiti. Research progress of heterotrophic nitrification-aerobic denitrification in biological denitrification [J]. **Journal of Safety and Environment**, 2014, **14**(2): 128-135. (in Chinese)
- [6] OUYANG Liao, WANG Keju, LIU Xinyue, *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.
- [7] LI Yating, WANG Yanru, FU Lin, *et al.* Aerobic-heterotrophic nitrogen removal through nitrate reduction and ammonium assimilation by marine bacterium *Vibrio* sp. Y1-5 [J]. **Bioresource Technology**, 2017, **230**: 103-111.
- [8] ZHENG Kaikai, LI Huaibo, WANG Shuo, *et al.* Enhanced proteins and amino acids production based on ammonia nitrogen assimilation and sludge increment by the integration of bioadsorption with anaerobic-anoxic-oxic (AAO) process [J]. **Chemosphere**, 2021, **280**: 130721.
- [9] YANG Lei, WANG Xuhui, CUI Shen, *et al.* Simultaneous removal of nitrogen and phosphorous by heterotrophic nitrification-aerobic denitrification of a metal resistant bacterium *Pseudomonas putida* strain NP5 [J]. **Bioresource Technology**, 2019, **285**: 121360.
- [10] LI Bingtang, JING Fangyuan, WU Dingshan, *et al.* Simultaneous removal of nitrogen and phosphorus by a novel aerobic denitrifying phosphorus-accumulating bacterium, *Pseudomonas stutzeri* ADP-19 [J]. **Bioresource Technology**, 2021, **321**: 124445.
- [11] ZHAO Tiantao, CHEN Peipei, ZHANG Lijie, *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.
- [12] 杨 墨, 刘乾亮, 吕东伟, 等. 低温异养硝化-好氧反硝化菌筛选及其脱氮特性 [J]. 中国给水排水, 2019, **35**(23): 100-104.
YANG Mo, LIU Qianliang, LV Dongwei, *et al.* Isolation of cold-resistant heterotrophic nitrification-aerobic denitrification strain and its nitrogen removal performance [J]. **China Water and Wastewater**, 2019, **35**(23): 100-104. (in Chinese)
- [13] XU Yi, HE Tengxia, LI Zhenlun, *et al.* Nitrogen removal characteristics of *Pseudomonas putida* Y-9 capable of heterotrophic nitrification and aerobic denitrification at low temperature [J]. **BioMed Research International**, 2017, **2017**: 1429018.
- [14] YANG Qian, YANG Ting, SHI Yi, *et al.* The nitrogen removal characterization of a cold-adapted bacterium: *Bacillus simplex* H-b [J]. **Bioresource Technology**, 2020, **323**: 124554.
- [15] 汪旭晖, 杨 垒, 任勇翔, 等. 异养硝化细菌 *Pseudomonas putida* YH 的脱氮特性及降解动力学 [J]. 环境科学, 2019, **40**(4): 1892-1899.
WANG Xuhui, YANG Lei, REN Yongxiang, *et al.* Nitrogen removal by heterotrophic nitrifying bacterium *Pseudomonas putida* YH and its kinetic characteristics [J]. **Environmental Science**, 2019, **40**(4): 1892-1899. (in Chinese)
- [16] 王田野, 魏荷芬, 胡子全, 等. 一株异养硝化好氧反硝化菌的筛选鉴定及其脱氮特性 [J]. 环境科学学报, 2017, **37**(3): 945-953.
WANG Tianye, WEI Hefen, HU Ziquan, *et al.* Isolation and identification of a heterotrophic nitrifying and aerobic denitrifying strain and its denitrification characteristics [J]. **Acta Scientiae Circumstantiae**, 2017, **37**(3): 945-953. (in Chinese)
- [17] 颜薇芝, 张汉强, 余从田, 等. 1 株异养硝化好氧反硝化不动杆菌的分离及脱氮性能 [J]. 环境工程学

- 报, 2017, **11**(7): 4419-4428.
- YAN Weizhi, ZHANG Hanqiang, YU Congtian, *et al.* Isolation of *Acinetobacter* sp. YN3 and its heterotrophic nitrification-aerobic denitrification characters [J]. **Chinese Journal of Environmental Engineering**, 2017, **11**(7): 4419-4428. (in Chinese)
- [18] CHEN Qian, NI Jinren. Ammonium removal by *Agrobacterium* sp. LAD9 capable of heterotrophic nitrification-aerobic denitrification [J]. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, 2012, **113**(5): 619-623.
- [19] 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.
- YANG Lei, CHEN Ning, REN Yongxiang, *et al.* Simultaneous nitrogen and phosphorus removal and kinetics by the heterotrophic nitrifying bacterium *Acinetobacter junii* NP1 [J]. **Environmental Science**, 2019, **40**(8): 3713-3721. (in Chinese)
- [20] 王紫琪. 异养硝化好氧反硝化菌 X1-L 的筛选鉴定及脱氮特性研究 [D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2020.
- WANG Ziqi. Screening identification and denitrification characteristics of heterotrophic nitrifying and aerobic denitrifying bacterium X1-L [D]. Harbin: Harbin Institute of Technology, 2020. (in Chinese)
- [21] LIU Yuxiang, HU Tingting, SONG Yujie, *et al.* Heterotrophic nitrogen removal by *Acinetobacter* sp. Y1 isolated from coke plant wastewater [J]. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, 2015, **120**(5): 549-554.
- [22] 肖 倩. 兼具脱氮除磷功能异养硝化细菌 *Pseudomonas putida* strain NP5 的代谢机制研究 [D]. 西安: 西安建筑科技大学, 2019.
- XIAO Qian. Study on metabolic mechanism of *Pseudomonas putida* strain NP5 possessing simultaneous nitrogen and phosphorus removal ability [D]. Xi'an: Xi'an University of Architecture and Technology, 2019. (in Chinese)
- [23] LI Chune, YANG Jinshui, WANG Xin, *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.
- [24] 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**: 484-495.
- [25] CUI Yuan, CUI Youwei, HUANG Jilin. A novel halophilic *Exiguobacterium mexicanum* strain removes nitrogen from saline wastewater via heterotrophic nitrification and aerobic denitrification [J]. **Bioresource Technology**, 2021, **333**(5/6): 125189.
- [26] CHEN Huanjun, ZHOU Weizheng, ZHU Shunni, *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.
- [27] HOU Pengfei, SUN Xueliang, FANG Zhanming, *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.
- [28] QING Hui, DONDE O O, TIAN Cuicui, *et al.* Novel heterotrophic nitrogen removal and assimilation characteristic of the newly isolated bacterium *Pseudomonas stutzeri* AD-1 [J]. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, 2018, **126**(3): 339-345.
- [29] YANG Jingrui, WANG Ying, CHEN Hu, *et al.* Ammonium removal characteristics of an acid-resistant bacterium *Acinetobacter* sp. JR1 from pharmaceutical wastewater capable of heterotrophic nitrification-aerobic denitrification [J]. **Bioresource Technology**, 2019, **274**: 56-64.
- [30] HUANG Xuejiao, JIANG Daihua, NI Jiupai, *et al.* Removal of ammonium and nitrate by the hypothermia bacterium *Pseudomonas putida* Y-9 mainly through assimilation [J]. **Environmental Technology and Innovation**, 2021, **22**: 101458.
- [31] LI Baikun, IRVIN S. The roles of nitrogen dissimilation and assimilation in biological nitrogen removal treating low, mid, and high strength wastewater [J]. **Journal of Environmental**

- Engineering and Science**, 2007, **6**(5): 483-490.
- [32] 李雅婷. 氮磷同化海洋菌-藻共生系统的建立及其在含盐污水处理中的研究 [D]. 济南: 山东大学, 2018.
- LI Yating. Establishment of nitrogen-phosphorus assimilation marine bacterial-algal mutualistic system and its application in saline sewage treatment [D]. Jinan: Shandong University, 2018. (in Chinese)
- [33] ZHANG Mengyu, PAN Luqing, LIU Liping, *et al.* Phosphorus and nitrogen removal by a novel phosphate-accumulating organism, *Arthrobacter* sp. HHEP5 capable of heterotrophic nitrification-aerobic denitrification: Safety assessment, removal characterization, mechanism exploration and wastewater treatment [J]. **Bioresource Technology**, 2020, **312**: 123633.
- [34] ZHANG Mengyu, PAN Luqing, SU Chen, *et al.* Simultaneous aerobic removal of phosphorus and nitrogen by a novel salt-tolerant phosphate-accumulating organism and the application potential in treatment of domestic sewage and aquaculture sewage [J]. **Science of the Total Environment**, 2021, **758**: 143580.

Nitrogen and phosphorus removal performance and transformation pathway of strain *Acinetobacter* sp. Z1 at low temperature

ZHAO Zijing, ZHANG Yu*, ZHOU Jiti

(Key Laboratory of Industrial Ecology and Environmental Engineering, Ministry of Education, School of Environmental Science and Technology, Dalian University of Technology, Dalian 116024, China)

Abstract: A strain with nitrogen and phosphorus removal function at low temperature and aerobic conditions is isolated from activated sludge of sewage treatment plant in winter. It is identified as *Acinetobacter* by 16S rDNA sequence analysis, and named as *Acinetobacter* sp. Z1. The nitrogen and phosphorus removal performance and transformation pathway of strain Z1 are studied at 10 °C. The results show that strain Z1 can use $\text{NH}_4^+\text{-N}$ or $\text{NO}_3^-\text{-N}$ as the sole nitrogen source, and $\text{NH}_4^+\text{-N}$ and $\text{NO}_3^-\text{-N}$ as the mixed nitrogen source for nitrogen and phosphorus removal. Strain Z1 has good nitrogen and phosphorus removal effect under the conditions that the carbon source is sodium acetate, $m(\text{COD})/m(\text{N}) \geq 20$, $m(\text{P})/m(\text{N}) = 0.2$, neutral and weak alkaline solution, and the shaking speed $n \geq 100$ r/min. And the maximum removal rates of $\text{NH}_4^+\text{-N}$ and $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ can reach 96.0% and 97.9% respectively. The nitrogen transformation pathway of strain Z1 is mainly assimilation, and strain Z1 can also remove nitrogen through heterotrophic nitrification-aerobic denitrification. Strain Z1 can remove phosphorus under aerobic conditions, but can not release phosphorus under anaerobic conditions. The experimental result shows that strain Z1 has good nitrogen and phosphorus removal ability at low temperature, and has a good application prospect in winter sewage biological treatment.

Key words: low temperature; nitrogen and phosphorus removal; assimilation; heterotrophic nitrification-aerobic denitrification; *Acinetobacter*