

一株氢氧化细菌的生长条件及其 对不同氮源利用的研究

陶虎春[†] 谢勇 张丽娟 丁凌云 陈艺贞

深圳市重金属污染控制与资源化重点实验室, 北京大学深圳研究生院环境与能源学院, 深圳 518055;

[†] E-mail: taohc@pkusz.edu.cn

摘要 从污水处理厂活性污泥中成功地筛选出一株自养型氢氧化细菌(Hydrogen-oxidizing Bacterium, HOB), 命名为 *Rhodoblastus* sp. TH20。以模拟氨氮(NH₄⁺-N)废水作为培养基, 该菌株能够以 H₂ 为能源, CO₂ 为碳源, 其最适宜的生长条件为 25℃、160 rpm 和 pH=7.0。当初始 NH₄⁺-N 浓度为 100 mg/L 时, 菌株在 72 小时内能有效地去除 NH₄⁺-N (>99%)。其中, 77.8% 的 NH₄⁺-N 被同化为有机氮, 储存在细胞体内, 剩余的转化为气态氮。结果表明: *Rhodoblastus* sp. TH20 具有高效的氮同化能力, 可实现 NH₄⁺-N 向微生物蛋白的资源转化, 为含 NH₄⁺-N 污水的资源化处理提供一条新途径。

关键词 氢氧化细菌; 生长条件; 氮源; 微生物蛋白

Growth Conditions of a Hydrogen-Oxidizing Bacterium and Its Utilization of Different Nitrogen Sources

TAO Huchun[†], XIE Yong, ZHANG Lijuan, DING Lingyun, CHEN Yizhen

Shenzhen Key Laboratory for Heavy Metal Remediation and Reclamation, School of Environment and Energy, Peking University Shenzhen Graduate School, Shenzhen 518055; [†] E-mail: taohc@pkusz.edu.cn

Abstract An autotrophic hydrogen-oxidizing bacterium, named *Rhodoblastus* sp. TH20, was successfully enriched and isolated from municipal activated sludge in a domestic wastewater treatment plant. With simulated ammonium-containing wastewater as culture medium, the strain could utilize H₂ and CO₂ as energy and carbon sources respectively and the growth conditions were optimized at 25°C, 160 rpm and pH=7.0. At initial concentration of 100 mg/L, efficient ammonium removal (>99%) was achieved within 72 hours. Up to 77.8% of ammonium was assimilated to organic nitrogen and stored intracellularly, while the rest ammonium was transformed to gaseous N₂. These results indicated that *Rhodoblastus* sp. TH20 was able to efficiently convert ammonium into microbial protein, thereby providing a sustainable pathway of wastewater treatment.

Key words hydrogen-oxidizing bacteria; growth condition; nitrogen source; microbial protein

据统计, 2050 年世界人口将达到 80~100 亿^[1], 人类对食物蛋白的需求比 2006 年高 70%^[2]。目前, 农业生产中主要依靠哈伯-博施技术提供氮肥^[3]。但是, 在传统施用化肥过程中, 有近 50% 的活性氮被浪费, 进入自然水体; 另一部分氮被纳入城市污

水处理厂进行处理^[4-5]。哈伯-博施法固氮每年消耗全球 1%~2% 的能源^[6], 污水处理厂运行又消耗全球 3% 的能源^[6]。因此, 需要探寻新的技术途径, 在满足农业氮肥供应的同时, 减少环境影响和能源消耗。

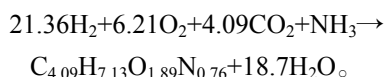
城市污水处理系统中蕴含水、氮磷营养元素和

国家自然科学基金(51679002, 51809004)、深圳市基础研究项目(JCYJ20180503182122539)和流域生态工程学科建设资金(深发改[2017]542号)资助

收稿日期: 2020-06-01; 修回日期: 2020-06-13

能量等资源^[7-8]。2018年中国累计处理污水 519×10^8 m³, NH₄⁺-N削减量为 1.19×10^6 t^[9]。目前,对含NH₄⁺-N污水的处理方法主要分为两大类:低浓度时,以硝化-反硝化生物化学处理法为主, NH₄⁺-N最终转化为气态氮形式;高浓度时,以吹脱、气提、鸟粪石吸附和电化学等物理化学方法为主^[10-12]。传统的NH₄⁺-N处理方法无法实现氮资源的回收利用。

近年来,有学者利用氢氧化型细菌(Hydrogen-oxidizing bacteria, HOB),分别以H₂和O₂作为电子供体和受体,通过卡尔文、逆三羧酸循环固定CO₂,进行细胞合成^[13]。HOB可以消耗污水中的CO₂、氮^[14]和磷等低价值无机物,生产生物塑料、动物饲料添加剂和液体燃料等^[15]高附加值产品。理论上,HOB(如*Cupriavidus necator*)对氮元素的利用反应式^[16-17]为



目前,国内外针对HOB的研究多集中于植物根际促生机制^[18-19]和单细胞蛋白营养价值^[20]领域,在环境保护和资源回收领域的研究较少。

本研究从污水处理厂的活性污泥中筛选分离出一株HOB,针对该菌株高效利用NH₄⁺-N的特性开展研究,为含NH₄⁺-N废水的氮素资源化利用研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 菌株培养与筛选

1.1.1 HOB培养基制备

矿物质培养基溶液(1.0 L)包含0.47 g (NH₄)₂SO₄、0.5 g KH₂PO₄、0.2 g MgSO₄·7H₂O、0.003 g CaCl₂、0.02 g 硫酸亚铁铵和0.5 mL 微量元素溶液。其中,微量元素溶液(1 L)为0.119 g CoCl₂·6H₂O、0.118 g NiCl₂·6H₂O、0.153 g CrCl₃·6H₂O、0.156 g CuSO₄·5H₂O,调节pH至7.0。培养基在121℃灭菌20分钟,冷却至室温。其中,硫酸亚铁铵^[21]单独灭菌(0.22 μm膜滤),室温加入培养基^[22]。分离筛选阶段,在上述液体培养基中添加1.5%琼脂,形成选择性固体培养基,其他成分保持不变。所有选择性培养基均在高温灭菌(121℃,20分钟)后使用。

1.1.2 HOB培养气体供应

在不同的培养阶段,菌株培养采用的混合气体不同。菌株筛选分离时,采用H₂:O₂:CO₂=85:5:10

(体积比)。后续的液体培养菌株过程中,O₂消耗量与微生物量增长正相关,故将混合气体比例进行调整为H₂:O₂:CO₂=70:20:10(体积比)。

1.1.3 菌株分离与鉴定

活性污泥取自深圳市某污水处理厂曝气池。首先,将采集的活性污泥放置在0.9%NaCl溶液中振荡1小时(暗室,30℃和200 rpm)混匀,得到充分活化的细菌接种液。然后,在选择性固体培养基上进行涂布平板接种,接种液采用10⁻²、10⁻³和10⁻⁴共3种浓度。接种后,将固体培养基全部转移至密闭的特氟龙气袋中,抽真空后通入混合气体(H₂:O₂:CO₂=85:5:10,体积比),每隔24小时更换一次气体;培养基连同气袋一起放置在30℃恒温培养箱中,密闭培养。72小时后,培养基上出现菌落。平板划线法分离纯化,直到得到菌落生长大小和颜色均一致的目标菌落。整个过程无菌操作,每次操作过程中均设置3个平行样,一个空白样。

将固体培养基中的目标菌落接种在装有10 mL液体培养基的250 mL血清瓶中,通入混合气体(H₂:O₂:CO₂=70:20:10,体积比),气体流量为130 mL/min,通气时间为5分钟。血清瓶放置在摇床中密闭培养(30℃,160 rpm),分别在24小时和48小时取样测量细胞浓度(OD₆₀₀)和NH₄⁺-N含量。在筛选出的菌落中选取NH₄⁺-N去除效果最佳、生长最好的菌株。均采用3个平行样进行实验。

1.2 气体消耗与生成

H₂消耗量可以用来验证和比较菌株的氢利用能力,进而筛选出耗氢能力强的目标菌株。血清瓶中的气体成分使用气相色谱仪(Agilent 7890B,美国)分析,得到目标菌株生长所需的各种气体消耗量以及产生量。测量参数^[23-24]如下:1) CO₂, O₂和N₂检测采用TCD检测器,H₂作为载气,柱箱温度为100℃,进样口温度为120℃,前检测器温度为250℃,后检测器温度为250℃,进样速率为45 mL/min,总用时8.5分钟,CO₂, O₂和N₂的保留时间分别为3.2,4.0和4.8分钟;2)H₂检测使用FID检测器,He作为载气,保留时间为1.0分钟,气体体积的检测限为5 mL。此外,对血清瓶中含氮气体(N₂O和N₂)的含量进行检测。

1.3 最适菌株培养条件

在250 mL血清瓶中放置70 mL的液体培养基,密闭条件下研究影响菌株生长的最适条件。考察温度(20,25,30,35和40℃)、转速(120,160和200

rpm)、pH 值(5.0, 6.0, 7.0, 8.0 和 9.0)以及初始 NH_4^+ -N 浓度(50, 100, 200 和 600 mg/L)4 种因素对菌株生长和脱氮的影响, 探究最适宜的培养条件。

1.4 对不同氮源的利用

在 250 mL 的血清瓶中加入 70 mL 工作液体, 密闭条件下观察氮的迁移转化。该序批实验中除更换氮源外, 其余条件不变。当唯一氮源分别为 NH_4^+ -N(硫酸铵)、 NO_3^- -N(硝酸钾)和 NO_2^- -N(亚硝酸钠)时, 氮含量均控制在 100 mg/L。分别在 0, 6, 12, 24, 36, 48 和 72 小时各取样 3.5 mL, 用于检测细胞浓度(OD_{600})、总氮(TN)、溶解态总氮(DTN)、氨氮(NH_4^+ -N)、硝氮(NO_3^- -N)和亚硝氮(NO_2^- -N)。除用于 TN 分析外, 其余样品均需经过 0.22 μm 膜滤后分析, 每个实验组有 3 个平行样品。

1.5 分析与计算方法

采用紫外分光光度计(DR6000, 哈希公司)测量 OD_{600} 。使用紫外分光光度法测量 NO_3^- -N 和 NO_2^- -N, 使用纳氏试剂分光光度法(HJ535-2009)测量 NH_4^+ -N。使用碱性过硫酸钾消解紫外分光光度法(HJ636-2012)测量 DTN 和 TN。细胞内有机氮^[25]由 TN-DTN 得出。

2 结果与讨论

2.1 *Rhodoblastus* sp. TH20 的分离与鉴定

如图 1 所示, 分离菌株为环杆菌, 长度为 0.79~1.13 μm , 宽度为 0.41~0.49 μm , 革兰氏染色为阴性菌(G-)。16S rRNA 基因鉴定结果(图 2)表明, 该菌株与 *Rhodoblastus acidophilus* 相似度高达 97% 以上, 两者亲缘关系较近, 故命名为 *Rhodoblastus* sp. TH20

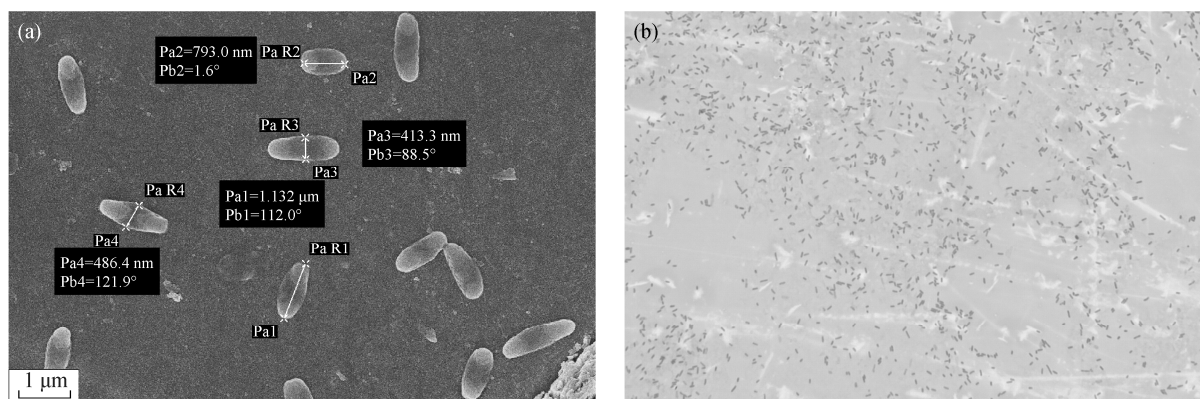


图 1 *Rhodoblastus* sp. TH20 扫描电镜图(a)和革兰氏染色(b)

Fig. 1 Field emission scanning electron micrograph (a) and Gram staining (b) of *Rhodoblastus* sp. TH20

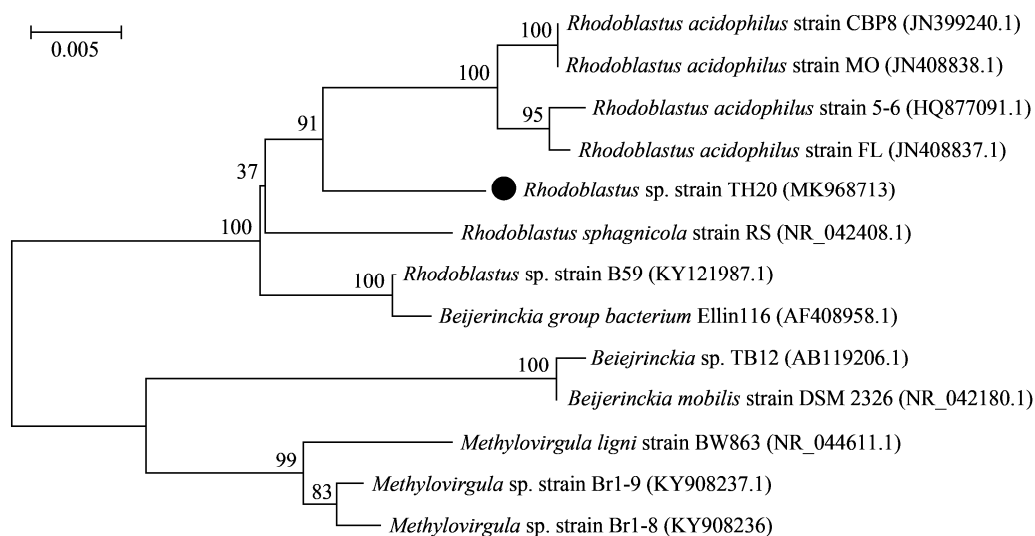


图 2 *Rhodoblastus* sp. TH20 菌株系统进化树

Fig. 2 Phylogenetic trees based on 16S rRNA gene sequence of *Rhodoblastus* sp. TH20

菌株(简称 TH20), NCBI 登录号为 MK968713。在气体消耗实验中, *Rhodoblastus* sp. TH20 菌株消耗 H_2 , CO_2 和 O_2 , 并伴随有少量氮气产生, 属于氢自养型好养细菌。

2.2 HOB 最适生长条件

2.2.1 生长温度

TH20 菌株的实验初始条件为接种比 5%(体积比)、转速 160 rpm, pH=7.0, NH_4^+ -N 含量 100 mg/L。保持初始条件不变, 在 5 种不同温度(20, 25, 30, 35 和 40 °C)下, 连续 72 小时观察菌株生长情况(OD_{600})和 NH_4^+ -N 去除率。

温度变化通过影响微生物新陈代谢中酶的活性, 进而影响细菌的生长和 NH_4^+ -N 的去除效率(图 3)。20 °C 时, 菌株生长正常。随着温度升高酶的活性会增加^[26]。25 °C 时, 菌株生长最旺盛, 酶的活性最好, OD_{600} 为 1.36 ± 0.03 。48 小时后菌株生长进入稳定期。温度继续升高, 生物量比 25 °C 时有所下降, 超过酶的最适温度。随着生长环境温度升高, 超过酶促反应的最适温度, 细胞内酶活性下降, 直观表现为 OD_{600} 下降。30 °C 时, 菌株的生物量下降不很明显, OD_{600} 为 1.08 ± 0.01 。温度上升到 35 °C 以上(如 40 °C)时, 与接种时 OD_{600} 数值相比基本上没有变化, 菌株的生长受到抑制。可见, TH20 是一株嗜温性菌株, 最适温度范围为 20~35 °C。

TH20 的 NH_4^+ -N 去除能力与其细胞生长状况密切相关。20~30 °C 时, 菌株可以在 72 小时内将 NH_4^+ -N 完全转化利用, 培养体系中不含 NH_4^+ -N。在 35 °C 以上的时, 菌株生长受到抑制, 不能利用 NH_4^+ -N。究其原因, 嗜温型细菌氮的去除效果受温度影响^[27]。综合菌株的生长情况和 NH_4^+ -N 的去除效率, 该菌株最适宜的温度为 25 °C。

2.2.2 初始 pH 值

在接种比 5%(体积比)、转速 160 rpm、25 °C 和 NH_4^+ -N 浓度 100 mg/L 条件下, 改变初始 pH 值(5.0, 6.0, 7.0, 8.0 和 9.0), 连续 72 小时观察菌株生长情况和 NH_4^+ -N 去除能力。

在 pH 为 5.0~9.0 的范围内, 菌株均可以生长, 且在碱性条件下生长情况更优(图 4)。在前 12 小时, 菌株的适应期是一致的。在对数生长阶段, pH=5.0 实验组生物量明显低于其他实验组。36 小时后, 所有实验组都进入稳定期。当 pH 为 6.0 时, OD_{600} 为 0.68 ± 0.09 , NH_4^+ -N 的去除速率只有 $0.46 \text{ mg}/(\text{L} \cdot \text{h})$ 。当 pH 为 7.0 时, OD_{600} 达到 1.16 ± 0.09 , NH_4^+ -N 去除效率达到 99% 以上, 去除速率为 $1.36 \text{ mg}/(\text{L} \cdot \text{h})$, 明显高于 pH 为 6.0 时的 NH_4^+ -N 去除能力。在 pH 为 8.0 和 9.0 的实验组中, 菌株的生长量与 pH 为 7.0 时相差不大, 并且 NH_4^+ -N 的去除速率均在 $1.34 \text{ mg}/(\text{L} \cdot \text{h})$ 以上。综合考虑 OD_{600} 和 NH_4^+ -N 的去除效率

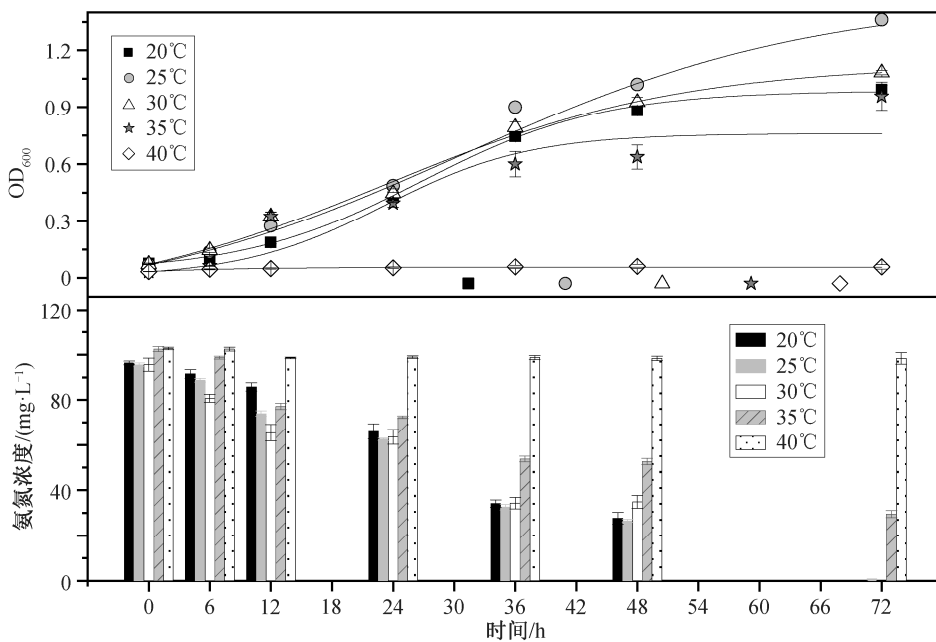


图 3 温度对 *Rhodoblastus* sp. TH20 菌株生长和 NH_4^+ -N 去除的影响

Fig. 3 Effects of temperature on cell growth and ammonium removal by *Rhodoblastus* sp. TH20

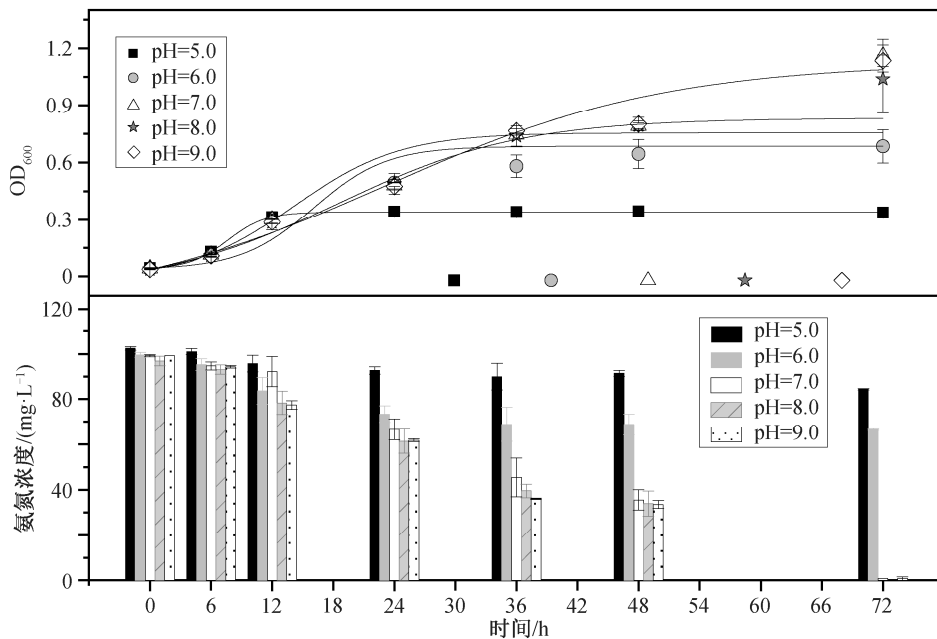


图 4 初始 pH 值对 *Rhodoblastus sp.* TH20 菌株生长和 NH₄⁺-N 去除的影响
Fig. 4 Effects of initial pH on cell growth and ammonium removal by *Rhodoblastus sp.* TH20

两个因素, 该菌株的最适初始 pH 为 7.0。

2.2.3 转速

在接种比 5% (体积比)、pH=7.0、25℃ 和 NH₄⁺-N 浓度为 100 mg/L 的条件下, 改变转速 (120, 160 和 200 rpm), 连续 72 小时观察菌株生长情况和 NH₄⁺-N 去除能力。

血清瓶中的气体与培养液不停地交换, 在不同

的转速条件下, 菌株的生长与 NH₄⁺-N 去除量也相应地变化 (图 5)。*TH20* 属于化能无机自养型微生物, 需要利用培养基中的 H₂, O₂ 和 CO₂ 气体。转速的高低会直接影响气体在气液两种介质界面的交换, 转速越高, 气体交换量越大。考虑到经济成本, 需要选取去除效果好且转速较低的条件。在 120 rpm 时, 菌株的生长 OD₆₀₀ 为 1.05±0.03, NH₄⁺-N 的去除效率

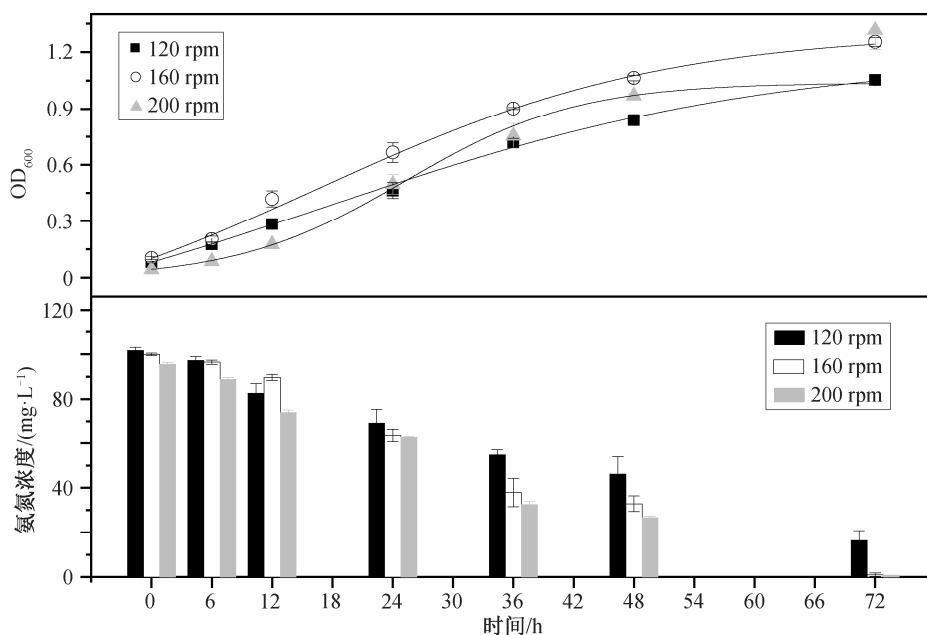


图 5 转速对 *Rhodoblastus sp.* TH20 菌株生长和 NH₄⁺-N 去除的影响
Fig. 5 Effects of shaking speed on cell growth and ammonium removal by *Rhodoblastus sp.* TH20

只有84.2%。转速为160 rpm时,菌株的生物量大幅度增加,OD₆₀₀为1.25±0.02,并且NH₄⁺-N的去除率可以达到接近99%,去除速率为1.32 mg/L/h。转速为200 rpm时,NH₄⁺-N去除率可以达到99%以上,生物量的增长不明显,OD₆₀₀为1.32±0.10,NH₄⁺-N去除速率为1.38 mg/(L·h)(略高于1.32)。这一结果与Liu等^[28]转速超过一定数值(如200 rpm)时,NH₄⁺-N去除菌株生长速度没有明显增加的结论一致。综合生物量和NH₄⁺-N去除速率,选择160 rpm为最适转速。

2.2.4 初始 NH₄⁺-N 浓度

在接种比5%(体积比)、转速160 rpm、pH=7.0和25℃条件下,改变初始NH₄⁺-N浓度(50, 100, 200和600 mg/L),连续72小时观察菌株生长情况和NH₄⁺-N去除能力,如图6所示。

TH20菌株在以NH₄⁺-N为唯一氮源条件下,利用NH₄⁺-N合成细胞物质。在50 mg/L NH₄⁺-N浓度条件下,TH20菌株生长最先到达稳定期,在36小时内NH₄⁺-N被利用完,生长进入稳定期,OD₆₀₀为0.99±0.09,NH₄⁺-N的去除速率为1.34 mg/(L·h)。在100 mg/L NH₄⁺-N浓度条件下,菌株生长48小时才进入稳定期,OD₆₀₀达到1.36±0.03,去除效率为99.2%。随着NH₄⁺-N浓度的提升,在200 mg/L实验组中,菌株生长与100 mg/L实验组基本上一致(OD₆₀₀为1.34±0.04),600 mg/L时OD₆₀₀为1.32±

0.08,略小于100 mg/L时的数值,NH₄⁺-N的去除率分别为47.9%和18.95%。总体上,恒定体积(70 mL)中菌株的OD₆₀₀稳定在1.30左右,NH₄⁺-N消耗量基本上都维持在100 mg/L左右。该现象间接地说明,菌株主要通过同化的方式利用氨氮,即菌株生长量一定时,单个菌株的氨氮同化能力也是不变的,即消耗的表现氨氮含量稳定在一个数值。

2.3 对不同氮源的利用

2.3.1 单一氮源

为了研究氮的去除特性,在好氧条件下,TH20分别将NH₄⁺-N,NO₃⁻-N和NO₂⁻-N作为唯一氮源进行培养。在接种比5%(体积比)、转速160 rpm、pH=7.0、25℃和氮浓度为100 mg/L条件下改变氮源,连续72小时观察菌株生长情况和NH₄⁺-N去除能力,结果如图7所示。

图7(a)中,TH20菌株的生长稳定后,NH₄⁺-N为氮源的实验组的OD₆₀₀从0.07±0.0增加到1.36±0.03。在菌株生长过程中,伴随着无机氮的去除,氮的浓度在接种后72小时发生明显的变化。在前6小时,菌株处在适应期,对外界的营养物质利用较少,NH₄⁺-N变化量仅为6.8 mg/L;在6~48小时期间,菌株进入对生长期,开始大量繁殖,NH₄⁺-N急剧减少,去除率达到99.3%,去除速率为1.32 mg/(L·h),同时有机氮含量逐渐增加,直到无机氮消耗殆尽。在菌株整个生长阶段,未检测到任何硝化与

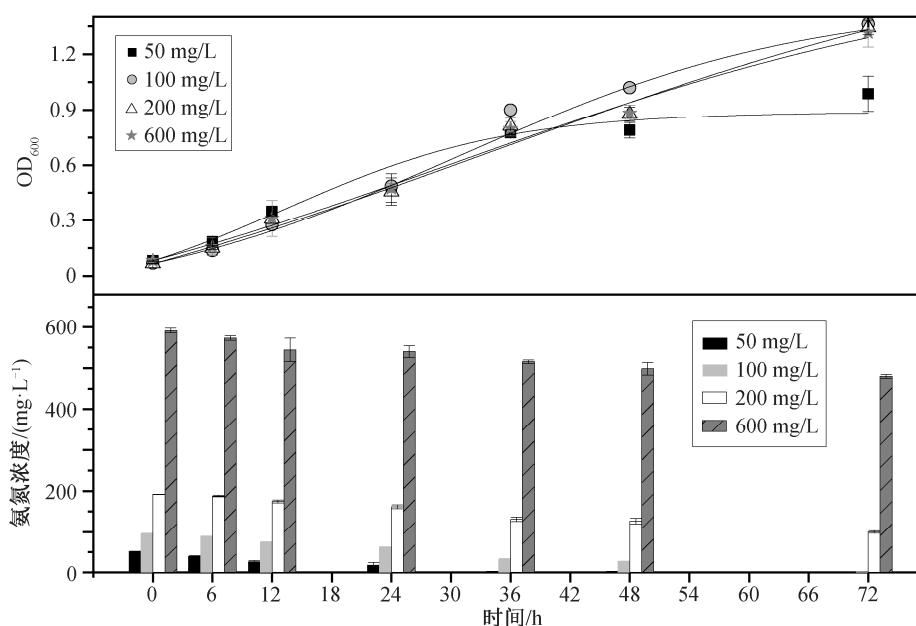


图6 初始NH₄⁺-N浓度对*Rhodoblastus sp.* TH20菌株生长和NH₄⁺-N去除的影响

Fig. 6 Effects of initial NH₄⁺-N concentration on cell growth and ammonium removal by *Rhodoblastus sp.* TH20

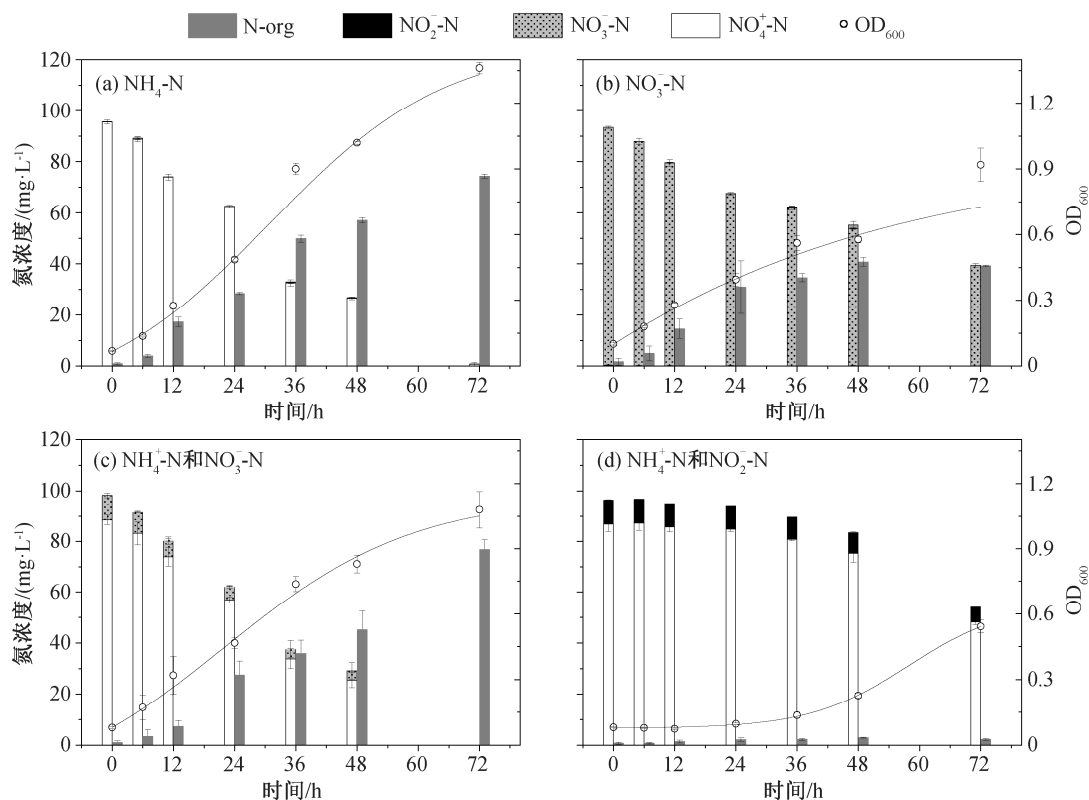


图 7 *Rhodoblastus* sp. TH20 菌株生长和相应的氮分布

Fig. 7 Cell growth of *Rhodoblastus* sp. TH20 and species distribution of nitrogen accordingly

反硝化的中间态物质(如无机态的 NO_3^- -N 和 NO_2^- -N)。除小部分的氮转化为气态氮逸出外, 70%以上的 NH_4^+ -N 转移至细胞体内, 以有机氮的形式储存起来^[29]。

图 7(b)中, TH20 细菌以 NO_3^- -N 为唯一的氮源, 在适应期(0~6 小时)内, NO_3^- -N 的含量基本上没有变化。进入对数生长期(6~48 小时)后, 菌株开始生长, OD_{600} 从 0.10 ± 0.0 增加到 0.92 ± 0.08 , NO_3^- -N 明显下降。72 小时内 NO_3^- -N 的去除率为 58%, 去除速率为 $0.75 \text{ mg}/(\text{L} \cdot \text{h})$ 。在消耗的 NO_3^- -N 中, 40%以有机氮的形式储存在细胞体内, 其余以气态氮的形式脱除, 完成氮的循环。氮的消耗均在对数生长期, 与 NH_4^+ -N 的消耗情形一致。此外, 当以 NO_2^- -N 为菌株的唯一氮源时, 菌株并不生长。

2.3.2 混合氮源

如图 7(c)所示, 在 $90 \text{ mg}/\text{L}$ NH_4^+ -N 的培养基体系中添加 $10 \text{ mg}/\text{L}$ NO_3^- -N, 菌株的生长与以 NH_4^+ -N 为唯一氮源的趋势一致。在适应期(0~6 小时), OD_{600} 和氮浓度基本保持不变。进入对数生长期, OD_{600} 从 0.17 ± 0.06 增至 1.08 ± 0.08 , NH_4^+ -N 的含量急剧减少, 有机氮含量大幅增加。添加的 $10 \text{ mg}/\text{L}$

NO_3^- -N, 在适应期没有明显的变化, 在对数生长期全部的 NO_3^- -N 被消耗。TH20 对 NH_4^+ -N 的去除率近 100%, NO_3^- -N 的去除率近 100%, 氮的去除速率为 $1.37 \text{ mg}/(\text{L} \cdot \text{h})$, 在生长过程中未检测到 NO_2^- -N, 78.4%的无机氮转化为有机氮。

在图 7(d)中, 向 NH_4^+ -N 培养基体系中添加 $10 \text{ mg}/\text{L}$ NO_2^- -N, 菌株的生长及氮的分布发生明显变化。TH20 的适应期从正常的 6 小时增至 36 小时, OD_{600} 从 0.08 ± 0.0 增至 0.54 ± 0.03 (仅为 NH_4^+ -N 体系中的 40%), 在生长过程中只有不到 45%的 NH_4^+ -N 被利用。在适应期, NO_2^- -N 含量保持不变, 进入对数生长期后, 仅有约 $3.6 \text{ mg}/\text{L}$ 的 NO_2^- -N 被利用, 整个生长阶段没有检测到 NO_3^- -N 的生成, NO_2^- -N 积累抑制 TH20 的生长。

2.4 微生物蛋白的特性

HOB 细菌蛋白的含量基本上在 70%以上^[17,30-31](以干细胞净重计算), 明显高于鱼蛋白的 66%^[31], 大豆蛋白的 45%^[31], 酵母的 50%^[17]以及谷物的 15%^[17]。与传统的硝化与反硝化菌株相比, HOB 具有在自养条件下利用无机气体产生菌体蛋白进行回收再利用的优势。在最优的生长条件下, 菌株在

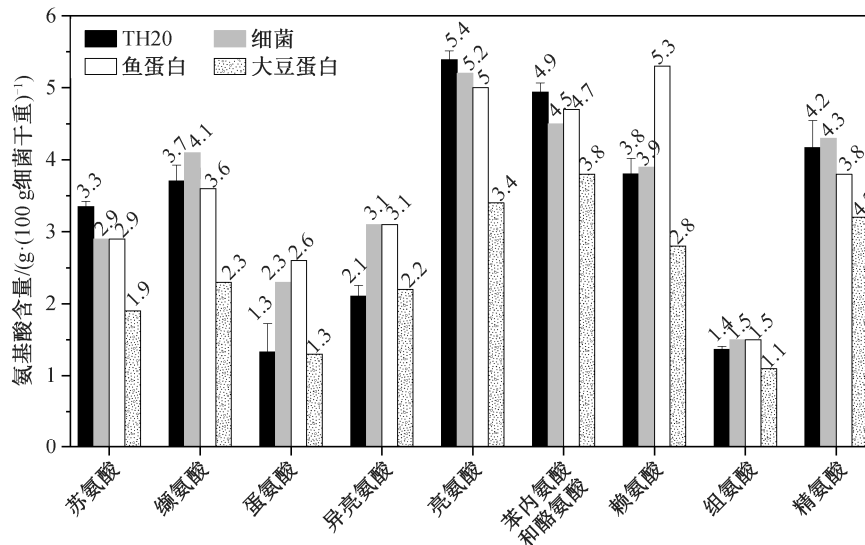


图 8 *Rhodoblastus sp.* TH20 与细菌、鱼蛋白和大豆主要氨基酸的对比^[31]

Fig. 8 Essential amino acids profile of the microbial biomass produced under ammonium by *Rhodoblastus sp.* TH20 compared with bacterial meal, fishmeal and soybean meal^[31]

100 mg/L 的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 培养体系中可以稳定地获得单一的菌体蛋白。

如图 8 所示, 本研究对 H20 菌体蛋白中的氨基酸(包括精氨酸和组氨酸这两种半必需氨基酸)成分与细菌^[32]、鱼蛋白和大豆蛋白进行比较。TH20 菌体中各种氨基酸(除苯丙氨酸和酪氨酸外)含量均超过大豆蛋白中的含量; 苏氨酸、缬氨酸、亮氨酸和组氨酸的含量, TH20 与鱼蛋白含量相当; 精氨酸的含量, TH20 与鱼蛋白基本上一致, 略低于细菌含量, 高于大豆的含量。此外, TH20 菌体中还检测出 4 种大豆蛋白中未含有的氨基酸, 分别为天冬氨酸、丝氨酸、谷氨酸和脯氨酸^[20]。整体而言, TH20 包含的必需氨基酸含量明显高于植物蛋白, 接近动物蛋白, 与 Volova 等^[30]的研究结果一致。

3 结论

本文从污水处理厂活性污泥中筛选出一株自养型氢氧化细菌 HOB, 研究其优化生长条件以及对不同氮源的利用情况, 得到如下主要结论。

1) TH20 的最适生长条件为 25℃, 160 rpm 和 pH =7.0。

2) 当初始 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度为 100 mg/L 时, 72 小时内 TH20 的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 去除率可达到 99%。

3) TH20 能够将 77.8% 以上的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 转化为微生物蛋白储存在菌体内。

参考文献

- [1] Ezeh A C, Bongaarts J, Mberu B. Global population trends and policy options. *Lancet*, 2012, 380: 142–148
- [2] Searchinger T, Hanson C, Ranganathan J, et al. World resources report 2013–2014: creating a sustainable food future. Washington, DC: World Resources Institute, 2013
- [3] 陈珂珂, 方在庆. “氮问题”的解决与“硝酸盐危机”的克服——哈伯-博施氨合成法在 1902 ~ 1915 年的发展及运用. *广西民族大学学报(自然科学版)*, 2011, 17(4): 15–23
- [4] Townsend A R, Howarth R W, Bazzaz F A, et al. Human health effects of a changing global nitrogen cycle. *Frontiers in Ecology & the Environment*, 2003, 1(5): 240–246
- [5] Lelieveld J, Evans J S, Fnais M, et al. The contribution of outdoor air pollution sources to premature mortality on a global scale. *Nature*, 2015, 525: 367–371
- [6] Erisman J W, Sutton M A, Galloway J, et al. How a century of ammonia synthesis changed the world. *Nature Geoscience*, 2008, 1(10): 636–639
- [7] Daigger G T. Evolving urban water and residuals management paradigms: water reclamation and reuse, decentralization, and resource recovery. *Water Environment Research*, 2009, 81(8): 809–823
- [8] Verstraete W. Environmental biotechnology for sustainability. *Journal of Biotechnology*, 2002, 94(1): 93–

100

- [9] 中华人民共和国生态环境部. 2018 中国生态环境状况公报[EB/OL]. [2019-05-22] (2020-06-20). <http://www.mee.gov.cn/hjzl/sthjzk/zghjzkgb/201905/P020190619587632630618.pdf>
- [10] Ata O N, Kanca A, Demir Z, et al. Optimization of ammonia removal from aqueous solution by microwave-assisted air stripping. *Water, Air, & Soil Pollution*, 2017, 228: no. 448
- [11] Wang S, Peng Y. Natural zeolites as effective adsorbents in water and wastewater treatment. *Chemical Engineering Journal*, 2010, 156(1): 11-24
- [12] 过江洋, 杜海霞, 吴慧芳, 等. 双室 MFC 同时处理活性污泥及氨氮废水的研究. *环境科学与技术*, 2019, 42(6): 115-120
- [13] Khosravi-Darani K, Mokhtari Z B, Amai T, et al. Microbial production of poly(hydroxybutyrate) from C₁ carbon sources. *Applied Microbiology & Biotechnology*, 2013, 97(4): 1407-1424
- [14] Matassa S, Batstone D J, Hülsen T, et al. Can direct conversion of used nitrogen to new feed and protein help feed the world? *Environmental Science & Technology*, 2015, 49(9): 5247-5254
- [15] Ziogou C, Ipsakis D, Stergiopoulos F, et al. Infrastructure, automation and model-based operation strategy in a stand-alone hydrolytic solar-hydrogen production unit. *International Journal of Hydrogen Energy*, 2012, 37(21): 16591-16603
- [16] Ishizaki A, Tanaka K. Batch culture of *Alcaligenes eutrophus* ATCC 17697^T using recycled gas closed circuit culture system. *Journal of Fermentation & Bioengineering*, 1990, 69(3): 170-174
- [17] Matassa S, Boon N, Verstraete W. Resource recovery from used water: the manufacturing abilities of hydrogen-oxidizing bacteria. *Water Research*, 2015, 68: 467-478
- [18] 王琳, 李志英, 常小娟, 等. 氢氧化细菌 SDW-16 的分离鉴定及促生特性. *微生物学杂志*, 2019, 39(4): 40-45
- [19] 王琳, 李璐璐, 李志英, 等. 紫花苜蓿根际氢氧化细菌的分离及其对小麦种子促生作用的研究. *微生物学杂志*, 2020, 40(1): 45-51
- [20] Dou J, Huang Y, Ren H, et al. Autotrophic, heterotrophic, and mixotrophic nitrogen assimilation for single-cell protein production by two hydrogen-oxidizing bacterial strains. *Applied Biochemistry & Biotechnology*, 2018(2): 1-14
- [21] Foster J F, Litchfield J H. Systems approach to evaluating *Hydrogenomonas* cultures [R]. Washington DC: NASA, 1969
- [22] Repaske R. Nutritional requirements for *Hydrogenomonas eutropha*. *Journal of Bacteriology*, 1962, 83(2): 418-422
- [23] Lu Y, Yu J. Comparison analysis on the energy efficiencies and biomass yields in microbial CO₂ fixation. *Process Biochemistry*, 2017, 62: 151-160
- [24] Yu J, Dow A, Pingali S. The energy efficiency of carbon dioxide fixation by hydrogen-oxidizing bacterium. *International Journal of Hydrogen Energy*, 2013, 38(21): 8683-8690
- [25] Hui Q, Donde O O, Tian C, et al. Novel heterotrophic nitrogen removal and assimilation characteristic of the newly isolated bacterium *Pseudomonas stutzeri* AD-1. *Journal of Bioscience & Bioengineering* 2018, 126(3): 339-345
- [26] 白红娟, 肖根林, 贾万利, 等. 光合细菌提高污染土壤中酶活性的研究. *工业安全与环保*, 2011, 37(6): 13-15
- [27] 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. *Bioresource Technology*, 2013, 146(10): 44-50
- [28] Liu Y, Ai G M, Wu M R, et al. *Photobacterium* sp. NNA4, an efficient hydroxylamine-transforming heterotrophic nitrifier/aerobic denitrifier. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2019, 128(1): 64-71
- [29] Li Y, Wang Y, Fu L, et al. Aerobic-heterotrophic nitrogen removal through nitrate reduction and ammonium assimilation by marine bacterium *Vibrio* sp. Y1-5. *Bioresource Technology*, 2017, 230: 103-111
- [30] Volova T G, Barashkov V A. Characteristics of proteins synthesized by hydrogen-oxidizing microorganisms. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 2010, 46(6): 574-579
- [31] Matassa S, Verstraete W, Pikaar I, et al. Autotrophic nitrogen assimilation and carbon capture for microbial protein production by a novel enrichment of hydrogen-oxidizing bacteria. *Water Research*, 2016, 101: 137-146
- [32] Øverland M, Tauson A-H, Shearer K, et al. Evaluation of methane-utilising bacteria products as feed ingredients for monogastric animals. *Archives of Animal Nutrition*, 2010, 64(3): 171-189