

# 耐冷型硝化-反硝化菌剂在水产养殖尾水脱氮中的应用

冯杰<sup>1</sup> 魏锋<sup>1</sup> 李娜娜<sup>1</sup> 孙杰<sup>2</sup>

1 南京万瑞环境科技有限公司

2 南京工业大学生物与制药工程学院

DOI:10.32629/eep.v8i11.3011

**[摘要]** 低温下脱氮效率低是水产养殖尾水处理难题。本研究在10℃低温下,将耐冷型硝化菌BioPower101与反硝化菌*Bacillus cereus* NWR1组合用于自然水体原水处理并优化关键工艺参数。结果显示,BioPower101在10℃低温下有显著氨氮降解潜力,对原水低浓度氨氮(10 mg/L)去除率达97.3%,最佳接种量为0.1%,且原水中土著微生物低温无脱氮能力;BioPower101与NWR1协同作用并补充碳源后,TN去除率达46.44%,确定 $m_c/m_n=20$ 为最佳碳氮比。

**[关键词]** 低温脱氮; 水产养殖尾水; 硝化菌; 反硝化菌

中图分类号: S955 文献标识码: A

## Application of Cold-tolerant Nitrification-Denitrification Bacterium in Nitrogen Removal from Tailwater of Aquaculture

Jie feng<sup>1</sup> Feng Wei<sup>1</sup> Nana Li<sup>1</sup> Jie Sun<sup>2</sup>

1 Nanjing wanrui environment technology co., ltd

2 College of Biological and Pharmaceutical Engineering, Nanjing University of Technology

**[Abstract]** Low nitrogen removal efficiency at low temperature is a problem in aquaculture tail water treatment. In this study, the combination of cold-tolerant nitrifying bacteria BioPower101 and denitrifying bacteria *Bacillus cereus* NWR1 was used to treat raw water at 10°C, and key process parameters were optimized. Results show that BioPower101 has significant ammonia nitrogen degradation potential at 10°C, with a 97.3% removal rate of low-concentration ammonia nitrogen (10 mg/L) in raw water and an optimal inoculation amount of 0.1%. Indigenous microorganisms in raw water can't remove ammonia nitrogen at low temperature. After the synergistic effect of BioPower101 and NWR1 and addition of carbon source, the TN removal rate reached 46.44%, and  $m_c/m_n=20$  was determined as the best carbon-nitrogen ratio.

**[Key words]** low temperature denitrification; Aquaculture tail water; Nitrifying bacteria; denitrifying bacterium

### 前言

中国是世界水产养殖第一大国,其养殖规模和产量皆占全球总量的60%以上,且保持持续增长态势<sup>[1]</sup>。《2022年全国渔业经济统计公报》显示,我国水产养殖总面积已达710.75万公顷,总产量突破5565.46万吨<sup>[2]</sup>。伴随产业规模的快速扩张,养殖尾水排放量激增,尾水中的残饵、粪便及其他代谢产物等污染物加重了邻近水域的营养负荷。根据《第二次全国污染源普查公告》,全国2843个区县涉及水产养殖业,其化学需氧量、总氨氮、总氮和总磷排放量分别达66.60、2.23、9.91、1.61万吨,排放强度与工业源相当<sup>[3]</sup>。在各类污染物中,氮素污染是制约行业可持续发展的关键瓶颈<sup>[4]</sup>。研究显示,高蛋白饲料中仅25%-30%的氮被养殖生物有效利用,70%以残饵、粪便等形式进入水体。这些含氮物质经微生物氨化作用产生 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ ,不仅损伤水生动物鳃组

织、破坏氧化代谢功能,导致生长停滞甚至死亡,还会引发水体富营养化,造成溶解氧下降、藻类暴发及藻毒素积累,瓦解养殖系统生态平衡<sup>[5]</sup>。部分 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 经硝化反应转化为 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ ,高浓度 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 会加剧养殖环境恶化,导致病原菌富集,引发水产动物代谢与排泄功能异常,威胁其生存。

针对 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 污染治理,工业领域已有成熟技术,主要包括物理化学法<sup>[6][7]</sup>和生物脱氮法。物理化学法虽能快速脱氮,但设备投资与维护成本高、易产生二次污染,不适用自然水体治理<sup>[8]</sup>。生物脱氮法依赖微生物代谢将 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 转化为氮气,兼具经济性与环境友好性,是主流选择。然而,生物脱氮技术在低温(5-15℃)条件下应用仍面临挑战,这是环境治理共性难题。与工业废水不同,养殖尾水作为自然水体难以调控温度,且执行硝化反硝化功能的关键功能菌群在自然水体中丰度低,缺乏耐冷菌

株, 导致冬季尾水脱氮处理效率显著下降。

近年来, 随着耐冷微生物研究深入, 低温生物脱氮技术取得突破, 多项研究表明特定耐冷硝化菌和反硝化菌在低温下仍有显著脱氮活性。如张婷<sup>[9]</sup>筛选出的菌株N2在8℃下对模拟水体中氨氮、硝态氮、亚硝态氮的去除率均达到100%; 董怡华<sup>[10]</sup>分离的菌株DH-3, 在10℃好氧条件下培养48 h, 对NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N和NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N去除率分别达99.07%、96.89%和90.29%; 丁晓宇<sup>[11]</sup>筛选的菌株TY1在8℃下, 对单一氮源氨氮、硝酸盐氮和亚硝酸盐氮去除率分别为97.47%、81.85%、97.51%, 均展现高效低温脱氮特性。但这些结果是在实验室模拟水体中基于单菌研究获得, 难以评估菌株在实际自然水体中与土著微生物共存时对脱氮的实际效能。基于此, 本研究选用高效耐冷硝化菌与反硝化菌, 系统评价其在低温条件下对养殖尾水中不同浓度氨氮的去除效果, 为解决冬季水产尾水脱氮难题提供生物处理方案。

### 1 材料与方法

1.1 水样采集。2025年1月, 在江苏省连云港市东干河道水深50cm处, 用采水器采集受纳东辛农场养殖尾水的水样, 低温运回实验室。水质指标检测结果见表1。

表1 水质指标

| COD    | NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N | NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> -N | NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N | TN     | TP     |
|--------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|--------|--------|
| (mg/L) | (mg/L)                          | (mg/L)                          | (mg/L)                          | (mg/L) | (mg/L) |
| 45.32  | 10.82                           | 0.23                            | 0.4                             | 11.56  | 1.54   |

1.2 菌剂。硝化菌BioPower101, 主要含亚硝化单胞菌、硝化杆菌, 由武汉水之国环保科技有限公司提供; 反硝化菌株 *Bacillus cereus* NWR1, 由南京万瑞环境科技有限公司研发中心筛选得到, 用以下培养基培养: 乙酸钠0.5g、NaNO<sub>3</sub> 0.1g、K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.1g、CaCl<sub>2</sub> 0.05g、MgCl<sub>2</sub> 0.05g, 加蒸馏水至1 L, pH 7.0-7.5。

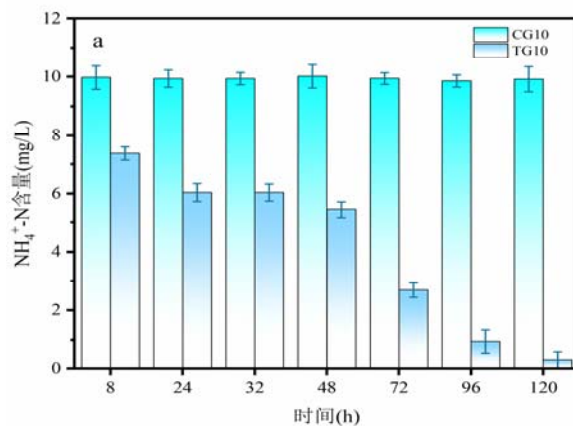
1.3 方法。(1) BioPower101氨氮降解实验。实验在500 mL锥形瓶中开展, 装液量200 mL (后续实验均保持该体系)。设置10、40、80 mg/L三个NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N梯度, 10 mg/L为河道原水, 40 mg/L及80 mg/L通过添加NH<sub>4</sub>Cl调节。各试验组(TG10、TG40、TG80)分别按0.5% (v/v) 接种量接入BioPower101菌液 (OD<sub>600</sub>值≈0.8), 相应对照组(CG10、CG40、CG80)接入等量灭菌菌液。每个处理设三个重复, 所有处理置于10℃恒温培养箱静置培养, 分别在0、8、24、32、48、72、96、120 h时取样, 样品经5000 r/min离心5 min后, 收集上清液测定NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N含量。(2) BioPower101最佳接种量实验。以河道原水为实验水样, 设置0%、0.1%、0.5%、1%、2% (v/v) 五个接种量梯度。每个处理设三个重复, 所有处理于10℃恒温静置培养120 h。取样后经5000 r/min离心5 min, 收集上清液测定NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N、NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N、TN含量。(3) BioPower101与 *B. cereus* NWR1联合脱氮实验。以河道原水为实验水样, 设三组处理: 对照组(CK)接种0.5% (v/v) BioPower101及0.5% (v/v) 灭活 *B. cereus* NWR1 菌液 (OD<sub>600</sub> 值 ≈ 2.0); 混菌组 (Mix) 接种0.5% (v/v) BioPower101及0.5% (v/v) *B. cereus* NWR1 菌液; 补碳

组 (Mix+C) 接种与Mix组相同菌液并加乙酸钠至乙酸钠终浓度180 mg/L。每个处理设三个重复, 所有处理组10℃恒温箱静置培养120 h, 分别在0、8、24、32、48、72、96、120 h时取样, 样品5000 r/min离心5 min后取上层清液检测NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N、NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N、TN含量。(4) *m*/*m*对脱氮效果的影响。以河道原水为测试水样, 添加乙酸钠设4组*m*/*m*比约为5、10、20、30, 对应乙酸钠添加量为4 mg、65 mg、190 mg、312 mg。菌剂接种与1.3.3节Mix组相同。每个处理设三个重复, 所有处理组放于10℃恒温箱静置培养120 h, 分别在0、8、24、32、48、72、96、120 h取样, 样品经5000 r/min离心5 min后取上层清液检测NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N、NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N、TN含量。(5) 水质分析方法。NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N采用纳氏试剂分光光度法 (HJ535-2009) 检测; NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N采用分光光度法 (GB 7493-87) 测定; NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N采用紫外分光光度法 (HJ/T 346-2007) 测定; COD采用重铬酸钾法 (HJ 828-2017); TN采用碱性过硫酸钾氧化-紫外分光光度法 (HJ 636-2012) 测定; TP采用钼酸铵分光光度法 (GB/T 11893-1989) 测定; 以上参数均由盛奥华6B-1800型水质检测仪和智能消解仪SH-30A组合测定。

### 2 结果分析

2.1 BioPower101对不同浓度NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N的降解效果。BioPower101在10、40、80 mg/L初始NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N浓度下的脱氮性能如图1 a-c所示。TG10、TG40和TG80组NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N含量随反应时间延长逐渐下降, 反应120 h后, TG10组降至0.29 mg/L, 去除率达97.3%, TG40组和TG80组分别降至15.88 mg/L和51.65 mg/L, 去除率分别为60.1%和35.4%。相比之下, CG10、CG40、CG80组NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N含量随时间无明显变化。

该结果表明, 10℃低温下养殖尾水土著菌群无显著氨氮去除能力, 不能完成完整硝化过程, BioPower101在养殖尾水原水中的硝化作用不受土著菌群影响, 在低温下有显著氨氮降解潜力。高初始氨氮浓度下去除率相对较低, 主要是因为模拟实际工业场景采用了较低菌剂接种量, 固定且较低的初始微生物负载限制了总代谢能力和降解通量。低氨氮浓度 (10 mg/L) 下, 底物浓度远低于微生物饱和和代谢水平, 可接近完全去除; 初始氨氮浓度显著升高时, 单位体积内底物负荷超出当前微生物负载120 h内完全代谢的阈值, 导致去除率降低。



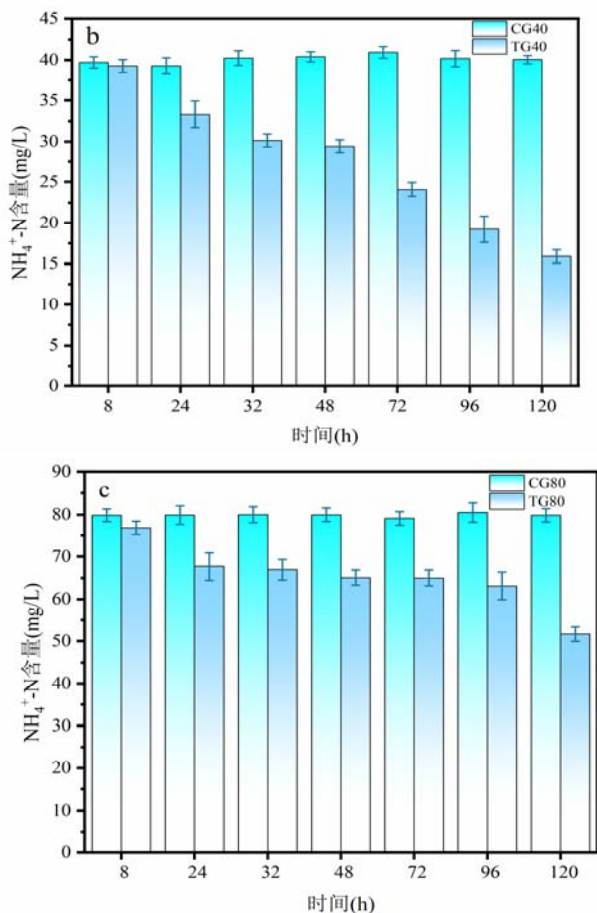


图1 BioPower101在10 mg/L(a)、40 mg/L(b)、80 mg/L(c) NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 浓度废水中的脱氮性能

2.2 BioPower101接种量对脱氮效果的影响。如图2所示,不同接种量的BioPower101在120 h静置培养后,均显著降低培养液中NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N含量,且NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N含量随接种量增加持续下降。0.1%接种量下,NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N含量降至0.566 mg/L,去除率达94.77%;2%接种量下,NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N含量降至0.268 mg/L,去除率为97.52%。虽然2%接种量有最高去除率,但0.1%接种量效果与之接近,基于工业应用经济性,确定0.1%为最佳浓度并用于后续实验。

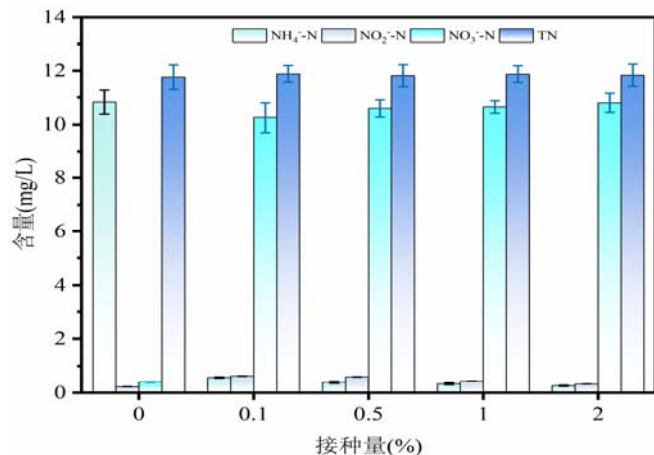


图2 接种量对BioPower101去除NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N效果影响

对反应体系内氮形态分析显示,NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N减少并未导致体系TN显著流失,TN含量基本恒定。同时,培养液中检测到NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N和NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N积累,符合传统硝化反应生化路径:氨氧化菌(AOB)将NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N氧化为NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N,亚硝酸盐氧化菌(NO<sub>2</sub>-N)继而将NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N氧化为NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N。表明BioPower101主要由AOB和NOB两类自养菌协同反应,且土著菌群在低温下同样无高效反硝化能力。值得注意的是,积累的NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N尤其是剧毒的NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N对水生生物和水环境构成显著风险。因此,为实现养殖尾水在低温下完全脱氮,亟需引入高效低温反硝化细菌。

2.3 BioPower101与*B. cereus* NWR1联合脱氮性能。BioPower101与*B. cereus* NWR1联合脱氮性能见图3,不同处理组的NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N、NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N、TN含量变化分别见图3 a-d。

由图3a可知,CK组、Mix组、Mix+C组在120 h内均完全降解NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N,最终去除率无显著差异,但降解动力学不同:与CK组相比,Mix组在24-96 h期间降解速率加快,补充碳源的Mix+C组降解速率进一步提升。图3b显示,CK组在0-48 h出现显著NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N积累,48 h后浓度下降;Mix组也有积累且峰值高于CK组,36 h后下降;Mix+C组在整个反应周期内NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N含量持续下降,无积累。图3c显示,CK组和Mix组的NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N含量在反应中持续升高,反应结束时,CK组积累至10.58 mg/L,Mix组积累至9.62 mg/L;Mix+C组则显著降低,120 h时降至5.58 mg/L,较CK组降低47.2%。图3d显示,CK组的TN含量基本不变,Mix组在0-48h内略有下降后趋于稳定,最终去除率仅9.59%;Mix+C组的TN值在0-120 h内持续下降,最终去除率达46.44%。

上述结果揭示了BioPower101与NWR1的协同作用以及碳源的关键影响:Mix组初期NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N降解加速,是因为NWR1通过反硝化作用消耗积累的NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N,解除了其对BioPower101中AOB的抑制,体现了菌剂协同增效。不过,NWR1的引入间接抑制了亚硝酸盐氧化菌(NO<sub>2</sub>-N)的初期活性,使Mix组NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N积累峰值高于CK组。虽Mix组有反硝化功能,但因原生碳源匮乏,NWR1无法维持完整反硝化途径,致使NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N和NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N最终显著积累,TN去除率低。补充外源碳源有双重促进作用:一方面增强微生物(包括AOB)代谢活性,可能缩短低温适应期,提升Mix+C组初期NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N降解速率;更关键的是,充足碳源促进NWR1生长与代谢,驱动全程高效反硝化。这消除了NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N积累,大幅降低NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N残留浓度,较CK组降低47.2%,最终使氮素以N<sub>2</sub>形式有效脱除,实现46.44%的显著TN去除率。

2.4 *m<sub>c</sub>/m<sub>n</sub>*对脱氮效果的影响。碳源在反硝化中作电子供体,为微生物合成提供碳源。一定浓度内,有机碳源浓度越高,好氧反硝化菌反硝化速率越快<sup>[12]</sup>。不同*m<sub>c</sub>/m<sub>n</sub>*对混合菌群脱氮效果的影响见图4。分析图4a可知,*m<sub>c</sub>/m<sub>n</sub>*值升高,NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N降解速率加快,高碳氮比利于硝化。图4b显示,*m<sub>c</sub>/m<sub>n</sub>*为5时,NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N在0-36 h内上升,36 h达峰值后下降,有明显积累;*m<sub>c</sub>/m<sub>n</sub>*为10、20和30时无积累峰,且*m<sub>c</sub>/m<sub>n</sub>*值越高含量越低。图4c表明,所有处理组NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N在0-48 h缓慢上升,48 h后急速上升,120 h后,*m<sub>c</sub>/m<sub>n</sub>*值越高含量越低,*m<sub>c</sub>/m<sub>n</sub>*为5时最高,达9.22 mg/L。图4d

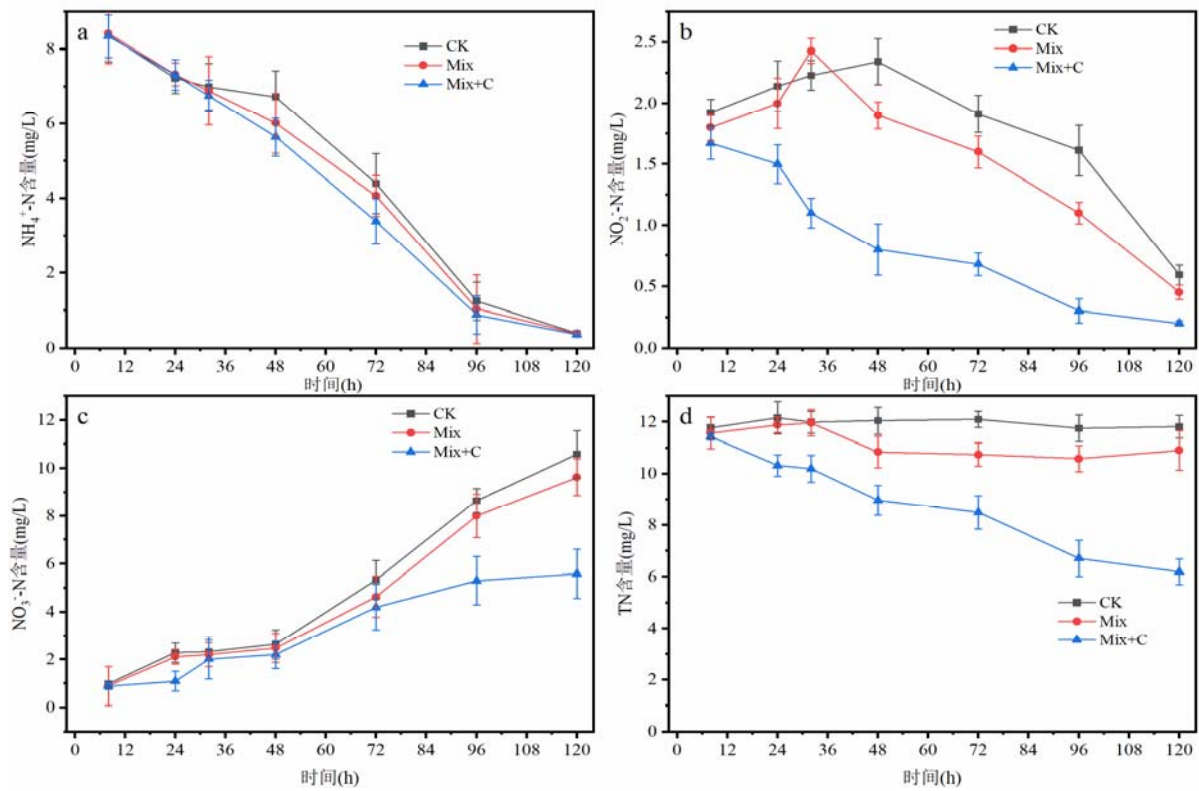


图3 不同处理组 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ (a)、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ (b)、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ (c)、TN(d)含量变化

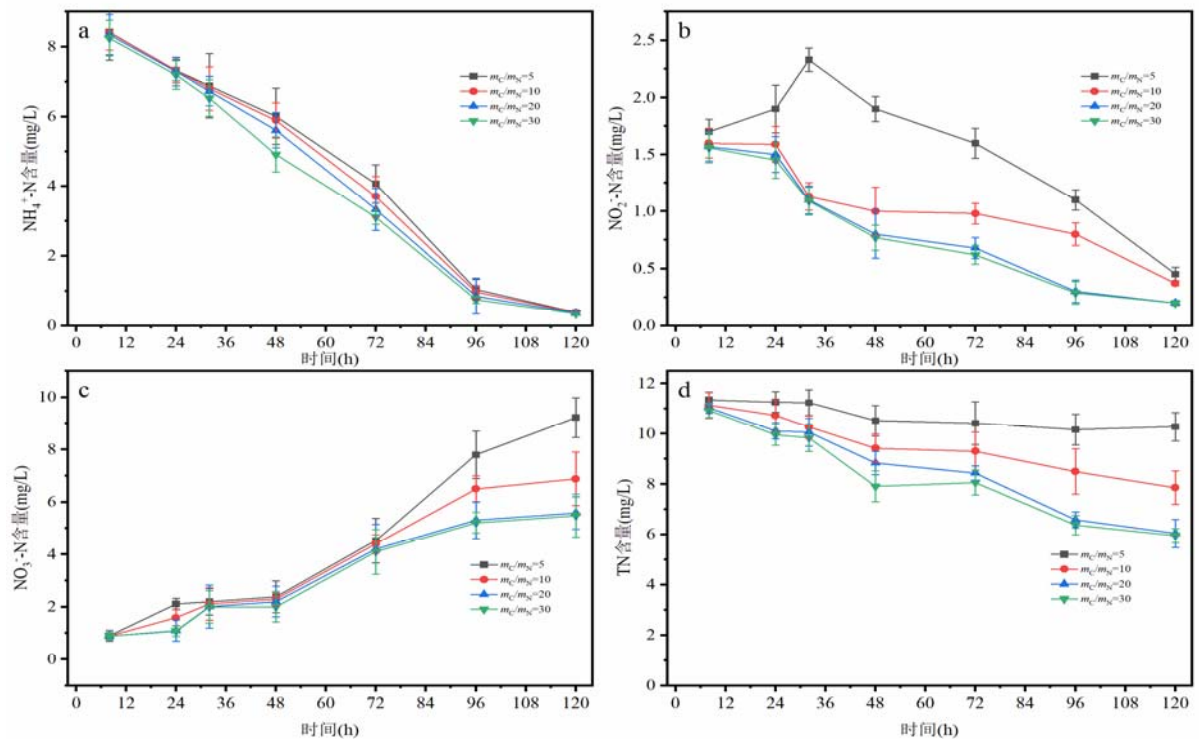


图4 不同 $m_1/m_2$ 的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ (a)、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ (b)、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ (c)、TN(d)含量变化

可见,  $m_c/m_n=5$ 时TN变化不大;  $m_c/m_n$ 为10、20和30时TN下降,且值越高去除效果越好,  $m_c/m_n=30$ 时去除率最高,为48.61%。综合比较,  $m_c/m_n$ 为20和30在各形态氮含量及TN去除效果上差异不显著,  $m_c/m_n$ 为20时TN去除率为47.82%。基于脱氮效能与经济性,确定  $m_c/m_n=20$ 为最佳碳氮比。

### 3 结论与展望

研究表明, BioPower101在10℃低温下可有效降解自然水体中 $\text{NH}_4^+-\text{N}$ , 10mg/L时去除率达97.3%, 最佳接种量为0.1% (v/v)。与*B. cereus* NWR1联用并补充适量碳源后, 菌群有显著协同效应: NWR1消耗 $\text{NO}_2^--\text{N}$ 解除其对BioPower101中AOB的抑制, 提升初期 $\text{NH}_4^+-\text{N}$ 降解速率; 外源碳源驱动NWR1完成全程反硝化, 消除 $\text{NO}_2^--\text{N}$ 积累, 使 $\text{NO}_3^--\text{N}$ 残留降低47.2%, TN去除率提升至46.44%。优化关键工艺参数确定  $m_c/m_n=20$ 为最佳碳氮比, TN去除率提升至47.82%, 兼顾脱氮效能与经济性。

未来研究方向如下: 深入解析NWR1等耐冷反硝化菌的低温适应机制及其反硝化代谢网络; 筛选更经济高效、环境友好的复合碳源并优化其投加策略; 开展中试规模试验, 评估该菌群组合在实际尾水处理工程系统中的长期运行效能、定殖稳定性与经济可行性; 探索生物强化技术与生态处理的耦合应用, 实现低温下氮磷污染物协同深度去除, 保障出水生态安全。

### [参考文献]

[1]马晓娜, 翟堂芳, 吴子恒, 等. 国外养殖尾水排放要求对中国水产养殖业绿色发展的启示[J]. 大连海洋大学学报, 2024, 39(2): 337-48.

[2]中华人民共和国农业农村部渔业渔政管理局. 2022年全国渔业经济统计公报[EB/OL]. [http://www.yyj.moa.gov.cn/kjz/202306/t20230628\\_6431131.htm](http://www.yyj.moa.gov.cn/kjz/202306/t20230628_6431131.htm).

[3]中华人民共和国生态环境部, 农业农村部. 关于发布

《第二次全国污染源普查公报》的公告(公告2020年第33号)[EB/OL]. [http://www.gov.cn/xinwen/2020-06/10/content\\_5518391.htm?tdsourcetag=s\\_pctim\\_aiomsg](http://www.gov.cn/xinwen/2020-06/10/content_5518391.htm?tdsourcetag=s_pctim_aiomsg).

[4]HAMBREY J. The 2030 agenda and the sustainable development goals: the challenge for aquaculture development and management[J]. FAO fisheries and aquaculture circular, 2017, C1141.

[5]李艳琴. 氨氮污染对水产养殖的危害及处理技术分析[J]. 农家科技(下旬刊), 2019(3):96.

[6]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.

[7]李硕. 折点氯化法处理采气废水中氨氮实验研究[J]. 石油化工安全环保技术, 2023, 39(4):43-6.

[8]陈小欢. 废水中氨氮的去除与利用[J]. 建筑工程技术与设计, 2018(31):3506.

[9]张婷, 刘诗园, 高雅娟, 等. 耐低温异养硝化-好氧反硝化菌N2的脱氮性能与应用[J]. 农业生物技术学报, 2024, 32(7):1626-41.

[10]董怡华, 王凌潇, 任涵雪, 等. 一株耐低温异养硝化-好氧反硝化菌的分离鉴定及其脱氮特性[J]. 生物技术通报, 2023, 39(12):237-49.

[11]丁晓宇, 卢兴顺, 吕航, 等. 耐低温异养硝化-好氧反硝化菌的分离鉴定及脱氮特性[J]. 水处理技术, 2022, 48(12):65-70+6.

[12]PAN Y, SUN R-Z, WANG Y, et al. Carbon source shaped microbial ecology, metabolism and performance in denitrification systems[J]. Water Research, 2023, 243:120330.

### 作者简介:

冯杰(1985-), 男, 汉族, 陕西省安康市人, 本科, 高级工程师, 研究方向: 环境工程。