

氮同化细菌 *Sulfitobacter* sp. IGS-18 在 MICP 过程中去除铵离子的研究

赵 越, 杨胜辉, 李宇晴, 张林林*

山东科技大学安全与环境工程学院, 山东 青岛

收稿日期: 2026年3月13日; 录用日期: 2026年4月22日; 发布日期: 2026年4月29日

摘 要

微生物诱导碳酸钙沉淀(MICP)技术在应用中面临副产物氨氮污染的问题。本研究以一株兼具脲酶、谷氨酸脱氢酶(GDH)和谷氨酰胺合成酶(GS)活性的亚硫酸盐杆菌 *Sulfitobacter* sp. IGS-18 为对象, 系统探究其铵离子去除的酶学基础与分子机制。结果表明, 该菌株GDH和GS酶的最适反应条件均为pH 8.5和40°C, 在高铵环境中GDH活性迅速响应, GS则持续发挥氨同化作用。铵离子去除实验显示, 与“产氨”菌株 *S. pasteurii* 相比, 生物矿化过程中IGS-18在6 h内实现的 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 的去除效率达90.1%。全基因组测序揭示其拥有脲酶基因簇 *ureABCEFGD*、谷氨酸脱氢酶基因 (*gdhA*) 和谷氨酰胺合成酶基因 (*glnA*), 以及GS-GOGAT循环相关基因, 为高效氨同化提供了基础。本研究从酶学与基因组学层面阐明了 *Sulfitobacter* sp. IGS-18 的铵离子去除机理, 为开发环境友好型MICP技术提供了理论依据和优良菌种资源。

关键词

Sulfitobacter sp. IGS-18, 微生物诱导碳酸钙沉淀(MICP), 氨氮降解, 全基因组测序

Study on Ammonium Ion Removal by Nitrogen Assimilating Bacteria *Sulfitobacter* sp. IGS-18 in MICP Process

Yue Zhao, Shenghui Yang, Yuqing Li, Linlin Zhang*

School of Safety and Environmental Engineering, Shandong University of Science and Technology, Qingdao Shandong

Received: March 13, 2026; accepted: April 22, 2026; published: April 29, 2026

*通讯作者。

文章引用: 赵越, 杨胜辉, 李宇晴, 张林林. 氮同化细菌 *Sulfitobacter* sp. IGS-18 在 MICP 过程中去除铵离子的研究[J]. 环境保护前沿, 2026, 16(4): 717-725. DOI: 10.12677/aep.2026.164072

Abstract

Microbial induced calcium carbonate precipitation (MICP) technology faces the problem of ammonia nitrogen pollution as a byproduct. This study used *Sulfitobacter* sp. IGS-18, a sulfite bacterium with urease, glutamate dehydrogenase (GDH), and glutamine synthetase (GS) activities, to systematically explore the enzymatic basis and molecular mechanism of its ammonium ion removal. The results showed that the optimal reaction conditions for GDH and GS enzymes in this strain were pH 8.5 and 40°C. In a high ammonium environment, GDH activity responded rapidly, while GS continuously exerted its ammonia assimilation effect. Ammonium ion removal experiments showed that, compared with the ammonia-producing strain *S. pasteurii*, IGS-18 achieved a 90.1% NH_4^+ -N removal efficiency within 6 h during the biomineralization process. Whole-genome sequencing revealed that it possesses the urease gene cluster ureABCEFGD, the glutamate dehydrogenase gene (*gdhA*), and the glutamine synthase gene (*glnA*), as well as GS-GOGAT cycle-related genes, providing a foundation for efficient ammonia assimilation. This study elucidated the ammonium ion removal mechanism of *Sulfitobacter* sp. IGS-18 from an enzymological and genomic perspective, providing a theoretical basis and excellent strain resources for the development of environmentally friendly MICP technology.

Keywords

Sulfitobacter sp. IGS-18, Microbially Induced Calcium Carbonate Precipitation (MICP), Ammonia Nitrogen Degradation, Whole Genome Sequencing

Copyright © 2026 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

微生物诱导碳酸钙沉淀(MICP)技术因其环保高效的特点,在土壤固化、重金属修复及煤尘抑制等领域展现出广阔应用前景。本研究具有显著的理论意义和应用价值。该技术主要利用产脲酶细菌将尿素水解为碳酸根和铵离子,碳酸根与钙离子结合形成碳酸钙沉淀,达到固化目的[1]。其在岩土工程、文物保护和环境修复等领域潜力巨大,但尿素水解过程不可避免地产生大量铵离子和氨气,氨副产物造成的二次污染是其大规模应用的主要障碍。这不仅造成大气污染和土壤酸化,还限制了 MICP 技术的大规模应用[2] [3]。因此,寻找能够同步降低 NH_4^+ -N 释放的优良菌株成为当前研究热点。

氨的同化是微生物将无机氮转化为有机氮的关键途径,主要由谷氨酸脱氢酶(GDH)和谷氨酰胺合成酶(GS)介导[4]。GDH 可一步催化 α -酮戊二酸与铵离子生成谷氨酸,无需消耗 ATP,适用于高铵环境下的快速氨固定[5]; GS 则催化谷氨酸与铵离子合成谷氨酰胺,需 ATP 参与,是低铵条件下氨同化的核心酶[6]。若 MICP 菌株同时具备高效的脲酶活性和氨同化能力,则可在矿化过程中转化铵离子,从源头减少氨污染。

本研究从海洋藻际环境中分离获得一株亚硫酸盐杆菌 *Sulfitobacter* sp. IGS-18, 我们的实验研究发现该菌株兼具脲酶、GDH 和 GS 活性。本文拟通过酶学特性分析、铵离子去除实验及全基因组测序,系统解析 IGS-18 对铵离子的去除机理,为构建低氨排放的 MICP 工艺提供理论基础。

2. 菌株的筛选与鉴定

菌株 IGS-18 分离自球等鞭金藻培养液, 在 2216E 平板上培养 2~3 天后形成乳白色、圆形、边缘整齐的菌落, 直径约 0.5~1.5 mm (图 1(a))。扫描电镜观察显示细胞呈短杆状或椭球形(图 1(b)和图 1(c)), 大小约 0.5~0.8 μm \times 1.0~2.5 μm , 符合亚硫酸盐杆菌属的典型形态特征[7]。

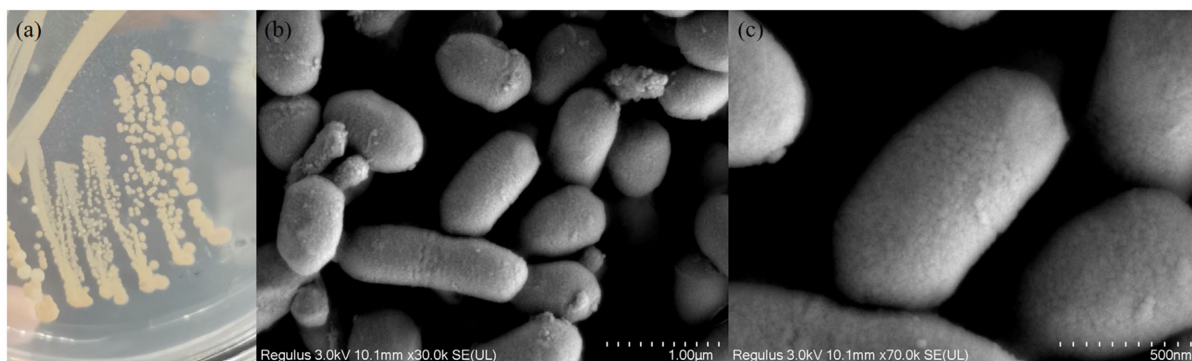


Figure 1. Single colony images of the strain (a) and scanning electron microscope images (b), (c)

图 1. 菌株的单菌落图(a)和扫描电镜图((b)、(c))

16S rRNA 基因序列分析表明, 该菌株与 *Sulfitobacter* sp. 003335585 同源性达 100%, 系统发育树将其归入 *Sulfitobacter* 属(如图 2)。

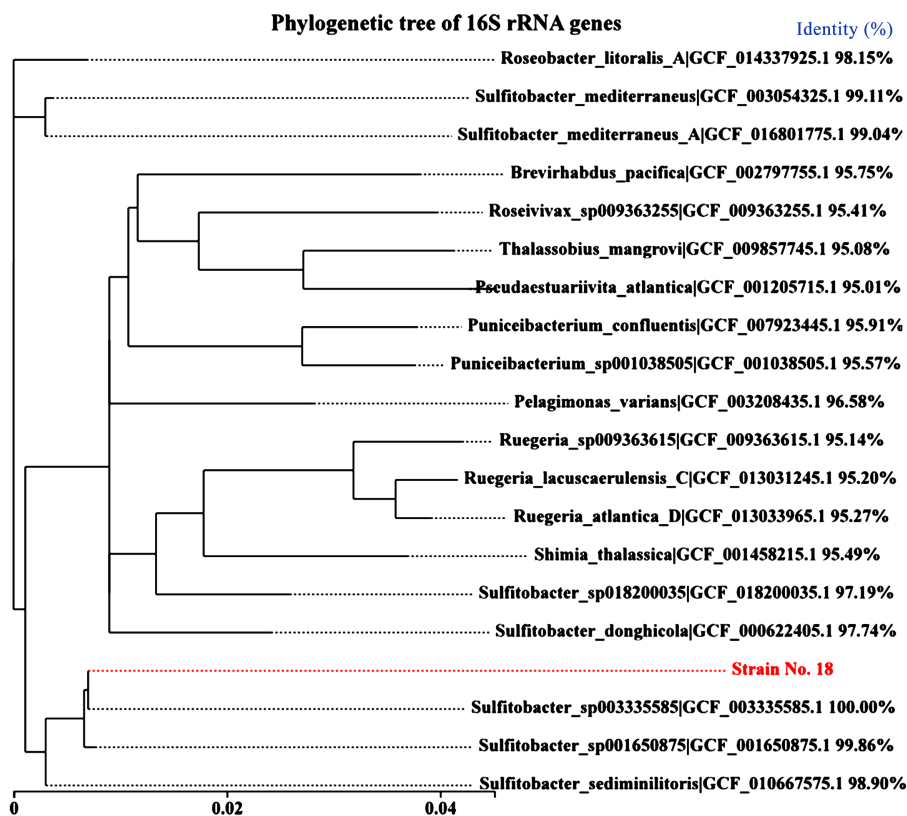


Figure 2. The 16s rRNA phylogenetic tree of *Sulfitobacter* sp. IGS-18

图 2. *Sulfitobacter* sp. IGS-18 的 16s rRNA 系统进化发育树

3. 脲酶和氨同化酶(GDH 和 GS)活性特征

3.1. 不同氮源对酶活性的影响

脲酶是驱动 MICP 过程的关键酶。实验表明(图 3), IGS-18 在氯化铵为唯一氮源时脲酶活性最高, 在 36 h 达到峰值, $28.89 \text{ mM}\cdot\text{urea}\cdot\text{min}^{-1}$ 。GDH 活性受高铵环境诱导, 在培养 24 h 即达到峰值 15.66 U/mL , 随后下降, 而 GS 活性则在 36 h 达到峰值 15.01 U/mL , 与脲酶活性达到峰值的时间一样。这种时序差异表明, 在高铵初期 GDH 快速消耗铵离子, 缓解氨毒性; 随后 GS 持续作用, 将剩余铵离子彻底同化为谷氨酰胺。

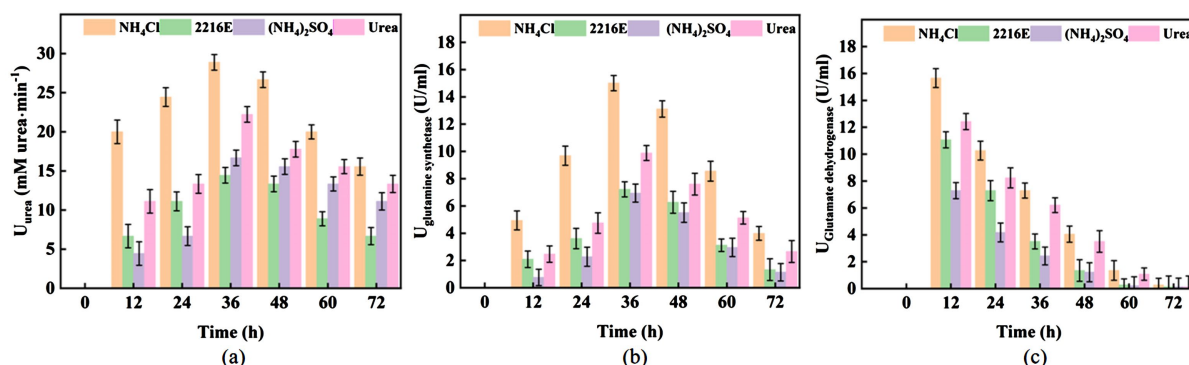


Figure 3. The effects of different nitrogen sources on the activities of urease (a), glutamate dehydrogenase (GDH) (b), and glutamine synthetase (GS) (c) in the bacterium *Sulfitobacter* sp. IGS-18

图 3. 不同氮源对细菌 *Sulfitobacter* sp. IGS-18 脲酶(a); 谷氨酸脱氢酶(GDH) (b); 以及谷氨酰胺合成酶(GS)活性(c)的影响

3.2. 温度对酶活性的影响

如图 4, 脲酶最适温度为 40°C , GS 和 GDH 酶的最适温度条件均为 40°C , 与脲酶保持高度一致, 保证了整个代谢通路的协调运行。金属离子影响试验显示, Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 对脲酶有激活作用, 而 Ni^{2+} 、 Zn^{2+} 则强烈抑制其活性。这些特性为菌株在不同环境下的矿化应用奠定了基础。

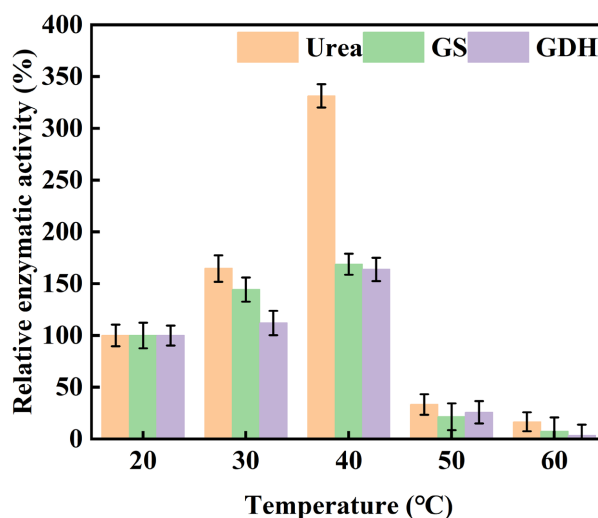


Figure 4. The influence of urease, GS and GDH enzyme activities of the bacterial strain *Sulfitobacter* sp. IGS-18

图 4. 温度对细菌 *Sulfitobacter* sp. IGS-18 脲酶、GS 和 GDH 酶活性的影响

3.3. pH 对酶活性的影响

如图 5，三种酶的最适 pH 均为 8.5，活性曲线呈现先增后减的趋势。

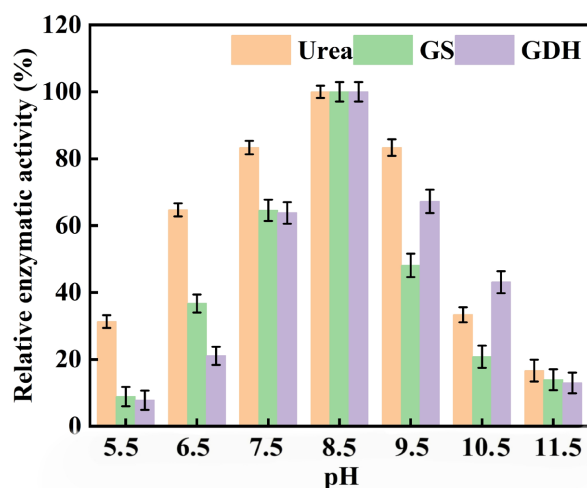


Figure 5. The influence of pH on the urease, GS and GDH enzyme activities of the bacterium *Sulfitobacter* sp. IGS-18
图 5. pH 对细菌 *Sulfitobacter* sp. IGS-18 脲酶、GS 和 GDH 酶活性的影响

3.4. 不同金属对酶活性的影响

如图 6，金属离子影响试验显示， Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 和 Mn^{2+} 对三种酶有激活作用，尤其是 Mg^{2+} 对三种酶的活性促进作用明显，相对活性分别为 266.63%、289.9%、194.83%。而 Ni^{2+} 、 Zn^{2+} 则强烈抑制酶活性， Ni^{2+} 对 GDH 的活性抑制最明显，相对活性仅为 0.89%，这提示金属离子可能通过结合活性中心或影响酶构象来调控氨同化效率。这些特性为菌株在不同环境下的矿化应用奠定了基础。

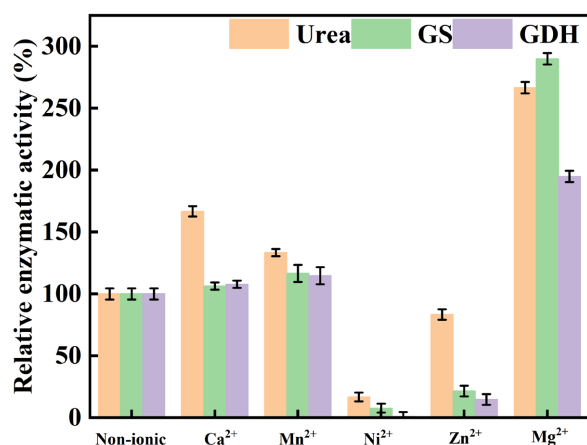


Figure 6. The effects of different metals on the urease, GS and GDH enzyme activities of the bacterial strain *Sulfitobacter* sp. IGS-18

图 6. 不同金属对细菌 *Sulfitobacter* sp. IGS-18 脲酶、GS 和 GDH 酶活性的影响

4. 铵离子去除效率的实验验证

将 IGS-18 与传统高效产脲酶菌巴氏芽孢杆菌 *Sporosarcina pasteurii* 进行对比，评估其在 MICP 过程中的铵离子去除能力。

4.1. 生物矿化过程中 NH_4^+ -N 浓度变化

在 6 h 矿化期内, *S. pasteurii* 体系的 NH_4^+ -N 浓度从 0.11 mg/L 持续上升至 0.29 mg/L, 铵离子作为副产物不断累积。而 IGS-18 体系的 NH_4^+ -N 浓度持续下降, 3 h 后降至 0.029 mg/L 以下, 6 h 时较 *S. pasteurii* 体系降低 90.1%。这表明 IGS-18 能够主动吸收并同化尿素水解产生的铵离子, 而非简单累积(图 7)。

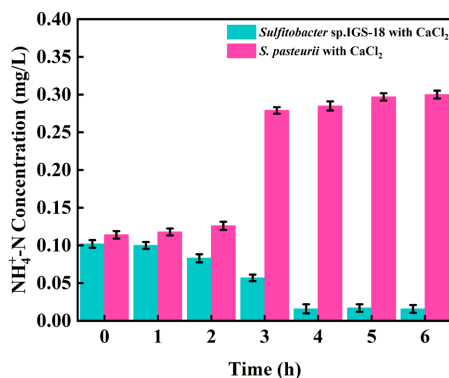


Figure 7. Comparison of the concentration changes of ammonium nitrogen (NH_4^+ -N) in the bio-mineralization systems of *S. pasteurii* and *Sulfitobacter* sp. IGS-18

图 7. *S. pasteurii* 和 *Sulfitobacter* sp. IGS-18 生物矿化体系中铵态氮 (NH_4^+ -N) 的浓度变化对比

4.2. 培养基中 NH_4^+ -N 浓度变化

这张图展示了在 0 至 72 小时内, 两种菌株——巴氏芽孢杆菌(*Sporosarcina pasteurii*)和亚硫酸盐杆菌(*Sulfitobacter* sp. IGS-18)的培养基中铵离子(NH_4^+)浓度的动态变化。*S. pasteurii* 的铵离子浓度持续上升, 从初始的 1.20 mg/L 上升至 72 h 的 2.10 mg/L, 在 60 h 达到最大值 2.15 mg/L。

巴氏芽孢杆菌是一种典型的产脲酶菌, 常用于 MICP 过程。它能高效水解尿素生成铵离子(NH_4^+)和碳酸根(CO_3^{2-})。但由于其缺乏高效的氨同化系统, 如 GDH/GS 途径, 生成的铵离子无法被有效转化或吸收, 因此在培养基中累积。Mörsdorf & Kaltwasser (1989) [8] 提供了最直接的酶学证据——巴氏芽孢杆菌缺乏 GS, 且其 GDH 对铵的亲合力极低($K_m = 55.2 \text{ mM}$), 这正是其“缺乏高效氨同化系统”的根本原因 [8]。这种代谢特征导致该菌无法有效转化尿素水解产生的铵离子, 使得铵在培养基中持续累积(如图 8), 进而造成氨气大量释放的环境问题 [9]。

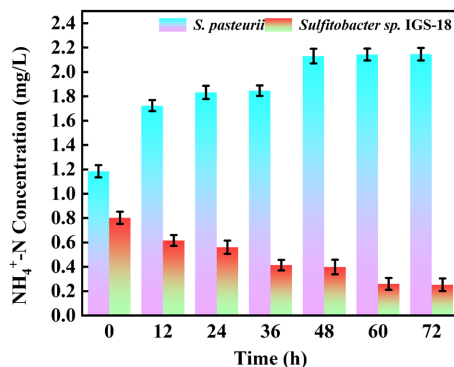


Figure 8. Comparison of the concentration changes of ammonium nitrogen (NH_4^+ -N) in the culture media of *S. pasteurii* and *Sulfitobacter* sp. IGS-18

图 8. *S. pasteurii* 和 *Sulfitobacter* sp. IGS-18 培养基的铵态氮 (NH_4^+ -N) 的浓度变化对比

然而, IGS-18 的培养基中铵离子浓度持续下降, 从初始的 0.80 mg/L 降至 72 h 的 0.25 mg/L。原因可能是, 该菌株不仅具有脲酶活性, 还具备完整的氨同化酶系统(GDH 和 GS)。在尿素水解生成铵离子的同时, 铵离子被迅速同化为谷氨酸、谷氨酰胺等有机氮, 用于菌体生长和代谢[10][11]。因此, 铵离子在培养基中不断被消耗, 而非积累。

5. 铵离子去除的基因组学基础

为从分子层面解释 IGS-18 的优异氨同化能力, 对其进行了全基因组测序。基因组大小为 4.77 Mb, GC 含量 62.47%, 共编码 4521 个蛋白质。

5.1. 尿素水解相关基因

基因组中含有完整的脲酶基因簇 *ureABCEFGD*, 其中 *ureA*、*ureB*、*ureC* 编码脲酶结构亚基, *ureE*、*ureF*、*ureG*、*ureD* 编码辅助蛋白, 负责镍离子的插入和酶装配[12][13]。*UreE* 作为镍分子伴侣将 Ni^{2+} 递送至活性中心[14]。此外还发现尿素羧化酶基因, 存在于部分缺乏脲酶的微生物中, 催化 ATP 依赖性尿素羧化反应生成尿素-1-羧酸盐(尿囊酸盐), 再由尿囊酸盐水解酶分解为氨和 CO_2 [15]。该途径最早在酵母和藻类中发现, 后在细菌中也得到证实[15]。近期研究还发现尿素羧化酶相关蛋白参与胍的降解[15], 但尿素仍是其主要底物之一。可能协助尿素转化为氨和碳酸根, 增强尿素利用效率[16]。

5.2. 氨同化相关基因

GDH 基因: 存在 1 种谷氨酸脱氢酶基因, 即 NADH 依赖型 *gdhA*, *gdhA* 在高铵条件下高表达, 与酶活性实验结果吻合。

GS 基因: 存在多个谷氨酰胺合成酶基因拷贝(*glnA1*, *glnA2*, *glnA3*, *glnA4*, *glnAa*, *glnAb*), 并检测到 GS 活性调控基因 *gltD*、*gltB*、*glnB*、*glnE* 和 *glsA*。这为菌株在不同铵浓度下精细调控氨同化提供了完整的遗传元件。

5.3. 转运与调控基因

基因组中鉴定出多个铵转运蛋白基因(*amt* 家族)和金属离子转运基因(*corA*, *mgtA/B*), 确保铵离子和辅因子(如 Mg^{2+})的有效摄取。同时存在金属离子调控基因 *fur*、*zur*, 可动态适应环境变化。

6. 讨论

综合酶学与基因组学结果, *Sulfitobacter* sp. IGS-18 的铵离子去除机理可归纳为: 脲酶高效水解尿素产生铵离子, 同时 GDH 和 GS 协同作用, 将铵离子快速转化为谷氨酸和谷氨酰胺, 进而参与菌体蛋白质合成, 实现铵离子的永久固定。该机制与已报道的某些氨同化细菌, 如 *Klebsiella* sp. TSH15 [5]、*Acinetobacter pittii* J08 [17]类似, 但 IGS-18 同时具备脲酶活性, 使其更适用于 MICP 场景。

与已报道的脲酶菌株相比, IGS-18 的氨气减排效果显著优于巴氏芽孢杆菌, 这归因于其完备的氨同化基因体系。类似地, 有研究通过添加沸石吸附铵离子可将氨氮去除率提高至 80% [18], 但吸附法存在解吸风险, 而生物同化则更为稳定可持续。因此, IGS-18 的应用有望推动 MICP 技术向绿色、低氨方向发展。

7. 结论

1) *Sulfitobacter* sp. IGS-18 兼具脲酶、GDH 和 GS 活性, 三种酶的最适条件均为 pH 8.5 和 40℃, 形成高效耦合的“尿素水解-氨同化”代谢通路。

2) 铵离子去除实验表明, 与“产氨”菌株 *S. pasteurii* 相比, 生物矿化过程中 IGS-18 在 6 h 内实现的 NH_4^+ -N 的去除效率达 90.1%, 实现了氨固定。

3) 全基因组测序揭示该菌株拥有完整的脲酶基因簇、GDH/GS 基因体系及 GS-GOGAT 循环相关基因, 为氨同化提供了坚实的遗传基础。

本研究从酶学与基因组学层面系统阐明了 *Sulfitobacter* sp. IGS-18 的铵离子去除机理, 为开发低氨排放的 MICP 技术提供了理论依据和优良菌种资源。

参考文献

- [1] Castro-Alonso, M.J., Montañez-Hernandez, L.E., Sanchez-Muñoz, M.A., Macias Franco, M.R., Narayanasamy, R. and Balagurusamy, N. (2019) Microbially Induced Calcium Carbonate Precipitation (MICP) and Its Potential in Bioconcrete: Microbiological and Molecular Concepts. *Frontiers in Materials*, **6**, Article 126. <https://doi.org/10.3389/fmats.2019.00126>
- [2] Ivanov, V. and Stabnikov, V. (2020) Environmental Safety of Biotechnological Materials and Processes. In: *Bio-Based Materials and Biotechnologies for Eco-Efficient Construction*, Elsevier, 359-375. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-819481-2.00017-9>
- [3] Yu, X., Chu, J., Yang, Y. and Qian, C. (2021) Reduction of Ammonia Production in the Biocementation Process for Sand Using a New Biocement. *Journal of Cleaner Production*, **286**, Article 124928. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.124928>
- [4] Wang, P., Tan, Z., Guan, L., Tang, S., Zhou, C., Han, X., et al. (2015) Ammonia and Amino Acids Modulates Enzymes Associated with Ammonia Assimilation Pathway by Ruminant Microbiota *in Vitro*. *Livestock Science*, **178**, 130-139. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2015.05.033>
- [5] Ren, J., Tang, J., Min, H., Tang, D., Jiang, R., Liu, Y., et al. (2024) Nitrogen Removal Characteristics of Novel Bacterium *Klebsiella* sp. TSH15 by Assimilatory/Dissimilatory Nitrate Reduction and Ammonia Assimilation. *Bioresource Technology*, **394**, Article 130184. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2023.130184>
- [6] Kimura, T., Kobayashi, K. and O'Toole, G. (2020) Role of Glutamate Synthase in Biofilm Formation by *Bacillus subtilis*. *Journal of Bacteriology*, **202**, e00120-20. <https://doi.org/10.1128/jb.00120-20>
- [7] Sorokin, D.Y. (1995) *Sulfitobacter pontiacus* gen. nov., sp. nov.—A New Heterotrophic Bacterium from the Black Sea, Specialized on Sulfite Oxidation. *Mikrobiologiya*, **64**, 354-365.
- [8] Mörsdorf, G. and Kaltwasser, H. (1989) Ammonium Assimilation in *Proteus Vulgaris*, *Bacillus pasteurii*, and *Sporosarcina ureae*. *Archives of Microbiology*, **152**, 125-131. <https://doi.org/10.1007/bf00456089>
- [9] Pei, D., Liu, Z., Wu, W. and Hu, B. (2021) Transcriptome Analyses Reveal the Utilization of Nitrogen Sources and Related Metabolic Mechanisms of *Sporosarcina pasteurii*. *PLOS ONE*, **16**, e0246818. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0246818>
- [10] Pengpeng, W. and Tan, Z. (2013) Ammonia Assimilation in Rumen Bacteria: A Review. *Animal Biotechnology*, **24**, 107-128. <https://doi.org/10.1080/10495398.2012.756402>
- [11] Muro-Pastor, M.I. and Florencio, F.J. (2003) Regulation of Ammonium Assimilation in Cyanobacteria. *Plant Physiology and Biochemistry*, **41**, 595-603. [https://doi.org/10.1016/s0981-9428\(03\)00066-4](https://doi.org/10.1016/s0981-9428(03)00066-4)
- [12] Quiroz-Valenzuela, S., Sukuru, S.C.K., Hausinger, R.P., Kuhn, L.A. and Heller, W.T. (2008) The Structure of Urease Activation Complexes Examined by Flexibility Analysis, Mutagenesis, and Small-Angle X-Ray Scattering. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **480**, 51-57. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2008.09.004>
- [13] McMillan, D.J., Mau, M. and Walker, M.J. (1998) Characterisation of the Urease Gene Cluster in *Bordetella bronchiseptica*. *Gene*, **208**, 243-251. [https://doi.org/10.1016/s0378-1119\(97\)00651-3](https://doi.org/10.1016/s0378-1119(97)00651-3)
- [14] Brayman, T.G. and Hausinger, R.P. (1996) Purification, Characterization, and Functional Analysis of a Truncated *Klebsiella aerogenes* UreE Urease Accessory Protein Lacking the Histidine-Rich Carboxyl Terminus. *Journal of Bacteriology*, **178**, 5410-5416. <https://doi.org/10.1128/jb.178.18.5410-5416.1996>
- [15] Strobe, P.K., Hannah, M.A., James, T.Y. (2011) Molecular Evolution of Urea Amidolyase and Urea Carboxylase in Fungi. *BMC Evolutionary Biology*, **11**, Article No. 80. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-11-80>
- [16] Schneider, N.O., Tarr, M.A., Lowenstein, S.A., Lountos, G.T., et al. (2023) Solving the Conundrum: Widespread Proteins Annotated for Urea Metabolism in Bacteria Are Carboxyguanidine Deiminases Mediating Nitrogen Assimilation from Guanidine. *Journal of the American Chemical Society*, **145**, 22452-22463.
- [17] Ou, J., Xie, Q., Zhong, Z., Wang, F., Huang, M., Fang, Z., et al. (2024) Genomic Analysis and Metabolic Characteristics

-
- Provide Insights into Inorganic Nitrogen Metabolism of Novel Bacterium *Acinetobacter pittii* J08. *Bioresource Technology*, **408**, Article 131228. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2024.131228>
- [18] Su, F., Yang, Y., Qi, Y. and Zhang, H. (2022) Combining Microbially Induced Calcite Precipitation (MICP) with Zeolite: A New Technique to Reduce Ammonia Emission and Enhance Soil Treatment Ability of MICP Technology. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, **10**, Article 107770. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2022.107770>