

厌氧氨氧化反应器启动过程的影响因素 及微生物群落变化研究进展

任 婧, 徐爱玲, 宋志文*

(青岛理工大学 环境与市政工程学院, 山东 青岛 266033)

摘 要 自厌氧氨氧化反应发现以来, 由于其具有低能耗、无需外加碳源等优点, 已成为人们在污水生物脱氮研究与应用中的最新关注点。然而, 由于极低的生长速率、极长的倍增时间以及严格的代谢条件等特点, 限制了厌氧氨氧化菌的应用。综述了厌氧氨氧化菌富集培养过程中的影响因素, 介绍了不同污泥来源的厌氧氨氧化优势菌属、分子鉴定方法, 提供了部分用于厌氧氨氧化菌鉴定使用的引物序列和厌氧氨氧化菌最新发现的属与种。最后, 对未来的研究方向提出一些建议思考, 以期厌氧氨氧化工艺在污水处理中的应用提供参考。

关键词 厌氧氨氧化菌; 富集培养; 影响因素; 分子鉴定; 污水处理

中图分类号 Q939.97

文献标识码 A

文章编号 1005-7021(2020)02-0115-09

doi:10.3969/j.issn.1005-7021.2020.02.015

Advances in Influencing Factors and Microbial Community Changes in Anaerobic Ammonium Oxidation Reactor Startup Process

REN Jing, XU Ai-ling, SONG Zhi-wen

(Coll. of Environm'l & Mun. Engin., Qingdao Uni. of Technol., Qingdao 266033)

Abstract Since the discovery of anaerobic ammonium oxidation (anammox) reaction, it has become the latest concern in the research and application of sewage biological nitrogen removal due to its low energy consumption and no additional need for carbon source, and other advantages. However, the extremely low growth rate, long doubling time and strict metabolic conditions has limited the application of anammox bacteria. This paper reviewed the influencing factors during the enrichment and cultivation of anammox bacteria, and introduced the anammox dominant bacteria and molecular identification methods of different sludge sources. And provided primer sequence for the use in identification of anammox bacteria and genus and species of anammox bacteria have been found lately. Finally, some suggestions for future research directions were proposed so as to provide a theoretical basis for the application of anammox technology in wastewater treatment.

Keywords anaerobic ammonia oxidation (anammox) bacteria; enrichment culture; influencing factors; molecular identification; sewage treatment

当前, 水体氮素污染日益严重, 极大地影响到环境和人体健康, 采用常规硝化和异养反硝化脱氮工艺通常需要曝气和外加有机碳源, 并且产泥量多。厌氧氨氧化 (Anaerobic Ammonium Oxidation, ANAMMOX) 是新兴的高效生物脱氮技术, 对

于填埋厂渗滤液、污泥消化池上清液及其他含高氨氮、低碳氮比废水有较高的处理能力, 是一种有效的处理方式^[1]。1995 年, van de Graaf 等^[2]在荷兰某酵母生产企业污水处理系统中发现厌氧氨氧化菌的存在并提出了厌氧氨氧化菌代谢模型 (图

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31570541, 31170509)

作者简介: 任婧 女, 硕士研究生。主要从事环境微生物相关科学研究。E-mail: MatchaRJ@163.com

* 通讯作者。男, 教授, 博士, 硕士/博士生导师。现从事环境生物技术方面的研究工作。E-mail: songzhiwen@qut.edu.cn

收稿日期: 2019-10-09

1),即亚硝酸盐被亚硝酸盐还原酶还原为羟胺(NH₂OH),联氨水解酶催化羟胺和氨缩合成联氨(N₂H₂),最后,联氨在联氨氧化酶 HZO(或羟胺氧化还原酶 HAO)的催化下转化成氮气,同时释放的电子通过传递链传递给亚硝酸盐还原酶。厌氧氨氧化菌(Anaerobic ammonia oxidation bacteria, AnAOB)俗称为“红菌”,因富集培养物呈现红色颗粒状而得名。Anammox 菌对环境适应性强,在污水处理厂活性污泥、海洋、淡水湖和河底土壤生态系统中普遍存在,甚至在北极海底冰川中能够存活,这为厌氧氨氧化菌的实际应用提供了新

的思路。然而,研究显示此类微生物在最佳生长条件下代时约为 10 ~ 12 d,Anammox 缓慢地生长速率使其在污水处理系统中具有较低的污泥产量,导致启动时间过长,通常情况下,启动时间可能长达几个月到几年^[3],由此限制了其在废水处理系统中的应用^[4],因此探讨快速有效的 Anammox 富集培养方法对厌氧氨氧化技术的推广至关重要。本文综述了国内外厌氧氨氧化反应器启动过程的影响因素及微生物群落变化的最新研究进展,并对该技术今后的研究方向提出了建议,期望对厌氧氨氧化领域的后续研究提供参考。

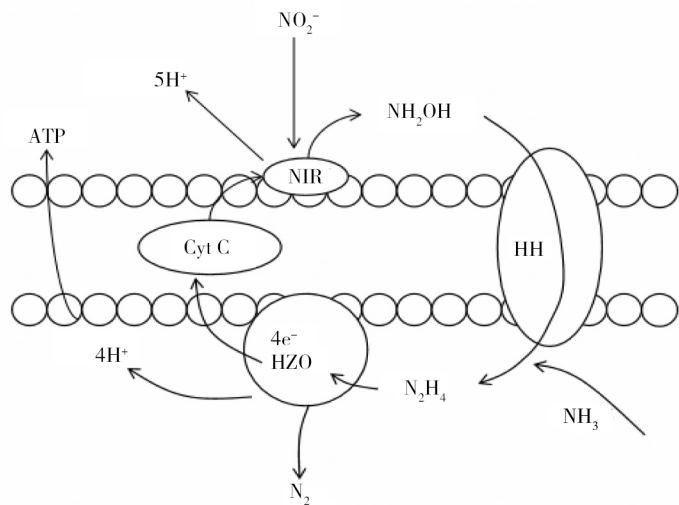


图 1 基于¹⁵N 示踪研究的代谢途径
Fig. 1 Metabolic pathway based on ¹⁵N tracer study

1 厌氧氨氧化机理

厌氧氨氧化过程是在无氧条件下,以亚硝酸盐作为电子受体将氨氧化成氮气;或者以氨作为电子供体将亚硝酸盐还原成氮气的生物反应。厌氧氨氧化反应方程式: $\text{NH}_4^+ + 1.32\text{NO}_2^- + 0.66\text{HCO}_3^- + 0.12\text{H}^+ \rightarrow 1.0\text{N}_2 + 0.26\text{NO}_3^- + 0.066\text{CH}_2\text{O}_{0.5}\text{N}_{0.15} + 2.03\text{H}_2\text{O}$

反应可以看成由两个过程组成:①分解(产能)代谢:以氨为电子供体,亚硝酸盐为电子受体,两者以 1 : 1 的比例反应生成氮气,并把产生的能量以 ATP 形式储存起来;②合成代谢:以亚硝酸盐为电子受体提供还原力,利用二氧化碳为

碳源,以分解代谢产生的 ATP 为能源合成细胞物质,并在该过程中产生硝酸盐^[5]。

2 Anammox 菌富集培养装置

上流式厌氧污泥床(Up-flow anaerobic sludge blanket reactor, UASB)是目前最受欢迎的用于废水厌氧生物处理反应器,由 lettinga 等在 20 世纪 70 年代开发^[6]。与传统的厌氧处理相比,UASB 反应器的优势在于污泥持留量高、容积负荷高,反应器可以在较短的水力停留时间下运行。

UASB 反应器通常由四个部分组成:①颗粒污泥床;②流化区;③气固分离器;④沉降室。UASB 反应器装置构造见图 2。

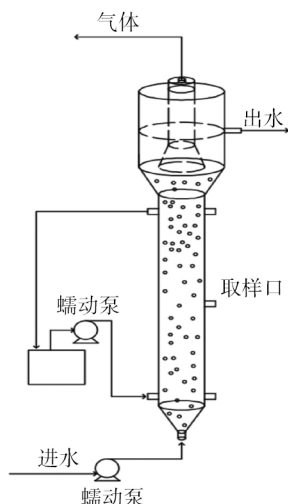


图2 UASB 系统装置图

Fig.2 Schematic diagram of the UASB system

3 影响厌氧氨氧化反应的因素

3.1 温度

温度会影响微生物的活性,厌氧氨氧化细菌对温度条件要求很高,并且不同种类的厌氧氨氧化细菌对温度要求不同^[7]。De 等^[8]研究了温度降低(从 35 ℃ 降至 20 ℃)对厌氧氨氧化序批式反应器(SBR)脱氮性能和微生物群落结构及多样性的影响。结果表明,氨氮和亚硝态氮的平均去除率在富集期的第一阶段(35 ℃)和第二阶段(25 ℃)较高(96%),在 20 ℃ 运行时略有下降(90%)。同时,温度降低会改变微生物群落结构和多样性。当反应器温度从 35 ℃ 降至 20 ℃ 时 Chloroflexi(绿弯菌门)的相对丰度从 36% 降至 16%,由于该门细菌大多数嗜热,低温会导致细菌活性和代谢降低。此外,在具有厌氧氨氧化活性的反应器中,Chloroflexi 利用的碳源主要来自细胞裂解,低温条件下细胞衰减率可能会降低,因此限制了 Chloroflexi 的生长。Li 等^[9]研究了厌氧氨氧化序批式反应器(SBR)在较低氮负荷率(NLR)(0.28 kgN/(m³/d))时,不同温度下的脱氮性能和微生物群落结构变化。结果表明,当温度从(33 ± 1) ℃ 下降到(15 ± 1) ℃ 时,脱氮性能明显下降($P < 0.05$),出水氮化合物急剧增加,NVLR 容量从(0.70 ± 0.05) mgN/(L · h)降至(0.55 ± 0.08) mgN/(L · h),说明在较低温度下 Anam-

mox 活性受到抑制,Gonzalez-Martinez 等^[10]利用亚硝酸盐(CANON)生物反应器通过降温(从 35 ℃ 到 15 ℃)处理厌氧消化物,并通过降低氨浓度(从 466 mgN/L 降至 100 mgN/L)观察反应器除氮性能,表明在低温下氮去除性能明显下降。但也有研究发现,不同环境下 Anammox 菌有不同的适宜温度,在格陵兰岛的海洋沉积物中,Anammox 的最适温度为 12 ℃^[11]。说明海洋厌氧氨氧化菌适宜的温度范围比污水厂低得多,可以在较低温度下处理含海水污水^[12]。

3.2 溶解氧

Anammox 菌是厌氧微生物,对溶解氧非常敏感,溶解氧过高对厌氧氨氧化活性有抑制作用,但该抑制过程是可逆的^[13]。Carvajal-Arroyo 等^[14]研究 DO 含量为(1.0 ~ 8.0) mg/L 时厌氧氨氧化反应器的处理效果,发现在 DO 为 8.0 mg/L 时,Anammox 菌活性严重抑制,在 DO 为 1.0 mg/L 时,仅观察到 20% 以下的部分 Anammox 菌活性受到抑制,而 Anammox 菌在低水平的溶解氧下可以保持相当大的活性。溶解氧抑制作用的强弱与富集期间使用的反应器类型有关。在 UASB 反应器中,溶解氧浓度为 0.30 mg/L 对厌氧氨氧化活性没有明显影响,Jetten 等^[15]利用 SBR 反应器研究了氧气对 Anammox 过程的影响,控制 DO 浓度从 2% 逐渐降低到 0,实验结果表明,在 0.5%、1% 和 2% DO 条件下,氨氮没有被氧化。向反应器内通入氩气除去所有空气后,氨氮和亚硝酸氮的转化才得以恢复,说明 SBR 反应器内的 Anammox 菌只有在严格厌氧条件下才能保持稳定的活性。Wang 等^[16]使用不含氨和亚硝酸盐的合成废水洗涤 Anammox 污泥直至检测不到氨和亚硝酸盐,将 Anammox 污泥等量转移到 2 个“饥饿”反应器(即滴加式半间歇反应器)中进行批量实验,通过氨去除率、活/死菌染色和荧光原位杂交实验研究了经过 84 d 饥饿胁迫期间 Anammox 菌的活性变化,Anammox 菌的厌氧和好氧衰变率分别为(0.015 ± 0.001)/d 和(0.028 ± 0.001)/d,表明与厌氧饥饿条件相比,Anammox 菌在有氧饥饿条件下会更快地失去活性。Kavelage 等^[17]研究发现,Anammox 菌对溶解氧适应的浓度上限为 20 μmol/L,也有文献报道在 Anammox 反

应器中最高 DO 浓度为 1.5 mg/L。

3.3 pH

Anammox 菌对 pH 变化敏感,因此 pH 控制在厌氧氨氧化过程中必不可少。于德爽等^[18]采用 ASBR 反应器,研究了 pH 冲击对海洋厌氧氨氧化细菌处理含海水污水脱氮效能的影响,当 pH 为 7~8 时,海洋厌氧氨氧化反应器的脱氮性能最佳,海洋厌氧氨氧化细菌在碱性条件下的耐受性强于酸性条件。Tomaszewski 等^[19]研究发现,厌氧氨氧化酶在 pH 为 6.5~8.9 范围内具有最大活性。Shan 等^[20]研究发现,在稻田土壤中,pH 在 4.8~10.1 均能发生厌氧氨氧化反应,表明稻田土壤中的 Anammox 菌对酸和碱具有很强的适应能力,在 pH 7.3 时,Anammox 活性最高。Anjali 等^[21]研究显示,pH <5 时会对厌氧氨氧化活性产生抑制作用,而在 pH 为 6~8 时检测出较高的厌氧氨氧化活性。pH 影响 Anammox 菌的原因主要包括:① pH 变化会影响细胞内电解质(NH_3 和 NH_4^+)的平衡,从而直接影响细胞活性;② pH 会影响溶液中基质或抑制物的浓度,从而间接影响微生物活性。pH 太低会导致自由氨(FA)浓度降低,影响厌氧氨氧化菌的生长,当 pH 过高时,过多的 FA 会对厌氧氨氧化菌产生毒性。

3.4 盐度

Anammox 菌活性和反应器除氮性能受盐度影响很大。当废水中含盐量过高时,会破坏 Anammox 菌细胞膜和胞内酶,对菌体生长产生抑制作用。Dapena-Mora 等^[22]发现当盐度添加到 20 g/L 时 SAA 值(厌氧氨氧化活性)会降低,低盐度对 Anammox 菌活性有利,淡水厌氧氨氧化菌在盐度为 10 g/L 时具有最大厌氧氨氧化率。Meng 等^[23]研究了盐度变化对厌氧氨氧化细菌功能蛋白的影响,结果表明,反应器内盐度从 0 g/L 增加到 20 g/L,导致厌氧氨氧化反应器脱氮性能下降,有 18 种蛋白质含量降低,血红蛋白(I3IPU4)和血红素合成蛋白(I3IL00)急剧减少,说明在高盐度下 Anammox 菌活性受到抑制。Jiang 等^[24]在盐度梯度(0%~40%)下进行了连续培养实验,研究了长江口潮间湿地厌氧氨氧化菌活性、多样性和丰度对盐度变化的响应,结果表明,对 Anammox 进行长期培养(20 d),当盐度为 5 g/L 时,表现

出最大的厌氧氨氧化细菌的活性和丰度,在短时间内(10 d)当盐度介于(0~20) g/L 之间时,Anammox 菌活性和丰度会随盐度的增加而增加,但当盐度增加到 30 g/L,其活性明显减弱,与 Engelbrecht 等^[25]研究结果一致。此外,盐度的长期影响比短期影响更明显,盐度的急剧变化比盐度逐渐增加对 Anammox 菌的影响更大,Yang 等^[26]发现盐度从 14 g/L 急剧增加到 20 g/L 时,厌氧氨氧化反应器性能完全抑制。Anammox 菌对高盐度敏感是阻碍厌氧氨氧化工艺在含氮废水处理中应用的关键因素,目前关于经过高盐度抑制后的厌氧氨氧化过程性能恢复的研究还比较少。

3.5 抗生素

污水处理过程中抗生素的出现与积累越来越受到关注,国内外已有大量关于抗生素对厌氧氨氧化反应影响的研究报道。抗生素对厌氧氨氧化菌的影响可分为短期抑制和长期抑制,其中青霉素 G 和土霉素对厌氧氨氧化菌活性的长期抑制远远大于短期抑制。马静等^[27]通过考察青霉素、土霉素和硫酸多粘菌素对厌氧氨氧化颗粒污泥活性的短期抑制特性,结果表明,硫酸多粘菌素对厌氧氨氧化颗粒污泥的活性抑制作用最强,其次是土霉素和青霉素,厌氧氨氧化颗粒污泥对 3 种抗生素具有较好的耐受能力。多粘菌素对 Anammox 菌的活性抑制作用强的原因可能是多粘菌素为多肽类抗生素,能杀死大多数革兰阴性菌。Zhang 等^[28]研究了两种抗生素(诺氟沙星(NOR)和红霉素(ERY))对 Anammox 菌生物膜的长期影响,表明 NOR 不仅会降低 Anammox 的活性,还会降低其功能性 OTU 丰度,而向 Anammox 系统中添加 ERY,可以诱导细菌体内 *ermB* 和 *mphA* 两个基因的扩增,其中 *ermB* 具有抵抗 ERY 的作用,*mphA* 可以使 ERY 失活,因此 Anammox 菌的活性和功能性 OUT 没有明显变化。

3.6 污泥来源

选择合适的接种污泥或菌剂作为接种物是快速启动厌氧氨氧化反应器的关键。研究发现,Anammox 菌适宜生存在同时有氨盐和亚硝酸盐的环境中。这种环境通常存在于好氧-厌氧环境中沉积物或水体的界面。目前,不同类型的污泥已被作为用来快速启动厌氧氨氧化反应器的接种

物,常见的主要有好氧硝化污泥、厌氧消化污泥、厌氧颗粒污泥、海水底泥以及上述几种的混合污泥。研究发现,在上流式厌氧污泥床(UASB)反应器中接种成熟的厌氧氨氧化物颗粒用于厌氧氨氧化菌富集,在两周内成功富集了厌氧氨氧化细菌,缩短了厌氧氨氧化反应器的启动时间^[29]。在有机物耐受方面,颗粒污泥比絮凝污泥更具有优势。反应器在启动过程中通常添加富集的厌氧氨氧化污泥,但这样在含氮废水的处理中具有局限性^[30]。为了快速启动厌氧氨氧化反应器,国内外许多研究者对接种污泥的选择进行了大量实验并取得了一定的进展。李莹莹^[31]采用厌氧序批式反应器,对5种不同类型的污泥进行厌氧氨氧化反应器的启动,结果如表1所示。接种不同污泥对厌氧氨氧化反应启动存在差别,好氧颗粒污泥未能成功富集Anammox菌,在成功富集出的4种污泥中,污泥源中C/N越低,反应器启动时间越短,与Sheng等^[32]研究的结果相似,当C/N比增加时,Anammox菌丰度会相对减少。高氮厌氧污泥启动时间最短,但在实际应用过程中较难获得,而混合污泥较为广泛,可作为富集Anammox菌的泥源。

4 厌氧氨氧化接种物选择的分子鉴定

由于厌氧氨氧化细菌生长速度极为缓慢,目

前仍没有成功分离出其纯菌种,因此分子技术成为用于鉴定Anammox菌最广泛的方法。利用PCR方法对各种污泥中的厌氧氨氧化细菌进行鉴定,具有快速、操作简单、价格低廉等优点。表2中列举了用于厌氧氨氧化菌鉴定使用的引物序列。

5 厌氧氨氧化反应器启动过程中群落结构特征

到目前为止,研究发现的厌氧氨氧化菌共有7个属;*Kuenenia*、*Brocadia*、*Anammoxoglobus*、*Brasiliis*、*Jettenia*、*Scalindua*、*Anammoximicrobium*; 20个种^[40]。表3中列举了目前已发现的厌氧氨氧化菌。其中大多数来自污水处理系统中的活性污泥,还有一部分来自海洋与河流沉积物。

表1 不同接种污泥对厌氧氨氧化反应器启动的影响^[30]
Table 1 Influence of different inoculation sludge on start-up of anammox reactor^[30]

污泥源	启动时间/d	TN/(mg·L ⁻¹)	C/N
好氧颗粒污泥	未成功启动	37	10.0
厌氧颗粒污泥	>100	823.5	57.1
高氮厌氧污泥	68	35	5.9
厌氧消化污泥	85	2 300	48.5
混合污泥	75	100	0.1

表2 用于厌氧氨氧化菌鉴定的16S rRNA基因PCR扩增引物

Table 2 Primers for PCR amplification of 16S rRNA gene used for anammox identification

探针名称	特异性	探针序列(5'-3')	PCR引物	参考文献
Brod 541	<i>Scalindua</i>	GAGCACGTAGGTGGGTTTGT	Forward	[33]
Brod 1260	<i>Scalindua</i> sp.	GGATTTCGCTTCACCTCTCGG	Reverse	[32]
Pla 46	Planctomycetes	GGATTAGGCATGCAAGTC	Forward	[34-35]
Amx 820	<i>Brocadia</i> , <i>Kuenenia</i>	AAAACCCCTCTACTTAGTGCCC	Forward/Reverse	[33,36]
Amx 368	Anammox	CCTTTCGGGCATTGCGAA	Forward/Reverse	[37]
Amx 694 ^a	Anammox	GGGGAGAGTGGAACCTTCGG	Forward	[38]
BS 820	<i>Scalindua</i>	TAATTCCTCTACTTAGTGCCC	Reverse	[39]
AMX 1066 ^a	Anammox	AACGTCTCACGACACGAGCTG	Reverse	[33]
AMX 809 ^a	Anammox	GCCGTAAACGATGGGCACT	Forward	[33]
AMX 818 ^a	Anammox	ATGGGCACTMRGTAGAGGGGTTT	Forward	[33]
Amx 960 ^a	Anammox	GCTCGCAAGCGGTGGAGC	Reverse	[37]

万方数据

注:a表示实时定量荧光PCR

表 3 目前已发现的厌氧氨氧化菌
Table 3 Anaerobic ammonia oxidizing bacteria

属	种	实验接种物	参考文献
<i>Candidatus kuenenia</i>	<i>Ca. Kuenenia stuttgartiensis</i>	硝化污泥	[41]
<i>Candidatus brocadia</i>	<i>Ca. Brocadia anammoxidans</i>	废水处理系统的污泥	[42]
	<i>Ca. Brocadia fulgida</i>	活性污泥	[43]
	<i>Ca. Brocadia sinica</i>	厌氧氨氧化反应器污泥	[35]
	<i>Ca. Brocadia brasiliensis</i>	活性污泥	[44]
	<i>Ca. Brocadia caroliniensis</i>	养猪场的粪便污泥	[45]
<i>Candidatus</i> <i>Anammoxoglobus</i>	<i>Ca. Anammoxoglobus propionicus</i>	活性污泥	[46]
	<i>Ca. Anammoxoglobus sulfate</i>	厌氧氨氧化反应器污泥	[47]
<i>Candidatus brasilis</i>	<i>Ca. Brasilis concordiensis</i>	厌氧池污泥	[48]
<i>Candidatus jettenia</i>	<i>Ca. Jettenia asiatica</i>	河流沉积物	[49]
	<i>Ca. Jettenia caeni</i>	活性污泥	[50]
	<i>Ca. Jettenia moscovienalis</i>	活性污泥	[51]
<i>Candidatus scalindua</i>	<i>Ca. Scalindua brodae</i>	城市污水	[52]
	<i>Ca. Scalindua wagneri</i>		
	<i>Ca. Scalindua sorokonii</i>	海水底泥	[53]
	<i>Ca. Scalindua arabica</i>		
	<i>Ca. Scalindua sinooifield</i>	油田	[54]
	<i>Ca. Scalindua zhenghei</i>	海水底泥	[55]
	<i>Ca. Scalindua marina</i>	未提及	[56]
	<i>Ca. Scalindua richardsii</i>	海水底泥	[57]
	<i>Ca. Scalindua profunda</i>	海水底泥	[58]
<i>Candidatus</i> <i>Anammoximicrobium</i>	<i>Ca. Anammoximicrobium moscowii</i>	河流沉积物	[59]

杨瑞丽等^[60]对启动成功 *Anammox* 工艺中的污泥样品进行群落结构分析,于浮霉菌门中检测到 4 个 *Anammox* 菌属: *Candidatus Jettenia*、*Ca. Kuenenia*、*Ca. Brocadia* 和 *Ca. Anammoximicrobium* 属,占测序总数的 1.65%, *Ca. Jettenia* 和 *Ca. Kuenenia* 是反应器中主要的 *Anammox* 菌属。谭锡诚等^[61]分析了 UASB 系统中微生物群落结构变化,结果表明,厌氧氨氧化优势菌种由 *Ca. Brocadia* (20 d) 变为 *Ca. Jettenia* 和 *Ca. Kuenenia* 的混合菌种 (134 d)。姚芳等^[62]分别接种城市污水处理厂活性污泥 (A) 和厌氧颗粒污泥 (B) 启动厌氧氨氧化反应器,经过 119 d 的启动, A 反应器中 *Ca. Brocadia* 丰度可以达到 11.34%, 而 B 反应器

中 *Ca. Brocadia* 丰度仅为 7.28%。汪瑶琪等^[63]通过高通量测序法对不同负荷情况下反应器污泥群落结构进行检测,发现绿弯菌门 (Chloroflexi)、变形菌门 (Proteobacteria)、WWE3 门、放线菌门 (Actinobacteria)、浮霉菌门 (Planctomycetes) 是优势菌门,其中浮霉菌门中检测出有 *Ca. Brocadia*、*Ca. Jettenia*、*Ca. Kuenenia* 等, *Ca. Brocadia* 增幅最大,其丰度从 0.07% 增至 13.40%。 *Ca. Scalindua* 属主要分布在海洋环境中,而其他几个属广泛存在于淡水环境中。在 *Scalindua* 属中,已经鉴定出两种海洋分子分离物,其中一种,在黑海的缺氧水柱中发现,暂定名为 *S. sorokinii*^[38],另一种在兰德尔峡湾的底泥中被发现^[64]。

6 展 望

近年来,同时具备脱氮和能量自给的反应工艺是污水处理的目标,与传统的硝化反硝化相比,厌氧氨氧化工艺具有污泥产量较低、无需曝气、成本低且不产生二次污染的优点。实现反应器快速启动并能够稳定运行是目前厌氧氨氧化技术投入到工程应用的关键,综上所述,选择适宜的温度、溶解氧、pH、盐度、抗生素、接种污泥等进行富集培养,可有效地促进 Anammox 菌的快速增长,提高富集培养器的启动时间。目前所发现并报道的 Anammox 菌有 7 个属、20 个种,并广泛分布于各种环境中,可应用于不同来源废水的处理与处置。虽然目前还无法通过传统微生物学的方法对其进行深入研究,但是分子生态学方法的引入使得该领域的研究已经进入了一个崭新的阶段。

然而,厌氧氨氧化作为一种污水生物脱氮新技术,在以下几个方面仍需要进一步深入研究:①厌氧氨氧化反应器启动时间长且受诸多因素影响,因此反应器设计至关重要,通过反应器精准控制启动过程温度、溶解氧、pH 等指标变化,可明显缩短启动时间。②应进一步研究由不同类型盐离子(K^+ 、 Ca^{2+} 、 SO_4^{2-} 等)或海水混合物等对厌氧氨氧化过程产生的影响,特别是长期影响。③目前研究厌氧氨氧化细菌的文章大多是关于污水处理厂、海洋、湿地等,未来的研究可以面向更广泛的领域,以便发现更多厌氧氨氧化菌新物种。④由于厌氧氨氧化细菌通过传统方式较难分离提纯,目前大部分研究利用的都是其富集产物,未来可以开发出用于提纯厌氧氨氧化细菌的新技术。⑤高效载体的研究开发:添加载体材料的生物反应器会增强厌氧氨氧化过程的生物膜附着功能,有效防止污泥流失,从而加速启动时间。现阶段已发现可维持厌氧氨氧化菌稳定的载体材料种类还较少。

参考文献:

[1] Ribeiro AM, Rosseto CP, De STSO. Fast start-up of the single-stage nitrogen removal using anammox and partial nitrification (SNAP) from conventional activated sludge in a membrane-aerated biofilm reactor [J]. *Bioresource Technology*, 2018, 266:151-157.

[2] Van de Graaf AA, Mulder A, de Bruijn P, et al. Anaerobic oxidation of ammonium is a biologically mediated process[J].

Applied & Environmental Microbiology, 1995, 61(4):1246-1251.

[3] Trigo C, Campos JL, Garrido JM, et al. Start-up of the Anammox process in a membrane bioreactor[J]. *Journal of Biotechnology*, 2006, 126(4):475-487.

[4] Uyanik S, Bekmezci OK, Yurtsever A. Strategies for Successful ANAMMOX Enrichment at Laboratory Scale [J]. *Acta Hydrochimica Et Hydrobiologica*, 2011, 39(7):653-657.

[5] Pereira AD, Cabezas A, Etchebehere C, et al. Microbial communities in anammox reactors: a review [J]. *Environmental Technology Reviews*, 2017, 6(1):74-93.

[6] 陈旻,王少波,孙可迪,等. 升流式厌氧污泥床(UASB)反应器处理城市污水试验研究[J]. *净水技术*, 2015, 34(S1):73-76.

[7] 徐师,张大超,肖隆文,等. 厌氧氨氧化反应快速启动方法的研究进展[J]. *环境工程*, 2018, 36(6):18-21,168.

[8] De AFL, Pereira AD, Leal CD, et al. Effect of temperature on microbial diversity and nitrogen removal performance of an anammox reactor treating anaerobically pretreated municipal wastewater[J]. *Bioresource Technology*, 2018, 258:208-219.

[9] Li Q, Wang SP, Zhang PD, et al. Influence of temperature on an Anammox sequencing batch reactor (SBR) system under lower nitrogen load [J]. *Bioresource Technology*, 2018: S0960852418311611.

[10] Gonzalez-Martinez A, Rodriguez-Sanchez A, Garcia-Ruiz MJ, et al. Vahala, R., Performance and bacterial community dynamics of a CANON bioreactor acclimated from high to low operational temperatures [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2016, 287:557-567.

[11] Dalsgaard T, Thamdrup B, Canfield DE. Anaerobic ammonium oxidation (anammox) in the marine environment [J]. *Research in Microbiology*, 2005, 156(4):457-464.

[12] 周同,于德爽,李津,等. 温度对海洋厌氧氨氧化菌脱氮效能的影响[J]. *环境科学*, 2017, 38(5):2044-2051.

[13] 陈重军,冯宇,汪瑶琪,等. 厌氧氨氧化反应影响因素研究进展[J]. *生态环境学报*, 2016, 25(2):346-352.

[14] Carvajal-Arroyo, José M, Sun W, et al. Inhibition of anaerobic ammonium oxidizing (anammox) enrichment cultures by substrates, metabolites and common wastewater constituents [J]. *Chemosphere*, 2013, 91(1):22-27.

[15] Jetten MSM, Strous M, van de Pas-schoonen KT, et al. The anaerobic oxidation of ammonium [J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 1998, 22(5):421-437.

[16] Wang Q, Song K, Hao X, et al. Evaluating death and activity decay of Anammox bacteria during anaerobic and aerobic starvation [J]. *Chemosphere*, 2018, 201:25-31.

[17] Kalvelage T, Jensen MM, Contreras S, et al. Oxygen sensitivity of anammox and coupled N-Cycle processes in oxygen minimum zones [J]. *PLoS ONE*, 2011, 6(12):e29299.

[18] 于德爽,周同,李津,等. pH 冲击对海洋厌氧氨氧化菌处

理含海水污水脱氮效能的影响[J]. 环境科学, 2017, 38 (8):3369-3376.

- [19] Tomaszewski M, Cema G, Ziemińska-Buczyńska, et al. Influence of temperature and pH on the anammox process: a review and meta-analysis[J]. Chemosphere, 2017:182.
- [20] Shan J, Yang P, Shang X, et al. Anaerobic ammonium oxidation and denitrification in a paddy soil as affected by temperature, pH, organic carbon, and substrates[J]. Biology & Fertility of Soils, 2018, 54(3):341-348.
- [21] Anjali G, Sabumon PC. Unprecedented development of anammox in presence of organic carbon using seed biomass from a tannery Common Effluent Treatment Plant (CETP)[J]. Biore-source Technology, 2014, 153:30-38.
- [22] Dapena-Mora A, Vázquez-Padín JR, Campos JL, et al. Monitoring the stability of an Anammox reactor under high salinity conditions[J]. Biochem. Eng. J, 2010, 51 (3):167-171.
- [23] Meng Y, Yin C, Zhou Z, et al. Increased salinity triggers significant changes in the functional proteins of ANAMMOX bacteria within a biofilm community[J]. Chemosphere, 2018, 207: 655.
- [24] Jiang X, Hou L, Zheng Y, et al. Salinity-driven shifts in the activity, diversity, and abundance of anammox bacteria of estuarine and coastal wetlands[J]. Physics & Chemistry of the Earth, Parts A/B/C, 2017, 97:46-53.
- [25] Engelbrecht S, Mozooni M, Rath sack K, et al. Effect of increasing salinity to adapted and non-adapted Anammox biofilms [J]. Environmental Technology, 2018:1-9.
- [26] Yang J, Zhang L, Hira D, et al. Anammox treatment of high-salinity wastewater at ambient temperature[J]. Bioresour Technol, 2011, 102 (3):2367-2372.
- [27] 马静, 郑照明, 王明朝, 等. 抗生素对厌氧氨氧化颗粒污泥脱氮性能的影响[J]. 中国环境科学, 2017, 37(4):1315-1321.
- [28] Zhang XJ, Chen Z, Ma YP, et al. Response of Anammox biofilm to antibiotics in trace concentration: Microbial activity, diversity and antibiotic resistance genes[J]. Journal of Hazardous Materials, 2019, 367(5):182-187.
- [29] Ni SQ, Gao BY, Wang CC, et al. Fast start-up, performance and microbial community in a pilot-scale anammox reactor seeded with exotic mature granules[J]. Bioresource Technology, 2011, 102(3):2448-2454.
- [30] Park H, Rosenthal A, Jezek R, et al. Impact of inocula and growth mode on the molecular microbial ecology of anaerobic ammonia oxidation (anammox) bioreactor communities [J]. Water Research, 2010, 44(17):5005-5013.
- [31] 李莹莹. 厌氧氨氧化菌接种污泥的筛选及其相关工艺的启动特性[D]. 合肥:安徽农业大学, 2016.
- [32] Sheng S, Liu B, Hou X, et al. Effects of different carbon sources and C/N ratios on the simultaneous anammox and denitrification process[J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2018, 127:26-34.
- [33] Penton CR, Devol AH, Tiedje JM. Molecular evidence for the broad distribution of anaerobic ammonium-oxidizing bacteria in freshwater and marine sediments[J]. Applied & Environmental Microbiology, 2006, 72(10):6829-6832.
- [34] Tsushima I, Ogasawara Y, Kindaichi T, et al. Development of high-rate anaerobic ammonium-oxidizing (anammox) biofilm reactors[J]. Water Research, 2007, 41(8):1623-1634.
- [35] Hu BL, Zheng P, Tang CJ, et al. Identification and quantification of anammox bacteria in eight nitrogen removal reactors [J]. Water Research, 2010, 44(17):5014-5020.
- [36] Schmid M, Twachtmann U, Klein M, et al. Molecular evidence for genus level diversity of bacteria capable of catalyzing anaerobic ammonium oxidation[J]. Systematic & Applied Microbiology, 2000, 23(1):93-106.
- [37] Schmid M, Walsh K, Webb R, et al. Candidatus "*Scalindua brodae*", sp. nov. Candidatus "*Scalindua wagneri*", sp. nov. two new species of anaerobic ammonium oxidizing bacteria[J]. Systematic & Applied Microbiology, 2003, 26(4):529-538.
- [38] Ni BJ, Hu BL, Fang F, et al. Microbial and physicochemical characteristics of compact anaerobic ammonium-oxidizing granules in an upflow anaerobic sludge blanket reactor[J]. Applied & Environmental Microbiology, 2010, 76(8):2652-2656.
- [39] Kuypers MMM, Sliekers AO, Lavik G, et al. Anaerobic ammonium oxidation by anammox bacteria in the Black Sea[J]. Nature (London), 2003, 422(6932):608-611.
- [40] Pereira AD, Cabezas A, Etchebehere C, et al. Microbial communities in anammox reactors: a review [J]. Environmental Technology Reviews, 2017, 6(1):74-93.
- [41] Schmid M, Twachtmann U, Klein M, et al. Molecular evidence for genus level diversity of bacteria capable of catalyzing anaerobic ammonium oxidation[J]. Systematic & Applied Microbiology, 2000, 23(1):93-106.
- [42] Strous M, Fuerst JA, Kramer EHM, et al. Missing lithotroph identified as new planctomycete [J]. Nature, 1999, 400 (6743):446-449.
- [43] Boran K, Lauya VN, Jayne R, et al. Candidatus' *Brocadia fulgida*': an autofluorescent anaerobic ammonium oxidizing bacterium [J]. FEMS Microbiology Ecology, 2008, 63(1):46-55.
- [44] Araujo JC, Campos AC, Correa MM, et al. Anammox bacteria enrichment and characterization from municipal activated sludge [J]. Water Science & Technology, 2011, 64(7):1428-1434.
- [45] Vanotti MB, Szogi AA, Rothrock MJ. US Patent & Trademark Office, Washington, DC. Novel anammox bacterium isolate. United States Patent Application No. 13/013,874. 2011.
- [46] Kartal B, Rattray J, Niftrik LAV, et al. Candidatus "*Anammoxoglobus propionicus*" a new propionate oxidizing species of anaerobic ammonium oxidizing bacteria [J]. Systematic & Applied Microbiology, 2007, 30(1):39-49.
- [47] Liu S, Yang F, Gong Z, et al. Application of anaerobic am-

- nium-oxidizing consortium to achieve completely autotrophic ammonium and sulfate removal[J]. *Bioresource Technology*, 2008, 99(15):6817-6825.
- [48] Viancelli A, Kunz A, Esteves PA, et al. Bacterial biodiversity from an anaerobic up flow bioreactor with anammox activity inoculated with swine sludge[J]. *Braz Arch Biol Technol*, 2011, 54:1035-1041.
- [49] Quan ZX, Rhee SK, Zuo JE, et al. Diversity of ammonium-oxidizing bacteria in a granular sludge anaerobic ammonium-oxidizing (anammox) reactor[J]. *Environmental Microbiology*, 2008, 10(11):3130-3139.
- [50] Ali M, Oshiki M, Awata T, et al. Physiological characterization of anaerobic ammonium oxidizing bacterium "*Candidatus Jettenia caeni*"[J]. *Environmental Microbiology*, 2014, 17(6):2172-2189.
- [51] Nikolaev YA, Kozlov MN, Keybrina MV, et al. *Candidatus "Jettenia moscovienalis"* sp. nov. a new species of bacteria carrying out anaerobic ammonium oxidation[J]. *Microbiology*, 2015, 84(2):256-262.
- [52] Schmid M, Walsh K, Webb R, et al. *Candidatus "Scalindua brodae"*, sp. nov. *Candidatus "Scalindua wagneri"*, sp. nov. two new species of anaerobic ammonium oxidizing bacteria[J]. *Systematic & Applied Microbiology*, 2003, 26(4):529-538.
- [53] Woebken D, Lam P, Kuypers MMM, et al. A microdiversity study of anammox bacteria reveals a novel *Candidatus scalindua* phylotype in marine oxygen minimum zones[J]. *Environmental Microbiology*, 2008, 10(11):3106-3119.
- [54] Li H, Chen S, Mu BZ, et al. Molecular detection of anaerobic ammonium-oxidizing (Anammox) bacteria in high-temperature petroleum reservoirs[J]. *Microbial Ecology*, 2010, 60(4):771-783.
- [55] Hong YG, Li M, Cao H, et al. Residence of habitat-specific anammox bacteria in the deep-sea subsurface sediments of the south china sea: analyses of marker gene abundance with physical chemical parameters[J]. *Microbial Ecology*, 2011, 62(1):36-47.
- [56] Brandsma J, Vossenberg JVD, Risgaard-Petersen N, et al. A multi-proxy study of anaerobic ammonium oxidation in marine sediments of the Gullmar Fjord, Sweden[J]. *Environmental Microbiology Reports*, 2011, 3(3):360-366.
- [57] Fuchsman CA, Staley JT, Oakley BB, et al. Free-living and aggregate-associated *Planctomycetes* in the Black Sea[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2012, 80(2):402-416.
- [58] Vossenberg JVD, Woebken D, Maalcke WJ, et al. The metagenome of the marine anammox bacterium "*Candidatus Scalindua profunda*" illustrates the versatility of this globally important nitrogen cycle bacterium[J]. *Environmental Microbiology*, 2013, 15(5):1275-1289.
- [59] Khramenkov SV, Kozlov MN, Keybrina MV, et al. A novel bacterium carrying out anaerobic ammonium oxidation in a reactor for biological treatment of the filtrate of wastewater fermented sludge[J]. *Microbiology*, 2013, 82(5):628-636.
- [60] 杨瑞丽, 王晓君, 吴俊斌, 等. 厌氧氨氧化工艺快速启动策略及其微生物特性[J]. *环境工程学报*, 2018, 12(12):3341-3350.
- [61] 谭锡诚, 何士龙, 黄晴. 厌氧氨氧化工艺的启动及微生物群落结构分析[J]. *环境工程学报*, 2017, 11(5):2699-2704.
- [62] 姚芳, 刘波, 王德朋, 等. 不同接种污泥的厌氧氨氧化反应器启动特性及菌群结构演替规律分析[J]. *环境科学学报*, 2017, 37(7):2543-2551.
- [63] 汪瑶琪, 张敏, 姜滢, 等. 厌氧氨氧化启动过程及微生物群落结构特征[J]. *环境科学*, 2017, 38(12):5184-5191.
- [64] Risgaard-Petersen N, Meyer RL, Schmid M, et al. Anaerobic ammonia oxidation in an estuarine sediment, Aquat[J]. *Microb. Ecol*, 2004, 36:293-304.

欢迎订阅《微生物学杂志》