

厌氧氨氧化微生物学机制及其在污水脱氮工艺中的应用进展*

郭 星¹ 赵 光^{*,1,2} 孙 婷¹ 冀丽爽¹ 马 放²

(1. 辽宁工业大学化学与环境工程学院, 锦州 121001;

2. 哈尔滨工业大学市政环境工程学院, 哈尔滨 150090)

摘 要:厌氧氨氧化反应 (Anammox) 是指将 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 和 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 直接转变为 N_2 去除的生物氧化过程, 近年来成为新型生物脱氮技术研究的热点。在厌氧氨氧化反应中起关键作用的厌氧氨氧化细菌是一类对生态环境要求极为苛刻的微生物类群。目前, 对于厌氧氨氧化生物转化过程的生物学理论与机制研究虽取得一定的突破, 但有关厌氧氨氧化微生物代谢与调控机制的关键科学问题研究还不够深入, 严重制约了该技术的工程化应用与推广。本文着重阐述了厌氧氨氧化菌的微生物学原理、生理特性, 以及参与中心代谢途径的关键酶基因等, 进而讨论了典型的厌氧氨氧化反应的化学与生化反应模型、影响厌氧氨氧化生物代谢过程的主要生态因子。最后, 针对厌氧氨氧化技术在国内外典型的污水脱氮工艺中的应用现状与运行效果, 深入剖析了产业化工程应用与推广的瓶颈, 并对厌氧氨氧化技术未来的理论机制研究与产业化工程应用进行了前景展望。

关键词:厌氧氨氧化菌; 脱氮工艺; 微生物学机制; 代谢途径

中图分类号: X703.1

文献标识码: A

doi:10.16507/j.issn.1006-6055.2016.12.002

Anaerobic Ammonia Oxidation Mechanism of Microbiology and Its Application in Sewage Denitrification Process*

GUO Xing¹ ZHAO Guang^{*,1,2} SUN Ting¹ JI Lishuang¹ MA Fang²

(1. School of Chemical and Environmental Engineering, Liaoning University of Technology,

Jinzhou 121001, China; 2. School of Municipal and Environmental Engineering,

Harbin Institute of Technology, Harbin 150090, China)

Abstract: Anaerobic ammonium oxidation (Anammox) is a biological oxidation process, which can convert $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ and $\text{NO}_2^- - \text{N}$ to N_2 directly. Recently, it has become a hot topic in the research of new biological nitrogen removal technology. However, anaerobic ammonium oxidizing bacteria plays a key role in the process of Anammox, and is strictly required to the ecological environment conditions. At present, the research on Anammox biological conversion process has been made a great progress. Yet, the mechanism of microbial metabolism and regulation technology of Anammox are still lacked of deep research, which seriously restrict the engineering application. Microbiology mechanism of anaerobic ammonium oxidizing bacteria, physiological characteristics, and the key enzyme genes which participate in centre metabolic pathway were overall illustrated. Then, chemical and biochemical reaction model and the influences of biological metabolism on significant ecological factors were discussed. Finally, based on application progress of Anammox technology in domestic and foreign typical sewage denitrification technology, engineering application statuses and the restrictions of development for Anammox technology were intensively analysed. Moreover, the prospect of theory research on Anammox technology and industrialization in the future were also discussed.

Key words: anaerobic ammonium oxidizing bacteria; nitrogen removal process; microbiological mechanism; metabolic pathway

2016-08-26 收稿, 2016-11-04 接受, 2016-12-23 网络发表

* 第 56 批中国博士后科学基金 (2014M561361), 辽宁省博士科研启动基金 (201501124), 哈尔滨工业大学城市水资源与水环境国家重点实验室开放基金 (HCK201608) 资助

* * 通讯作者, E-mail: suntg@lnut.edu.cn; Tel: 0416-4198305

1 引言

在传统的生物脱氮研究过程中, 硝化 - 反硝化理论一直占主导地位^[1]。直至 20 世纪 90 年代, 荷兰学者 Mulder 和 Kuenen 等^[2]发现了一类完全厌氧的微生物类群, 其能独立完成生物脱氮的代谢过程,

并将其命名为“厌氧氨氧化菌”(ANAMMOX Bacteria, AnAOB)。由于厌氧氨氧化工艺无需外加碳源,节约 50% 曝气量,因此在废水脱氮研究与应用中具有明显的优势。

在厌氧氨氧化反应过程中发挥核心作用的是厌氧氨氧化菌,但目前人们对厌氧氨氧化菌适宜分离与生长生态条件的研究还未取得突破性进展,由于其生长世代长,致使厌氧氨氧化工艺的启动耗时长,功能菌难以富集,严重制约了厌氧氨氧化污水处理工艺工程化应用的进程^[3,4]。因此,探明厌氧氨氧化微生物的代谢途径,以及在代谢过程中关键酶基因的表达过程,并通过基因代谢调控来控制厌氧氨氧化菌的富集培养,将是使厌氧氨氧化技术工程化应用与推广的关键。

2 厌氧氨氧化反应的微生物学机制

2.1 厌氧氨氧化反应的微生物学原理

经大量研究,奥地利理论化学家 Broda^[5] 于 1977 年预测自然界中应存在一种具有脱氮功能的自养型细菌;1995 年, Mulder 等^[2] 证实了这一自养型细菌的代谢过程,随后 Graaf 等^[6] 研究发现该代谢过程要求严格的厌氧条件,是由厌氧氨氧化微生物将 $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 直接转变为 N_2 而去除的生化反应过程。在此过程中 $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 作为电子供体, $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 作为电子受体,这一生物氧化过程为厌氧氨氧化反应(Anammox),完成这一过程的微生物类群为厌氧氨氧化细菌。

在典型的厌氧氨氧化反应系统内的生物群落结构比较简单,其中关键的功能菌群为厌氧氨氧化菌,但在实际运行的厌氧氨氧化系统中还存在氨氧化细菌(Ammonia Oxidation Bacteria, AOB)、亚硝酸盐氧化细菌(Nitrite-Oxidizing Bacteria, NOB)等微生物菌群,这些不同种类的微生物菌群之间存在着互营共生、抑制竞争等十分复杂的关系^[7]。目前,已发现并鉴定的典型厌氧氨氧化菌如表 1 所示。

表 1 典型厌氧氨氧化菌的种类

发现时间	菌种	来源
1999 年	<i>Candidatus Brocadia anammoxidans</i>	污水处理厂 ^[8]
2000 年	<i>Candidatus Kuenenia stuttgartiensis</i>	滴滤池 ^[9]
2003 年	<i>Candidatus Scalindua brodae</i>	垃圾渗滤液
	<i>Candidatus Scalindua wagneri</i>	处理厂 ^[10]
2003 年	<i>Candidatus Scalindua sorokinii</i>	海底沉积物 ^[11]
2007 年	<i>Candidatus Anammoxoglobus propionicus</i>	序批式反应器 ^[12]
2008 年	<i>Candidatus Brocadia fulgida</i>	污水处理厂 ^[13]
2008 年	<i>Candidatus Jettenia asiatica</i>	生物膜反应器 ^[14]
2008 年	<i>Candidatus Anammoxoglobus sulfate</i>	生物转盘反应器 ^[15]
2010 年	<i>Candidatus Brocadia sinica</i>	脱氮反应器 ^[16]
2013 年	<i>Candidatus Scalindua Profunda</i>	海底沉积物 ^[17]

厌氧氨氧化菌形态多样,有球状、卵球状、杆状等。厌氧氨氧化菌细胞体呈红色,平均直径 80 ~ 1100 nm,属革兰氏阴性菌。厌氧氨氧化菌细胞由细胞内部分、细胞壁和细胞外部分组成,结构如图 1 所示。细胞内部分由厌氧氨氧化体、核糖细胞质和外室细胞质组成,绝大部分遗传信息 DNA 存在于细胞内的拟核中,并在此处完成细胞的遗传和复制过程;细胞壁表面呈火山口状结构,少数上有菌毛;细胞外含有少量的夹膜。

由于目前缺乏分离获得的代表性厌氧氨氧化菌菌株,对厌氧氨氧化菌的生理特性研究还不够深入,仅能通过观察实验室的反应器的运行特性,判断是否发生厌氧氨氧化反应,以及通过达到脱氮效能的最佳条件来间接发现厌氧氨氧化菌的部分生理特性。因此,关于厌氧氨氧化菌的生理生化特性,还有待于进一步深入研究。

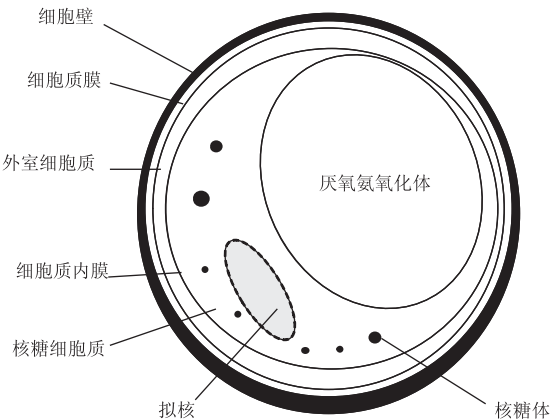


图 1 厌氧氨氧化菌细胞结构示意图

2.2 厌氧氨氧化反应的生物代谢过程

2.2.1 厌氧氨氧化的关键代谢途径

厌氧氨氧化的总反应过程可表示为^[18] : ,在这个过程中包括 3 个主要的反应,分别在亚硝酸盐还原酶(*Nir*)、联氨合成酶(*HZS*)和联氨氧化酶(*HZO*)的参与作用下完成。

1) 亚硝酸盐还原酶(*Nir*)

在厌氧氨氧化反应过程中,首先由亚硝酸盐还原酶(*Nir*)把 NO_2^- 还原成 NO 或羟胺。但值得注意的是, Strous 等^[19] 利用基因组学方法在“*Candidatus Kuenenia stuttgartiensis*”细菌的基因组中发现了亚硝酸盐还原酶(*Nir*),并证明了由其将亚硝酸盐氧化为 NO ;而 Graaf 等^[20] 利用 N^{15} 标记法研究发现,在氨氮的氧化过程中是以羟胺为主要的电子受体。因此,

NO_2^- 在亚硝酸还原酶(*Nir*)的作用下是被还原成 NO 还是生成羟胺仍存在很大的争议,还有待进一步证实。

2)联氨合成酶(*HZS*)

第二步是 NO 和 NH_4^+ 在联氨合成酶(*HZS*)的作用下生成联氨(N_2H_4)。不同研究表明,对于联氨合成酶(*HZS*)在细胞膜上的位置有不同的看法,有的研究者推测其位于厌氧氨氧化体膜上,厌氧氨氧化体膜是联系细胞质和厌氧氨氧化体(anammoxosome)的通道,从而可以使位于细胞质内的氨氮和羟胺在联氨合成酶(*HZS*)的作用下产生的肼被释放到 anammoxosome 内。而 Karlsson 等^[21]利用联氨合成酶(*HZS*)的抗体蛋白 kuste2860 (KEFDTPTLRD)和 kuste2861 (RSPYPLPDDRM)的免疫电镜标记方法对 *HZS* 的亚细胞空间位置进行分析,发现免疫标记仅出现在细胞 anammoxosome 内。

3)联氨氧化酶(*HZO*)

第三步反应是联氨氧化酶(*HZO*)将 N_2H_4 进一步催化氧化为 N_2 和 H_2O ,联氨氧化酶(*HZO*)是厌氧氨氧化菌特有的代谢酶。*hzo* 是编码特定蛋白 *HZO* 的酶基因序列,*hzo* 基因还可以用于设计分子生物学中的引物或探针,更好地为厌氧氨氧化细菌的多样性研究服务。如 Quan Z X 等^[14]利用 Ana-hzo1f(5'-TGT GCA TGG TCA ATT GAA AG-3')、Li X R 等^[22]利用 Ana-hzo2r(5'-ACC TCT TC(A/T) GCA GGT GCA T-3')引物对厌氧氨氧化反应器污泥中厌氧氨氧化细菌进行功能基因基础上的扩增,并完成了多样性分析,其结果有助于厌氧氨氧化细菌种属分类地位的确定。完整的厌氧氨氧化反应中主要酶的表达过程如图 2 所示。

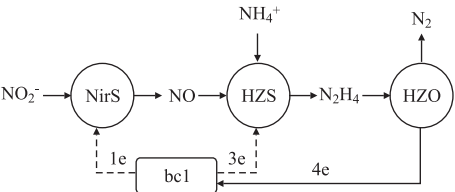


图 2 厌氧氨氧化中主要酶的表达过程

2.2.2 厌氧氨氧化反应的模型

1)厌氧氨氧化的化学反应模型

经过大量的试验研究, Graaf 等^[23]证实厌氧氨氧化是一种自养型生物脱氮反应,反应过程可能存在的主要代谢途径如图 3 所示。

在该化学反应模型中, NO_2^- 作为羟胺

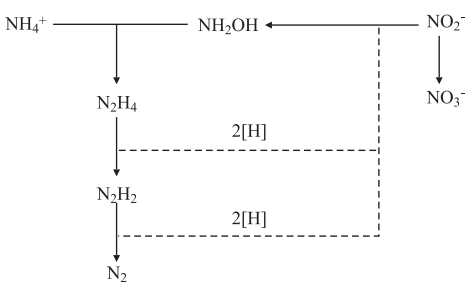


图 3 厌氧氨氧化反应的化学反应模型^[23]

(NH_2OH)的前体,在氧化剂羟胺(NH_2OH)参与作用下,将铵(NH_4^+)氧化为联氨(N_2H_4),经进一步氧化作用生成氮气(N_2)。在整个反应过程中, NO_2^- 不仅作为电子受体,在处置反应过程中产生电子,同时还能作为能源,在亚硝酸盐(NO_2^-)被氧化成硝酸盐(NO_3^-)的过程中产生 ATP 和 NADPH_2 ,为反应提供能量。所涉及的化学反应如表 2 所示。

表 2 厌氧氨氧化的化学反应

反应顺序	化学反应式
1	$\text{NH}_2\text{H} + \text{NH}_3 \rightarrow \text{N}_2\text{H}_4 + \text{H}_2\text{O}$
2	$\text{N}_2\text{H}_4 \rightarrow \text{N}_2 + 4[\text{H}]$
3	$\text{HNO}_2 + 4[\text{H}] \rightarrow \text{NH}_2\text{OH} + \text{H}_2\text{O}$
4	$\text{NH}_3 + \text{HNO}_2 \rightarrow \text{N}_2 + 2\text{H}_2\text{O}$
5	$\text{HNO}_2 + \text{H}_2\text{O} + \text{NAD}^+ \rightarrow \text{HNO}_3 + \text{NADH}_2$

2)厌氧氨氧化的生化反应模型

Jetten 等^[24]研究发现厌氧氨氧化体(anammoxosome)是厌氧氨氧化菌的代谢器官,并在此基础上提出了厌氧氨氧化菌的生化反应模型(图 4)。

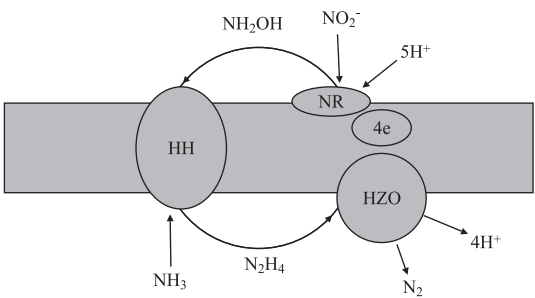


图 4 厌氧氨氧化的生化反应模型^[24]

模型中的亚硝酸还原酶(*NR*)位于细胞质的一侧,在亚硝酸还原酶的作用下可以将细胞膜一侧的 NO_2^- 还原为 NH_2OH ;联氨水解酶(*HH*)贯穿整个细胞膜,将细胞膜一侧的 NH_2OH 和细胞膜另一侧的 NH_3 转化为 N_2H_4 ; N_2H_4 在联氨氧化酶(*HZO*)的作用下被氧化为 N_2 ,最后一步反应所释放的电子通过电子传递链传递给亚硝酸还原酶(*NR*),进而完成整个循环过程。

2.3 厌氧氨氧化反应的主要影响因素

厌氧氨氧化工艺相比传统的三步生物脱氮工艺,具有耗能低、转化效率高等显著优势,是目前国内外学者最为关注的一种新型生物脱氮工艺。厌氧氨氧化反应过程主要依靠厌氧氨氧化微生物的一系列代谢过程完成,而厌氧氨氧化菌属于一类代谢缓慢、对生长环境要求极为严格的微生物类群。因此,为实现加速富集培养厌氧氨氧化菌,增强其代谢活性,掌握影响厌氧氨氧化菌生长代谢的生态因子对于调控脱氮效能具有重要意义。影响厌氧氨氧化微生物代谢的主要因素主要包括:溶解氧、温度、pH 值、碳源、基质浓度和抑制因素等。

1)溶解氧。厌氧氨氧化菌对溶解氧非常敏感,是一类严格厌氧的微生物类群。王全等^[25]采用间歇曝气的方式启动运行厌氧氨氧化反应器,研究结果表明,只有在缺氧的条件下厌氧氨氧化菌才具有厌氧氨氧化活性,而在好氧条件下没有氨的氧化作用,这说明厌氧氨氧化反应是一个严格的厌氧反应,溶解氧是影响厌氧氨氧化反应的关键因素。孙艳波等^[26]研究发现,Anammox 菌对于反应器中溶解氧的抗性具有一定的阈值,当氧分压高于 5% 时,将会对厌氧氨氧化系统的运行效能与稳定性产生毒害作用。因此,在运行厌氧氨氧化反应装置时,应该严格控制溶解氧分压的浓度,提供厌氧氨氧化菌适合的微生态环境。

2)温度。厌氧氨氧化菌的生物代谢过程是通过一系列的酶促反应完成的。温度的改变显著影响厌氧氨氧化微生物细胞内的生化反应速度,一定范围内温度与微生物代谢速率呈正相关,但超过温度临界值后,细胞内的酶促反应速率则开始降低。游少鸿等^[27]的研究表明,厌氧氨氧化反应效率最适宜的温度范围为 30 ~ 35℃,郑平等^[28]也在反应温度对厌氧氨氧化代谢速率影响的研究中发现,适宜的温度为 30℃。

3)pH 值。pH 是影响厌氧氨氧化代谢活性非常重要的生态因子之一,主要从两个途径对厌氧氨氧化反应产生影响,分别是酶活性和底物基质。pH 值可以改变底物分子和酶分子的带电状态,阻碍酶和底物有效结合,进而影响微生物酶的代谢能力;pH 值对底物基质的影响主要是通过改变培养基中基质的离子化作用进而影响到酶的稳定性和活性,并间接影响厌氧氨氧化菌的代谢活性。在高氨氮负荷污水进行低进水 pH 冲击实验的研究表明,当控

制系统 pH 值由 6.0 增加至 7.5 的过程中,厌氧氨氧化反应速率随之提高,呈线性相关关系,但存在一个阈值,当 pH 值提高至 7.98 时反应速率最大,此后厌氧氨氧化反应速率开始逐渐下降。

4)碳源。厌氧氨氧化菌是一种专性厌氧的化能自养型微生物,生长缓慢,世代时间长,当水体中存在有机物时,异养菌的代谢增殖能力增强,与之相反则厌氧氨氧化菌的活性就会受到抑制。李捷等^[29]针对不同碳源对厌氧氨氧化过程的影响进行了研究,发现废水中存在适当浓度的无机碳有利于厌氧氨氧化菌的生长代谢,然而当无机碳浓度超过 55.7 mg/L 的临界值时,厌氧氨氧化反应速率将会逐渐降低;而废水中存在有机碳将抑制厌氧氨氧化菌的代谢活性,并随着有机碳浓度增加,抑制作用逐渐增强。付丽霞等^[30]研究不同底物碳源对厌氧氨氧化过程的影响发现,甲醇对厌氧氨氧化菌的抑制作用最强,其次为乙酸钠和葡萄糖,但它们对厌氧氨氧化代谢过程的抑制机理却不同。

5)基质浓度。厌氧氨氧化反应中主要的底物基质为氨氮和亚硝氮,氨氮和亚硝氮的浓度直接影响厌氧氨氧化反应中氮的去除效果,同时两者的同步去除也是反映 Anammox 性能的重要指标。然而,底物浓度过大会对 Anammox 作用产生不利影响甚至产生抑制效应,Strous 等^[31]的研究表明,高于 70 mg · L⁻¹ 的亚硝氮将致使 Anammox 菌失去竞争优势。相比氨氮,基质中的亚硝氮浓度的变化对 Anammox 代谢活性的影响更大。

6)抑制因素。抑制厌氧氨氧化反应的因素有很多,本文着重阐述氨和亚硝酸盐两因子对厌氧氨氧化反应的抑制作用。

①氨的抑制

氨氮是厌氧氨氧化反应中关键的底物,但如果氨氮浓度过高则会对厌氧氨氧化菌产生显著的抑制作用。研究表明,氨氮产生抑制作用的临界浓度值为 1000 mg/L,只有控制系统内的氨氮浓度低于该阈值,厌氧氨氧化菌才能保持较高的代谢能力。

②亚硝酸盐的抑制

亚硝酸盐是厌氧氨氧化过程中另一关键的底物,厌氧氨氧化菌的代谢能力与底物亚硝酸盐浓度呈非线性相关关系。Strous 等^[31]研究了亚硝酸盐底物浓度对脱氮效能的影响,结果表明当亚硝酸盐浓度超过 5 mg/L 时就可产生抑制作用,当亚硝酸盐的浓度高于 100 mg/L 时,厌氧氨氧化菌的代谢活性完

全受到抑制。

3 厌氧氨氧化污水处理工艺的应用现状

厌氧氨氧化工艺正处于从实验室的理论研究转向工程化应用的过渡阶段,近年来其已经在亚洲和欧洲的 10 多个国家得到应用,并取得较好的运行效果。目前,国内外厌氧氨氧化技术应用的典型工艺与装置类型如表 3 所示。

表 3 国内外典型厌氧氨氧化工艺的应用与运行效能^[32]

工程应用城市	反应装置类型	容积 /m ³	最大去除负荷 /(kg·m ⁻³ ·d ⁻¹)
中国广州	厌氧生物膜	245	0.6
荷兰 Lichtenvoorde	颗粒污泥	100	1
荷兰 Rotterdam	颗粒污泥	70	10
德国 Hattingen	移动床	67	1
日本 Mieprefecture	颗粒污泥	58	3
荷兰 Balk	颗粒污泥	5	4
瑞士 Zurich	SBR	2.5	2
瑞典 Stockholm	移动床	2	0.1

国内的实际工程应用主要是由荷兰帕克公司完成厌氧氨氧化反应装置的设计与运行。以厌氧氨氧化为主体工艺初步建成的污水处理工程有 6 个,典型代表是内蒙古通辽梅花生物科技有限公司、山东安琪酵母股份(滨州)有限公司和山东祥瑞药业有限公司等的工程项目。其中,安琪酵母的工程主要用于对发酵废水的处理,实际进水氨氮浓度设置为 300~800 mg·L⁻¹,厌氧氨氧化反应器整体容积为 500 m³,经检测稳定运行后去除效率可达 2 kg NH₄⁺-N kg⁻¹ VSS d⁻¹;通辽梅花的工程主要是控制溶解氧进而实现氨氮的转化,通过厌氧氨氧化作用脱除氮素,味精生产的进水氨氮浓度设定为 600 mg·L⁻¹,厌氧氨氧化反应器整体容积为 6700 m³;祥瑞药业的工程用于处理玉米淀粉和味精生产产生的废水,实际进水氨氮负荷设定为 1.42 kg·m⁻³·d⁻¹,厌氧氨氧化反应装置容积为 4300 m³。这些厌氧氨氧化工程的成功实施与运行将极大地加快以厌氧氨氧化为核心技术的污水处理工艺在我国污水处理中的推广^[33]。但这些工程的成功实施是在某些特定的条件下完成的,目前并不能推广适用于所有地区。

在污水处理实际应用过程中,主要存在的问题如下:1)厌氧氨氧化针对的是高氨氮、低 COD 的污水;2)厌氧氨氧化菌的生长条件比较苛刻,在不同的生态环境下表现为不同的代谢特性,不能推广应用到其它条件;3)在很多反应器或实际工程应用中,均存在厌氧氨氧化细菌和其它微生物的共生现象,尤其是异养微生物,因此很难明确厌氧氨氧化菌

具体的代谢途径,究其原因还是缺乏对厌氧氨氧化过程中关键酶的研究。综上所述,为实现厌氧氨氧化技术广泛应用于实际工程,还需要研究在不同工况运行下厌氧氨氧化微生物的影响因子,深入探索其代谢机制和酶的表达过程。

4 前景与展望

厌氧氨氧化理论为生物脱氮工艺提供了一种新的技术途径,与传统的生物脱氮过程相比,厌氧氨氧化工艺缩短了氮的转化过程,具有其它脱氮工艺无法比拟的高效、低耗、可持续性等诸多优点^[34]。但是,有关厌氧氨氧化技术的研究与应用还不够成熟,在实际工程推广中仍存在很大的局限性,究其根本,主要是对厌氧氨氧化微生物的生理特性及代谢机制的研究还不够深入^[35]。

本文基于对厌氧氨氧化微生物代谢过程、功能基因的表达及其影响因子等系统的阐述,提出未来的厌氧氨氧化技术理论与工程应用应着重在以下三个方面开展:1)深入研究厌氧氨氧化菌代谢过程中关键酶的基因表达,获得分离、纯化某种特殊功能微生物的技术,实现在基因调控水平上促进厌氧氨氧化菌的代谢生长,进而为其创造更适宜的生长环境;2)深入研究厌氧氨氧化技术工程应用系统中 Anammox 与反硝化协同脱氮除碳的作用机制,以及与其他微生物类群的相互作用机制;3)开展生长刺激因子和微量元素对厌氧氨氧化菌代谢影响的研究,获得最适宜的生长条件,并辅助快速启动尤其低温条件下的厌氧氨氧化反应系统,加快厌氧氨氧化技术的工程化应用与推广。

参考文献

[1] 陈子爱,陈会娟,魏本平,等. n(NO₃⁻-N)/n(NO₂⁻-N)对混培养菌与纯培养菌同步脱氮除硫的影响[J]. 环境科学,2014,35(2): 746-752.

[2] MULDER A, KUENEN J G, VAN DE GRAAF A A, et al. Anaerobic ammonium oxidation discovered in a denitrifying fluidized bed reactor [J]. FEMS Microbiology Ecology, 1995, 16(3): 177-183.

[3] TROJANOWICZ K, PLAZA E, TRELA J. Pilot scale studies on nitrification-anammox process for mainstream wastewater at low temperature [J]. Water Science and Technology, 2016, 73(4): 761-768.

[4] REGMI P, HOLGATE B, FREDERICKS D, et al. Optimization of a mainstream nitrification-denitrification process and anammox polishing [J]. Water Science and Technology, 2015, 72(4): 632-42.

[5] BRODA E. Two kinds of lithotrophs missing in nature[J]. Zeitschrift Für Allgemeine Mikrobiologie, 1977, 17(6): 491-493.

[6] GRAAF V D A A, MULDER A, BRUIJN P D, et al. Anaerobic oxidation of ammonium is a biologically mediated process[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1995, 61(4):1246-1251.

[7] SPETH D R, In't ZANDT M H, GUERRERO-CRUZ S, et al. Genome-based microbial ecology of anammox granules in a full-scale wastewater treatment system[J]. Nature communications, 2016, DOI: 10.1038/ncomms11172

[8] STROUS M, FUERST J A, KRAMER E H M, et al. Missing lithotroph identified as new planctomycete[J]. Nature, 1999, 400(6743):446-449.

[9] SCHMID T, WACHTMANN M U. Molecular evidence for genus level diversity of bacteria capable of catalyzing anaerobic ammonium oxidation[J]. Systematic and Applied Microbiology, 2000, 23(1):93-106.

[10] 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 and Applied Microbiology, 2003, 26(4):529-538.

[11] KUYPERS M M M, SLIEKERS A O, LAVIK G, et al. Anaerobic ammonium oxidation by anammox bacteria in the Black Sea[J]. Nature, 2003, 422(6932):608-611.

[12] KARTAL B, RATTRAY J, VAN NIFTRIK L, et al. Candidatus Anammoxoglobus propionicus a new propionate oxidizing species of anaerobic ammonium oxidizing bacteria[J]. Systematic and Applied Microbiology, 2007, 30(1):39-49.

[13] KARTAL B, VAN NIFTRIK L, RATTRAY J, et al. Candidatus “*Brocadia fulgida*”: An autofluorescent anaerobic ammonium oxidizing bacterium[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2008, 63(1):46-55.

[14] QUAN Z X, RHEE S K, ZUO J E, et al. Diversity of ammonium oxidizing bacteria in a granular sludge anaerobic ammonium oxidizing (anammox) reactor[J]. Environmental Microbiology, 2008, 10(11):3130-3139.

[15] LIU S, YANG F, GONG Z, et al. Application of anaerobic ammonium-oxidizing consortium to achieve completely autotrophic ammonium and sulfate removal[J]. Bioresource Technology, 2008, 99(15):6817-6825.

[16] HU Baolan, ZHENG Ping, TANG Chongjian, et al. Identification and quantification of anammox bacteria in eight nitrogen removal reactors[J]. Water Research, 2010, 44(17):5014-5020.

[17] VAN DE VOSSENBERG J, WOEBKEN D, MAALCKE W J, 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.

[18] 白刃, 贺纪正, 沈菊培, 等. 厌氧氨氧化过程中关键酶及相关分子标记在生态学研究中的应用进展[J]. 生态学报, 2016, 36(13):3871-3881.

[19] STROUS M, PELLETIER E, MANGENOT S, et al. Deciphering the evolution and metabolism of an anammox bacterium from a community genome[J]. Nature, 2006, 440(7085):790-794.

[20] GRAAF V D A A, BRUIJN D P, ROBERTSON L A, et al. Metabolic pathway of anaerobic ammonium oxidation on the basis of ¹⁵N studies in a fluidized bed reactor[J]. Microbiology, 1997, 7(143):2415-2421.

[21] KARLSSON R, KARLSSON A, BACKMAN O, et al. Identification of key proteins involved in the anammox reaction[J]. FEMS Microbiology Letters, 2009, 297(1):87-94.

[22] LI X R, DU B, FU H X, et al. The bacterial diversity in an anaerobic ammonium-oxidizing reactor community[J]. Systematic and Applied Microbiology, 2009, 32(4):278-289.

[23] GRAAF V D A A, BRUIJN D P, ROBERTSON L A, et al. Autotrophic growth of anaerobic ammonium-oxidizing micro-organisms in a fluidized bed reactor[J]. Microbiology, 1996, 8(142):2187-2196.

[24] JETTEN M S M, WAGNER M, FUERST J, et al. Microbiology and application of the anaerobic ammonium oxidation (anammox) process[J]. Current Opinion in Biotechnology, 2001, 12(3):283-288.

[25] 王全, 张克峰, 王洪波, 等. 厌氧氨氧化技术研究进展[J]. 山东建筑大学学报, 2011, 26(1):80-84.

[26] 孙艳波, 周少奇, 李伙生, 等. 氮素负荷及高温冲击对 UASB-AN-AMMOX 反应器的运行影响[J]. 化工进展, 2009, 28(9):1672-1676.

[27] 游少鸿, 李小霞, 解庆林, 等. 厌氧氨氧化影响因素实验研究[J]. 工业水处理, 2009, 29(10):27-29.

[28] 郑平, 胡宝兰. 厌氧氨氧化菌混培物生长及代谢动力学研究[J]. 生物工程学报, 2001, 17(2):193-198.

[29] 李捷, 张杰, 周少奇. TOC 与 IC 对厌氧氨氧化反应的影响研究[J]. 给水排水, 2008, 34(11):157-160.

[30] 付丽霞, 吴立波, 张怡然, 等. 低含量氨氮污水厌氧氨氧化影响因素研究[J]. 水处理技术研究, 2010, 36(4):50-55.

[31] STROUS M, KUENEN J G, ETTEN M S M. Key physiology of anaerobic ammonium oxidation[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1999, 65(7):3248-3250.

[32] SAWATDEENARUNAT C, NGUYEN D, SURENDRA K C, et al. Anaerobic biorefinery: Current status, challenges, and opportunities[J]. Bioresource Technology, 2016, 215:304-313.

[33] 陈重军, 王建芳, 张海芹, 等. 厌氧氨氧化污水处理工艺及其实际应用研究进展[J]. 生态环境学报, 2014, 23(3):521-527.

[34] HÜLSEN T, BARRY E M, LU Y, et al. Domestic wastewater treatment with purple phototrophic bacteria using a novel continuous photo anaerobic membrane bioreactor[J]. Water Research, 2016, 100(1):486-495.

[35] 卢海燕, 瞿思宜, 张正哲, 等. 分子生物技术在厌氧氨氧化工艺研究中的应用[J]. 环境科学与技术, 2016, 39(1):20-26.