李佩瑶,周 鑫.硫氰酸盐胁迫下 Anammox 颗粒污泥脱氮响应机制 [J]. 中国环境科学, 2025,45(10):5500-5508.
Li P Y, Zhou X. Response mechanism of nitrogen removal in Anammox granular sludge under thiocyanate stress [J]. China Environmental Science, 2025,45(10):5500-5508.

硫氰酸盐胁迫下 Anammox 颗粒污泥脱氮响应机制

李佩瑶[1],周 鑫[1,2*] (1.太原理工大学环境与生态学院,山西 晋中 030600；2.山西省污水高效治理技术创新中心,山西 太原 030000)

摘要：采用短期批量实验探究了 SCN^-(0~500mg/L)添加下对厌氧氨氧化(Anammox)颗粒污泥系统的影响机制.结果表明:随着进水 SCN^-浓度的提高,Anammox 脱氮效率显著下降,总氮去除率从对照组的 88.6%降至 43.3%(500mg/L SCN^-);厌氧氨氧化活性(SAA)也呈现出快速下降趋势.非竞争型抑制模型确定了 SCN^-对 Anammox 半抑制浓度(IC_{50})为 209.5mg/L.添加 SCN^-后 Anammox 细胞分泌的 EPS 增高.PN/PS 随着 SCN^-增加而上升;SCN^-添加后,*Candidatus Brocadia* 相对丰度明显降低,而 *Thiobacillus* 相对丰度急剧增高,微生物功能代谢途径丰度出现不同程度下降.研究结果可为处理含 SCN^-的含氮废水 Anammox 工程应用提供理论基础.

关键词：硫氰酸盐；厌氧氨氧化；抑制动力学；胞外聚合物；微生物群落
中图分类号：X703 **文献标识码**：A **文章编号**：1000-6923(2025)10-5500-09

Response mechanism of nitrogen removal in Anammox granular sludge under thiocyanate stress. LI Pei-yao[1], ZHOU Xin[1,2*] (1.College of Environment and Ecology, Taiyuan University of Technology, Jinzhong 030600, China；2.Innovation Center for Efficient Wastewater Treatment Technology of Shanxi, Taiyuan 030000, China). *China Environmental Science*, 2025,45(10)：5500~5508

Abstract：In this study, short-term batch experiment was used to investigate the mechanism of thiocyanate (0~500mg/L) addition on the anammox granular sludge system. The results showed that as the concentration of thiocyanate influent increased, nitrogen removal efficiency of Anammox decreased significantly, and the total nitrogen removal efficiency decreased from 88.6% in the control group to 43.3% (500mg/L thiocyanate); The anammox activity (SAA) also showed a rapid decreasing trend. The non-competitive inhibition model determined the 50% inhibitory concentration (IC_{50}) of thiocyanate on Anammox to be 209.5mg/L. The EPS secreted by Anammox cells increased after the addition of thiocyanate. The PN/PS increased with the rise of the concentration of thiocyanate. The relative abundance of *Candidatus Brocadia* was significantly decreased after the addition of thiocyanate, while the relative abundance of *Thiobacillus* increased sharply, and The abundance of microbial functional metabolism pathways appeared to be reduced to different degrees. The research results can provide a theoretical basis for the application of Anammox engineering in treating nitrogenous wastewater containing thiocyanate.

Key words：thiocyanate；Anammox；inhibitory kenetics；EPS；microbial community

硫氰酸盐(SCN^-)是一种同时含有碳、氮、硫三种元素的无机化合物,在采矿、化工生产、电镀和食品加工等工业废水中广泛存在.特别是在焦化废水中,SCN^-含量高达 50~400mg/L[1].理论上 1mg SCN^-可以提供 0.24mg N 和 1.1mg COD[2],分解时可以释放出 CO_2,NH_4^+-N 和 SO_4^{2-}等多种污染物,对于环境污染危害极大.SCN^-在转化过程会消耗大量溶解氧,从而对水生生物的生存造成威胁,从而破坏水生环境的生态平衡[3].此外,SCN^-作为一种剧毒化合物,具有易于与蛋白质结合的倾向[4],能够造成蛋白质变性,产生较强的生物毒性.SCN^-还可通过饮用水进入人体,发生急性中毒,影响人类健康[5].

厌氧氨氧化(Anammox)是在厌氧条件下,厌氧氨氧化菌(AnAOB)以亚硝酸盐为电子受体,将氨氮直接氧化为氮气[6].由于其不需外加碳源,大量节省曝气能耗且产生较少污泥的优势引起了广泛关注.鉴于SCN^-具有的生物毒性且AnAOB生长速度缓慢,探究SCN^-胁迫条件下,Anammox系统响应机制十分必要.有研究指出,SCN^-对 Anammox 系统的短期影响取决于进水 SCN^-浓度(0~1500mg/L)[7].通过 2a 多的长期实验,发现当添加 50~200mg/L SCN^-时会对 Anammox 的脱氮性能有负面影响,导致出水氨氮比

收稿日期：2025-03-12
基金项目：国家自然科学基金资助项目(21607111);山西省专利转化计划资助项目(202401011);山西省基础研究计划项目(202403021221049)
* 责任作者, 教授, raymans2006@163.com

空白组约高出 5.9~6.84 倍,尤其是 SCN^-浓度超过 100mg/L 时,Anammox 几乎彻底消失[2].而另外的研究则证实,SCN^-能够充当硫自养反硝化电子供体,进行反硝化.Chen 等[8]采用厌氧氨氧化与硫自养反硝化混合种泥,发现加入 100mg/LSCN^-,TN 和 SCN^-的平均去除效率均高于单独工艺.因此在 Anammox 体系中,SCN^-对脱氮的抑促作用影响需要进一步评估,此外,SCN^-在脱氮过程中的自我降解特性也很少被关注.

为此,本研究中采用 5 个 SBR 反应器,探究了 0~500mg/LSCN^-短期添加下,对厌氧氨氧化颗粒污泥(AnGS)系统影响,重点分析了抑制动力学、EPS 特性及微生物群落.旨在为含 SCN^-的含氮废水 Anammox 工程应用提供理论基础.

1　材料与方法

1.1　接种污泥和合成废水

接种污泥来自于实验室 EGSB 反应器自主培养 2a 的 Anammox 颗粒污泥,其中 *Candidatus Brocadia* 的相对丰度约为 12%.实验进水采用模拟废水,NH_4^+−N 和 NO_2^-−N 分别由 NH_4Cl 和 $NaNO_2$ 提供,碱度和磷源分别由 $NaHCO_3$ 和 KH_2PO_4 提供,SCN^-由 NaSCN 提供.进水 NH_4^+−N 平均浓度为 100mg/L,NO_2^-−N 平均浓度为 132mg/L, pH 值维持在(7.7±0.2).同时在进水中添加少量微量元素,包括 0.13mg/L $ZnSO_4·7H_2O$,0.14mg/L $CoCl_2·6H_2O$,0.18mg/L $NiCl_2·6H_2O$,0.16mg/L H_3BO_4,1.4mg/L $FeCl_3$ 和 0.11mg/L $MnSO_4$.

1.2　实验过程



图 1　实验装置

Fig.1　Experiment set−up

采用 5 个相同有效容积(100mL)的血清瓶作为 Anammox 反应器(图 1)每个瓶装填 70mL 的人工配水和 30mL 的 AnGS.其中,R_0 不添加 SCN^-,为空白组;R_1~R_4 为实验组,分别投加 50,100,300 和 500mg/L 的 SCN^-.反应器间歇运行,5min 进水,23.5h 反应,20min 沉淀,5min 排水.运行周期均为 24h.进水用 99.99%的高纯 N_2 吹脱 20min,以保证厌氧环境.反应器放置在恒温振荡培养箱 ((32±1)℃、110r/min)中.整个实验连续运行 22d.

1.3　化学分析

出水水样通过 0.45 μm 的滤膜过滤后再进行分析测定.在整个实验期间,每日采集 5 个血清瓶的出水水样测定 NH_4^+−N、NO_2^-−N、NO_3^-−N 和 SO_4^{2-}浓度.NH_4^+−N、NO_3^-−N 和 SO_4^{2-}采用哈希快速测定法(HACH DR 1900,美国)分析,NO_2^-−N 的测定采用 N−(1−萘基)−乙二胺分光光度法,SCN^-的测定采用硫酸铁铵−紫外分光光度法.pH 值利用 pH 计(FE−20,梅特勒)进行测定.在本研究中,进出水 TN 按照式(1)和式(2)计算.

$$TN_{inf} = C_{NH_4^+,inf} + C_{NO_2^-,inf} + \frac{14\times C_{SCN^-,inf}}{58} \quad (1)$$

$$TN_{eff} = C_{NH_4^+,eff} + C_{NO_2^-,eff} + C_{NO_3^-,eff} + \frac{14\times C_{SCN^-,eff}}{58} \quad (2)$$

式中:$C_{NH_4^+,inf}$、$C_{NO_2^-,inf}$和$C_{SCN^-,inf}$为进水 NH_4^+−N、NO_2^-−N 和 SCN^-−N 浓度,mg/L;$C_{NH_4^+,eff}$、$C_{NO_2^-,eff}$、$C_{NO_3^-,eff}$和$C_{SCN^-,eff}$为出水 NH_4^+−N、NO_2^-−N、NO_3^-−N 和 SCN^-−N 浓度,mg/L;TN_{inf}和TN_{eff}分别为进水和出水 TN 浓度,mg/L.

1.4　厌氧氨氧化活性(SAA)

SAA 可通过氨氮和亚硝酸盐的消耗量来计算,如式(3)[9].

$$SAA = \frac{C_{NH_4^+,inf} + C_{NO_2^-,inf} - C_{NH_4^+,eff} - C_{NO_2^-,eff}}{MLVSS\times\frac{T}{24}} \quad (3)$$

式中:$C_{NH_4^+,eff}$和$C_{NO_2^-,eff}$为出水NH_4^+−N 和NO_2^-−N 浓度,mg/L;T 为反应时间,h;MLVSS 为混合液中的挥发性悬浮固体,g/L.

1.5　抑制动力学

采用改良的非竞争抑制模型来评估抑制底物浓度与 SAA 之间的关系[7].

$$SAA = SAA_{inhibited}/SAA_{control}\times 100\% \quad (4)$$

式中:$SAA_{inhibited}$为受 SCN^-抑制时 SAA;$SAA_{control}$为不存在 SCN^-时 SAA[7].采用式(5)来评估 SCN^-对

SAA 的抑制影响.

$$I(\%)=100\times\left(1-\frac{1}{1+\left(\left[SCN^-\right]/a\right)^b}\right) \quad (5)$$

式中:I 为抑制响应,%;[SCN^-]为 SCN^-的进水浓度,mg/L;a 为半抑制浓度(IC_{50}),mg/L;b 为拟合参数.

1.6 EPS 分析与表征

在实验结束对 5 个反应器 Anammox 污泥参照 Miao 等[10]的方法进行 EPS 提取和分析.蛋白质(PN)采用考马斯亮蓝比色法测定;多糖(PS)采用蒽酮-硫酸比色法进行测定.采用三维荧光光度计(RF6000,日本岛津)对 TB-EPS 进行了三维荧光光谱分析.发射波长(EM)范围 200~550nm,步长 5nm,激发波长(EX)范围为 200~550nm,步长 2nm,扫描速度为 12000nm/min,狭缝宽度为 10nm.利用 Origin Pro 2022 软件对得到的数据进行处理分析.

1.7 高通量测序

在第 23d 分别随机对 5 个反应器中的 AnGS 进行取样来分析微生物群落,使用 E.Z.N.A™ Mag-Bind Soil DNA Kit(OMEGA, M5635-02,美国)试剂盒提取 DNA 样本,引物采用 Illumina Miseq 测序平台,选用引物 341F(5'-CCTACGGGAGGCAGCAG-3')和 805R (5'-GACTACHVGGGTATCTAATCC-3')对细菌 16SrRNA 的 V_3-V_4 区域进行 PCR 扩增,最后交由上海生工进行 Illumina 高通量测序(登陆号:PRJNA1160485).

2 结果与分析

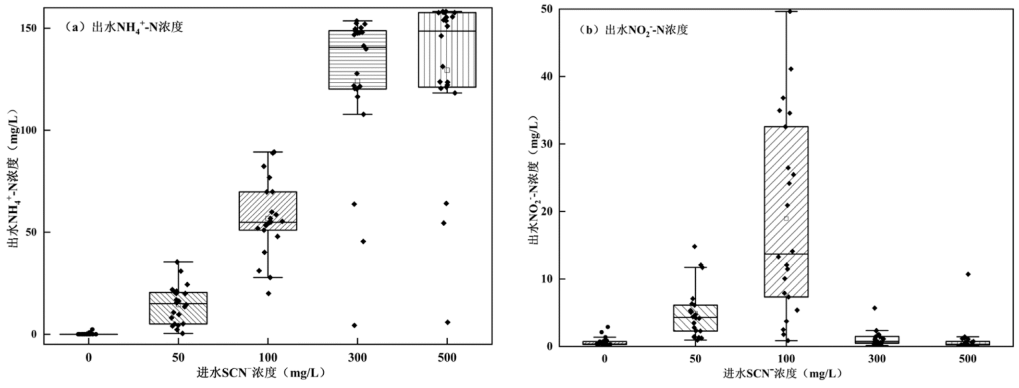
2.1 处理性能

图 2 为不同 SCN^-浓度添加下 Anammox 处理性能.如图 2(a)和 2(b),随着进水 SCN^-浓度的提高,各反应器的出水 NH_4^+-N 浓度逐渐提高,而添加 100mg/LSCN^-的 R_2 出水 NO_2^--N 出现显著增高且波动比较大,而其余几组出水 NO_2^--N 浓度相对较低且比较稳定.图 2(c)可以看出,与空白相比,实验组的出水 NO_3^--N 明显降低,且随着 SCN^-浓度的提高而递减,主要原因在于 NO_3^--N 可与 SCN^-进行自养反硝化作用从而得到去除[11].出水 SCN^-的浓度(图 2(d)) R_1~R_4 相比进水 SCN^-浓度均有降低,其中 R_1 和 R_2 中的 SCN^-基本完全去除,而 R_3 和 R_4 中的 SCN^-去除浓度在实验后期基本相同,在 250mg/L 上下波动,这与 Pan 等[12]的发现一致,当 NO_2^--N 浓度有限时会导致 SCN^-与 NH_4^+-N 存在竞争,最终使得出水 SCN^-残留.由于 SCN^-在自身生物降解过程中会释放出 NH_4^+-N,所以与前文中提到的出水 NH_4^+-N 有残余,浓度不断提高的结果相吻合.从图 2(a)可以看到,R_3 和 R_4 的出水 NH_4^+-N 浓度(139~165mg/L)已经超过进水 NH_4^+-N 浓度(100mg/L),并且出水 NO_2^--N 的浓度接近于 0mg/L,说明在高 SCN^-存在下,R_3~R_4 中主要发生以 SCN^-为主导硫自养反硝化反应,而非 Anammox 反应,这与 Yu 等[2]的研究结果类似.图 2(g)中显示当加入 50mg/LSCN^-,TN 去除率与空白相比,几乎没有变化,然而当进水 SCN^-浓度继续增加后 TN 去除率呈现出逐渐下降的趋势,从 R_0 的 88.57%降至 R_4 的 43.27%,表明:随着 SCN^-浓度的不断提高,Anammox 性能逐渐降低,而硫自养反硝化性能逐渐升高;由于 SCN^-本身具有生物毒性,极高浓度 SCN^-存在下,不仅会使 Anammox 丧失,也会部分抑制自养反硝化,造成 TN 去除率恶化.

以 SCN^-作为电子供体,以 NO_3^--N 和 NO_2^--N 作为电子受体进行的自养反硝化[13-14].反应式为式(6)和(7).

$$SCN^-+1.6NO_3^-+0.2H_2O+1.6H^++HCO_3^-\rightarrow SO_4^{2-}+NH_3+2CO_2+0.8N_2 \quad (6)$$

$$3SCN^-+11NO_2^-+8H^+\rightarrow 3SO_4^{2-}+3CO_2+7N_2 \quad (7)$$



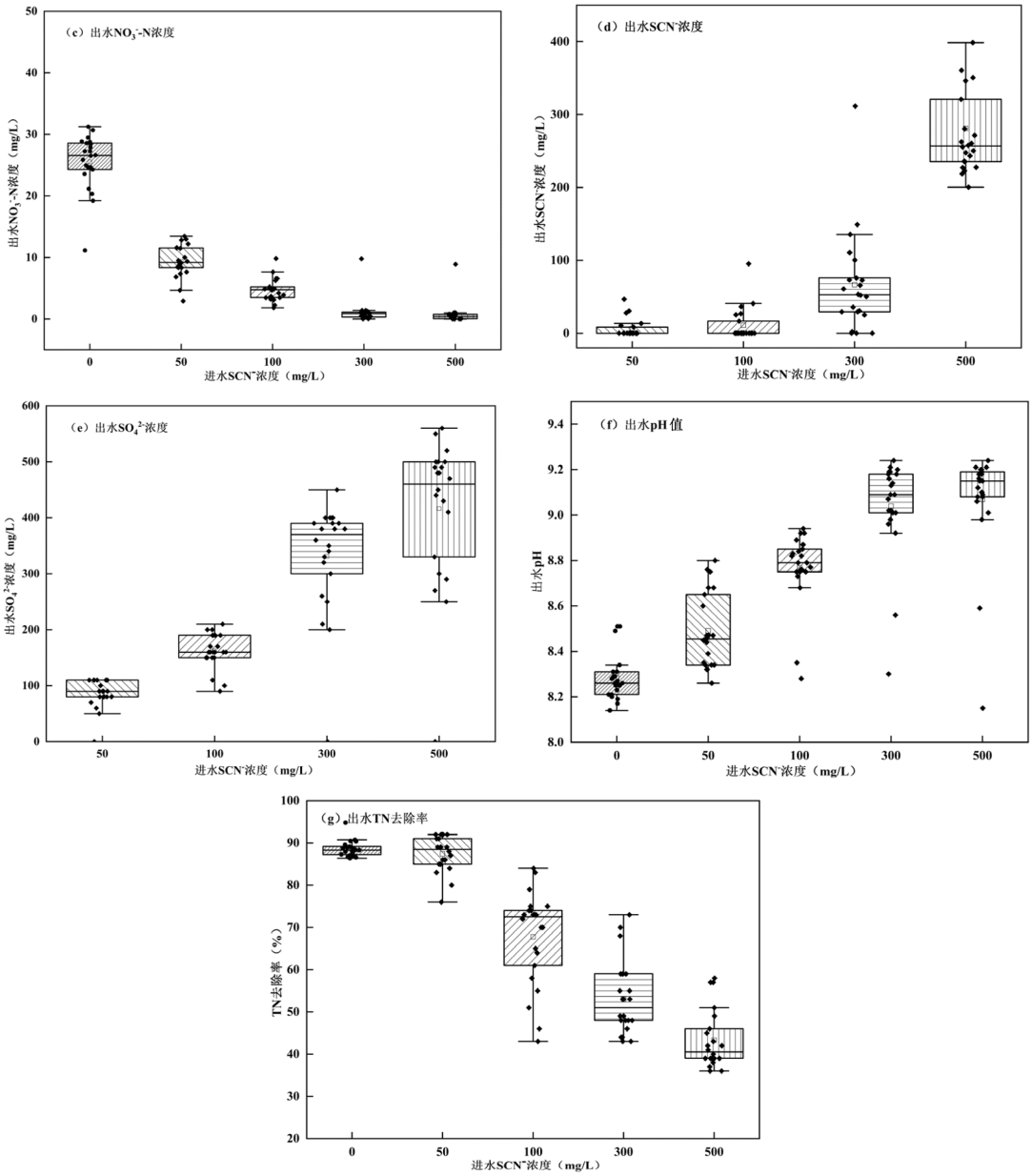


图 2　不同 SCN^-浓度下的处理性能

Fig.2　Treatment performance under different concentrations of thiocyanate

从反应式(6)和式(7)中可以看出,当微生物以 SCN^-作为电子供体,NO_3^-或者 NO_2^-作为电子受体进行反硝化作用时,都会消耗 H^+,这就是出水 pH 值(图 2(f))越来越高的原因.从图 2(e)中发现,随着 SCN^-浓度不断提高,出水 SO_4^{2-}的含量也在不断升高,根据硫元素的质量守恒,ΔSO_4^{2-}−S 与ΔSCN^-−S 的比值约为 1.66,本研究中 R_1~R_4的ΔSO_4^{2-}−S 与ΔSCN^-−S 的比值分别约为 1.9,1.79,1.92 和 1.83,略高于理论值 1.66,这可能是由于进水部分 SCN^-发生非彻底氧化,存在中间氧化产物(S^0).

2.2　SAA 活性分析

图 3 显示了不同 SCN^-浓度添加下 Anammox 活性.添加 50mg/LSCN^-时,SAA((14.14±1.13) mg N/g VSS·d)比空白组 R_0((13.29±0.98) mg N/g VSS·d)稍高,可能是由于低浓度SCN^-能够提供发生Anammox的底物(NH_4^+−N),进而促进 Anammox 活性[15].但随着 SCN^-浓度逐渐提高至 100,300 和 500mg/L 时,各反应器的 SAA 呈现出快速下降趋势,与空白相比,分别下降了 25.0%,67.2%和 81.9%,表明在高浓度 SCN^-添加下,一方面 SCN^-自养反硝化会与 Anammox 共同竞争底物 NO_2^-[16],另一方面 SCN^-对 Anammox 存在毒性抑制作用,通过抑制细胞内镁腺苷三磷酸酶

(Mg^{2+}–ATP 酶)活性影响 AnAOB 的能量代谢和物质转运,进而影响其活性[17].上述 SAA 结果与总氮去除率(图 2(g))结果相符合.

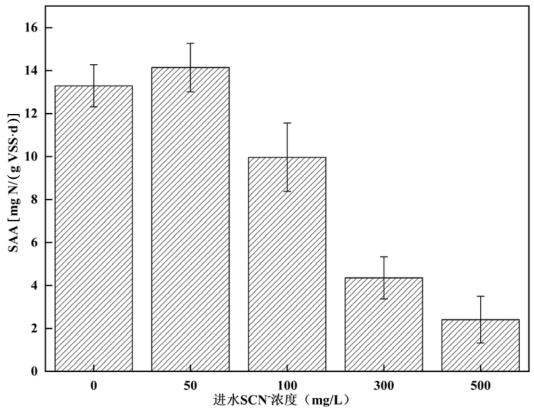


图 3 添加不同浓度 SCN^-下各反应器的 SAA

Fig.3 SAA of each reactor under the addition of different concentrations of thiocyanate

2.3 抑制动力学分析

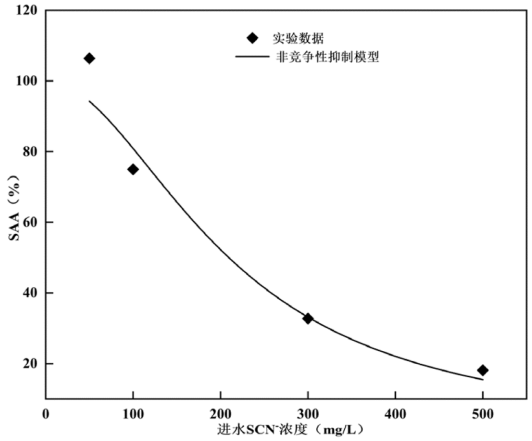


图 4 进水 SCN^-浓度与 SAA 之间的关系

Fig.4 Relationship between the concentration of thiocyanate in the influent and SAA

为进一步考察 SCN^-对 Anammox 毒性抑制影响,采用非抑制竞争模型对 SAA 与进水 SCN^-浓度数据进行分析,如图 4 所示.拟合结果表明:SCN^-对 Anammox 的半抑制浓度(IC_{50})为 209.5mg/L,拟合相关系数(R^2)高达 0.9413,表明非竞争性抑制动力学能够很好地描述 SCN^-对 Anammox 抑制作用.Kim 等[18]发现当 SCN^-浓度超过 200mg/L 时会对硝化有抑制作用.Guo 等[19]通过批次实验发现单独添加 SCN^-对 PN 污泥的抑制作用很明显,IC_{50} 仅为 43.3mg/L.而本研究下,IC_{50} 高的原因在于:1.颗粒污泥的保护;2.厌氧氨氧化自身活性较高.Chen 等[7]研究 SCN^-对 Anammox 的抑制作用,得到了 IC_{50} 更是高达 620.4mg/L,造成与本研究结果差异的原因可能与进水 SCN^-浓度及污泥驯化方式不同有关.

2.4 EPS 分析

图 5 显示了不同浓度 SCN^-添加下 EPS 组成及含量.空白组的 EPS 含量为 4.22mg/g–MLVSS,当投加 50mg/L 的 SCN^-后,EPS 含量增至 5.17mg/g–MLVSS.进一步提高 SCN^-后,EPS 含量呈现先减少后增加的趋势.组分方面,随着进水 SCN^-浓度的不断提高,蛋白质(PN)占 EPS 总量从 83.17%增加至 88.98%,表明 PN 一直占 EPS 的主要地位.而多糖(PS)的含量呈现出先减少后增加的趋势.EPS 在保护微生物细胞免受有害环境和生物毒性物质影响方面发挥着重要作用[20].在低浓度 SCN^-环境下,能够触发厌氧颗粒污泥分泌更多 EPS,来加强对不利环境的抵抗力.PN 物质能够稳固颗粒污泥的结构,而 PS 有利于提高污泥的附着力和团聚力,以保持其结构的完整性.研究表明:PN/PS 值是衡量 AnGS 结构稳定性的关键指标[21],如图 5 所示,随着添加 SCN^-浓度的不断提高,PN/PS 的值也在不断增高,表明 SCN^-提高对 Anammox 细胞毒性增强,最终导致颗粒污泥的结构强度发生不断降低[22].图 6 显示了不同 SCN^-浓度添加下颗粒污泥的形态.可以看到,在高浓度 SCN^-胁迫下,AnGS 污泥颜色明显发黑且颗粒污泥变得松散.

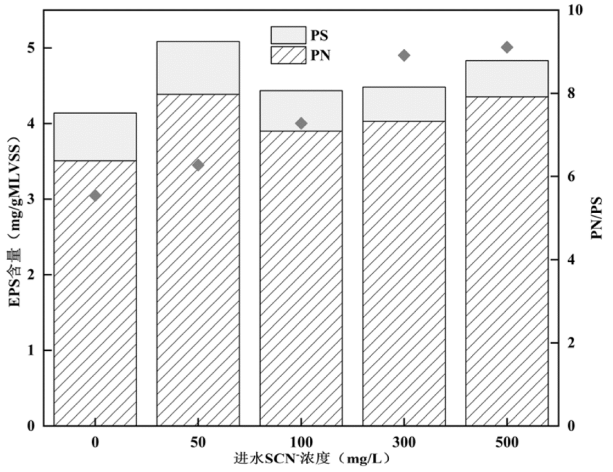


图 5 不同 SCN^-浓度下的 AnGS 的 EPS

Fig.5 EPS of AnGS at different concentrations of thiocyanate

EPS 三维荧光光谱分析如图 7 所示,出峰位置主

要分布在两个区域,峰 A(E_x/E_m:250~300nm/325~375nm),峰 B(E_x/E_m:220~250nm/325~375nm).峰 A 被认为是色氨酸类蛋白质,而峰 B 被判断为酪氨酸类蛋白质,属于一种芳香族类蛋白质[23].表 1 为荧光光谱位置和最大荧光强度参数,可以看出,随着添加 SCN^-浓度的增加,峰 A 和峰 B 的荧光强度出现先增加后减少的趋势,在低 SCN^-浓度下,细胞会释放更多的 EPS 蛋白物质来保护自己免受影响[10].而在高浓度 SCN^-胁迫下,过高的 SCN^-浓度造成严重毒性作用,使得 EPS 无法分泌,峰强大幅减弱.

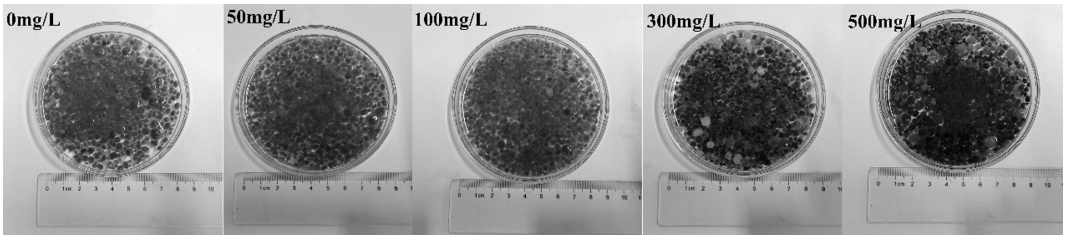


图 6　不同 SCN^-浓度下 AnGS 实物照片

Fig.6　Actual photos of AnGS at different concentrations of thiocyanate

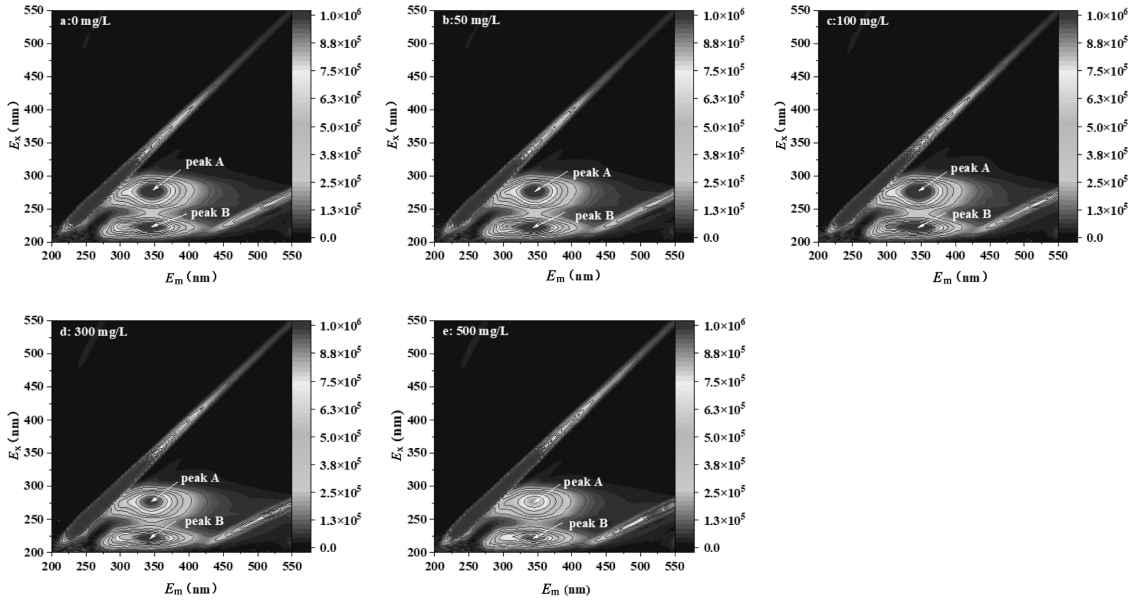


图 7　暴露在不同 SCN^-浓度下 3D-EEM

Fig.7　3D-EEM exposed to different concentrations of thiocyanate

表 1　TB-EPS 的 E_x/E_m(激发/发射波长)及荧光强度

Table 1　E_x/E_m (excitation/emission wavelength) and fluorescence intensity of TB-EPS

SCN^-(mg/L)	峰 A		峰 B	
	E_x/E_m(nm)	荧光强度	E_x/E_m(nm)	荧光强度
0	278/345	1.16×10^6	222/345	1.2×10^6
50	276/345	1.11×10^6	222/345	1.21×10^6
100	278/345	1.22×10^6	222/345	1.31×10^6
300	276/345	1.09×10^6	222/345	1.15×10^6
500	276/345	0.86×10^6	222/345	1.03×10^6

2.5　微生物群落分析

表 2 为添加不同 SCN^-浓度α多样性指数.如表 2 所示,随着 SCN^-浓度从 0mg/L 添加至 100mg/L,Chao 和 Ace 指数都有所提高,说明添加低浓度的 SCN^-使得微生物群落的丰富度提高[24].而在高浓度的 SCN^-添加下,微生物群落的丰富度会有所下降.与空白组相比,添加 SCN^-的各反应器 Shannon 指数均有下降,表明微生物群落的多样性处于降低.说明由于 SCN^-的添加会因微生物毒性,导致物种数量减少.

图 8(a)和 8(b)分别是不同浓度 SCN^-添加下微生物群落组成.在门水平(8(a)),变形菌门(Proteobacteria,11.69%~62.42%)、浮霉菌门(Planctomycetota,8.31%~22.17%)、绿菌门(Chloroflexi,2.52%~

15.51%)、拟杆菌门(Bacteroidota,17.55%~31.96%)、厚壁菌门(Firmicutes,2.32%~3.07%)占据优势.Proteobacteria 是土壤和废水处理厂中最常见的门,含有大量能降解氮的功能性菌属[25-26].从空白组的 11.69%显著增至 62.42%,其主要原因在于能降解的 SCN^- 微生物菌门的快速增殖.与此同时,Proteobacteria 的快速增殖导致了 Chloroflexi 和 Bacteroidota 的相对丰度降低.与变形菌门相反,随着 SCN^-浓度的不断增加,浮霉菌门的相对丰度从空白组的 22.17%大幅降低至 8.31%.由于 Anammox 隶属于 Planctomycetota[27],间接表明 Anammox 受到了 SCN^-的严重抑制.Firmicutes 通常在厌氧反应器中发现[28].这些门类的存在与 Anammox 相互作用,共同进行脱氮作用,可能在 SCN^-存在时对脱氮做贡献.

表 2 α多样性指数

Table 2 Alpha diversity indices

SCN^-(mg/L)	Chao	Ace	Shannon	Simpson
0	1606	1679.44	4.09	0.08
50	1725	1799.29	3.87	0.10
100	1655	1755.09	3.48	0.16
300	1522	1621.43	3.20	0.21
500	1581	1665.26	3.53	0.15

属水平群落组成如图 8(b)所示.*Candidatus Brocadia* 和 *Candidatus Anammoxoglobus* 是 5 个 Anammox 反应器共有 AnAOB 菌属.R_0 的 *Candidatus Brocadia* 菌属的相对丰度为 12.19%,添加 SCN^-浓度为 50,100,300 和 500mg/L 后,*Candidatus Brocadia* 菌属的相对丰度分别下降至 4.96%,4.58%,3.77%和 3.46%,R_0 中 *Candidatus Anammoxoglobus* 菌属相对丰度为 1.58%,添加 SCN^-浓度为 50 和 100mg/L 时分别下降至 1.18%和 1.01%,然而,添加 SCN^-浓度为 300 和 500mg/L 时略增加至 1.73%和 1.96%.表明 SCN^-添加后确实会对 *Candidatus Brocadia* 生长有抑制影响[2],而高浓度 SCN^-下 *Candidatus Anammoxoglobus* 相对丰度的增加可能原因是其具有更高的适应性[29].该菌属对于 SCN^-耐受机制后续将开展进一步研究.与此同时,随着 SCN^-浓度增加,*Thiobacillus* 的相对丰度从 R_0 的 0.65%大幅增加到 25.47%,37.85%,44.53%和 35.04%,这说明了 SCN^-浓度提高促使 *Thiobacillus* 显著富集.研究表明:*Thiobacillus* 能够利用硫氰酸盐作为其生长的唯一能量来源[30].此外,*Thiobacillus* 同时具有硫自养反硝化功能[31],协同 Anammox 脱氮.*Thauera* 菌属能参与异养降解 SCN^-[32],相对丰度空白组 0.06%,R_1~R_4 中此菌属的相对丰度分别增加至 0.21%,0.28%,0.38%和 0.26%.*Ignavibacterium* 菌属参与短程反硝化过程[33],*Denitratisoma* 也是一种常见的反硝化菌,均可利用 NO_3^--N 和 NO_2^--N 发生反硝化,实现脱氮[34].微生物结果分析表明,在添加 SCN^-的厌氧氨氧化反应器中同时存在着 Anammox 和硫自养反硝化两种作用的协同.

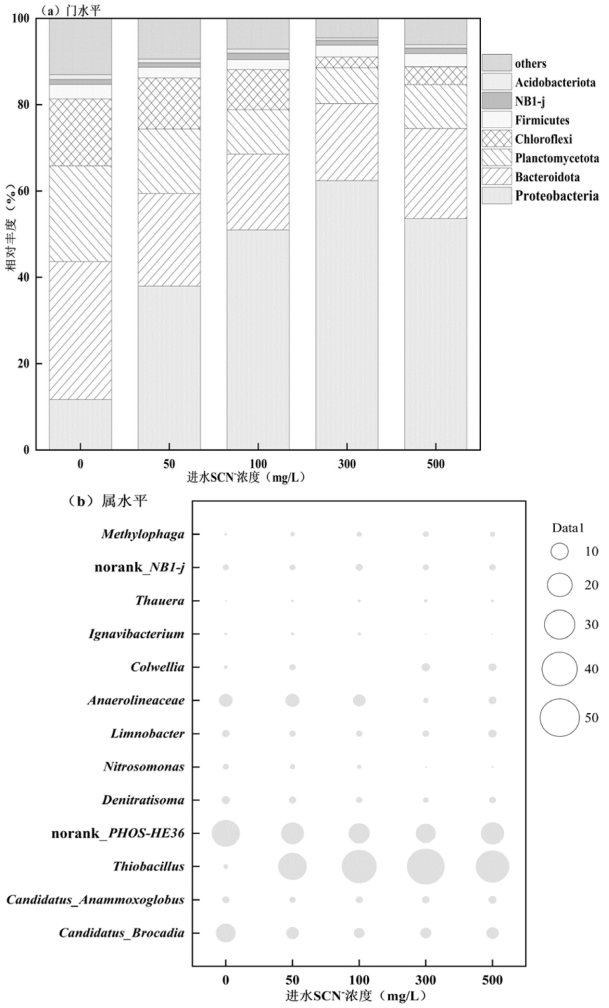


图 8 微生物群落结构

Fig.8 Microbial community structure

2.6 功能代谢途径预测

基于 KEGG 数据库,利用 PICRUSt2 预测了不同 SCN^-浓度添加下微生物的功能代谢途径,如图 9 所示.可以看出,在反应系统中预测到四条主要代谢途径,包括 23 条次要代谢途径.在新陈代谢(69.48%~

72.99%)方面,氨基酸代谢与辅助因子和维生素的代谢路径的相对丰度最高,其次是碳水化合物代谢,其他氨基酸代谢,能量代谢.与空白组相比,添加不同浓度的 SCN^- 的反应器内这几个代谢路径的相对丰度均有所下降,可能是 SCN^- 对微生物的代谢活性产生抑制.在遗传信息处理(10.19%~11.06%)方面,参与折叠、分类和降解途径的基因的相对丰度随着 SCN^- 浓度的升高而下降,表明蛋白质合成和解码的功能降低[35].与细胞过程(5.13%~7.41%)有关的细胞生长和死亡及细胞运动的代谢路径随 SCN^- 浓度增加而有所增加[36],可能跟抑制 AnAOB 后反应器内微生物的丰富度提高有关.这些发现为添加 SCN^- 之后 Anammox 的活性降低提供了一个合理的微生物学解释.

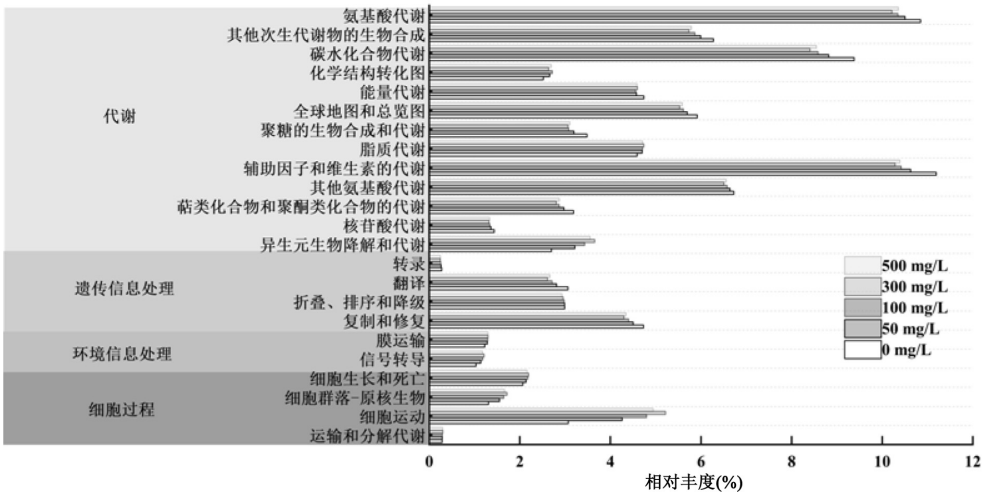


图 9　暴露在不同 SCN^- 浓度下 KEGG 预测:代谢途径

Fig.9　Prediction of KEGG exposed to different SCN^- concentrations: metabolic pathways

3　结论

3.1　随着 SCN^- 浓度的提高,TN 去除率显著降低,50mg/L SCN^- 能够促进 SAA,而高浓度下,SCN^- 抑制 SAA;

3.2　非竞争型抑制模型得出 SCN^- 对 Anammox 半抑制浓度 IC_{50} 为 209.5mg/L.

3.3　添加 SCN^- 后细胞分泌的 EPS 均高于空白组.随着 SCN^- 增加,PN/PS 值呈现出上升的趋势,三维荧光峰强出现先增加后减少趋势.

3.4　添加 SCN^- 后,微生物群落多样性和丰富度均降低,*Candidatus Brocadia* 减少,而 *Thiobacillus* 快速增殖,微生物功能代谢途径不同程度降低.添加 SCN^- 的反应器中同时存在 Anammox 和硫自养反硝化两种作用的协同.

参考文献：

[1] Raper E, Stephenson T, Fisher R, et al. Characterisation of thiocyanate degradation in a mixed culture activated sludge process treating coke wastewater [J]. Bioresource Technology, 2019,288:121524.

[2] Yu X, Nishimura F, Hidaka T. Anammox reactor exposure to thiocyanate: Long-term performance and microbial community dynamics [J]. Bioresource Technology, 2020,317:123960.

[3] 徐伟超,蒙小俊,尹　莉,等.焦化废水活性污泥中降解硫氰化物细菌种群多样性分析 [J]. 环境科学, 2016,37(7):2689-2695.
Xu W C, Meng X J, Yin L, et al. Analysis of the diversity of bacterial populations degrading thiocyanate in activated sludge from coking wastewater [J]. Environmental Science, 2016,37(7):2689-2695.

[4] Chen Q Q, Sun F Q, Guo Q, et al. Process stability in an anammox UASB reactor with individual and combined thiocyanate and hydraulic shocks [J]. Separation and Purification Technology, 2017, 173:165-173.

[5] Shafiei F, Watts M P, Pajank L, et al. The effect of heavy metals on thiocyanate biodegradation by an autotrophic microbial consortium enriched from mine tailings [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2020,105(1):417-427.

[6] Wang Q, Wang Y, Lin J, et al. Selection of seeding strategy for fast start-up of Anammox process with low concentration of Anammox sludge inoculum [J]. Bioresource Technology, 2018,268:638-647.

[7] Chen Q Q, Chen H, Zhang Z Z, et al. Effects of thiocyanate on granule-based anammox process and implications for regulation [J]. Journal of Hazardous Materials, 2017,321:81-91.

[8] Chen X, Duan F, Yu X, et al. One-stage anammox and thiocyanate-driven autotrophic denitrification for simultaneous removal of thiocyanate and nitrogen: Pathway and mechanism [J]. Water Research, 2024,265:122268.

[9] Yang Y, Zhang L, Cheng J, et al. Achieve efficient nitrogen removal

from real sewage in a plug-flow integrated fixed-film activated sludge (IFAS) reactor via partial nitritation/anammox pathway [J]. Bioresource Technology, 2017,239:294-301.

[10] Miao L, Zhang Q, Wang S, et al. Characterization of EPS compositions and microbial community in an Anammox SBBR system treating landfill leachate [J]. Bioresource Technology, 2018,249:108-116.

[11] Wei Z, Xu R, Li H, et al. Mixotrophic denitrification using thiocyanate and phenol as electron donors: Kinetics and microbial mechanisms [J]. Journal of Water Process Engineering, 2024,61:105260.

[12] Pan J, Ma J, Wu H, et al. Application of metabolic division of labor in simultaneous removal of nitrogen and thiocyanate from wastewater [J]. Water Research, 2019,150:216-224.

[13] Pan J, Ma J, Wu H, et al. Simultaneous removal of thiocyanate and nitrogen from wastewater by autotrophic denitritation process [J]. Bioresource Technology, 2018,267:30-37.

[14] Pan J, Wei C, Fu B, et al. Simultaneous nitrite and ammonium production in an autotrophic partial denitrification and ammonification of wastewaters containing thiocyanate [J]. Bioresource Technology, 2018,252:20-27.

[15] Liu L, Xu Y, Yu C, et al. The efficient utilization of thiocyanate on simultaneous removal of ammonium and nitrate through thiosulfate-driven autotrophic denitrifiers and anammox [J]. Bioresource Technology, 2023,380:129069.

[16] Chen X, Yang L, Sun J, et al. Modelling of simultaneous nitrogen and thiocyanate removal through coupling thiocyanate-based denitrification with anaerobic ammonium oxidation [J]. Environmental Pollution, 2019,253:974-980.

[17] Chen X, Duan F, Yu X, et al. Uncovering pathway and mechanism of simultaneous thiocyanate detoxicity and nitrate removal through anammox and denitrification [J]. NPJ Clean Water, 2024,7(1): DOI:10.1038/s41545-024-00402-w.

[18] Kim Y M, Park D, Lee D S, et al. Inhibitory effects of toxic compounds on nitrification process for cokes wastewater treatment [J]. Journal of Hazardous Materials, 2008,152(3):915-921.

[19] Guo Q, Shi Z J, Yang C C, et al. Individual and combined inhibition of phenol and thiocyanate on microbial activity of partial nitritation [J]. Environmental Science and Pollution Research, 2017,24(16):14207-14217.

[20] Liu X, Liu J, Deng D, et al. Investigation of extracellular polymeric substances (EPS) in four types of sludge: Factors influencing EPS properties and sludge granulation [J]. Journal of Water Process Engineering, 2021,40:101924.

[21] Wang W, Yan Y, Zhao Y, et al. Characterization of stratified EPS and their role in the initial adhesion of anammox consortia [J]. Water Research, 2020,169:115223.

[22] Yu P, Wang D, Jin X, et al. Rapid formation mechanism of SAD granular sludge: From flocculated activated sludge to granular sludge [J]. Journal of Water Process Engineering, 2024,64:105627.

[23] Zhu L, Zhou J, Lv M, et al. Specific component comparison of extracellular polymeric substances (EPS) in flocs and granular sludge using EEM and SDS-PAGE [J]. Chemosphere, 2015,121:26-32.

[24] He S, Yang W, Qin M, et al. Performance and microbial community of anammox in presence of micro-molecule carbon source [J]. Chemosphere, 2018,205:545-552.

[25] Chen W, Dai X, Cao D, et al. Characterization of a microbial community in an Anammox process using stored anammox sludge [J]. Water, 2017,9:829-840.

[26] He J, Zhang Q, Tan B, et al. Understanding the effect of residual aluminum salt coagulant on activated sludge in sequencing batch reactor: Performance response, activity restoration and microbial community evolution [J]. Environmental Research, 2022,212:113449.

[27] Wang W, Li D, Li S, et al. Insight into enrichment of anaerobic ammonium oxidation bacteria in anammox granulation under decreasing temperature and no strict anaerobic condition: Comparison between continuous and sequencing batch feeding strategies [J]. Science of The Total Environment, 2021,787:147601.

[28] 赵 彬,丁雪松,吴丹青,等.高负荷条件下好氧颗粒污泥同步脱氮除碳特性及微生物群落结构分析 [J]. 环境工程学报, 2020,14(2): 295-304.
Zhao B, Ding X, Wu D Q, et al. Characteristics on simultaneous nitrogen and organic carbon removal and microbial community structure analysis of aerobic granular sludge treating high strength wastewater [J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2020, 14(2):295-304.

[29] Hung C H, Wong S S, Cheng P J, et al. Successful enrichment of rarely found *Candidatus Anammoxoglobus* propionicus from leachate sludge [J]. Journal of Microbiology and Biotechnology, 2014,24(7):879-887.

[30] Kim S J, Katayama Y. Effect of growth conditions on thiocyanate degradation and emission of carbonyl sulfide by Thiobacillus thioparus THI115 [J]. Water Research, 2000,34(11):2887-2894.

[31] Yang Y, Niu Q, Lu J, et al. The inhibitory effects and underlying mechanism of high ammonia stress on sulfide-driven denitrification process [J]. Chemosphere, 2022,303:135093.

[32] Wei Z, Zhang B, Xu R, et al. Mixotrophic denitrification using thiocyanate as an electron donor: Role of thiocyanate under different C/N conditions [J]. Journal of Environmental Management, 2025, 375:124264.

[33] Li X, Yuan Y, Dang P, et al. Effect of salinity stress on nitrogen and sulfur removal performance of short-cut sulfur autotrophic denitrification and anammox coupling system [J]. Science of The Total Environment, 2023,878:162982.

[34] Chen W, Chen S, Hu F, et al. A novel anammox reactor with a nitrogen gas circulation: performance, granule size, activity, and microbial community [J]. Environmental Science and Pollution Research, 2020, 27(15):18661-18671.

[35] Hong X, Niu B, Sun H, et al. Insight into response characteristics and inhibition mechanisms of anammox granular sludge to polyethylene terephthalate microplastics exposure [J]. Bioresource Technology, 2023,385:129355.

[36] Xiao C, Wan K, Hu J, et al. Performance changes in the anammox process under the stress of rare-earth element Ce(III) and the evolution of microbial community and functional genes [J]. Bioresource Technology, 2023,384:129349.

作者简介：李佩瑶(2000-),女,山西运城人,太原理工大学硕士研究生,研究方向为 SCN^-对厌氧氨氧化的影响机制.发表论文 1 篇.1519409082@qq.com.