徐浩哲,秦曼瑜,厉曾一,等.废铁屑强化高盐条件下厌氧氨氧化系统脱氮研究 [J]. 中国环境科学, 2025,45(11):6112-6119.
Xu H Z, Qin M Y, Li Z Y, et al. Nitrogen removal in ANAMMOX system enhanced by waste iron scrap under high salinity conditions [J]. Chinese Environmental Science, 2025,45(11):6112-6119.

废铁屑强化高盐条件下厌氧氨氧化系统脱氮研究

徐浩哲[1],秦曼瑜[1],厉曾一[1],张钰昱[1],刘文如[1,2*] (1.苏州科技大学环境科学与工程学院,江苏 苏州 215009；2.苏州科技大学,市政污水资源化利用技术国家地方联合工程实验室,江苏 苏州 215009)

摘要：通过上流式厌氧污泥床(UASB)反应器研究在不同盐度进水中废铁屑对厌氧氨氧化(ANAMMOX)系统脱氮效能的影响.结果表明,废铁屑对提升ANAMMOX 脱氮效能有一定的促进作用.在 2.75%~3%盐度下,氮去除负荷(NRR)从(0.39±0.12)kg/(m^3·d)上升到(2.88±0.09)kg/(m^3·d),而在盐度达到 3.5%时系统崩溃.比厌氧氨氧化活性(SAA)出现了先上升,在 3.5%盐度时下降的趋势.通过分析胞外聚合物(EPS)发现,废铁屑的投加有助于蛋白质/多糖(PN/PS)的下降,促进形成紧密的颗粒污泥.微生物分析显示,高盐度降低了反应器中 ANAMMOX 菌(AnAOB)(*CandidatusKuenenia*)的丰度.值得注意的是,一种潜在的新型ANAMMOX细菌(*Brocadiaceaeunclassified*)始终占据主导地位(占比54.1%),表明该菌可能在高盐条件下维持氮去除性能中起到了关键作用.本文研究结果可为 ANAMMOX 工艺处理高盐废水提供理论支撑.

关键词：厌氧氨氧化；盐度；脱氮效能；废铁屑
中图分类号：X703 **文献标识码**：A **文章编号**：1000-6923(2025)11-6112-08

Nitrogen removal in ANAMMOX system enhanced by waste iron scrap under high salinity conditions. XU Hao-zhe[1], QIN Man-yu[1], LI Zeng-yi[1], ZHANG Xing-yu[1], LIU Wen-ru[1,2*] (1.School of Environmental Science and Engineering,Suzhou University of Science and Technology, Suzhou 215009, China；2.National & Local Joint Engineering Laboratory for Municipal Sewage Resource Utilization Technology, Suzhou University of Science and Technology, Suzhou 215009, China). *Chinese Environmental Science*, 2025,45(11)：6112~6119

Abstract：The effect of scrap iron on the nitrogen removal performance of theanaerobic ammonium oxidation (ANAMMOX) system under different salinity influents was investigated using anUpflow Anaerobic Sludge Blanket (UASB) reactor. The results showed that scrap iron had a positive effect on enhancing the nitrogen removal efficiency of the ANAMMOX process. Under salinity conditions ranging from 2.75% to 3%, the nitrogen removal rate (NRR) increased from 0.39±0.12kg/(m³·d) to 2.88±0.09kg/(m³·d). However, when the salinity reached 3.5%, the system collapsed. With the addition of scrap iron, the specific anammox activity (SAA) first increased and then decreased at 3.5% salinity. Extracellular Polymeric Substances (EPS) analysis indicated that the addition of scrap iron contributed to a decrease in theProtein/polysaccharide(PN/PS)ratio, promoting the formation of dense granular sludge. Microbial community analysis revealed that high salinity reduced the abundance of AnAOB(*CandidatusKuenenia*) in the reactor. Notably, a potentially novel AnAOB (*Brocadiaceaeunclassified*), consistently dominated the community (accounting for 54.1%), suggesting that this strain may play a key role in maintaining nitrogen removal performance under high-salinity conditions. The results of this paper could provide theoretical support for the treatment of high-salt wastewater by the ANAMMOX process.

Key words：anammox；salinity；nitrogen removal；scrap iron

与传统的硝化-反硝化工艺相比,ANAMMOX 作为一种环境友好、成本低廉的替代方法,在富氮废水处理中显示出广阔的前景.然而,ANAMMOX 技术面临着高环境敏感性的挑战[1].工业富氮废水,如纺织废水和煤化工废水,常常伴随着高盐度的问题[2].

在生物处理过程中,盐度通过增加渗透压,对微生物生长产生不同的抑制作用[3].Lin 等[4]发现特定ANAMMOX 功能菌的耐盐性具有一定差异.实验表明 *CandidatusKuenenia* 能耐受 1.5%盐度的含盐废水,而 *CandidatusBrocadia* 在盐度达 0.91%时 SAA 下降了 50%.盐度通常还会抑制 ANAMMOX 颗粒污泥合成 EPS,从而降低微生物活性.在 Zhang 等[5]的实验过程中发现,随着盐度上升(0 到 1.5%到 3%),EPS 从 90.45mg/gVSS 降低至 76.90mg/gVSS 再降低到

收稿日期：2025-04-16
基金项目：国家自然科学基金资助项目(52470090);江苏省研究生科研实践创新计划项目(KYCX22_3304)
* 责任作者, 副教授, liuwenru1987@126.com

65.10mg/gVSS.当盐度超过 3%时,ANAMMOX 的活性和脱氮能力会显著下降.因此,迫切需要寻找合适的添加物,以缓解盐度对 ANAMMOX 菌的负面影响.

添加铁已被证明是一种简单而有效的方法,称为铁辅助 ANAMMOX.这种方法通过引入铁离子,降低溶解氧(DO)和氧化还原电位等方式,促进氮去除能力[6].铁作为含铁蛋白的必需组分,在 ANAMMOX 菌种的代谢和生长中起着至关重要的作用[7-8].研究表明[9]5mg/L Fe(III)显著增强 ANAMMOX 工艺的脱氮性能,帮助其更好地抵抗盐胁迫,从而提高整体的脱氮效率.污泥内较低的 Fe 含量,也会使得 ANAMMOX 物种的生长随着盐度的增加而受到限制[10].已有研究表明[11],废铁屑作为一种廉价且容易获得的工业副产品,也可以用于构建铁辅助 ANAMMOX 工艺.投加废铁屑是否能促进ANAMMOX细菌抵御盐度的抑制仍不明确.因此,本研究拟探讨添加废铁屑以提高ANAMMOX细菌抵御高盐度抑制的能力,重点探究:脱氮性能与生物 ANAMMOX 活性的响应关系,分析ANAMMOX颗粒污泥的形态结构变化,跟踪细菌群落结构动态变化.为在盐度抑制下,采用废铁屑辅助 ANAMMOX 工艺处理高盐含氮废水提供了一种新的思路.

1　材料与方法

1.1　实验装置与进水组成

实验采用UASB反应器,反应器的高度为48cm,有效容积为 1L.接种颗粒污泥来自于实验室培养的适应中低盐度的 ANAMMOX 颗粒污泥(NRR:(2.30±0.27)kg/(m^3·d);NRE:(37.76±4.02)%).系统的水力停留时间(HRT)控制在 12h,混合液悬浮固体浓度(MLSS)为 10g/L,反应器的温度保持在(30±1)℃.进水使用实验室无机合成废水,主要由底物(NH_4^+-N和NO_2^--N)、矿物介质和微量元素组成[11].在实验过程中,根据需求按阶段投加 NaCl,先将颗粒污泥在2.75%盐度下培养 10d,令其适应该盐度(阶段Ⅰ,1~10d),在第 11d 投加废铁屑继续培养 47d(阶段Ⅱ,11~57d),之后将盐度提升至 3%(阶段Ⅲ,58~91d),最后提升至3.5%(阶段Ⅳ,92~137d).合成废水中添加了800mg/L 的 NaHCO ,确保 pH 值维持在(7.8±0.2)之间.进水中 NH_4^+-N 和 NO_2^--N 物质质量比为 1:1.32,以满足 ANAMMOX 的计量需求.

1.2　废铁屑预处理

废铁屑为车床刨花钢铁后的废弃物,呈螺旋状,2~8cm 不等.称量 10g 废铁屑浸泡于 2mol/L NaOH 溶液中 2h,以去除表面的油脂;然后在 0.1mol/L HCI 溶液中浸泡 30min,以去除表面的氧化物[12],用去离子水冲洗至 pH 值为中性使用.废铁屑预处理后应立即使用,避免废铁屑在空气中氧化.

1.3　批次实验

在原位反应器中进行了批量实验,迅速用新的合成废水替换了 UASB 反应器中的废水,使反应器内总氮浓度与进水总氮浓度相同.将进水口和出水口连接,以确保废水仅在反应器内循环.充分混合后,每隔 30min 从反应器采集水样,测量 NO_2^--N、NH_4^+-N、NO_3^--N 和 TN 的浓度.

1.4　实验分析方法

从进水和出水中采集水样,三氮含量通过相关指标测定[13].颗粒污泥中总铁含量通过感应耦合等离子体原子发射光谱(ICP-AES)法使用紫外分光光度计测定.厌氧氨氧化污泥经过冻干处理后,通过 X 射线衍射(XRD)(RigakuSmartLab SE,日本)扫描,范围为 5°~90°的 2θ 范围,获得的衍射数据用于分析矿物相.

采用热提取法提取厌氧氨氧化污泥中的 S-EPS、LB-EPS 和 TB-EPS[14],PN 和 PS 分别通过 Lowry 法和苯酚-硫酸法进行定量分析[15-16].

1.5　微生物高通量测序

在第 1d、第 50d、第 90d 和第 136d,从反应器底部采集 10mL 混合颗粒污泥样本.样本以10,000r/min 离心 5min 去除上清液,沉淀的颗粒污泥存储于-80°C,用于微生物群落分析.基因测序由上海美吉生物科技有限公司基于 Illumina Miseq 平台进行.所有原始读数均已存入 NCBI 序列读数存档(SRA) 数据库,登录号为 PRJNA1228546.

样本的 DNA 提取采用 FastDNA® SPIN Ki,按照制造商说明进行操作.通过聚合酶链式反应(PCR)扩增和测序 16S rRNA 基因的 V3-V4 区域,使用通用引物 338F(5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3')和806R(5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3'). Usearch 软件根据 97%的相似度阈值将修剪后的序列归类为操作分类单元(OTUs).利用 Shannon 指数、

Simpson 指数和 Chao 指数评估细菌的 α-多样性,并进一步分析微生物群落的演替.

2 结果与讨论

2.1 进出水脱氮效能分析

反应器的进出水总氮如图 1 所示.P_1 阶段(1~10d),ANAMMOX 颗粒污泥在 2.75%盐度下培养受到了一定的抑制,NRR 从(0.48±0.08) kg/(m^3·d)下降至(0.19±0.11) kg/(m^3·d).P_2 阶段(11~57d),投加废铁屑培养颗粒污泥,期间反应器脱氮表现良好,NRR 从(0.39±0.12) kg/(m^3·d)上升到(2.88±0.09) kg/(m^3·d),出现明显上升,这与 Xu 等[17]投加铁元素后得到的现象一致.平均 TN 去除率维持在 50%~60%,表明反应器中颗粒污泥活性较强,系统具有良好的脱氮性能,说明废铁屑具有良好的提升 ANAMMOX 脱氮效能的作用.期间 NRE 先上升后下降的趋势,Liang 等[18]证实是不溶性铁氧化膜降低了铁离子利用率的原因.

P_3 阶段(58~91d),进水盐度提升至 3%,反应器 NRR 从(2.88±0.09) kg/(m^3·d)立刻下降到(1.98±0.25) kg/(m^3·d),氮去除率(NRE)降低了约 15%,这说明 3%的盐度对 ANAMMOX 系统具有一定的冲击.经过一段时间恢复,系统性能逐渐恢复至(2.24±0.22) kg/(m^3·d).NRE 也逐渐恢复至(48.99±4.47)%,几乎没有受到严重抑制,这说明颗粒污泥对盐度具有更好的抗性与适应性,UASB 反应器中较高的生物量和颗粒污泥的结构为维持反应器的脱氮性能提供了条件[19-20].

P_4 阶段(92~137d),将进水盐度提升至 3.5%后,ANAMMOX 脱氮性能重新受到抑制并持续下降,此时反应器的 NRR 从(2.24±0.22) kg/(m^3·d)下降至(0.21±0.11) kg/(m^3·d),NRE 从(48.99±4.47)%下降至(4.60±2.23)%,表明即使经过驯化后的 ANAMMOX 颗粒污泥,在遭遇更高盐度时仍会抑制活性.后续继续维持盐度培养颗粒污泥,并未出现恢复的迹象,表明已到盐度耐受的最大值,Yin 等[21]也有同样的实验结果,在盐度提升到 3.5%时,NRE 下降了 23.22%.

如图 2 所示,从化学计量比中可以看出在 P_1(1~10d)阶段,ΔNO_2^--N/ΔNH_4^+-N 稳定在 1.32;在 P_2(11~57d)阶段,此时 ΔNO_2^--N/ΔNH_4^+-N 和 ΔNO_3^--N/ΔNH_4^+-N 均值分别为 0.76~1.29 和 0.15~0.28,这可能是由于废铁屑腐蚀释放的 Fe(II)与 NO_3^--N 发生反应,生成 NO_2^--N 或 N_2[22].说明此时 ANAMMOX 颗粒污泥仍保持着较好的脱氮能力.在 P_3(58~91d)阶段时,ΔNO_2^--N/ΔNH_4^+-N 出现明显上升,均值为 1.3,可能是非生物氧化 Fe(Ⅱ)形成的反硝化导致的[23].而当进入 P_4(92~137d)阶段时,ΔNO_2^--N/ΔNH_4^+-N 下降,均值降为 1.04,而 ΔNO_3^--N/ΔNH_4^+-N 出现明显偏移,说明此时 NO_2^--N 利用率下降,且 ANAMMOX 系统不稳定,微生物逐渐丧失活性.这些化学计量比的变化揭示了在投加 Fe 及不同盐度条件下,反应器中脱氮路径和微生物活性的显著变化.

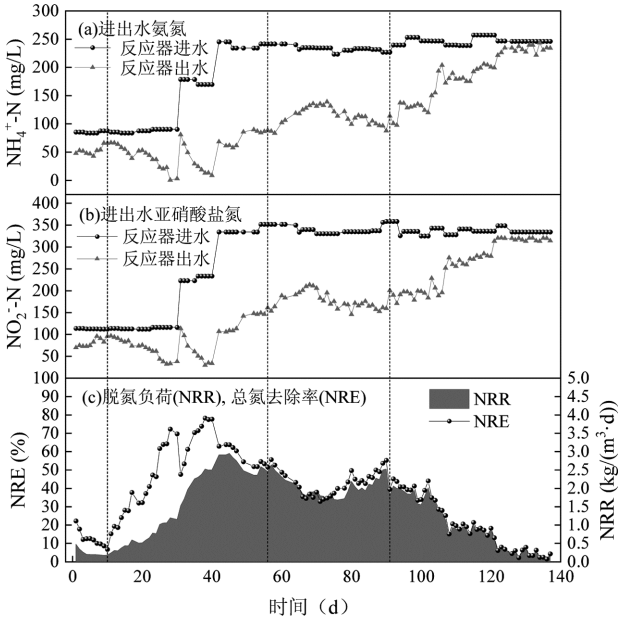


图 1 长期运行中反应器脱氮表现

Fig.1 Nitrogen removal performance of reactor during long-term operation

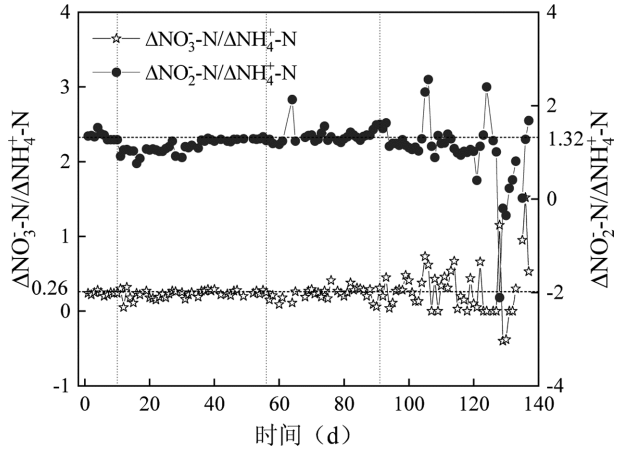


图 2 反应器化学计量比

Fig.2 The stoichiometric ratio in ANAMMOX reactor

2.2 比厌氧氨氧化活性(SAA)

批次试验结果如图3所示.P1阶段,ANAMMOX颗粒污泥 SAA 为 1.21mgTN/(gVSS·h),在高盐度抑制下,SAA 下降至 0.77mgTN/(gVSS·h).在 P2 阶段培养一段时间后,废铁屑的参与使得 SAA 恢复至 1.41mgTN/(gVSS·h),此时 ANAMMOX 系统恢复至实验室培养水平的最大去除负荷,Zhou 等[24]在投加了铁离子后也使得 SAA 出现上升的现象.而当盐度提升至 3%,ANAMMOXSAA 达到了 1.19mgTN/(gVSS·h).在盐度达到 3.5%后,颗粒污泥颗粒内部出现黑色颗粒物沉淀,此时 SAA 仅为 0.42mgTN/(gVSS·h);盐度对于 ANAMMOX 的胁迫作用增大,SAA 比刚恢复时降低了 45%,这与 Wang 等[25]发现在高盐度下 SAA 受到抑制的结果相一致.上述结果进一步证明废铁屑可以缓解盐度对 ANAMMOX 系统抑制效果.而一旦超过废铁屑强化下的ANAMMOX系统所能承受的最大盐度阈值,SAA就会迅速下降.

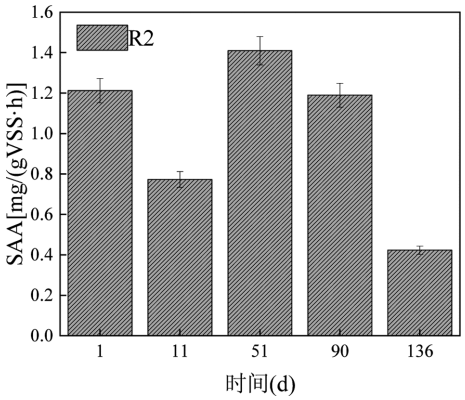


图 3　反应器的比厌氧氨氧化活性

Fig.3　SAA of reactor

2.3　废铁屑在含盐废水中的铁离子释放

10g 废铁屑在不同盐度下释放的铁离子含量如图 4(a)所示.在第 1d 时,其中颗粒污泥中总铁含量只有 28.26mgFe/gSS,此时颗粒污泥中没有投加废铁屑.在第 11d 添加废铁屑后培养一段时间,颗粒污泥中铁元素的含量达到了 70.89mgFe/gSS.当盐度达到3%,颗粒污泥中总铁含量增加至 85.74mgFe/gSS,此时ANAMMOX颗粒污泥活性提高,铁离子促进微生物活性的恢复,同时也使得微生物能更高效利用铁元素.而随着盐度上升到 3.5%,颗粒污泥中总铁的含量上升到了 111.65mgFe/gSS,此时因为过高的盐度导致ANAMMOX颗粒污泥活性受到抑制,因高渗压胁迫导致细胞膜通透性破坏,部分微生物失活,微生物组成发生改变[2];同时,因为高盐度导致水中废铁屑发生的析氢腐蚀更加剧烈,其释放的铁离子超过了 ANAMMOX 颗粒污泥所需要的最大值,对ANAMMOX 颗粒污泥产生了重金属毒性[9],进一步抑制了ANAMMOX颗粒污泥的活性.根据试验前后废铁屑的对比(表 1)也可证明这一点,反应器铁屑消耗量为 1.62,2.34 和 3.22g,P_3 和 P_4 时废铁屑的消耗量是 P_2 的 0.44 和 0.98 倍.

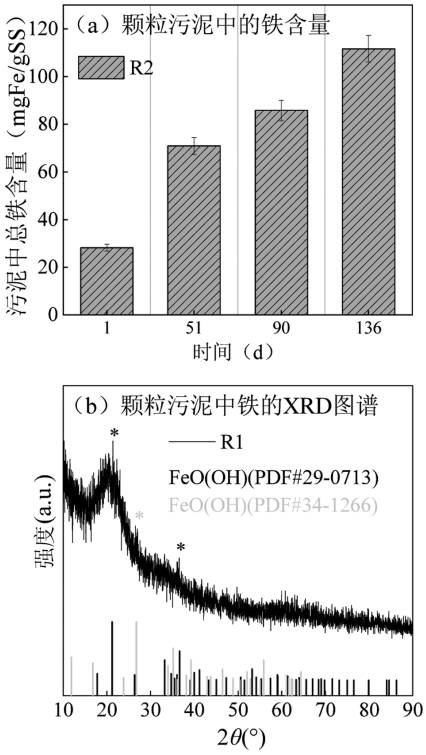


图 4　不同盐度下的颗粒污泥中铁的含量和 XRD 图谱

Fig.4　Total iron of sludge at different salinity and XRD pattern

适宜的铁离子含量可以参与并促进微生物新陈代谢,增加微生物群落多样性;过量的铁腐蚀产物会聚集在微生物表面阻碍底物的进入与微生物代谢途径甚至破坏细胞结构,Zhang 等[9]发现铁离子含量过高造成了 12.45%~27.10%的 NRE 降低.因此废铁屑产生铁离子过量可能是对 ANAMMOX 系统产生抑制的重要原因.

长期试验中,反应器在 2.75%,3%,3.5%盐度下的差异性得到解释.在 3%盐度时,10g 废铁屑释放的铁离子含量接近 ANAMMOX 系统所需求铁离子阈值,所释放的铁离子浓度能够有效促进 ANAMMOX 颗

粒污泥的活性;而 3.5%盐度时释放的铁离子浓度过高,虽然能帮助ANAMMOX颗粒污泥抵抗盐度胁迫,但过量铁离子对 ANAMMOX 系统造成抑制影响,释放的铁离子含量进一步提升反而导致了金属抑制的产生.

为了进一步确认铁元素的存在形式及其在厌氧氨氧化过程中的作用,对厌氧氨氧化颗粒污泥进行了 XRD 分析.从 XRD 图谱图 4(b)可以看出,在R1 颗粒污泥中观察到 21.2°、36.6°和 226.7°处的 3个衍射峰,这些峰分别对应于 FeOOH 的(110)、(111)(PDF#29−0713)和(310)晶面(PDF#34−1266),说明 ANAMMOX 颗粒污泥中的 Fe 主要以 FeOOH 形式存在.这意味着铁元素的最终形态为 Fe(Ⅲ),进一步说明 Fe(Ⅱ)与 NO_3^-−N 发生反应,生成 NO_2^-−N 或 N .

表 1 试验前后废铁屑含量表

Table 1 Trace element concentration table

阶段	投加量(g)	剩余量(g)	消耗量(g)
P_2	10	8.38	1.62
P_3	8.38	6.04	2.34
P_4	6.04	2.82	3.22

2.4 高盐度盐胁迫下厌氧氨氧化颗粒污泥 EPS 表征

EPS 是细胞分泌的高分子聚合物,主要由蛋白质和多糖组成,在颗粒污泥表面和内部广泛存在,是厌氧氨氧化颗粒污泥的重要组成部分.长期处于高盐度下含有废铁屑的 ANAMMOX 颗粒污泥中的 PN 和 PS 的变化如图 5 所示.刚接种时,颗粒污泥中的总 EPS 含量为 157.96mg/gVSS.PN/PS 较高,不利于颗粒污泥聚集,限制ANAMMOX颗粒污泥活性恢复.投加废铁屑并培养一段时间后,在第 51d 测量总EPS 含量为 136.44mg/gVSS.随着盐度上升至 3%,总EPS 含量有一定的下降,含量为 107.96mg/gVSS,其中松散结合的 EPS 含量为 16.19mg/gVSS,紧密结合的 EPS 含量为 56.49mg/gVSS.随着 PN/PS 比值的持续下降,表明 PS 在 EPS 中的比例逐渐上升.由于 PS 通常带负电荷,随着 PS 占比增加,可以与废铁屑释放的 Fe(Ⅱ)/(Ⅲ)发生络合反应,显著降低颗粒污泥间的静电斥力[26],提高 AnAOB 的抵抗能力,从而提高沉降性能,促进颗粒聚集[6].

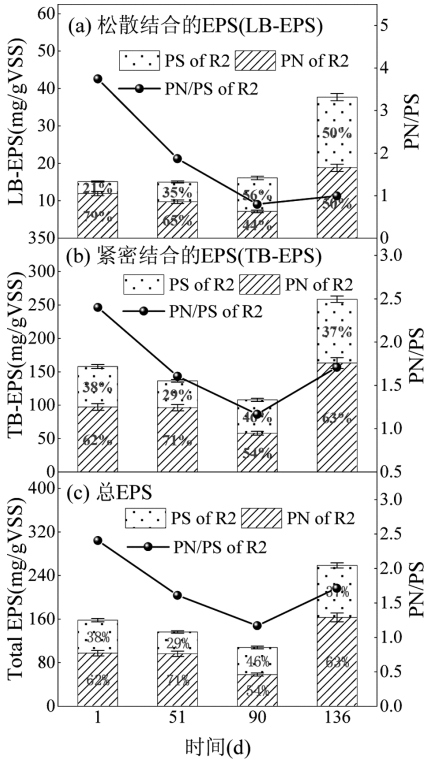


图 5 中高盐度下 EPS 含量的变化

Fig.5 Variations of EPS contents in medium−high salinity

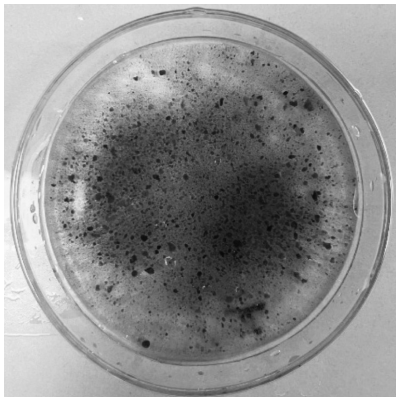
而当盐度上升到 3.5%,总 EPS 含量迅速上升,含量为 258.58mg/gVSS,这是因为 ANAMMOX 颗粒污泥为了抵御盐度带来的胁迫,提高了 EPS 的释放,Fang 等[27]有着相似的实验结果.同时,废铁屑释放的铁离子有助于刺激 ANAMMOX 颗粒污泥释放EPS 来抵御盐度胁迫.此时 PN/PS 上升,说明沉降性能下降,ANAMMOX 颗粒污泥活性受到抑制,不利于脱氮.总体而言,EPS 的波动走势和 SAA 可以对应.ANAMMOX 颗粒污泥 SAA 较好时,EPS 含量较低,同时 PN/PS 也较低,有利于 ANAMMOX 微生物的富集与成长.ANAMMOX 颗粒污泥 SAA 差时,EPS 含量较高,以此来抵御外界环境带来的不利因素,保护内部微生物的生长.

2.5 污泥形态特征

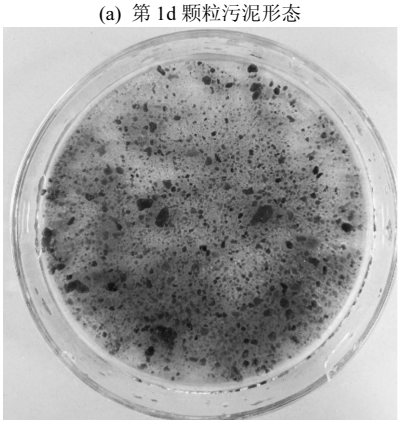
AnAOB 的生长与代谢过程依靠多种血红蛋白的支持,污泥培养物通常为砖红色[28],因此污泥的颜色可以作为评估 ANAMMOX 颗粒污泥的一个重要指标[29].

在长期培养后,反应器中的颗粒污泥出现了不同的表现.如图 6 所示,第 1d 的颗粒污泥保持着较小的颗粒状态,随着长期培养和盐度的上升,在第 136d 时发现污泥中颗粒变大,颜色以砖红色为主,结构较

为松散.该结果表明EPS促进ANAMMOX污泥的聚集,加速了污泥的颗粒化[30].



(a) 第 1d 颗粒污泥形态



(b) 第 136d 颗粒污泥形态

图 6　不同培养时期的颗粒污泥形态

Fig.6　The morphology of granular sludge at different cultivation stages

2.6　微生物组成分析

采用微生物多样性测试方法对第 1d、50d、90d 和 136d 时各反应器中的颗粒污泥进行微生物群落结构分析.微生物门属水平相对丰度如图 7 所示.

与先前报道的处理盐度废水的 ANAMMOX 系统一致[31-32],在不同盐度下运行的ANAMMOX反应器中,主要菌门均为浮霉菌门(Planctomycetota)、绿弯菌门(Chloroflexota)和变形菌门(Pseudomonadota).

在 ANAMMOX 系统中添加废铁屑长期培养,第 50d 与第 1d 相比,Planctomycetota 的相对丰度从49.6%小幅波动至 54.9%,Yan 等[33]的实验有着相似的发现;当盐度从 2.75%上升到 3%时反应器中 Planctomycetota 的相对丰度从 54.9%略微下降至52.6%(图 7(a)).由于所有已知的厌氧氨氧化细菌均属于 Planctomycetota 门,其相对丰度的变化可能反映了 ANAMMOX 过程是否受到一定程度的抑制.因此,Planctomycetota 菌门相对丰度下降不明显表明,实验室长期培养ANAMMOX颗粒污泥使得其中菌群已经可以较为稳定的适应相似的盐度环境.

属水平分析表明, *CandidatusKuenenia*(一种已知的厌氧氨氧化菌)在反应器中有检出(图 7(b)).然而,与 2.75%条件下的颗粒污泥样品相比,随着盐度的升高,*CandidatusKuenenia* 的相对丰度在反应器中从 4.3%(第 50d)急剧下降至 2.8%(第 136d).这表明 *CandidatusKuenenia* 在高盐度(3.5%)下无法健康生存.这一结果与此前的研究相一致,即尽管 *CandidatusKuenenia* 可耐受 6%的盐度(嗜盐耐受菌),但其最佳生长盐度范围为 0.25%~1.5%[34-35].此外,本文实验证据表明,额外添加铁元素并未缓解高盐环境对 *CandidatusKuenenia* 生存的抑制作用.

Brocadiaceaeunclassified 属于 Planctomycetota 门,同样在厌氧氨氧化反应器中被检测到,并且始终是主要优势属.根据以往研究[36-37], *Brocadiaceae-unclassified* 可能是一种新的厌氧氨氧化菌群.在运行期间(2.75%~3.5%), *Brocadiaceaeunclassified* 始终是最丰富的属,在总丰度中平均占比在 53.0%.投加废铁屑后 *Brocadiaceaeunclassified* 从 46.9%(第 1d)提升至 50.4%(第 50d).当盐度从 2.75%升高至 3%时,其相对丰度在反应器中从 50.4%(第 50d)下降至49.6%(第 91d),基本保持稳定.当盐度进一步升高至3.5%时,*Brocadiaceaeunclassified* 在反应器中受到增强,相对丰度升高至 59.0%(第 136d).总体而言,经过梯度培养的 *Brocadiaceaeunclassified* 在高盐度环境下的生存情况更加优秀,更重要的是,本文研究首次表明废铁屑的加入能够显著缓解盐度对微生物生长的抑制作用.

Paracoccaceaenorank 、 *JTB255group* 和 *Ignavibacterium* 均为反硝化细菌,且这三个属在盐度为 3%时的相对丰度均高于其他阶段.例如,随着盐度从 2.75%升高至 3%, 反应器中 *Paracoccaceaenorank* 的相对丰度仅从 5.2%增加到6.4%,而在从盐度 3%升高至 3.5%时,又下降至 5.9%.这种差异可能与这些细菌的硝酸盐还原能力及其对有机碳源(如细胞在盐度胁迫下分泌的过量胞外聚合物 EPS)的氧化能力有关[38].

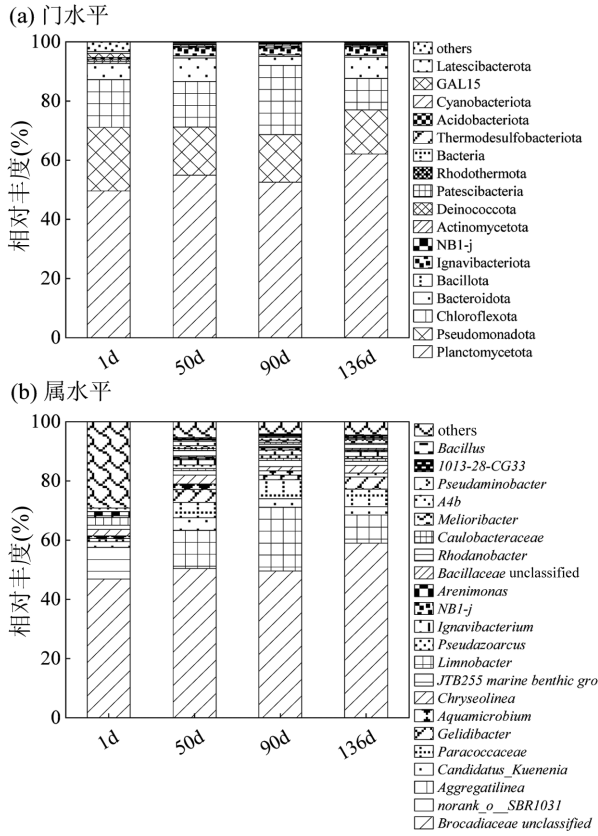


图 7 反应器优势门属水平

Fig.7 Reactor dominant phylum & genus level

广泛分布于海洋生态系统中的 *Gelidibacter* 菌属的出现可能是因为反应器中盐度水平达到了海水的标准,这说明淡水厌氧氨氧化菌可以通过长期培养成为海水环境中的优势菌属[39].

总体而言,在高盐度水平下,微生物群落变化较小,厌氧氨氧化细菌对盐度的耐受阈值提高了,且因为废铁屑的参与,微生物能抵抗高盐度的影响.

2.7 细菌群落与环境因子的相关性分析

使用 RDA 分析法分析了长期运行中 EPS、SAA 与微生物群落之间的关系,如图 8 所示.EPS 对样本种群分布的影响最大.EPS 的变化使得样本群落之间发生改变.随着盐度的增加,不同时期的菌群与 SAA 和 EPS 的相关性开始改变.在第 51d 和第 90d 时菌群与 SAA 成正相关,其中与第 51d 的锐角最小,说明相关性最密切,此时和 EPS 呈负相关,这与过去的实验结果相一致, He 等人[40]发现 AnAOB 的丰度与多糖含量呈显著正相关(P<0.05);培养至第 136d, EPS 与系统呈现正相关性.SAA 与 EPS 之间呈现负相关性.SAA 与 *CandidatusKuenenia*、*Aggregatilinea* 呈锐角,这与 Kang 等人的研究一致[28].而 EPS 与 *Brocadiaceaeunclassified* 和 *Gelidibacter* 成锐角,表明 SAA 和 EPS 分别与以上的微生物群落呈正相关关系.EPS 对 *Paracoccaceaenorank* 影响有限.而 SAA 与 *Brocadiaceae unclassified* 负相关性最高.反应器长期运行期间,海洋细菌 *Gelidibacter* 属受到 EPS 调控,表明 EPS 促进了耐盐菌属的成长.

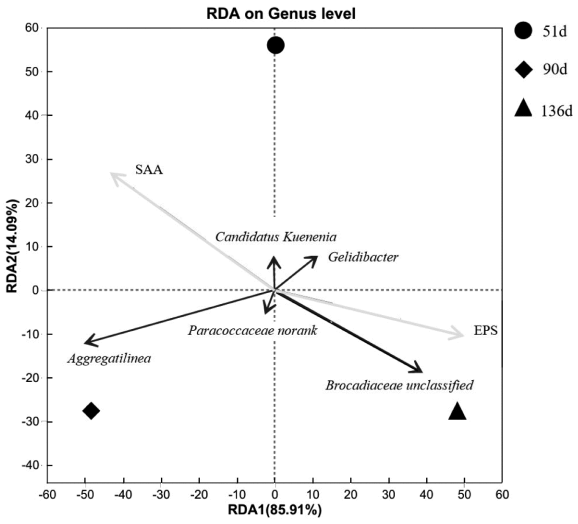


图 8 环境因子与微生物群落相关性分析

Fig.8 Redundancy analysis between environmental factors and microbial communities

3 结论

3.1 高盐度使得 ANAMMOX 系统受到抑制,脱氮效能与 SAA 下降,但废铁屑的加入缓解了高盐度的抑制效果,并使得 ANAMMOX 系统适应高盐环境.ANAMMOX 系统在盐度超过 3.5%时崩溃.

3.2 废铁屑调节 EPS 的组成结构,降低 PN/PS 使得 ANAMMOX 颗粒抵御盐度胁迫,但 3.5%盐度和 111.65mgFe/gSS 铁离子浓度使得 EPS 结构受到破坏,降低脱氮效能.

3.3 微生物分析发现高盐度显著抑制了 *CandidatusKuenenia* 的生长(从 4.3%下降至 2.8%),在废铁屑作用下新型细菌 *Brocadiaceae unclassified* 占据主导地位(维持在 49.6%~59%).

3.4 冗余分析发现 SAA 与 CandidatusKuenenia 呈正相关,EPS 与 Brocadiaceae unclassified 呈正相关,且盐度的增加使得 Brocadiaceae unclassified 成为主要 AnAOB.

参考文献:

[1] Zhao K, Wang Y, Gao L, et al. Anammox in a biofilter reactor to treat

wastewater of high strength nitrogen [J]. Journal of Water Process Engineering, 2022,49:103169.
[2] Lin L, Pratt S, Li Z, et al. Adaptation and evolution of freshwater Anammox communities treating saline/brackish wastewater [J]. Water Research, 2021,207:117815.
[3] Ji XM, Wang YL, Zhan X, et al. Meta-Omics reveal the metabolic acclimation of freshwater anammox bacteria for saline wastewater treatment [J]. Journal of Cleaner Production, 2022,362(15):132184.
[4] Lin L, Pratt S, Rattier M, et al. Individual and combined effect of salinity and nitrite on freshwater Anammox bacteria (FAB) [J]. Water Research, 2020,169(1):114931.
[5] Zhang A, Wang S, Yang M, et al. Influence of NaCl salinity on the aggregation performance of anammox granules [J]. Journal of Water Process Engineering, 2021,39(1):101687.
[6] Dai B, Yang Y, Wang Z, et al. Enhancement and mechanisms of iron-assisted anammox process [J]. Science of the Total Environment, 2023,858(3):159931.
[7] Erdim E, Yücesoyözkan Z, Kurt H, et al. Overcoming challenges in mainstream Anammox applications: Utilization of nanoscale zero valent iron (nZVI) [J]. Science of the Total Environment, 2019,651(2): 3023-3033.
[8] Wang H, Peng L, Mao N, et al. Effects of Fe(3+) on microbial communities shifts, functional genes expression and nitrogen transformation during the start-up of Anammox process [J]. Bioresource Technology, 2021,320:124326.
[9] Zhang S, Zhang L, Yao H, et al. Responses of anammox process to elevated Fe(III) stress: Reactor performance, microbial community and functional genes [J]. Journal of Hazardous Materials, 2021,414 (15):125051.
[10] Jeong S, Kim J, Direstiyani L C, et al. Long-term adaptation of two anammox granules with different ratios of *Candidatus Brocadia* and Candidatus Jettenia under increasing salinity and their application to treat saline wastewater [J]. Science of the Total Environment, 2023, 860(2):160494.
[11] Liu W, Li T, Wang J, et al. A new concept of waste iron recycling for the enhancement of the anammox process [J]. Chemosphere, 2022, 307:136151.
[12] Xie F, Ma X, Zhao B, et al. Promoting the nitrogen removal of anammox process by Fe-C micro-electrolysis [J]. Bioresource Technology, 2020,297:122429.
[13] APHA. Standard methods for the examination of water and wastewater [J]. American Public Health Association (APHA): Washington, DC, USA, 2005,21.
[14] Li X Y, Yang S F. Influence of loosely bound extracellular polymeric substances (EPS) on the flocculation, sedimentation and dewaterability of activated sludge [J]. Water Research, 2007,41(5):1022-1030.
[15] Fr/olund B, Griebe T, Nielsen P. Enzymatic activity in the activated-sludge floc matrix [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 1995,43:755-761.
[16] Wood W A, Krieg N R. Methods for general and molecular bacteriology [J]. The American Society for Microbiology, 1989,176(8): 1-9.
[17] Xu H, Zhang L, Xu R, et al. Iron cycle-enhanced anaerobic ammonium oxidation in microaerobic granular sludge [J]. Water Research, 2024,250:121022.
[18] Liang L, Yang W, Guan X, et al. Kinetics and mechanisms of pH-dependent selenite removal by zero valent iron [J]. Water Research, 2013,47(15):5846-5855.
[19] Reino C, Suárez-ojeda M E, PéreZ J, et al. Stable long-term operation of an upflow anammox sludge bed reactor at mainstream conditions [J]. Water Research, 2018,128:331-340.
[20] Lotti T, Kleerebezem R, Lubello C, et al. Physiological and kinetic characterization of a suspended cell anammox culture [J]. Water Research, 2014,60:1-14.
[21] Yin S, Jiang X, Wang Y, et al. Defense mechanism of Fe(III)-assisted anammox under salt stress: Performance and microbial community dynamics [J]. Water Research X, 2023,20:100188.
[22] Feng F, Liu Z, Tang X, et al. Dosing with pyrite significantly increases anammox performance: Its role in the electron transfer enhancement and the functions of the Fe-N-S cycle [J]. Water Research, 2023, 229:119393.
[23] Huang J, Jones A, Waite T D, et al. Fe(II) redox chemistry in the Environment [J]. Chemical Reviews, 2021,121(13):8161-8233.
[24] Zhou B, Chen G, Dong C, et al. The short‐term and long‐term effects of Fe (II) on the performance of anammox granules [J]. Water Environment Research, 2021,93(9):1651-1659.
[25] Wang G, Zhengkun T, Jie W, et al. Effect of salinity on anammox nitrogen removal efficiency and sludge properties at low temperature [J]. Environmental Technology, 2020,41(22):2920-2927.
[26] Wang P, Lu B, Liu X, et al. Accelerating the granulation of anammox sludge in wastewater treatment with the drive of “micro-nuclei”: A review [J]. Science of the Total Environment, 2023,860:160238.
[27] Fang F, Yang MM, Wang H, et al. Effect of high salinity in wastewater on surface properties of anammox granular sludge [J]. Chemosphere, 2018,210:366-375.
[28] Kang D, Li Y, Xu D, et al. Deciphering correlation between chromaticity and activity of anammox sludge [J]. Water Research, 2020,185:116184.
[29] Ma H, Zhang Y, Xue Y, et al. Relationship of heme c, nitrogen loading capacity and temperature in anammox reactor [J]. Science of the Total Environment, 2019,659:568-577.
[30] 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.
[31] Ya T, Du S, Li Z, et al. Successional dynamics of molecular ecological network of anammox microbial communities under elevated salinity [J]. Water Research, 2021,188:116540.
[32] Zhao N, Qi P, Li J, et al. Tracking the nitrogen transformation in saline wastewater by marine anammox bacteria-based Fe(II)-driven autotrophic denitratation and anammox [J]. Water Research, 2025,272:122995.
[33] Yan Z, Li S, Jiao L, et al. Effect of Fe (II) on nitrogen removal of anammox under organic matter inhibition [J]. Journal of Water Process Engineering, 2022,46:102632.
[34] Okabe S, Kamizono A, Kawasaki S, et al. Interspecific competition and adaptation of anammox bacteria at different salinities: Experimental validation of the Monod growth model with salinity inhibition [J]. Water Research, 2025,271:122883.
[35] Okabe S, Kamizono A, Zhang L, et al. Salinity tolerance and osmoadaptation strategies in four genera of anammox bacteria: Brocadia, Jettenia, Kuenenia, and Scalindua [J]. Environmental Science & Technology, 2024,58(12):5357-5371.
[36] Feng Y, Zhang X, Zhang C, et al. Roles of waste iron scraps in anammox system treating sulfide-containing wastewater: Alleviating sulfide inhibition, promoting novel anammox bacteria enrichment, and enhancing nitrogen removal capacity [J]. Bioresource Technology, 2025,419:132033.
[37] Huang X, Mi W, Ito H, et al. Unclassified Anammox bacterium responds to robust nitrogen removal in a sequencing batch reactor fed with landfill leachate [J]. Bioresource Technology, 2020,316:123959.
[38] Ismail S, Elreedy A, Elsamadony M, et al. Response of anammox bacteria to short-term exposure of 1,4-dioxane: Bacterial activity and community dynamics [J]. Separation and Purification Technology, 2021,266:118539.
[39] Kartal B, Koleva M, Arsov R, et al. Adaptation of a freshwater anammox population to high salinity wastewater [J]. Journal of Biotechnology, 2006,126(4):546-553.
[40] He S, Zhao L, Feng L, et al. Mechanistic insight into the aggregation ability of anammox microorganisms: Roles of polarity, composition and molecular structure of extracellular polymeric substances [J]. Water Research, 2024,254:121438.

作者简介：徐浩哲(2000-),男,江苏常州人,苏州科技大学硕士研究生,研究方向为废水处理及资源化利用.发表论文 1 篇.2685592229@qq.com.