

羟胺在氮循环中的作用及其影响 N₂O 排放的研究进展

刘拓宏, 杨裕然, 杨圆圆, 李振轮*, 陈益

西南大学 资源环境学院, 重庆市界面过程与土壤健康重点实验室, 重庆

刘拓宏, 杨裕然, 杨圆圆, 李振轮, 陈益. 羟胺在氮循环中的作用及其影响 N₂O 排放的研究进展[J]. 微生物学报, 2025, 65(7): 2841-2853.

LIU Tuohong, YANG Yuran, YANG Yuanyuan, LI Zhenlun, CHEN Yi. Research progress in the role of hydroxylamine in the nitrogen cycle and its impact on N₂O emissions[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2025, 65(7): 2841-2853.

摘要: 羟胺作为氮循环的重要中间产物, 连接氨氧化和亚硝态氮氧化过程, 影响着氨氧化、亚硝态氮氧化、反硝化等过程的速度与方向, 并通过相关酶促反应、自身分解或与其他物质反应与氧化亚氮(nitrous oxide, N₂O)的产生密切相关, 已成为研究的重点和热点。本文总结了羟胺在自养和异养氨氧化过程中的生成与转化、在氮循环中的关键作用以及对 N₂O 排放的促进作用, 分析了自养和异养氨氧化过程及其酶学差异, 为深入研究羟胺在微生物氮循环中的作用机制、研发 N₂O 减排措施和保护大气环境提供了理论参考。

关键词: 羟胺; 酶学; 氮循环; 氧化亚氮

Research progress in the role of hydroxylamine in the nitrogen cycle and its impact on N₂O emissions

LIU Tuohong, YANG Yuran, YANG Yuanyuan, LI Zhenlun*, CHEN Yi

Chongqing Key Laboratory of Interface Process and Soil Health, College of Resources and Environment, Southwest University, Chongqing, China

Abstract: Hydroxylamine, as an important intermediate product in the nitrogen cycle, connects ammonia oxidation and nitrite oxidation, influencing the velocities and directions of processes like ammonia oxidation, nitrite oxidation, and denitrification. Because of the close associations with the generation of N₂O through enzymatic reactions and self-decomposition or reactions with

资助项目: 国家自然科学基金(42077217)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (42077217).

*Corresponding author. Tel: +86-23-68251249, E-mail: lizhlun4740@sina.com

Received: 2024-12-31; Accepted: 2025-03-11; Published online: 2025-04-17

other substances, hydroxylamine has become a focus and hotspot of research. This paper summarized the generation and transformation of hydroxylamine in autotrophic and heterotrophic ammonia oxidation, the key role of hydroxylamine in the nitrogen cycle, and the promoting effect of hydroxylamine on N_2O emissions. It analyzed the processes of autotrophic and heterotrophic ammonia oxidation and their enzymatic differences, aiming to provide a theoretical reference for in-depth research on the role of hydroxylamine in the microbial nitrogen cycle and for the research and development of measures to reduce N_2O emissions and protect the atmospheric environment.

Keywords: hydroxylamine; enzymology; nitrogen cycle; nitrous oxide

氮是地球上重要的生命元素，以不同形态存在于多种场景中。氮循环通过固氮、硝化、反硝化、厌氧氨氧化、硝酸盐异化还原为铵以及氮固持等多种途径，维持着地球上不同氮形态的平衡。微生物在这些过程中发挥着主导作用，例如自养硝化过程需要氨氧化细菌(ammonia-oxidizing bacteria, AOB)和亚硝酸盐氧化细菌(nitrite-oxidizing bacteria, NOB)共同参与。

羟胺(NH_2OH)作为氮循环中非常重要的中间产物^[1]，早在 20 世纪 50 年代就被发现，但早期研究主要集中在它能否为微生物提供生长能量。最近的研究发现，羟胺能够促进微生物氮循环中 N_2O 的排放^[2]，并且羟胺可以通过自身分解或与其他物质反应生成 N_2O ^[3]，从而受到广泛关注。

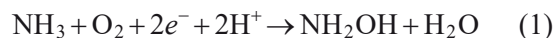
N_2O 虽然在大气中的含量较低，但其寿命较长(110–125 年)，且增温潜势分别约为 CO_2 的 273 倍和 CH_4 的 10 倍，因此 N_2O 是继 CO_2 和 CH_4 之后的第三大重要温室气体^[4-5]。目前全球 N_2O 排放量约为 11 Tg/年(8.1–30.7 Tg/年)，在过去 40 年中， N_2O 排放量增加了约 30%^[6]。农业活动、工业生产以及废物处理等是 N_2O 排放的主要来源，其中农业土壤 N_2O 排放占比最大，估算占全球 N_2O 排放总量的 50%–60%^[7]，而微生物硝化作用是 N_2O 排放的主要来源之一。因此，研究微生物氮循环过程中的 N_2O 排放，对于人为调控 N_2O 减排、减缓温室效应、保护大气环境健康具有重要意义。

本文从羟胺转化及相关酶、羟胺在氮循环中的重要作用、羟胺促进 N_2O 排放等 3 个方面，综合分析了羟胺的生成与转化及其在 N_2O 形成中的作用，以期为进一步理解羟胺在氮循环中的地位、研发 N_2O 减排的调控技术措施提供理论参考。

1 微生物参与的羟胺的生成与转化

1.1 羟胺是自养氨氧化的必经中间产物

在自养氨氧化过程中，AOB、氨氧化古菌(ammonia-oxidizing archaea, AOA)和全程氨氧化细菌(complete ammonia oxidizing, Comammox)均利用氨单加氧酶(ammonia monooxygenase, AMO)将氨氧化为羟胺^[8-10]。例如，AOB 菌株欧洲亚硝化单胞菌(*Nitrosomonas europaea*) ATCC 19718 在好氧条件下利用 AMO 将氨氧化为羟胺^[11]。AOA 中的 *Candidatus Nitrosocosmicus franklandus* C13 菌株同样利用 AMO 将氨氧化为羟胺^[9]。*Nitrospira inopinata* 作为最早发现的 Comammox 菌株，同样是利用 AMO 将氨氧化为羟胺^[12]。因此，羟胺是自养氨氧化过程中的必经中间产物。氨氧化为羟胺的过程中消耗 2 个电子和 2 个氢离子，生成 1 个水分子，如公式(1)所示。



1.2 自养氨氧化关键酶 AMO 结构变异

AMO 是一种铜依赖性多聚体跨膜酶，属于

铜依赖性膜单加氧酶超家族^[13]。虽然 AOB、AOA 和 Comammox 均利用 AMO 将氨氧化为羟胺, 但不同自养氨氧化菌的 AMO 结构并不完全相同。尽管在 3 类自养氨氧化菌的 AMO 蛋白中均发现有 *amoC*、*amoA* 和 *amoB* 3 个亚基, 且都是按照 *amoCAB* 的顺序排列在同一操纵子中^[12,14-15], 但 Comammox 的 *AmoA* 不同于 AOB 和 AOA, 而属于一个新型分支“comammox *AmoA* clade A”, 与 AOB 的同源物相关^[12]。此外, 不同种类的氨氧化菌还存在其他相关亚基。例如, 在 AOB 中存在 *AmoD* 和 *AmoE*^[16]; AOA 的 AMO 中存在特异性的 *AmoX*、*AmoY*、*AmoZ*^[17-18] (图 1), AOA 与 AOB 的 AMO 亚基仅有约 40% 的相似性^[19]; 而最早发现的 Comammox 中 *N. inopinata* 的 AMO 亚基更为复杂, 仅含有与 *AmoD* 和 *AmoE* 膜蛋白相似的同系物^[12]。不同的特异性亚基导致不同 AMO 的结构也不同。同样地, 在 AMO 活性位点方面, 有研究表明其位于 *AmoB* 和 *AmoC* 亚基上^[20], 然而 *AmoX* 等特异性亚基是否同样具有活性位点及其对 AMO 活性的影响还有待进一步探究。

1.3 自养氨氧化菌以不同途径氧化羟胺为 NO_2^-

1.3.1 AOB 利用 HAO 将羟胺氧化为 NO

在自养氨氧化过程中, 通常认为第二步是羟胺在羟胺氧化还原酶 (hydroxylamine oxidoreductase, HAO) 的作用下转化为 NO_2^- , 并产生 4 个电子, 如公式(2)所示^[21]。然而, 最新研究发现 HAO 的直接产物是 NO 而非 NO_2^- , 羟胺在 HAO 和细胞色素 P460 的共同作用下被氧化为 NO, 并生成 3 个电子, 如公式(3)所示^[22]。随后, NO 在一氧化氮氧化还原酶(nitric oxide oxidoreductase, NOO)作用或非生物歧化作用下转化为 NO_2^- , 并产生 1 个电子, 如公式(4)所示。尽管如此, 在 AOB 中尚未直接发现 NOO, 因此研究者提出了 2 种可能行使 NOO 功能的酶: 由 *ncyA* 编码的亚硝基蓝蛋白

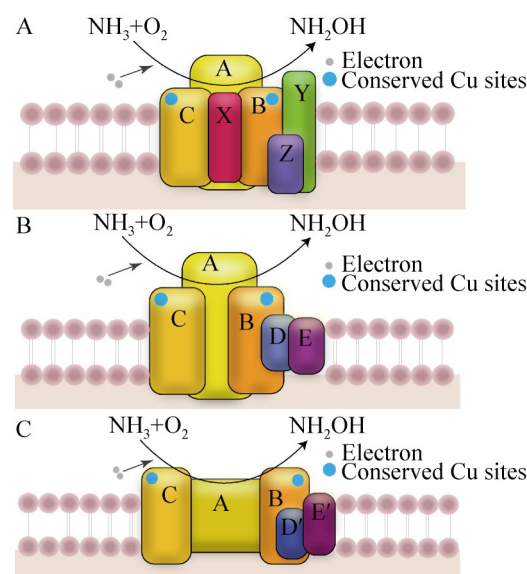
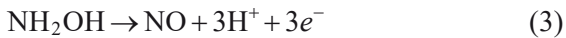
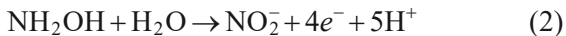


图1 自养氨氧化菌AMO结构示意图。A、B、C 分别表示AOA、AOB、Comammox的AMO结构示意图。AmoA、AmoB和AmoC (黄色)保守, 形成三聚体(AmoABC)。AmoB和AmoC含有铜离子结合位点, 在AOA和AOB中是保守的。A: AmoX (红色)、AmoY (绿色)和AmoZ (紫色)是推测的古菌AMO辅助蛋白; B: AmoD (蓝色)和AmoE (紫色)是AOB中发现的辅助蛋白; C: AmoD' (深蓝色)和AmoE' (深紫色)是Comammox中发现的AmoD和AmoE的同系物。

Figure 1 Schematic diagram of AMO of autotrophic ammonia oxidizing bacteria. figures A, B, and C respectively show the schematic diagrams of the AMO structures of AOA, AOB, and complete ammonia oxidizers (Comammox). AmoA, AmoB, and AmoC (yellow) are conserved and form a trimer (AmoABC). AmoB and AmoC contain copper ion-binding sites, which are conserved in ammonia-oxidizing archaea (AOA) and ammonia-oxidizing bacteria (AOB). A: AmoX (in red), AmoY (in green), and AmoZ (in purple) are the putative auxiliary proteins of archaeal AMO, respectively. B: AmoD (in blue) and AmoE (in purple) are the auxiliary proteins found in AOB, respectively. C: AmoD' (in dark blue), and AmoE' (in dark purple) are the homologues of AmoD and AmoE found in Comammox, respectively.

(nitrosocyanin, NcyA)和由 *nirK* 编码的反向操作的含铜异化亚硝酸还原酶 (copper nitrite reductase, Cu-NirK)^[19]。*ncyA* 是 AOB 特有的, 与氨氧化过程中的其他酶共同高表达^[23], 表明其可能是除 AMO 和 HAO 之外的另一种重要的氨氧化相关酶。*nirK* 在一些 AOB 中并非生长必需基因, 例如敲除了 *nirK* 基因的 *N. europaea* 仍能正常生长^[24]。因此, 对于 AOB 中行使 NO 氧化至 NO₂⁻功能的酶, 仍需进一步探究。



1.3.2 AOA 中氧化羟胺的酶尚不明确

AMO 在所有已知的 AOA 中都是保守的, 但目前尚未鉴定出 HAO 或其同源物^[21], 且 AOA 不具备完全合成 C 型血红素的基因库。因此, AOA 对羟胺的氧化具有独特的酶学特性。目前有 2 种可能的中心氮代谢模式: (1) 铜基金属酶复合物 (the copper-based metalloenzyme complex, Cu-ME) 利用 NO 和羟胺形成 2 个分子的亚硝酸盐, 随后由 NirK 酶参与亚硝酸盐向 NO 的转化; (2) 由 Cu-ME 和 NirK 2 种酶连续将羟胺氧化为亚硝酸盐, NO 作为中间产物 (图 2)^[8]。研究者已在 AOA 基因组中鉴定出大量含铜结构域蛋白^[17], 因此基于铜的电子传递系统的假设是合理的。此外, 铜依赖的 NirK 酶能够催化羟胺转化为 NO, 并且同时具有将 NO₂⁻ 转化为 NO 的能力^[25]。然而, AOA 与

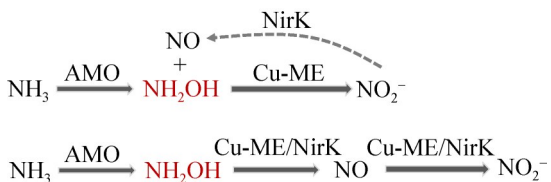


图2 羟胺在AOA好氧氨氧化中的生成与转化过程及相关酶^[8]

Figure 2 The generation and transformation processes of hydroxylamine in the aerobic ammonia oxidation by AOA and the related enzymes^[8].

AOB 的 NirK 酶相似度较低, 其在 AOA 氧化羟胺过程中的具体作用尚不清楚。因此, AOA 氧化羟胺的具体过程及酶学特性仍需进一步研究。

1.3.3 Comammox 可能在 HAO 作用下氧化羟胺

通过全基因组以及宏基因组的组装基因组分析发现, Comammox 基因组包含氨和亚硝酸盐氧化所需的全部基因^[26]。据此推断羟胺在 HAO 的作用下被氧化为 NO。然而, 其 HAO 的结构与酶学特征尚不明确, 其活性位点是否与 AOB 相似仍有待验证。此外, Comammox 氨氧化过程中的 NO 氧化也是一个关键问题, 目前尚未发现行使 NOO 酶功能的基因, 但在全基因组中发现了 *nirK* 基因^[27], 或许在 NO 氧化为 NO₂⁻的过程中发挥了作用。Comammox 生物 *N. inopinata* 产生 NO 作为氨氧化的中间体。总之, Comammox 具有利用 HAO 和 NirK 酶氧化羟胺的能力 (图 3), 但其具体结构和转化过程尚不明确。

1.4 羟胺在异养氨氧化菌中的生成与转化过程

异养氨氧化菌 (heterotrophic ammonium oxidizing bacteria, HAOb) 早在 100 多年前就有报道。近年来, 由于其在酸性土壤氨氧化及 N₂O 排放中具有重要贡献, 受到广泛关注^[28]。大量 HAOb 在水田、废水处理厂、养殖场等环境中被分离出^[29-31]。尽管有些 HAOb 的氮转化途径与传统自养氨氧化菌相似, 但大多数 HAOb 的氮转化途径与自养菌不同^[29,32]。异养氨氧化的底

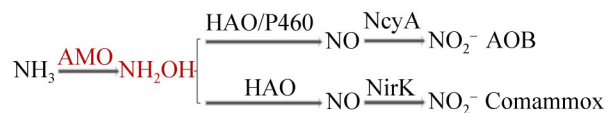


图3 羟胺在AOB和Comammox氨氧化中的生成与转化及相关酶

Figure 3 The generation and transformation of hydroxylamine in ammonia oxidation by AOB and Comammox and the related enzymes.

物广泛且常与反硝化过程耦合,使其氮代谢过程更为复杂。目前对其氨氧化途径的研究多基于不同底物、代谢产物、功能酶活性以及相关基因的综合分析。

1.4.1 HAOB 利用 AMO 的同源物将氨氧化为羟胺

羟胺并不是所有 HAOB 氨氧化过程的中间产物(表 1),例如米兰链霉菌(*Streptomyces mediolani*) EM-B2^[45]、恶臭假单胞菌(*Pseudomonas putida*) Y-9^[47]和不动杆菌(*Acinetobacter* sp.) ND7^[48]的氨氧化过程中均未检测到羟胺。在由羟胺生成的 HAOB 中,并不确定是否由 AMO 催化氨产生羟胺。早在 20 世纪末就有研究发现用于检测自养氨氧化菌 AMO 的 PCR 引物并不适用于 HAOB^[48],表明 HAOB 的氨氧化催化酶基因存在较大差异。例如,编

码 *P. denitrificans* 的 AMO 的基因与编码 AOB 的 AMO 的基因差异很大^[32]。目前在部分 HAOB 中发现了 AMO 的 *amoA* 亚基^[39,46](表 1),但其他亚基与 AOB 并不相同。总体而言,大多数 HAOB 的氨氧化酶具有与传统 AMO 不同的结构与特性,相关基因也有所不同。因此,异养氨氧化过程并非都由 AMO 催化,而大部分是 AMO 的同源物。HAOB 利用 AMO 的同源物将氨氧化为羟胺,与 AOB 类似,HAOB 以氨为底物,在好氧条件下将氨氧化为羟胺,消耗 2 个电子。不少 HAOB 并无 *amoA* 基因,但确实检测到了羟胺的存在^[33],目前尚不清楚起催化作用的具体的功能蛋白。综上所述,羟胺是部分异养氨氧化过程的中间产物,但并不是所有 HAOB 都能产生羟胺,此外,羟胺的产生并非都由 AMO 而是其同源物催化的。HAOB 与

表1 HAOB中的羟胺及其生成和转化有关的基因和酶

Table 1 Hydroxylamine in HAOB and the genes and enzymes related to its generation and transformation

Microorganisms	<i>amoA</i>	AMO	NH ₂ OH	<i>hao</i>	HAO	Reference
<i>Alcaligenes faecalis</i> strain NR	–		+		+	[33]
<i>Arthrobacter arilaitensis</i>			+		+	[34]
<i>Arthrobacter</i> sp. HHEP5	+			+		[35]
<i>Acinetobacter</i> sp. ND7			–	+		[36]
<i>Acinetobacter junii</i> YB			+	+		[37]
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> P-1	+	+			+	[38]
<i>Sphingomonas</i> sp. YY2	+			+		[39]
<i>Klebsiella</i> sp. KSND	–			–		[40-41]
<i>Bacillus</i> sp. K5					+	[42]
<i>Thauera</i> sp. SND5	–		–	–		[43]
<i>Sporidiobolus pararoseus</i> Y1	+					[44]
<i>Streptomyces mediolani</i> EM-B2		+	–		+	[45]
<i>Pseudomonas</i> sp. JQ-H3	+	+	+		+	[46]

表中各菌株均为异养硝化细菌,从生活污水、工业废水、污泥、湖泊等地分离获得。表中所列基因及产物均以NH₄⁺为N源、适宜的有机碳为C源进行实验所测定。+代表进行了测定且含有该指标,–代表进行了测定但不含有该指标,空白代表未进行测定。

All the strains listed in the table are heterotrophic nitrifying bacteria, which were isolated from domestic wastewater, industrial wastewater, sludge, lakes, and other places. The genes and their products listed in the table were determined through experiments conducted with NH₄⁺ as the nitrogen source and appropriate organic carbon as the carbon source. + indicates that the measurement was carried out and the indicator is present, – indicates that the measurement was carried out but the indicator is absent, and blank indicates that the measurement was not carried out.

AOB 的氨氧化酶基因及其结构的差异性还有待进一步探究。

1.4.2 部分异养氨氧化菌中确定有 HAO 酶

目前,在以羟胺作为好氧氨氧化过程中间体的大多数 HAOB 中,均检测出 HAO 酶活性(表 1),据此可确定 HAO 在 HAOB 中是存在的。对于大部分 HAOB,羟胺被 HAO 或其同源酶转化为 NO_2^- ,这一过程已经被证实^[49-51]。在多种 HAOB 中检测到了 *hao* 基因或者 HAO 的同源物,但具体作用过程并不清楚。部分 HAOB 中检测到了羟胺氧化酶活性,但并未发现有 *hao* 基因,因此编码其羟胺氧化酶的基因仍不清楚。总体而言,部分 HAOB 是利用 HAO 或其同源物将羟胺氧化的。至于 HAOB 的 HAO 在结构方面存在哪些异同点,它们的酶活位点是否一致,以及是否存在其他能够促进羟胺氧化的酶类,这些问题尚有待研究,从而更为全面、准确地阐释 HAOB 中氨氧化的酶学机制及路径。

2 羟胺在氮循环中的重要作用

2.1 羟胺在硝化过程中的作用

羟胺是硝化作用的中间产物,连接了氨氧化和亚硝酸盐氧化这 2 个过程,无羟胺的生成与转化,硝化作用也就无法正常进行。此外,羟胺氧化为亚硝酸盐的过程是放能过程,这对于硝化细菌获取能量、维持正常生命活动以及进行后续反应都至关重要。

2.1.1 羟胺促进氨氧化过程

羟胺对大多数细菌具有毒性效应,这种毒性会导致细菌活性降低^[52]。然而,在 1994 年的一项研究中发现,不同种类的 AOB 能够在羟胺与铵的混合营养条件下实现生长,而且当以羟胺和铵的混合物作为基质时,AOB 的实验生长产量超出了理论预期值^[53],这意味着在羟胺与铵混合营养的情况下,会对 AOB 的生长产生促进作用。此后,又有研究者发现,从外部添加羟胺确实能够加快铵的初始吸收速率^[54]。关于

羟胺促进 AOB 活性的机制,一种推测是其毒性使细胞的原有形态发生改变,使得细胞表面积增大,从而有利于铵的吸收,此外羟胺转化为亚硝酸盐产生的电子会循环回到 AMO 中,从而提升该酶的活性,最终促进铵的吸收过程^[55]。另一种可能源于微生物群落之间的相互作用^[56]。例如,在污水脱氮研究中,当处于 1.0 mg/L 的羟胺水平时,NOB 的活性受到抑制,而 AOB 的活性得以增强,由此成功实现了 AOB 的富集。然而,在停止添加羟胺一段时间后,氨氧化速率以及总氮去除率均出现显著下降,表明羟胺对 AOB 活性的促进作用具有暂时性^[57]。Sui 等^[58]也得到了类似的研究结果。

综合来看,外加羟胺可能通过增大细胞的表面积或微生物群落效应来促进氨氧化过程。目前尚未见 AOB 能以羟胺为单一氮源生长的报道,但有研究发现外加羟胺(10 mg/L)能够使 AOB 菌落解聚,从而形成单个细胞^[55],这使得细胞活性更易受羟胺抑制。这暗示单独以羟胺为氮源会抑制 AOB 活性,因其无法从羟胺氧化过程中获取能量且羟胺具有毒性。

2.1.2 羟胺可逆抑制亚硝酸盐氧化过程

羟胺对亚硝酸盐氧化进程展现出显著的抑制作用,其原因可能是羟胺通过产生 NO 毒性抑制 NOB^[59],进而抑制 NOB 的生长与代谢。研究发现,添加 5 mg/L 羟胺时能够有效抑制 NOB 的活性^[60],且这种抑制作用是可逆的。停止添加羟胺 23 d 后,NOB 的丰度出现一定程度的恢复^[61]。

羟胺对不同种类的 NOB 会产生不同程度的抑制性差异,这可能是由于不同种类的 NOB 对羟胺的敏感程度不同。硝化杆菌属(*Nitrobacter*)和硝化螺旋菌属(*Nitrospira*)这两大 NOB 类群对羟胺的敏感程度截然不同。在添加等量羟胺的情况下,*Nitrospira* 受抑制作用更强,数量下降了一半以上,优势种群结构从 *Nitrospira* 转变为 *Nitrobacter*^[62]。

在污水处理的实际应用场景中,羟胺在抑

制 NOB 活性的同时,还能够促进 AOB 的活性,这种协同作用有助于部分硝化过程的形成。这一特性对提高污水处理的效率以及降低处理成本具有重要意义,进而表明羟胺在优化污水处理工艺流程方面具有巨大的应用潜力,有望成为一种高效且经济的污水处理调控手段。

2.2 羟胺对反硝化过程的影响

2.2.1 羟胺加快反硝化速率

羟胺在反硝化进程中发挥着至关重要的作用,其主要通过 2 种途径加速反硝化速率:一是在电子传递层面,羟胺氧化释放电子并精准地输送至硝酸盐还原体系,促进电子传递速率的提升,为反硝化反应提供电子驱动力,推动反硝化进程^[63];其二是从酶活性调控角度,外加羟胺靶向作用于硝酸还原酶(nitrate reductase, NR),增强其活性。控制 NR 合成的 *napA* 和 *narG* 基因在不同条件下分别起主导作用。在好氧环境中,羟胺主要作用于 *napA* 基因,通过一系列复杂的分子信号传导和代谢调控机制,促进其表达和活性提升;而在厌氧或缺氧的环境条件下,羟胺则更多地作用于 *narG* 基因,激发其活性,从而优化反硝化酶系的整体效能,以适应不同环境下的反硝化需求^[64]。

然而,部分研究者认为,羟胺对反硝化酶的促进作用主要是通过强化电子传递链来实现的。游离羟胺容易穿透细胞膜作用于电子传递链中的关键环节,增强电子传递效率和流畅性,最终实现对 NR 活性的有效提升^[52]。这种基于电子传递链的调控机制,为深入理解羟胺在反硝化过程中的作用模式提供了新的视角和理论支撑,也进一步凸显了羟胺在微生物氮代谢领域的重要性和复杂性。

2.2.2 羟胺促进短程反硝化形成

短程反硝化(partial denitrification, PD)是一个关键的生物过程,以硝酸根离子(NO_3^- -N)作为电子受体,并将其还原为亚硝酸根离子(NO_2^- -N)。

生成的 NO_2^- -N 可进一步参与厌氧氨氧化反应从而得以去除^[65],该耦合工艺在污水处理和氮循环调控等领域备受关注^[66]。研究发现,外源添加 2 mg/L 羟胺能够有效地促进 NO_2^- -N 的积累,加速短程反硝化进程^[63]。当环境中的羟胺含量达到 0.5 mg/L 这一阈值时,羟胺会通过特异性地抑制亚硝酸还原酶(nitrite reductase, NiR)及其电子传递模块(包括复合物 III 和细胞色素 c)的活性,阻断 NO_2^- 进一步还原的路径,使电子流向 NR,诱导 NO_2^- 积累^[67]。然而,羟胺对 NO_2^- 还原的抑制作用是可逆的。在羟胺的长期暴露条件下,反硝化过程会逐渐向短程反硝化方向转变,但当羟胺被耗尽后, NO_2^- -N 便会重新开始被消耗,反硝化过程也会随之恢复到常规状态^[64]。因此,羟胺在短程反硝化与厌氧氨氧化耦合过程中具有巨大的应用潜力,其介导的形成机制对生物脱氮技术的发展具有重要的应用价值,可为高效氮素去除提供技术支撑。

3 羟胺促进 N_2O 的产生

3.1 土壤条件对羟胺促进 N_2O 产生的影响

羟胺不仅会被微生物氧化,还能够通过非生物氧化途径转化为 N_2O 。研究发现,当土壤的 pH 值小于 5.9 时,羟胺容易发生质子化作用,进而形成 NH_3OH^+ ,即非生物羟胺衍生的 N_2O 排放与土壤 pH 值呈正相关^[68]。在酸性土壤中,羟胺往往表现出更为稳定的化学特性,可阻碍 N_2O 的产生,而在碱性土壤中,羟胺更易通过非生物过程产生 N_2O ^[69]。此外,土壤湿度对 N_2O 排放也有重要影响。向湿润土壤中添加羟胺后, N_2O 排放的峰值明显增加^[70]。这可能是由于硝酸盐还原过程中反硝化菌和 NOB 参与,羟胺抑制 NOB 导致亚硝酸盐积累,从而促使 N_2O 排放增加^[71]。总之,高含水量土壤可能是 N_2O 排放的重点区域,后续研究和监测应重点关注。

3.2 羟胺促进亚硝酸盐积累引起 N₂O 排放

前文已指出,外加羟胺会抑制 NOB 活性,从而引发 NO₂⁻积累。进一步研究发现,NO₂⁻能够被亚铁离子(Fe²⁺)通过两步反应还原为 N₂O (NO₂⁻→NO→N₂O),且该还原机制是导致 N₂O 排放的重要原因之一^[72]。此外,早在 1991 年便有研究提出,Fe²⁺可将 NO₂⁻直接还原为 N₂O (6Fe²⁺+2NO₂⁻+5H₂O→2Fe₃O₄+N₂O+10H⁺),虽然这一反应通常难以发生但仍不可忽视其对 N₂O 排放的贡献^[73]。综合来看,NO₂⁻的积累会促进 N₂O 的排放,而羟胺的主要作用是提高 NO₂⁻积累量,为 N₂O 生成提供底物基础。

此外,在反硝化作用途径中,NiR 和一氧化氮还原酶(nitric oxide reductase, NOR)依次作用产生 N₂O,在低氧浓度下该途径占据主导地位;而在羟胺氧化途径中,HAO 将羟胺氧化为 NO,NO 再经 NOR 转化为 N₂O,高氧浓度更有利于通过这一途径产生 N₂O^[24]。羟胺在这些不同的 N₂O 生成途径中起着不可或缺的关键作用,深刻地影响着整个体系中 N₂O 的生成与排放动态,为深入理解微生物氮代谢过程中的气体排放机制提供了重要的理论依据和研究线索。

3.3 羟胺自身分解或与其他物质反应产生 N₂O

羟胺的化学分解过程会产生 N₂O^[74]。在土壤体系中,AMO 首先催化氨氧化反应生成羟胺,随后羟胺经化学分解转化为 N₂O。值得注意的是,灭菌土壤中羟胺分解所产生的 N₂O 量远超出了 NO₂⁻自分解所产生的 N₂O 量^[75],由此可见,土壤中由羟胺分解产生的 N₂O 可能占据了较大的比例。

部分研究者认为,NO₂⁻和羟胺之间的相互作用以化学反应为主^[3]。然而,也有研究发现,在无菌土壤中添加羟胺和 NO₂⁻后,N₂O 的产生量并未显著增加,而在无土壤的纯反应条件下

N₂O 形成速率更快^[3]。这就暗示着土壤中羟胺产生 N₂O 的反应必然涉及其他途径。例如,羟胺与含铁化合物反应生成 N₂O 的途径(4Fe³⁺+2NH₂OH→4Fe²⁺+N₂O+H₂O+4H⁺)。

此外,羟胺还可被 O₂ 氧化或通过非生物歧化作用生成 N₂O,但该过程相较于上述羟胺与金属元素的反应生成 N₂O 的速率要缓慢许多。然而,羟胺被 O₂ 氧化的速率还受到 pH 值的影响,当 pH 值小于 3.0 时,未观察到羟胺的氧化现象,仅在 pH 值较高时才会出现该反应^[76]。总体而言,这 2 种反应与羟胺的分解以及金属元素的氧化相比速度较慢,羟胺的非生物反应虽然能够产生 N₂O,但对土壤中 N₂O 排放的贡献相对较小^[77]。

目前,关于羟胺的非生物产 N₂O 研究相对较少,主要由于土壤环境中生物和非生物途径产生的 N₂O 难以区分,这可能导致对生物过程的高估,同时低估了非生物过程中 N₂O 的产生及其重要性。针对这一问题,同位素标记法被应用于 N₂O 产生途径的探究^[78-80],该方法能够揭示不同来源的 N₂O 量及其占比,对于 N₂O 排放的来源探究具有重要意义。然而,该方法目前多在纯培养实验下进行,可能与自然条件下 N₂O 的真实来源有较大差异。

4 总结与展望

羟胺作为微生物氮循环的关键中间体,广泛存在于自养氨氧化和部分异养氨氧化过程中。其中,AMO 和 HAO 是参与羟胺生成与转化的关键酶。羟胺在微生物氮循环中发挥着重要作用:它能够促进氨的氧化,同时抑制亚硝酸盐的氧化;此外,羟胺还能加快反硝化速率,并促进短程反硝化的形成。然而,羟胺对 N₂O 排放也具有一定的促进作用,这一过程主要受土壤条件、亚硝酸盐积累、羟胺自分解 3 个因素的影响。尽管如此,目前对羟胺在微生物氮循环中的研究仍存在一定局限性,未来可从以下 3 个方面开展研究。

4.1 HAOb 中作用于羟胺生成与转化的酶

在不同的氨氧化菌中, 羟胺的生成和转化过程存在差异。自养氨氧化菌通过 AMO 酶将氨氧化为羟胺, 但不同自养氨氧化菌的 AMO 酶结构并不相同, 尽管它们都含有 AmoCAB 亚基。与自养菌相比, HAOb 的 AMO 在结构和功能上存在较大差异, 且目前对其 AMO 的结构和功能的研究较少, 仍需进一步探究其具体结构和功能。

羟胺的转化过程更为复杂, AOB 通过 HAO 将羟胺氧化为 NO, AOA 和 Comammox 氧化羟胺的具体酶尚不清楚, 但 NO 是羟胺氧化的中间产物。HAOb 中也含有 HAO, 可能是通过 HAO 将羟胺氧化。然而, HAOb 和自养氨氧化菌的 HAO 在结构和功能上的差异仍需进一步探究。

4.2 羟胺提高污水脱氮效率的应用研究

羟胺对细胞具有毒性, 因此它能够通过影响微生物活性进而影响氮循环过程。低浓度的羟胺能够促进 AOB 的活性, 同时抑制 NOB 的活性。在污水处理过程中, 这可能导致亚硝酸盐的积累, 从而促进厌氧氨氧化途径的除氮作用, 有助于污水处理的高效化和经济化, 其在调节污水处理过程中具有很大的潜力。此外, 外加羟胺能够通过提高 NR 酶活性、抑制 NiR 酶活性来提高反硝化速率, 同时促进 PD 过程, 进而提高生物脱氮效率。然而, 在实际应用中, 需要精准控制羟胺的添加量, 并且需要定时监测微生物硝化/反硝化进程, 这对于污水脱氮处理而言是一个巨大的挑战。

4.3 羟胺影响 N₂O 排放的生物和非生物过程与机制

羟胺能够促进 N₂O 的产生, 这一过程包括生物和非生物反应。尽管目前认为土壤环境中微生物硝化产生的 N₂O 占比较大, 但由于技术限制, 生物和非生物产生 N₂O 的量难以区分。同位素标记法已被用于相关研究, 但大多在纯

培养条件下进行, 与自然条件差异较大, 难以准确区分 N₂O 的生物或非生物来源。此外, 单一同位素标记技术本身存在缺陷, 应结合多种技术以提高结果的准确性。

土壤微生物通过硝化和反硝化作用产生的 N₂O 占比较大, 这对大气环境安全构成重大威胁。然而, 目前对土壤中 HAOb 及其参与的氮循环过程的研究较少, 仅停留在 HAOb 对羟胺的耐受性、去除率等效能方面, 其基因或酶相关研究更为稀缺。如果能够找到 HAOb 参与氮循环过程的关键酶以及对羟胺的耐受机制, 将对研发 N₂O 排放的土壤调控技术、保护大气环境安全发挥重要作用。

作者贡献声明

刘拓宏: 查询文献, 撰写文章并修改; 杨裕然: 文章修改; 杨圆圆: 图片、文章修改; 李振轮: 文章选题与设计, 撰写文章, 指导并修改文章, 校稿、指导回答编辑部问题, 课题支撑; 陈益: 文章修改。

作者利益冲突公开声明

作者声明不存在任何可能会影响本文所报告工作的已知经济利益或个人关系。

参考文献

- [1] LEES H. Hydroxylamine as an intermediate in nitrification[J]. *Nature*, 1952, 169: 156-157.
- [2] ZHANG MM, HE TX, WU QF, CHEN MP, LIANG XW. Hydroxylamine supplementation accelerated the rates of cell growth, aerobic denitrification and nitrous oxide emission of *Pseudomonas taiwanensis* EN-F2[J]. *Journal of Environmental Management*, 2024, 358: 120826.
- [3] CHALK PM, SMITH CJ. The role of agroecosystems in chemical pathways of N₂O production[J]. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2020, 290: 106783.
- [4] PROGRAMME UNE. Global Nitrous Oxide Assessment[M]. Nairobi: United Nations Environment Programme, 2024.
- [5] SHAKOOR A, SHAKOOR S, REHMAN A, ASHRAF F, ABDULLAH M, SHAHZAD SM, FAROOQ TH, ASHRAF M, MANZOOR MA, ALTAF MM, ALTAF MA. Effect of animal manure, crop type, climate zone, and soil attributes on greenhouse gas emissions from

- agricultural soils: a global meta-analysis[J]. *Journal of Cleaner Production*, 2021, 278: 124019.
- [6] ZHANG Y, ZHANG F, ABALOS D, LUO YQ, HUI DF, HUNGATE BA, GARCÍA-PALACIOS P, KUZYAKOV Y, OLESEN JE, JØRGENSEN U, CHEN J. Stimulation of ammonia oxidizer and denitrifier abundances by nitrogen loading: poor predictability for increased soil N₂O emission[J]. *Global Change Biology*, 2022, 28(6): 2158-2168.
- [7] ANDERSON B, BARTLETT K, FROLKING S, HAYHOE K, JENKINS J, SALAS W. Methane and nitrous oxide emissions from natural sources[R]. Washington DC: Office of Atmospheric Programs, US EPA, 2010.
- [8] 杨裕然, 李辉妙, 李振轮, 汪恩旭. 好氧氨氧化过程中的关键酶及N₂O排放研究进展[J]. *微生物学报*, 2023, 63(9): 3321-3334.
- YANG YR, LI HM, LI ZL, WANG EX. Key enzymes and N₂O emission in aerobic ammonia oxidation process[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2023, 63(9): 3321-3334 (in Chinese).
- [9] OUDOVA-RIVERA B, WRIGHT CL, CROMBIE AT, COLIN MURRELL J, LEHTOVIRTA-MORLEY LE. The effect of methane and methanol on the terrestrial ammonia-oxidizing archaeon '*Candidatus Nitrosocosmicus franklandus* C13'[J]. *Environmental Microbiology*, 2023, 25(5): 948-961.
- [10] YANG Q, ZHONG Y, FENG SW, WEN P, WANG HL, WU JH, YANG S, LIANG JL, LI D, YANG Q, TAM NFY, PENG PA. Temporal enrichment of comammox *Nitrospira* and *Ca. Nitrosocosmicus* in a coastal plastisphere[J]. *The ISME Journal*, 2024, 18(1): wrac186.
- [11] KOZLOWSKI JA, DIMITRI KITS K, STEIN LY. Comparison of nitrogen oxide metabolism among diverse ammonia-oxidizing bacteria[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2016, 7: 1090.
- [12] DAIMS H, LEBEDEVA EV, PJEVAC P, HAN P, HERBOLD C, ALBERTSEN M, JEHLICH N, PALATINSZKY M, VIERHEILIG J, BULAEV A, KIRKEGAARD RH, von BERGEN M, RATTEI T, BENDINGER B, NIELSEN PH, WAGNER M. Complete nitrification by *Nitrospira* bacteria[J]. *Nature*, 2015, 528(7583): 504-509.
- [13] WRIGHT CL, SCHATTEMAN A, CROMBIE AT, COLIN MURRELL J, LEHTOVIRTA-MORLEY LE. Inhibition of ammonia monooxygenase from ammonia-oxidizing archaea by linear and aromatic alkynes[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2020, 86(9): e02388-19.
- [14] CHAWLEY P, RANA AN, JAGADEVAN S. Envisioning role of ammonia oxidizing bacteria in bioenergy production and its challenges: a review[J]. *Critical Reviews in Biotechnology*, 2022, 42(6): 931-952.
- [15] NICOL GW, HINK L, GUBRY-RANGIN C, PROSSER JI, LEHTOVIRTA-MORLEY LE. Genome sequence of '*Candidatus Nitrosocosmicus franklandus*' C13, a terrestrial ammonia-oxidizing archaeon[J]. *Microbiology Resource Announcements*, 2019, 8(40): e00435-19.
- [16] BOLLMANN A, SEDLACEK CJ, NORTON J, LAANBROEK HJ, SUWA Y, STEIN LY, KLOTZ MG, ARP D, SAYAVEDRA-SOTO L, LU MG, BRUCE D, DETTER C, TAPIA R, HAN J, WOYKE T, LUCAS SM, PITLUCK S, PENNACCHIO L, NOLAN M, LAND ML, et al. Complete genome sequence of *Nitrosomonas* sp. Is79, an ammonia oxidizing bacterium adapted to low ammonium concentrations[J]. *Standards in Genomic Sciences*, 2013, 7(3): 469-482.
- [17] WU L, CHEN XM, WEI W, LIU YW, WANG DB, NI BJ. A critical review on nitrous oxide production by ammonia-oxidizing archaea[J]. *Environmental Science & Technology*, 2020, 54(15): 9175-9190.
- [18] HODGSKISS LH, MELCHER M, KEROU M, CHEN WQ, PONCE-TOLEDO RI, SAVVIDES SN, WIENKOOP S, HARTL M, SCHLEPER C. Unexpected complexity of the ammonia monooxygenase in archaea[J]. *The ISME Journal*, 2023, 17: 588-599.
- [19] LANCASTER KM, CARANTO JD, MAJER SH, SMITH MA. Alternative bioenergy: updates to and challenges in nitrification metalloenzymology[J]. *Joule*, 2018, 2(3): 421-441.
- [20] LEHTOVIRTA-MORLEY LE, SAYAVEDRA-SOTO LA, GALLOIS N, SCHOUTEN S, STEIN LY, PROSSER JI, NICOL GW. Identifying potential mechanisms enabling acidophily in the ammonia-oxidizing archaeon '*Candidatus Nitrosotalea devanattera*' [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2016, 82(9): 2608-2619.
- [21] SOLER-JOFRA A, PÉREZ J, van LOOSDRECHT MCM. Hydroxylamine and the nitrogen cycle: a review[J]. *Water Research*, 2021, 190: 116723.
- [22] CARANTO JD, LANCASTER KM. Nitric oxide is an obligate bacterial nitrification intermediate produced by hydroxylamine oxidoreductase[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2017, 114(31): 8217-8222.
- [23] ZORZ JK, KOZLOWSKI JA, STEIN LY, STROUS M, KLEINER M. Comparative proteomics of three species of ammonia-oxidizing bacteria[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 938.
- [24] KOZLOWSKI JA, PRICE J, STEIN LY. Revision of N₂O-producing pathways in the ammonia-oxidizing bacterium *Nitrosomonas europaea* ATCC 19718[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2014, 80(16): 4930-4935.
- [25] KOBAYASHI S, HIRA D, YOSHIDA K, TOYOFUKU M, SHIDA Y, OGASAWARA W, YAMAGUCHI T, ARAKI N, OSHIKI M. Nitric oxide production from nitrite reduction and hydroxylamine oxidation by copper-containing dissimilatory nitrite reductase (NirK) from the aerobic ammonia-oxidizing archaeon, *Nitrososphaera viennensis*[J]. *Microbes and Environments*, 2018, 33(4): 428-434.
- [26] HAN P, WU DM, SUN DY, ZHAO MY, WANG MD, WEN T, ZHANG JB, HOU LJ, LIU M, KLÜMPER U, ZHENG YL, DONG HP, LIANG X, YIN GY. N₂O and NO_y production by the comammox bacterium *Nitrospira inopinata* in comparison with canonical ammonia oxidizers[J]. *Water Research*, 2021, 190: 116728.
- [27] DIMITRI KITS K, JUNG MY, VIERHEILIG J, PJEVAC

- P, SEDLACEK CJ, LIU SR, HERBOLD C, STEIN LY, RICHTER A, WISSEL H, BRÜGGEMANN N, WAGNER M, DAIMS H. Low yield and abiotic origin of N_2O formed by the complete nitrifier *Nitrospira inopinata*[J]. Nature Communications, 2019, 10(1): 1836.
- [28] ZHANG Y, CAI ZC, ZHANG JB, MÜLLER C. The controlling factors and the role of soil heterotrophic nitrification from a global review[J]. Applied Soil Ecology, 2023, 182: 104698.
- [29] DUAN SP, ZHANG YY, ZHENG SK. Heterotrophic nitrifying bacteria in wastewater biological nitrogen removal systems: a review[J]. Critical Reviews in Environmental Science and Technology, 2022, 52(13): 2302-2338.
- [30] PAN ZL, ZHOU J, LIN ZY, WANG YM, ZHAO PC, ZHOU J, LIU SH, HE XJ. Effects of COD/TN ratio on nitrogen removal efficiency, microbial community for high saline wastewater treatment based on heterotrophic nitrification-aerobic denitrification process[J]. Bioresource Technology, 2020, 301: 122726.
- [31] QIN YL, LIANG ZL, AI GM, LIU WF, TAO Y, JIANG CY, LIU SJ, LI DF. Heterotrophic nitrification by *Alcaligenes faecalis* links organic and inorganic nitrogen metabolism[J]. The ISME Journal, 2024, 18(1): wrac174.
- [32] MARTIKAINEN PJ. Heterotrophic nitrification: an eternal mystery in the nitrogen cycle[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2022, 168: 108611.
- [33] ZHAO B, AN Q, HE YL, GUO JS. N_2O and N_2 production during heterotrophic nitrification by *Alcaligenes faecalis* strain NR[J]. Bioresource Technology, 2012, 116: 379-385.
- [34] HE TX, XIE DT, NI JP, LI Z, LI ZL. Characteristics of nitrogen transformation and intracellular nitrite accumulation by the hypothermia bacterium *Arthrobacter arilaitensis*[J]. Science of the Total Environment, 2020, 701: 134730.
- [35] ZHANG MY, PAN LQ, LIU LP, SU C, DOU L, SU ZP, HE ZY. Phosphorus and nitrogen removal by a novel phosphate-accumulating organism, *Arthrobacter* sp. HHEP5 capable of heterotrophic nitrification-aerobic denitrification: safety assessment, removal characterization, mechanism exploration and wastewater treatment[J]. Bioresource Technology, 2020, 312: 123633.
- [36] XIA L, LI XM, FAN WH, WANG JL. Heterotrophic nitrification and aerobic denitrification by a novel *Acinetobacter* sp. ND7 isolated from municipal activated sludge[J]. Bioresource Technology, 2020, 301: 122749.
- [37] YANG L, REN YX, LIANG X, ZHAO SQ, WANG JP, XIA ZH. Nitrogen removal characteristics of a heterotrophic nitrifier *Acinetobacter junii* YB and its potential application for the treatment of high-strength nitrogenous wastewater[J]. Bioresource Technology, 2015, 193: 227-233.
- [38] WEI R, HUI C, ZHANG YP, JIANG H, ZHAO YH, DU LN. Nitrogen removal characteristics and predicted conversion pathways of a heterotrophic nitrification-aerobic denitrification bacterium, *Pseudomonas aeruginosa* P-1[J]. Environmental Science and Pollution Research International, 2021, 28(6): 7503-7514.
- [39] LANG XD, LI QW, XU YC, JI MM, YAN GX, GUO SH. Aerobic denitrifiers with petroleum metabolizing ability isolated from caprolactam sewage treatment pool[J]. Bioresource Technology, 2019, 290: 121719.
- [40] JIN P, CHEN YY, ZHENG ZW, DU QZ. Evaluation of a novel low-carbon to nitrogen- and temperature-tolerant simultaneously nitrifying-denitrifying bacterium and its use in the treatment of river water[J]. RSC Advances, 2018, 8(48): 27417-27422.
- [41] JIN P, CHEN YY, YAO R, ZHENG ZW, DU QZ. New insight into the nitrogen metabolism of simultaneous heterotrophic nitrification-aerobic denitrification bacterium in mRNA expression[J]. Journal of Hazardous Materials, 2019, 371: 295-303.
- [42] YANG YL, LIN ES, HUANG SB. Heterotrophic nitrogen removal in *Bacillus* sp. K5: involvement of a novel hydroxylamine oxidase[J]. Water Science and Technology, 2017, 76(11/12): 3461-3467.
- [43] WANG QK, HE JZ. Complete nitrogen removal via simultaneous nitrification and denitrification by a novel phosphate accumulating *Thauera* sp. strain SND5[J]. Water Research, 2020, 185: 116300.
- [44] ZENG JY, LIAO SA, QIU M, CHEN MF, YE JM, ZENG JY, WANG AL. Effects of carbon sources on the removal of ammonium, nitrite and nitrate nitrogen by the red yeast *Sporidiobolus pararoseus* Y1[J]. Bioresource Technology, 2020, 312: 123593.
- [45] HE TX, ZHANG MM, DING CY, WU QF, CHEN MP, MOU SL, CHENG DJ, DUAN SJ, WANG Y. New insight into the nitrogen removal capacity and mechanism of *Streptomyces mediolani* EM-B2[J]. Bioresource Technology, 2022, 348: 126819.
- [46] WANG XJ, WANG WQ, ZHANG Y, SUN ZT, ZHANG J, CHEN GH, LI J. Simultaneous nitrification and denitrification by a novel isolated *Pseudomonas* sp. JQ-H3 using polycaprolactone as carbon source[J]. Bioresource Technology, 2019, 288: 121506.
- [47] HUANG XJ, WEISENER CG, NI JP, HE BH, XIE DT, LI ZL. Nitrate assimilation, dissimilatory nitrate reduction to ammonium, and denitrification coexist in *Pseudomonas putida* Y-9 under aerobic conditions[J]. Bioresource Technology, 2020, 312: 123597.
- [48] ROTTHAUWE JH, WITZEL KP, LIESACK W. The ammonia monooxygenase structural gene *AmoA* as a functional marker: molecular fine-scale analysis of natural ammonia-oxidizing populations[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1997, 63(12): 4704-4712.
- [49] ZHANG JB, LAN T, MÜLLER C, CAI ZC. Dissimilatory nitrate reduction to ammonium (DNRA) plays an important role in soil nitrogen conservation in neutral and alkaline but not acidic rice soil[J]. Journal of Soils and Sediments, 2015, 15(3): 523-531.
- [50] LI CE, YANG JS, WANG X, WANG ET, LI BZ, HE RX, YUAN HL. Removal of nitrogen by heterotrophic nitrification-aerobic denitrification of a phosphate accumulating bacterium *Pseudomonas stutzeri* YG-24[J]. Bioresource Technology, 2015, 182: 18-25.
- [51] ZHANG JB, MÜLLER C, CAI ZC. Heterotrophic nitrification of organic N and its contribution to nitrous

- oxide emissions in soils[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2015, 84: 199-209.
- [52] ZHANG XX, XIA YK, WANG CC, LI JJ, WU P, MA LP, WANG YG, WANG Y, DA FH, LIU WR, XU LZ. Enhancement of nitrite production *via* addition of hydroxylamine to partial denitrification (PD) biomass: functional genes dynamics and enzymatic activities[J]. *Bioresource Technology*, 2020, 318: 124274.
- [53] BÖTTCHER B, KOOPS HP. Growth of lithotrophic ammonia-oxidizing bacteria on hydroxylamine[J]. *FEMS Microbiology Letters*, 1994, 122(3): 263-266.
- [54] CHANDRAN K, SMETS BF. Biokinetic characterization of the acceleration phase in autotrophic ammonia oxidation[J]. *Water Environment Research*, 2008, 80(8): 732-739.
- [55] HARPER WF Jr, TERADA A, POLY F, le ROUX X, KRISTENSEN K, MAZHER M, SMETS BF. The effect of hydroxylamine on the activity and aggregate structure of autotrophic nitrifying bioreactor cultures[J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2009, 102(3): 714-724.
- [56] KAO CK, ZHANG Q, LI JW, LIU JJ, LI WY, PENG YZ. Rapid start-up and metabolic evolution of partial denitrification/anammox process by hydroxylamine stimulation: nitrogen removal performance, biofilm characteristics and microbial community[J]. *Bioresource Technology*, 2025, 418: 131959.
- [57] ZHANG QQ, LIU N, LIU JZ, YU Y, YING C, FU WJ, ZHAO JQ, JIN RC. Decoding the response of complete autotrophic nitrogen removal over nitrite (CANON) performance and microbial succession to hydrazine and hydroxylamine: linking performance to mechanism[J]. *Bioresource Technology*, 2022, 363: 127948.
- [58] SUI QW, WANG YY, WANG HY, YUE WH, CHEN YL, YU DW, CHEN MX, WEI YS. Roles of hydroxylamine and hydrazine in the *in situ* recovery of one-stage partial nitrification-anammox process: characteristics and mechanisms[J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 707: 135648.
- [59] ZHAO JK, LEI SH, CHENG GW, ZHANG J, SHI BF, XIE ST, ZHAO JQ. Comparison of inhibitory roles on nitrite-oxidizing bacteria by hydroxylamine and hydrazine during the establishment of partial nitrification[J]. *Bioresource Technology*, 2022, 355: 127271.
- [60] WANG Z, ZHANG L, ZHANG FZ, JIANG H, REN S, WANG W, PENG YZ. Nitrite accumulation in comammox-dominated nitrification-denitrification reactors: effects of DO concentration and hydroxylamine addition[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2020, 384: 121375.
- [61] ZHAO JK, ZHAO JQ, XIE ST, LEI SH. The role of hydroxylamine in promoting conversion from complete nitrification to partial nitrification: NO toxicity inhibition and its characteristics[J]. *Bioresource Technology*, 2021, 319: 124230.
- [62] LI J, ZHANG Q, LI XY, PENG YZ. Rapid start-up and stable maintenance of domestic wastewater nitrification through short-term hydroxylamine addition[J]. *Bioresource Technology*, 2019, 278: 468-472.
- [63] MA X, FENG ZT, ZHOU JM, SUN YJ, ZHANG QQ. Regulation mechanism of hydrazine and hydroxylamine in nitrogen removal processes: a comprehensive review[J]. *Chemosphere*, 2024, 347: 140670.
- [64] ZHANG XX, ZHANG XN, WU P, MA LP, CHEN JJ, WANG CC, LI X, LIU WR, XU LZ. Hydroxylamine metabolism in mainstream denitrifying ammonium oxidation (DEAMOX) process: achieving fast start-up and robust operation with bio-augmentation assistance under ambient temperature[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2022, 421: 126736.
- [65] ZHOU Y, WANG C, XU XC, JIN WY, LIU LF, MENG FG, YANG FL. Deciphering the partial denitrification function of companion bacteria in mixotrophic anammox systems under different carbon/nitrogen ratios[J]. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2023, 11(6): 111232.
- [66] LI YC, DONG WY, HOU ZL, ZHAO ZL, XIE J, WANG HJ, HUANG X, PENG YZ. Intermittent hydroxylamine dosing to strengthen stability of partial nitrification and nitrogen removal efficiency through continuous-flow anaerobic-aerobic-anoxic reactor treating municipal wastewater[J]. *Bioresource Technology*, 2024, 406: 130947.
- [67] ZHANG ZZ, ZHANG Y, SHI ZJ, CHEN YG. Linking genome-centric metagenomics to kinetic analysis reveals the regulation mechanism of hydroxylamine in nitrite accumulation of biological denitrification[J]. *Environmental Science & Technology*, 2022, 56(14): 10317-10328.
- [68] WEI J, ZHANG XY, XIA LL, YUAN WP, ZHOU ZY, BRÜGGMANN N. Role of chemical reactions in the nitrogenous trace gas emissions and nitrogen retention: a meta-analysis[J]. *Science of the Total Environment*, 2022, 808: 152141.
- [69] LIU SR, SCHLOTTER M, HU RG, VEREECKEN H, BRÜGGEMANN N. Hydroxylamine contributes more to abiotic N₂O production in soils than nitrite[J]. *Frontiers in Environmental Science*, 2019, 7: 47.
- [70] SONG YQ, WU DM, JU XT, DÖRSCH P, WANG MD, WANG RH, SONG XT, DENG LL, WANG R, GAO ZW, HAIDER H, HOU LJ, LIU M, YU YC. Nitrite stimulates HONO and NO_x but not N₂O emissions in Chinese agricultural soils during nitrification[J]. *Science of the Total Environment*, 2023, 902: 166451.
- [71] WU DM, HORN MA, BEHRENDT T, MÜLLER S, LI JS, COLE JA, XIE BH, JU XT, LI G, ERMEL M, OSWALD R, FRÖHLICH-NOWOISKY J, HOOR P, HU CS, LIU M, ANDREA MO, PÖSCHL U, CHENG YF, SU H, TREBS I, et al. Soil HONO emissions at high moisture content are driven by microbial nitrate reduction to nitrite: tackling the HONO puzzle[J]. *The ISME Journal*, 2019, 13(7): 1688-1699.
- [72] CHEN GJ, ZHAO WQ, YANG Y, CHEN DD, WANG Y, LI FB, ZHAO ZY, CAO F, LIU TX. Chemodenitrification by Fe(II) and nitrite: effects of temperature and dual NO isotope fractionation[J]. *Chemical Geology*, 2021, 575: 120258.
- [73] SØRENSEN J, THORLING L. Stimulation by lepidocrocite (7-FeOOH) of Fe(II)-dependent nitrite

- reduction[J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 1991, 55(5): 1289-1294.
- [74] BREMNER JM, BLACKMER AM, WARING SA. Formation of nitrous oxide and dinitrogen by chemical decomposition of hydroxylamine in soils[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 1980, 12(3): 263-269.
- [75] RUE K, RUSEVOVA K, BILES CL, HULING SG. Abiotic hydroxylamine nitrification involving manganese- and iron-bearing minerals[J]. *Science of the Total Environment*, 2018, 644: 567-575.
- [76] BONNER FT, DZELZKALNS LS, BONUCCI JA. Properties of nitroxyl as intermediate in the nitric oxide-hydroxylamine reaction and in trioxodinitrate decomposition[J]. *Inorganic Chemistry*, 1978, 17(9): 2487-2494.
- [77] SU QX, DOMINGO-FÉLEZ C, JENSEN MM, SMETS BF. Abiotic nitrous oxide (N₂O) production is strongly pH dependent, but contributes little to overall N₂O emissions in biological nitrogen removal systems[J]. *Environmental Science & Technology*, 2019, 53(7): 3508-3516.
- [78] TERADA A, SUGAWARA S, HOJO K, TAKEUCHI Y, RIYA S, HARPER WF Jr, YAMAMOTO T, KUROIWA M, ISOBE K, KATSUYAMA C, SUWA Y, KOBAYASHI K, HOSOMI M. Hybrid nitrous oxide production from a partial nitrifying bioreactor: hydroxylamine interactions with nitrite[J]. *Environmental Science & Technology*, 2017, 51(5): 2748-2756.
- [79] 曹冬, 耿方兰, 饶子渔, 康跃惠. 傅里叶变换离子回旋共振质谱分子表征 ¹⁵N 同位素标记羟胺衍生天然有机质[J]. *环境化学*, 2023, 42(4): 1118-1127.
- CAO D, GENG FL, RAO ZY, KANG YH. Molecular characterization of ¹⁵N-labelled hydroxylamine-derivatized natural organic matter by FTICR-MS[J]. *Environmental Chemistry*, 2023, 42(4): 1118-1127 (in Chinese).
- [80] QIN Y, WANG SY, WANG XM, LIU CL, ZHU GB. Contribution of ammonium-induced nitrifier denitrification to N₂O in paddy fields[J]. *Environmental Science & Technology*, 2023, 57(7): 2970-2980.