

铁矿物强化厌氧氨氧化效能及其微生物机制研究进展

刘嘉玮, 汪涵*, 王亚宜

同济大学环境科学与工程学院 污染控制与资源化研究国家重点实验室, 上海 200092

刘嘉玮, 汪涵, 王亚宜. 铁矿物强化厌氧氨氧化效能及其微生物机制研究进展[J]. 微生物学通报, 2022, 49(10): 4305-4326
Liu Jiawei, Wang Han, Wang Yayi. Efficiency and microbial mechanism of iron minerals in enhancing the anammox: a review[J]. Microbiology China, 2022, 49(10): 4305-4326

摘要: 自然界中的氮循环与铁循环相互交联, 参与氮循环的厌氧氨氧化(anaerobic ammonium oxidation, anammox)菌的生长代谢及活性发挥也与铁元素紧密关联。自然界广泛存在的铁矿物因具有运行成本低廉、稳定性好、二次污染小等优势, 在污水处理领域得到广泛应用。在厌氧氨氧化脱氮系统中引入适量铁矿物, 不仅有助于促进 anammox 菌和铁还原菌的富集, 提高功能基因丰度和相关酶活性, 还可能通过影响污泥浓度、血红素 c 含量、胞外聚合物含量和颗粒化程度, 改善污泥性能和提高厌氧氨氧化系统的稳定性。同时, 铁矿物具有促进体系多种氮素转化途径(如 anammox、铁自养反硝化、铁氨氧化、异化硝酸盐还原成铵和反硝化)相耦合的潜能, 可以提高 anammox 污水处理系统的总氮去除率。本文基于铁矿物在促进污水生物脱氮方面的良好性能及其在 anammox 系统中的变化, 从脱氮效能、污泥特性、微生物特征及酶活性等方面, 系统综述了铁矿物对厌氧氨氧化系统的强化作用机制, 并从 anammox 菌对铁矿物的利用及铁元素的摄取角度展望了后续的研究方向, 以期铁矿物强化厌氧氨氧化系统的实际应用提供理论和技术指导。

关键词: 厌氧氨氧化; 铁矿物; 脱氮效能; 微生物机制

Efficiency and microbial mechanism of iron minerals in enhancing the anammox: a review

LIU Jiawei, WANG Han*, WANG Yayi

State Key Laboratory of Pollution Control and Resources Reuse, College of Environmental Science and Engineering, Tongji University, Shanghai 200092, China

Abstract: As the nitrogen cycle is cross-linked with the iron cycle in the nature, the metabolism and

基金项目: 国家杰出青年科学基金(52225001); 国家自然科学基金(42107246)

Supported by: National Science Fund for Distinguished Young Scholars (52225001); National Natural Science Foundation of China (42107246)

*Corresponding author: E-mail: hanw@tongji.edu.cn

Received: 2022-03-31; Accepted: 2022-04-25; Published online: 2022-09-08

activity of anaerobic ammonia oxidation (anammox) bacteria involved in the nitrogen cycle are also closely related to the iron element. Being ubiquitous in the nature, iron minerals have been widely used for wastewater treatment, owing to the advantages of low operating cost, good stability, and low secondary pollution. The addition of a moderate amount of iron minerals not only can promote the enrichment of anammox bacteria and iron-reducing bacteria in the anammox system, and increase the abundance of functional genes and the activities of related enzymes, but also can regulate the sludge concentration, heme c content, extracellular polymeric substance (EPS) content, and granulation degree to improve the sludge properties and the anammox system stability. Meanwhile, iron minerals have the potential to promote the coupling of multiple nitrogen transformation pathways, such as the anammox, nitrate-dependent Fe(II) oxidation (NDFO), ferric ammonium oxidation (Feammox), dissimilatory nitrate reduction to ammonia (DNRA), and denitrification, which can improve the total nitrogen removal efficiency for the anammox system. Focusing on the good performance of iron minerals in promoting biological denitrification of wastewater and their varieties in the anammox system, the mechanism of iron minerals in enhancing the anammox system is systematically summarized in this study from nitrogen removal efficiency, sludge properties, microbial community characteristics, and enzymes activities. Moreover, the future research directions are prospected from the perspectives of the utilization of iron minerals and the uptake of the iron element by anammox bacteria, aiming to provide theoretical and technical guidance for the application of iron minerals in the anammox system.

Keywords: anaerobic ammonia oxidation (anammox); iron minerals; nitrogen removal efficiency; microbial mechanism

铁元素是微生物生命活动不可或缺的重要元素之一,是维持微生物活性的必要营养物质。其参与构成部分微生物金属蛋白酶和作为某些功能酶的辅助因子,对微生物细胞结构形成和新陈代谢正常进行具有重要影响^[1]。对于厌氧氨氧化(anaerobic ammonia oxidation, anammox)菌来说,其中心代谢依赖一组特定的血红素蛋白,如联氨合成酶(hydrazine synthetase, Hzs)和联氨脱氢酶(hydrazine dehydrogenase, Hdh)等,同时Fe(II)是构成血红素活性区域的重要组成部分^[2]。Van Niftrik等^[3]观察到anammox菌胞内的厌氧氨氧化体内储存着大量铁颗粒,为血红素的合成提供铁元素,并维持着细胞内铁元素的平衡。可见,铁元素对anammox菌的生长代谢至关重要,这也为铁强化anammox工艺的实践提供了可能^[4-6]。

另一方面,随着铁自养反硝化[nitrate-dependent Fe(II) oxidation, NDFO]^[7]、铁氨氧化(ferric ammonium oxidation, feammox)^[8]、铁驱动的异化硝酸盐还原成铵(dissimilatory nitrate reduction to ammonia, DNRA)^[9]等铁、氮循环途径在湿地^[10-11]、海洋^[12-13]、稻田^[14-15]、河流^[16-17]等环境的陆续发现,证实了自然界中铁循环和氮循环过程的紧密耦合。在这些途径中,高、中价态的氮化合物(NO_2^- 、 NO_3^-)可作为Fe(II)氧化的电子受体,而低、中价态的氮化合物(NH_4^+ 、 NO_2^-)可作为Fe(III)还原的电子供体,从而实现氮元素(NH_4^+ 、 N_2 、 NO_2^- 、 NO_3^-)和铁元素[Fe(II)、Fe(III)]的转化^[18]。若能实现NDFO、feammox、DNRA与anammox、反硝化(denitrification)途径的耦合,将有助于强化anammox系统的脱氮效能,从而为开发节能、低碳的污水脱氮新途径

提供新思路, 也为我国污水处理进一步减污降耗的实现提供可能^[19], 最终助力我国“碳达峰碳中和”目标的实现^[20-21]。

铁矿物是指自然界中广泛分布的具有经济价值的天然铁化合物, 常用于冶炼金属和锻造钢铁。近年来, 越来越多的研究表明铁矿物在耦合氧化氨氮和甲烷等还原性物质过程中起重要介导作用^[22-24], 其存在能够加快胞外电子传递效率, 而且相较于游离态 Fe^{2+} 和 Fe^{3+} , 铁矿物具有良好的吸附沉淀性能^[25], 在促进污水生物脱氮方面也显示出良好性能^[26-28]。因此, 本文将基于铁矿物对 anammox 系统的影响及其自身变化, 从脱氮效能、污泥特性、微生物特征及酶活性角度出发, 重点综述铁矿物对 anammox 系统的强化作用机制。

1 铁矿物分类及在 anammox 系统中的变化

基于氮循环与铁循环的紧密联系以及铁元素对 anammox 菌生理活动的重要作用, 铁强化 anammox 效能的研究逐渐受到关注, 目前国内外相关研究中近四分之三侧重于探究游离态铁元素(Fe^{2+} 、 Fe^{3+})对 anammox 系统的脱氮效能、水理性质、污泥特性及微生物活动的影响等方面^[29-31]。这些研究表明, Fe^{2+} 和 Fe^{3+} 可以促进 anammox 菌的代谢与活性, 提升 anammox 系统的脱氮效能^[32-34]。但在生物处理系统 pH 近中性条件下(pH 6.0–8.0), 游离态 Fe^{2+} 和 Fe^{3+} 易转化为氢氧化物沉淀^[35], 沉淀进一步附着于微生物表面将可能堵塞膜孔, 甚至会扰乱微生物的正常新陈代谢^[36]; 同时铁氢氧化物沉淀的生成也不利于铁元素的循环利用, 反复投加易导致运行成本增加^[37], 这都将限制铁强化 anammox 技术的推广应用。

相较而言, 铁矿物的运行成本较低、稳定性较好、二次污染较小, 铁矿物还具有促进胞外电子传递效率^[22-24], 从而提升污水生物脱氮的功能。近年来, 铁矿物强化 anammox 系统的脱氮效能及其相应的微生物群落演变等方面的研究逐渐开展^[38-40]。然而, 铁矿物外源性物质的引入可能对活性污泥中的微生物造成氧化应激和细胞膜损伤^[41-42], 铁矿物的二次成矿作用也可能对微生物的代谢造成影响^[43-44], 这些影响作用的存在导致目前铁矿物研究还不足铁离子研究的十分之一, 而且主要集中于生态环境科学领域, 铁矿物在 anammox 系统中的长期变化也尚不明确。

1.1 铁矿物的组成分类

如图 1 所示, 污水处理领域常用的铁矿物根据组成不同, 主要分为 4 类: 水铁矿(ferrihydrite)、针铁矿(goethite, $\alpha\text{-FeOOH}$)、磁铁矿(magnetite, Fe_3O_4)和赤铁矿(hematite, $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$), 主要的理化性质如表 1 所示。

铁矿物通常具有比表面积大、表面活性高、二次污染小等特点, 常作为吸附剂和催化剂, 通过吸附和共沉淀作用去除水体中的抗生素类有机污染物^[51-53]和 Mn、As、Pd、Cr 等重金属^[54-56], 以及催化 H_2O_2 等氧化偶氮染料、内分泌干扰物等难降解污染物^[57-59], 近年来在促进污水生物脱氮方面也有所应用^[26-28]。不同种类的铁矿物还具有一些优异特性, 如磁铁矿具有优异的铁磁性和生物相容性^[60-62], 使其可以应用于强化生物脱氮效能; 赤铁矿优异的光电特性使之可以作为光电化学太阳能材料, 光催化 H_2O_2 等产生强氧化性的自由基^[63-64]。

1.2 铁矿物的系统分布

研究表明, 在铁矿物介导的 anammox 系统长期运行中, 少量的铁矿物对 anammox 菌无明显细胞毒性^[39,65], 带负电荷的 anammox 菌易被铁矿物所吸引而聚集于铁矿物周围。同时 anammox

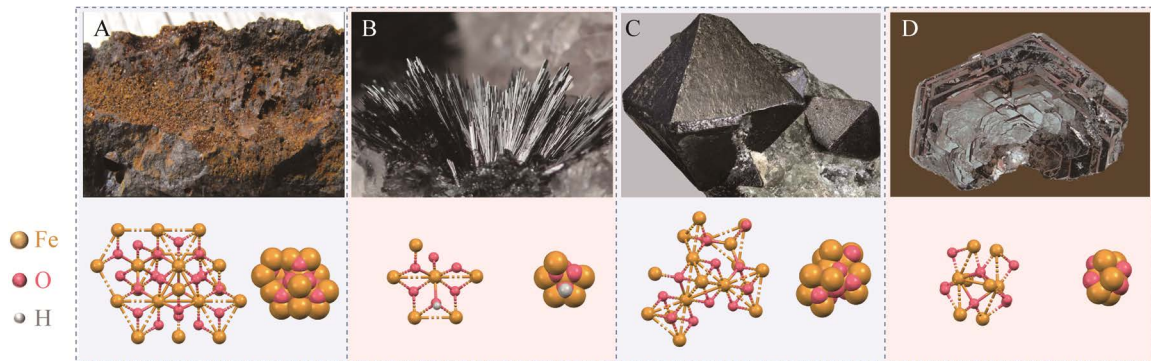


图 1 具有 6 条衍射线的 6 线水铁矿(A)、针铁矿(B)、磁铁矿(C)和赤铁矿(D)的实物图及结构模型^[45-48]
 Figure 1 The physical maps and structure models of 6-line ferrihydrite with six diffraction lines (A), goethite (B), magnetite (C) and hematite (D)^[45-48].

表 1 常见铁矿物的理化性质比较^[25,49-50]

Table 1 Comparison of physical and chemical properties of common iron minerals^[25,49-50]

Iron minerals	Chemical formulas	Crystal structures	Similarities	Particularities	Main purposes
Ferrihydrite	—	—	I. Large specific surface area; II. High surface activity;	Low crystallinity and instability	Organic matter and heavy metals removal
Goethite	α -FeOOH	Orthogonal octahedron	III. Low secondary pollution; IV. Low operating cost	Complex surface structure	Organic matter and heavy metals removal
Magnetite	Fe_3O_4	Tetragonal anti spinel		Paramagnetism and low toxicity	Nitrogen and phosphorus removal
Hematite	α - Fe_2O_3	Hexagonal system		Diamagnetism and photoelectricity	The advanced oxidation technologies

注：—：由于水铁矿的结晶弱、粒径小，随着衍射线条数的不同，其化学组成和晶体结构差异较大，关于其确切的化学组成和晶体结构目前尚无统一的定论

Note: —: Due to the small particle size and weak crystallization of ferrihydrite, there are no unanimous conclusions about its definite chemical formula and crystal structure for the moment, which evidently vary with the number of diffraction lines.

菌可以铁矿物作为附着生长的载体，吸附于铁矿物表面，并进一步通过盐桥作用形成菌胶团^[66-67]，促进 anammox 颗粒的形成和尺寸的增加^[68]。在分别加入 50 mg/L 和 100 mg/L 纳米磁铁矿的 anammox 系统中，借助立体显微镜观察反应后的颗粒污泥，发现污泥表面具有大量黑色位点，表明纳米磁铁矿表面对 anammox 颗粒有吸附作用^[69-70]。

同时，粒径越小的铁矿物越容易被 anammox 颗粒所吸附。在分别投加 200 nm、20 μm 和 100 μm 磁铁矿的 anammox 系统中，采用 X 射

线衍射技术(X-ray diffraction, XRD)表征分析污泥样品，均显示出磁铁矿的特征峰，同时特征峰强度随着磁铁矿粒径的减小而增加，污泥中的铁含量分别达到 7.2%、4.1%和 0.2%^[69]。

1.3 铁矿物的表面溶出

Anammox 菌等功能微生物可将铁矿物作为载体吸附生长于铁矿物表面，同时借助 anammox 菌、铁还原菌等的生物作用，铁矿物的表面电离过程加快，促进了 Fe(II)和 Fe(III)的溶出^[71-72]，为微生物的生长代谢提供必需的铁元素。研究表明，加入 4 mmol/L 水铁矿的 anammox 系统

中, Fe(II)的溶出量逐渐增加, 22 d 可达到 (1.83 ± 0.01) mmol/L^[73]。类似地, 在投加 12 mmol/L 水铁矿的 anammox 系统中, 30 d 内 Fe(II)含量逐渐增至 10.00 mmol/L; 当初始阶段投加 25 mmol/L 水铁矿时, 间断补充 1 mmol/L 的 NH_4^+ 可以刺激 Fe(II)含量持续增加, 180 d 时高达 19 mmol/L^[40]。

研究表明, 在 0–200 mg/L 的纳米磁铁矿投加量范围内, anammox 系统中 Fe(II)和 Fe(III)的溶出量随铁矿物投加量的增加而增加, 分别为 0.3–2.1 mg/L 和 1.1–5.9 mg/L^[65]。类似地, 将纳米磁赤铁矿颗粒加入 anammox 系统, 当磁赤铁矿投加量分别为 1、10、50 和 200 mg/L 时, Fe(III)的最大溶出量分别为 0.2、0.6、1.3 和 1.9 mg/L, 最大溶解百分比逐渐下降^[39]。

同时, 相较于零价铁、 Fe^{2+} 和 Fe^{3+} , 铁矿物通过生物作用溶出的微量 Fe(II)和 Fe(III)可以快速被微生物所利用, 有效避免沉淀的生成, 促进了 Fe(II)和 Fe(III)持续溶出, 维持 7.0–8.5 的弱碱性 pH 值^[35–36]和 -107 – 375 mV 的低氧化还原电位(oxidation-reduction potential, ORP)^[71,74–75], 保证 anammox 菌适宜的存活环境^[76]。有学者研究了长期实验(75 d)条件下, 750 mg/L 零价铁和 1 000 mg/L 磁铁矿对 anammox 系统的影响(加入的 Fe 元素含量一致), 发现加入零价铁的体系中, Fe(II)和 Fe(III)快速溶出, 于 51 d 时达到峰值; 随后由于生成沉淀而显著减少; 而在加入磁铁矿的体系中则无沉淀物生成, Fe(III)含量随培养时间的延长而增加, 45 d 时达到饱和(1.9 mg/L), Fe(II)含量则在 75 d 内逐渐增至 0.8 mg/L^[71]。

值得注意的是, 当 anammox 系统中 Fe(II)和 Fe(III)的含量过高时, 不仅容易形成氢氧化物沉淀, 阻碍活性污泥絮体传质过程^[77], 而且还可能诱导芬顿反应产生强氧化性的自由基, 对 anammox 菌造成细胞毒性^[78–79], 从而对

anammox 活性产生抑制作用。

1.4 铁矿物的形貌变化

铁矿物的表面溶出作用有利于铁矿物表面孔隙的形成。根据扫描电子显微镜(scanning electron microscope, SEM)图像显示, anammox 菌等的生物作用促进了 Fe(II)和 Fe(III)的溶出, 导致铁矿物表面物质的消耗, 从而得以形成众多孔隙, 有利于 anammox 颗粒内部 N_2 的产生与释放^[71]。

此外, 研究表明, anammox 系统中的铁矿物通过生物化学作用, 可以由结晶度低、稳定性差的形态转化为结晶度高、稳定性好的形态^[80]。Yang 等^[81]借助 XRD 图谱分析发现, 投加的 50 mmol/L 水铁矿部分转化为磁铁矿和赤铁矿, 铁矿物的结晶度和稳定性得以增加。

综上所述, anammox 菌容易吸附于铁矿物表面, 并以此作为生长代谢的载体, 促进 anammox 颗粒的形成。铁矿物借助 anammox 菌等的生物作用可以加速表面的溶出, 为微生物的生长代谢提供铁元素, 同时铁矿物转化为孔隙较多、结晶度高和稳定性好的形态, 对 anammox 系统的长期稳定运行具有重要作用。目前, 铁矿物对 anammox 系统的影响缺乏系统性的归纳, 强化作用机制也存在争议。

2 铁矿物强化 anammox 系统脱氮效能

铁矿物中的 Fe(II)和 Fe(III)被 anammox 菌摄取利用, 有助于增强 anammox 菌的活性, 促进其代谢过程, 提高 anammox 系统的脱氮效能。同时铁矿物的添加可以促进体系中铁细菌增殖并参与代谢, 有利于 anammox、NDFO、Feammox、DNRA、反硝化等反应的发生(图 2), 从而实现氮和铁元素的耦合及循环, 进一步增强系统的稳定性并提高氮素去除率, 但铁矿物类型、投加量、粒径等与系统脱氮效能之间的关系尚不明晰, 实际运行时也还需要考虑种泥的群落组成^[43,71]。

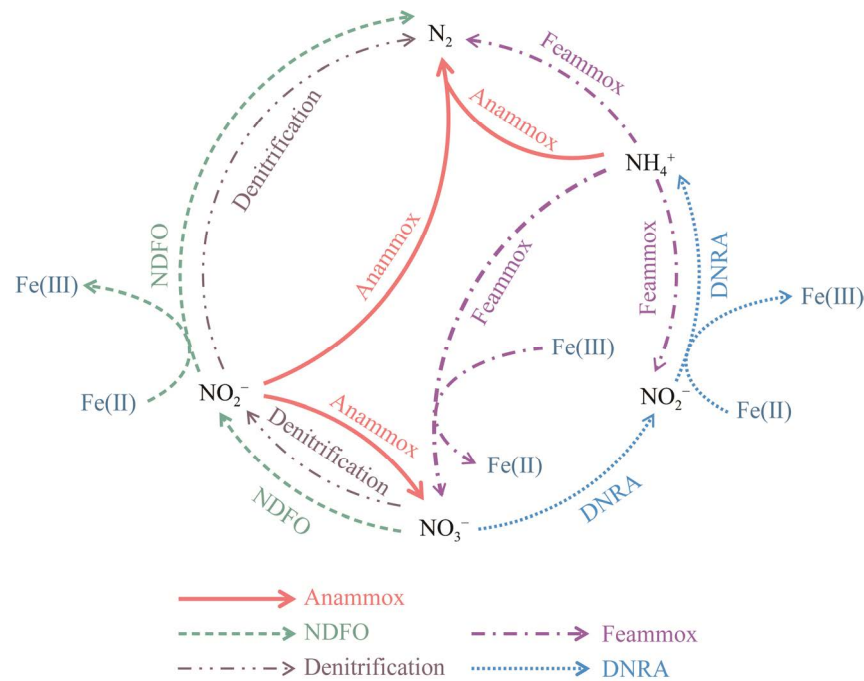


图2 铁矿物强化 anammox 系统反应过程的可能机理^[38,71,81]

Figure 2 Possible mechanism of iron minerals in enhancing the processes in the anammox system^[38,71,81].

2.1 anammox 系统脱氮效率

铁矿物可以为微生物的生命活动提供必需的铁元素,增强 anammox 菌和铁细菌等功能微生物的生长代谢与增殖,提升 anammox 系统的脱氮效率。研究表明,不同形式的铁元素对 anammox 系统的影响不尽相同^[71]。长期实验(75 d)结果表明,无外加物的体系中,anammox 系统总氮去除率(total nitrogen removal efficiency, NRE)最高为 80.0%;投加 750 mg/L 零价铁的体系中,50 d 之前 NRE 基本维持在 90.0%以上,随后逐渐下降至 80.0%以下;而在投加 1 000 mg/L 磁铁矿的体系中,NRE 逐步增加并渐趋稳定,40 d 后基本维持在 95.0%以上,表明磁铁矿对脱氮效率具有长期的积极影响,有助于提升 anammox 系统的脱氮效能^[71]。Zhu 等^[38]进一步模拟高氨氮废水(500 mg/L)处理条件,比较 2 mmol/L 不同类型的铁化合物对 anammox 系统脱氮的影

响,投加种类分别为赤铁矿、磁铁矿、 Fe(OH)_3 、柠檬酸铁和黄铁矿,发现赤铁矿、 Fe(OH)_3 和黄铁矿均可提升 anammox 系统的脱氮效率,其中以赤铁矿的影响最为显著,NRE 增加 23.0%,总氮去除负荷达 $62.3 \text{ g-N}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$;而磁铁矿则显示出抑制作用,总氮去除负荷达 $-65.0 \text{ g-N}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$ 。

由于不同研究体系种泥群落组成和投加量的不同,实际运行时铁矿物对 anammox 系统脱氮效率的影响也存在无明显变化甚至降低的可能。例如,向 anammox 系统中加入 $100 \mu\text{m}$ 磁铁矿 100 mg/L 时发现 NRE 几乎无明显提升,并且还略低于对照组(4.4%)^[69];而通过向人工湿地中加入 $1 250 \text{ mg/L}$ 水铁矿,考察铁矿物强化 anammox 技术应用于处理采矿废水的可能性,发现 N_2 产生速率达 $(2.7 \pm 0.4) \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$,同时 Fe(III)的还原速率显著增加,Fe(II)含量提升 197.4%,体系显示出良好的 Feammox 活性,氨

氮氧化速率增至 2.7 mg/(kg·d), 提升 61.9%; 但由于水铁矿的二次成矿作用, anammox 和反硝化过程甚至受到抑制, 培养 15 d 后氨氮转化率反而降低 20.0%, NRE 降低 25.0%^[43]。可见, 采用铁矿物强化 anammox 系统脱氮效能时, 也应进一步考虑矿物的类型、投加量及种泥的群落组成。

2.2 厌氧氨氧化活性

投加适量铁矿物可以强化比厌氧氨氧化活性(specific anammox activity, SAA), 缩短反应时间、加速脱氮过程, 从而促进 anammox 系统氮素的快速去除。研究表明, 铁矿物对 SAA 的促进效果, 可能是由于铁矿物可以加速营养物质的转移, 使单位时间内更多的底物流向功能微生物, 提高功能微生物的活性, 促进 anammox 菌等的生长和新陈代谢^[82], 继而加速脱氮过程。如在加入 100 mg/L 纳米磁铁矿的 anammox 系统中, SAA 可提高 33.3% [SAA 高达 432.0 mg-TN/(g-VSS·d)], 但该促进过程存在滞后, 可能是因为铁矿物需要先被污泥吸附后才能稳定强化 anammox 性能^[69]。在加入磁赤铁矿颗粒(200 mg/L)的 anammox 系统中也观察到了类似现象, 30 d 前的 SAA 变化不大, 稳定于 (340.1±25.6) mg-TN/(g-VSS·d), 随后逐渐增加, 130 d 时达到(478.7±26.7) mg-TN/(g-VSS·d), 较对照组增加 43.2%^[39]。

另一方面, 磁铁矿还可以通过磁场来强化 anammox 菌的活性, 协同促进 SAA 提升^[83]。研究显示, 在长期实验(75 d)条件下, 相较于零价铁, 磁铁矿对 anammox 系统 SAA 的提升效果更加稳定和持久。无外加物的对照体系中 SAA 维持在 200.0 mg-TN/(g-VSS·d)左右; 加入 750 mg/L 零价铁的体系中 SAA 先逐渐增加, 于 35 d 时达到峰值 243.0 mg-TN/(g-VSS·d), 随后由于表面 Fe(OH)₃ 沉淀的生成与覆盖导致 SAA 快速下降, 最终降至 180.0 mg-TN/(g-VSS·d); 而加

入 1 000 mg/L 磁铁矿的体系中 SAA 稳步增长至 241.0 mg-TN/(g-VSS·d), 较对照组提升 20.5%^[71]。还有研究表明, SAA 随纳米磁铁矿投加量的增加而增加, 并且两者具有显著相关性($P < 0.05$), 随着纳米磁铁矿投加量增加至 60 mg/L, SAA 增加 28.3%; 继续增加投加量至 200 mg/L, SAA 可提升至原先的 1.6 倍^[65]。然而 Chen 等^[69]的研究结果却显示, 对于粒径为 100 μm 的磁铁矿, SAA 随投加量的增加而升高, 但投加 20 μm 的磁铁矿时结果则恰好相反。综上所述, 铁矿物对 SAA 的影响较复杂, 铁矿物投加量、粒径和性质等与 SAA 的具体关系尚不明晰, 有待进一步研究。

2.3 氮素反应计量比

在 anammox 反应中, $\text{NH}_4^+:\text{NO}_2^-:\text{NO}_3^-$ 的理论摩尔计量比为 1.00:1.32:0.26, 实际检测到的摩尔计量比也多在理论摩尔计量比附近波动^[84]。在投加铁矿物的 anammox 系统的运行过程中, 由于实际运行条件和种泥群落组成的不同, 体系中可能伴随发生 NDFO、Feammox、反硝化等一系列其他反应。因此, 铁矿物强化 anammox 系统中 $\text{NH}_4^+:\text{NO}_2^-:\text{NO}_3^-$ 的实际摩尔计量比的变化范围较大。

当体系中 anammox 反应占主导时, 其他菌种的参与虽然可以促进脱氮效能的提升, 但对反应的摩尔计量比影响较小。如有研究发现 200 mg/L 纳米磁赤铁矿对 anammox 系统基本无毒性, 反而还有助于提高脱氮效能, 长期实验的 $\Delta\text{NO}_2^-:\Delta\text{NH}_4^+$ 为 1.25±0.02、 $\Delta\text{NO}_3^-:\Delta\text{NH}_4^+$ 为 0.23±0.01, 近似于理论摩尔计量比^[39]; 类似的现象也发生在加入 60 mg/L 纳米磁铁矿的 anammox 系统中, 长期实验结果的摩尔计量比分别为 $\Delta\text{NO}_2^-:\Delta\text{NH}_4^+$ 为 1.21±0.08、 $\Delta\text{NO}_3^-:\Delta\text{NH}_4^+$ 为 0.21±0.03^[65]。

然而有研究指出, 部分铁矿物的投加会导

致 anammox 系统中 feammox 的贡献作用较大, NH_4^+ 随着 Fe(III) 的还原而被氧化, 致使 NH_4^+ 过度消耗, $\Delta\text{NO}_2^-:\Delta\text{NH}_4^+$ 的实际摩尔计量比会低于理论值^[85-86]。据报道, 在引入磁铁矿的 anammox 系统中, $\Delta\text{NO}_2^-:\Delta\text{NH}_4^+$ 为 0.83–1.33, 随着铁矿物投加量的增加, $\Delta\text{NO}_2^-:\Delta\text{NH}_4^+$ 基本呈现下降的趋势, 当磁铁矿投加量分别为 100 mg/L 和 500 mg/L 时, 基质变化比分别为 1.15 ± 0.04 和 1.08 ± 0.04 ; 而随着铁矿物粒径的增大, $\Delta\text{NO}_2^-:\Delta\text{NH}_4^+$ 则呈现出先升高后降低的趋势, 当磁铁矿粒径分别为 200 nm、20 μm 和 100 μm 时, 基质变化比分别为 1.10 ± 0.02 、 1.16 ± 0.02 和 1.03 ± 0.05 ^[69]。

2.4 铁矿物介导驱动 anammox 系统发生的反应过程

铁矿物的投加不仅有助于直接强化 anammox 反应, 缩短反应时间、提高 anammox 系统的脱氮效能, 同时铁矿物具有介导驱动 anammox、NDFO、feammox、DNRA、反硝化等过程相耦合的潜能, 从而进一步提升系统总氮去除率。铁矿物强化 anammox 系统中可能存在的反应过程如表 2 所示。

近年来, 一种 anammox 耦合铁还原的过

程——feammox 在湿地^[91]、稻田土壤^[15]、河流^[16] 等生态系统中被发现, 为解析铁强化 anammox 系统脱氮的作用机制提供了新思路。研究发现, 向仅含有 NH_4^+ 的体系中投加原位和异位两种形式的水铁矿(10 mmol/L), $^{30}\text{N}_2$ 的生成速率与 Fe(III) 的减少速率呈正相关关系($P < 0.0001$), 验证了 feammox 反应的存在, 保守估计 feammox 反应速率为 $0.11 \text{ mg-N}/(\text{L}\cdot\text{d})$ ^[92]。类似地, 在分别以湿地、河流沉积物及森林、水稻土壤为种泥的 anammox 系统中, 加入 10 mmol/L 水铁矿模拟富含 Fe(III) 的厌氧酸性环境下的氮循环, 体系普遍呈现出 anammox 和 feammox 活性, NH_4^+ 以 $3.33\text{--}50.00 \mu\text{mol}/(\text{L}\cdot\text{d})$ 的速率被氧化的同时, Fe(III) 以 $1.42\text{--}5.93 \mu\text{mol}/(\text{L}\cdot\text{d})$ 的速率被还原, 通过典范相关分析发现 Fe(III) 含量、pH 和 NO_2^- 浓度具有显著影响, 在 $\text{Fe(III)} > 1.0 \mu\text{mol/L}$ 、pH 值为 4.5–6.5 和 NO_2^- 浓度为 0.02–0.20 mmol/L 的水平下, feammox 活性较高, 最高可以实现近 90.0% 的 NRE^[93]。

此外, 在 anammox 系统中, 一方面, Fe(III) 可以作为电子受体氧化 NH_4^+ , 发生 feammox 反应, 增加体系脱氮途径; 另一方面, 反应产生的 Fe(II) 能作为电子供体参与 NO_3^- 的还原过程,

表 2 铁矿物介导驱动 anammox 系统可能发生的反应过程

Table 2 Possible reaction processes mediated by iron minerals in the anammox system

Nitrogen conversion	Possible reaction processes	References
Anammox	$\text{NH}_4^+ + 1.32\text{NO}_2^- + 0.066\text{HCO}_3^- \rightarrow 1.02\text{N}_2 + 0.26\text{NO}_3^- + 0.066\text{CH}_2\text{O}_{0.5}\text{N}_{0.15} + 2.03\text{H}_2\text{O}$	[87]
NDFO	$10\text{Fe}^{2+} + 24\text{H}_2\text{O} + 2\text{NO}_3^- \rightarrow 10\text{Fe(OH)}_3 + \text{N}_2 + 18\text{H}^+$	[88-89]
	$6\text{Fe}^{2+} + 14\text{H}_2\text{O} + 2\text{NO}_2^- \rightarrow 6\text{Fe(OH)}_3 + \text{N}_2 + 10\text{H}^+$	[88-89]
Feammox	$3\text{Fe(OH)}_3 + 5\text{H}^+ + \text{NH}_4^+ \rightarrow 3\text{Fe}^{2+} + 9\text{H}_2\text{O} + 0.5\text{N}_2$	[87,90]
	$6\text{Fe(OH)}_3 + 10\text{H}^+ + \text{NH}_4^+ \rightarrow 6\text{Fe}^{2+} + 16\text{H}_2\text{O} + \text{NO}_2^-$	[90]
	$8\text{Fe(OH)}_3 + 14\text{H}^+ + \text{NH}_4^+ \rightarrow 8\text{Fe}^{2+} + 21\text{H}_2\text{O} + \text{NO}_3^-$	[87]
DNRA	$2\text{Fe}^{2+} + \text{NO}_3^- + 3\text{H}_2\text{O} \rightarrow 2\text{FeOOH} + \text{NO}_2^- + 4\text{H}^+$	[17]
	$6\text{Fe}^{2+} + \text{NO}_2^- + 10\text{H}_2\text{O} \rightarrow 6\text{FeOOH} + \text{NH}_4^+ + 10\text{H}^+$	[17]
Denitrification	$2\text{NO}_3^- + 12\text{H}^+ + 10\text{e}^- \rightarrow \text{N}_2 + 6\text{H}_2\text{O}$	[87]
	$2\text{NO}_2^- + 8\text{H}^+ + 6\text{e}^- \rightarrow \text{N}_2 + 4\text{H}_2\text{O}$	[90]

发生 NDFO 反应^[10,13], 实现 anammox 出水中 NO_3^- 的去除。研究表明, 50 mmol/L 水铁矿可以促进废水厌氧脱氮, NRE 在 63 d 达到 69.5%, 相比对照组提高了 33.9%, 而且体系中同时存在着 NDFO 和 feammox 反应, 63 d 的实验周期内, Fe(II)和 Fe(III)含量存在波动, 较对照组提升近 10 倍; 反应结束后, 水铁矿部分转化为磁铁矿和赤铁矿^[81]。有学者进一步考察铁矿物强化 anammox 技术应用于处理高氨氮废水(500 mg/L)的可能性, 比较 2 mmol/L 的赤铁矿、磁铁矿、 $\text{Fe}(\text{OH})_3$ 、柠檬酸铁和黄铁矿 5 种铁化合物对 anammox 系统脱氮效能的影响, 发现赤铁矿、 $\text{Fe}(\text{OH})_3$ 和黄铁矿可以提升 anammox 系统的脱氮效能, 其中以赤铁矿的促进效果最为显著, 总氮去除速率高达 62.3 g-N/(m³·d), 氨氮去除率增加 11.0%, 高于其他铁化合物; 而且体系中 Fe(III)的溶出伴随着 NH_4^+ 的去除, NH_4^+ 的去除率在一定范围内随着 Fe(III)溶出量的增加而提高, 表明 feammox 反应的存在^[38]。然而反应过程中 Fe(II)的浓度存在波动, 并且 Fe(II)实际溶出值[(16.0±2.4) mg/L]低于 Fe(II)的理论溶出值, 表明体系中存在着 Fe(III)的还原和 Fe(II)的氧化, 即体系中同时存在 NDFO 和 feammox 过程^[38]。

虽然目前仍未有研究报道铁矿物介导的 anammox 系统中 DNRA 和反硝化过程的存在, 但从系统 pH、ORP、微生物群落组成等角度来判断, DNRA 和反硝化过程是存在发生潜能的^[94,95]。Li 等^[17]也报道 Fe(II)有助于刺激 anammox 系统中 DNRA 和反硝化过程的进行, 促进脱氮效能的提升。但如何促使铁矿物介导 anammox 系统中存在的多途径(anammox、feammox、NDFO、DNRA 和反硝化)协同脱氮仍需进一步的研究。

3 铁矿物对 anammox 系统污泥特性的影响

活性污泥是微生物聚集和生长的场所, 适量铁矿物的投加及利用, 可以促进 anammox 系统污泥浓度、血红素 c 含量、胞外聚合物(extracellular polymeric substance, EPS)含量和颗粒化程度等方面的增长, 进而改善污泥的稳定性, 促进微生物的代谢和活性^[65,71], 为铁矿物对系统脱氮效能的强化机制提供污泥特性方面的解释。然而过量的铁矿物通常会破坏污泥的稳定性, 扰乱微生物的正常新陈代谢, 不利于 anammox 系统的长期稳定运行^[35,68]。

3.1 污泥浓度

铁矿物的投加有助于促进污泥浓度的增长。污泥浓度可以表征污泥中有机物和生物质的含量^[96], 反映 anammox 过程快慢的潜力大小^[65,97]。研究表明, 在投加 0–200 mg/L 纳米磁铁矿时, anammox 系统悬浮固体(suspended solids, SS)和挥发性悬浮固体(volatil suspended solids, VSS)浓度随着纳米磁铁矿投加量的增加而增大; 当投加量达到 200 mg/L 时, SS 和 VSS 分别增加 6.1 g/L 和 14.4 g/L, 增长 16.5%和 66.7%^[65]。

一定投加量范围内的铁矿物同样有助于微生物的增殖, 增强污泥活性, 加速脱氮过程的进行。挥发性悬浮固体与悬浮固体浓度之比(VSS/SS)可以表征污泥中活性生物量, 比值越高, 生物质百分比含量越高, 污泥活性随之越高^[98]。研究表明, 当纳米磁铁矿投加范围为 0–30 mg/L 时, VSS/SS 比值由 58.6%逐渐增至 83.0%, 接近于高负荷反应条件下的比值(85.0%)^[99], 污泥沉降性增强; 继续增大投加量, VSS/SS 比值几乎不再增长, 污泥沉降性变化较小^[65]。Ni 等^[70]的研究结果也显示, 在 0–50 mg/L 的范围内, VSS/SS 比值随着纳米磁铁矿投加量

的增大而增大, 污泥体积指数随之降低, 污泥沉降性增强。

3.2 血红素 c 含量

血红素是一种铁卟啉化合物, 参与构成 anammox 菌胞内近 20.0% 的细胞蛋白^[100]。其中类型之一的血红素 c 是 anammox 菌功能代谢蛋白中极其重要的辅助因子, 与 SAA 及颗粒颜色密切相关^[101-102]。同时, 血红素 c 与蛋白质骨架共价结合形成的细胞色素 c 大多充当电子载体, 参与 Fe(II) 的氧化和 Fe(III) 的还原^[102-103], 在电子转移过程中发挥着重要作用^[104-105]。因此, 血红素 c 含量可以作为表征 anammox 性能和 anammox 菌代谢状态的良好指标^[106-107]。Fe 是参与血红素 c 合成的重要元素, Fe(II) 是构成血红素 c 活性区域的重要组成部分^[2]。

研究证实, 铁矿物的投加可以为血红素 c 的合成提供铁元素, 提高 anammox 菌血红素 c 的含量, 增强 anammox 活性, 强化脱氮效能^[65,71]。据报道, 血红素 c 的含量与纳米磁铁矿的投加量存在显著相关性 ($P < 0.01$), 血红素 c 的含量随着纳米磁铁矿投加量的增加而增加^[65]。低投加量的纳米磁铁矿对血红素 c 含量的促进效果较差, 但当磁铁矿投加量达到 200 mg/L 时, 血红素 c 含量显著升高, 高达 $(2.67 \pm 0.05) \mu\text{mol/g-VSS}$, 相较对照组增加 66.9%^[65]。

3.3 污泥胞外聚合物含量

胞外聚合物 (EPS) 是 anammox 颗粒的重要组成部分, 对颗粒结构的完整性和微生物的代谢具有关键作用^[108-109], 可使颗粒更加致密^[110], 同时通过离子架桥、疏水聚合等方式增强微生物细胞之间的相互作用^[1], 促进污泥颗粒化, 被认为是影响富集 anammox 菌的重要因素^[111]。铁矿物对 EPS 含量的影响可能是由于铁矿物中的 Fe(II) 和 Fe(III) 带正电, 而 anammox 菌本身带负电, 两者相互吸引, anammox 菌容易聚集

在 Fe(II) 和 Fe(III) 周围形成菌胶团, 有利于提高 EPS 含量和污泥沉降性^[112]。适度剂量铁矿物的投加可以显著提升颗粒 EPS 含量。研究表明, 当纳米磁铁矿投加量低于 10 mg/L 时, EPS 含量随投加量的增加而略微减少; 当纳米磁铁矿投加量继续增加, EPS 含量随投加量的增加而显著增加, 200 mg/L 时 EPS 含量增加 72.7%, 高达 $(232.1 \pm 8.0) \text{mg/g-VSS}$ ^[65]。类似地, 投加 10 mg/L 的纳米磁赤铁矿体系中, EPS 含量为 $(196.5 \pm 12.6) \text{mg/g-VSS}$, 无明显提升; 而投加 200 mg/L 的纳米磁赤铁矿时, EPS 含量增至 $(272.6 \pm 16.7) \text{mg/g-VSS}$, 增长 46.2%^[39]。

铁矿物的投加也会改变 EPS 的组成, 影响污泥沉降性。多糖 (polysaccharides, PS) 和蛋白质 (protein, PN) 作为 EPS 的主要成分, 决定了颗粒污泥的理化性质和生物学性质^[113], PN/PS 比值可以反映污泥的沉降性能, 比值越高则污泥的沉降性越好^[111,114]。研究表明, 当磁赤铁矿投加量为 200 mg/L 时, 随着培养时间的延长, EPS 含量逐渐增加, 并且增加速率逐步提高, 130 d 时可达到 272.6mg/g-VSS , 增长 46.2%, 同时 PN/PS 值逐渐增至 13.7, 污泥沉降性显著升高^[39]。而在加入 5 mmol/L 水铁矿和磁铁矿的 anammox 系统中, 虽然 anammox 颗粒 EPS 的含量无明显提升, 但可以通过促进疏水性蛋白质的生成 (PN 占比分别达到 71.3% 和 64.8%), 提高 PN/PS 比值, 改善表面黏附性, 促进 anammox 菌的显著聚集^[95,115], 提高污泥沉降性。也有学者认为, 低剂量的纳米磁铁矿 (0–10 mg/L) 对体系污泥的沉降性影响较小, PN/PS 比值略有降低; 较高剂量的纳米磁铁矿 (10–60 mg/L) 有助于提高 PN/PS 比值, 并且体系中 PN/PS 比值随着投加量的增大而增加, 污泥沉降性显著增强, 60 mg/L 时, PN/PS 比值达到 8.0, 增长 20.0%; 而过高剂量的纳米磁铁矿 (60–200 mg/L) 虽然可

以提高体系污泥的沉降性, 但 PN/PS 比值随着投加量的增大而降低, 不利于体系的长期稳定运行^[65]。

3.4 污泥颗粒化程度

铁矿物中的 Fe(II)、Fe(III)与带负电荷的微生物相互吸引形成菌胶团, 有助于促进颗粒化的形成^[35]。同时, 铁矿物可作为微生物附着的载体, 促进 EPS 含量的增加, 有助于将铁矿物与微生物、微生物与微生物之间聚集联系起来^[68], 增强颗粒的稳定性, 形成致密结合体^[116-117]。

研究表明, 在投加 5 mmol/L 水铁矿和磁铁矿的 anammox 系统中, 形成的颗粒污泥粒径更大、颜色更红, 颗粒粒径峰值分别可以达到 1 260 μm 和 1 110 μm , 而且粒径 > 2 mm 的大颗粒比例分别增加 11.0% 和 7.0%^[115]。另有研究对比零价铁和磁铁矿对 anammox 系统污泥颗粒化程度的影响, 发现在无外加物的体系中, 经过 72 d 的培养, 颗粒平均粒径由 178.6 μm 逐渐增大为 602.8 μm ; 在投加 750 mg/L 零价铁的体系中, 39 d 时颗粒平均粒径便达到 417.3 μm , 随后由于 Fe(OH)₃ 沉淀的形成, 降低了体系中 Fe(III) 的浓度, 影响微生物与 Fe(III) 的结合, 阻碍了颗粒化的形成, 72 d 时颗粒平均粒径反而降为 366.3 μm ; 而在投加 1 000 mg/L 磁铁矿的体系中, 由于 Fe₃O₄ 的电离速率较慢, 39 d 时的颗粒平均粒径仅为 294.1 μm , 随后颗粒化进程加快, 72 d 时达到 988.5 μm , 最高可达 1 593.6 μm ^[71]。相较于其他两组, 在投加磁铁矿的体系长期运行条件下, 颗粒化程度及 anammox 性能得到积极影响, 可能源于其良好的生物相容性^[39, 118]和磁诱导生物效应^[68, 70]。但投加过量铁矿物易导致 EPS 含量增加过量, 使颗粒过于紧密牢固, 影响营养物质的进入和内部代谢产物的排泄, 扰乱微生物的正常新陈代谢, 长期运行反而易导致颗粒解体为絮体^[119-120]; 同时颗粒过于紧密

牢固, 也会导致颗粒内部产生的 N₂ 无法及时排放, 一旦内部压力达到临界值, 颗粒就会因承受不住高压而破碎^[121], 继而影响脱氮效能。

4 铁矿物对 anammox 系统微生物特征及酶活性的影响机制

微生物是 anammox 系统脱氮的主要参与者和贡献者, 通过探究铁矿物对 anammox 系统微生物特征及酶活性的影响, 可为解析铁矿物强化系统脱氮效能机理提供理论依据。研究表明, 铁矿物有助于促进 anammox 系统中 anammox 菌和铁还原菌的富集, 提高 anammox 和反硝化等过程相关的基因丰度, 增强相关酶活性, 最终实现 anammox 系统脱氮效能的宏观强化^[115, 122]。

4.1 微生物群落多样性

如图 3 所示, anammox 菌、铁还原菌等功能微生物由于铁矿物的强化作用, 其竞争力得到增强, 在 anammox 系统中逐渐占据主导地位, 这可能会导致 anammox 系统的微生物群落多样性降低。研究表明, 在外加 50 mg/L 磁铁矿的 anammox 系统中, 随着培养时间的延长, 体系中 anammox 菌逐渐成为优势种属, 香农(Shannon)指数和辛普森(Simpson)指数分别由 6.95 和 0.966 降为 6.24 和 0.958, 显示出较低的微生物群落多样性^[122]。类似地, 在投加 12 mmol/L 水铁矿或针铁矿的体系中, 微生物群落多样性随培养时间延长而下降, 并且 *Planctomycetes* anammox 菌的丰度经短暂上升后逐渐下降, 体系中以 *Acidimicrobiaceae* 铁还原菌和 *Rhodocyclaceae* 反硝化菌为主, 显示出 Feammox 活性^[40]。然而也有学者发现, 高投加量的铁矿物有助于微生物群落多样性的增加, 而低投加量的铁矿物则会降低微生物群落的多样性^[123]。通过将 1 mg/L 纳米磁铁矿添加至 anammox 系统, 铁还原菌的

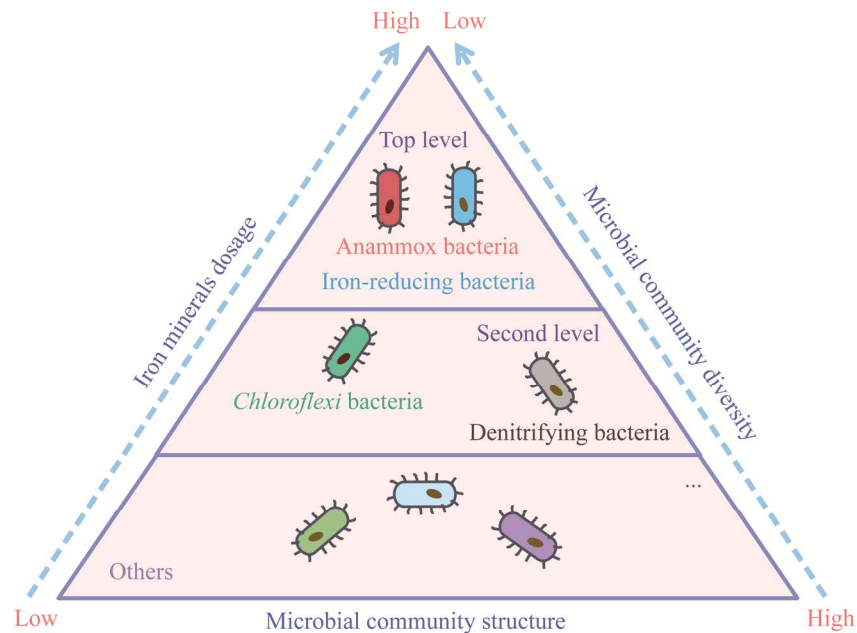


图3 铁矿物对 anammox 系统微生物群落结构及多样性的影响^[115,123]

Figure 3 Effect of iron minerals on microbial community structure and diversity of the anammox system^[115,123].

生长得到促进,并逐渐成为体系中的优势物种,其他微生物种类较少,呈现出较低的微生物群落多样性;但将纳米磁铁矿投加量提升至 10 mg/L, anammox 菌和铁还原菌的丰度增加,体系中其他微生物的代谢也得以强化,呈现出丰富的微生物群落多样性^[123]。

4.2 微生物群落结构演替

总结相关研究发现, anammox 系统的微生物群落组成虽然受投加铁矿物种类和投加量影响,但主要的群落结构大体一致(图 3)。铁矿物强化 anammox 系统在门水平上可观察到数十种细菌门,其中主要以 *Planctomycetes*、*Proteobacteria*、*Chloroflexi* 和 *Parcubacteria* 为主^[115,123]。现阶段发现的 anammox 菌基本属于 *Planctomycetes*^[67]; *Proteobacteria* 包含很多常见的反硝化菌和铁还原菌^[35],对于铁循环的存在发挥着重要作用;作为典型的兼性厌氧微生物, *Chloroflexi* 是 anammox 菌重要的共生微生物之一,有助于促

进菌种的聚集,并充当 anammox 颗粒的支撑载体^[116]。据报道,投加 5 mmol/L 的水铁矿和磁铁矿后, anammox 系统中 *Planctomycetes* 丰度分别增加 8.0%和 5.4%, *Chloroflexi* 的丰度则均降低 9.0%左右^[115]。但也有研究显示,投加 1 mg/L 纳米磁铁矿的 anammox 系统中, *Proteobacteria* 丰度增加 23.6%,而 *Planctomycetes* 和 *Parcubacteria* 丰度分别降低 8.8%和 2.2%;投加 10 mg/L 纳米磁铁矿的体系中则观察到相反的现象, *Proteobacteria* 丰度降低 17.8%,而 *Planctomycetes* 和 *Parcubacteria* 丰度分别增加 6.0%和 24.8%^[123]。

基于属水平的分析发现,铁矿物的投加可提升 anammox 系统中 anammox 菌和铁还原菌的丰度。据报道,投加 5 mmol/L 的水铁矿和磁铁矿体系中, anammox 菌(包括 *Candidatus Jettenia* 和 *Candidatus Brocadia*)的丰度分别增加 18.4%和 8.9%^[115]。在加入 200 mg/L 纳米磁赤铁矿的 anammox 系统中也观察到类似现象, anammox

菌 *Candidatus* *Kuenenia* 丰度增加 11.6%。进一步采用荧光原位杂交技术 (fluorescence *in situ* hybridization, FISH) 发现, anammox 菌可在外加 50 mg/L 磁铁矿的反应体系中逐渐成为优势种属, 丰度可达细菌总数的 58.9%; 实时定量 PCR 结果同样证明了磁铁矿对 anammox 菌的强化作用, 细菌拷贝数由 $(1.810 \pm 0.004) \times 10^8 / \text{ng-DNA}$ 提升至 $(2.440 \pm 0.004) \times 10^8 / \text{ng-DNA}$ ^[39,122]; 而向 anammox 系统中加入 4 mmol/L 的水铁矿, *Geobacter*、*Pseudomonas*、*Clostridium*、*Bacillus*、*Thiobacillus* 等铁还原菌得到显著富集, 丰度高达细菌总数的 60.0% 以上, 与 anammox 反应相关的 *Candidatus* *Brocadiaceae*、*Ca. Brocadia*、*Ca. Kuenenia* 和 *Ca. Jettenia* 等细菌的相对丰度则较低, 但与 N₂ 的生成显著相关 ($P < 0.05$)^[73,122]。同时也有研究结果显示, 在投加 1 mg/L 纳米磁铁矿体系中, 具备 Fe(III) 还原能力的 *Desulfovermiculus*、*Oceanibaculum*、*Citrobacter* 等细菌的丰度分别增加 0.9%、0.8% 和 1.1%; 而投加 10 mg/L 的纳米磁铁矿体系中, 与 anammox 相关的菌属 *Candidatus* *Anammoxoglobus* 和 *Parcubacteria* _

genera incertae sedis 的细菌丰度分别显著增加了 9.7% 和 24.7%^[123]。

总而言之, 铁矿物的投加对 anammox 系统的群落结构影响显著, 在影响微生物群落多样性的同时, anammox 菌和铁还原菌得到显著富集, 逐渐成为体系的优势物种, 强化 anammox 过程, 并且还能诱导 Fe(III) 的还原与 NH₄⁺ 的氧化相耦合, 提高 anammox 系统的脱氮效能^[35]。

4.3 功能基因丰度

Anammox 系统中氮转化相关的反应过程及其功能基因如表 3 所示。研究表明, 铁矿物的投加会显著影响 anammox 系统中与氮元素转化相关功能基因的丰度。

铁矿物的投加会影响 anammox 菌功能基因的丰度。研究表明, 相较于无外加物的对照组, 在 anammox 系统中投加 5 mmol/L 水铁矿和磁铁矿, *hdh* 基因相对丰度分别降低了 43.0% 和 65.0%, 表明 anammox 菌对铁矿物的利用度较为有限; 但 *hzs* 基因相对丰度分别增加了 30.0% 和 49.0%, 有助于削弱 *hdh* 基因下调带来的影响, 系统整体脱氮效能依旧得到强化^[115]。

表 3 Anammox 系统中功能基因及其编码酶参与的反应^[115,124]

Table 3 The functional genes and their coding enzymes involved reactions in the anammox system^[115,124]

Nitrogen conversion	Functional genes	Metabolic enzymes	Reaction processes
Anammox	<i>nxrA</i>	Nitrite oxidoreductase (Nxr)	$\text{NO}_2^- + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{NO}_3^- + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^-$
	<i>nirS</i> , <i>nirK</i>	Nitrite reductase (Nir)	$\text{NO}_2^- + 2\text{H}^+ + \text{e}^- \rightarrow \text{NO} + \text{H}_2\text{O}$
	<i>hzsA</i> , <i>hzsB</i> , <i>hzsC</i>	Hydrazine synthetase (Hzs)	$\text{NH}_4^+ + \text{NO} + 2\text{H}^+ + 3\text{e}^- \rightarrow \text{N}_2\text{H}_4 + \text{H}_2\text{O}$
	<i>hdh</i>	Hydrazine dehydrogenase (Hdh)	$\text{N}_2\text{H}_4 \rightarrow \text{N}_2 + 4\text{H}^+ + 4\text{e}^-$
Nitrification	<i>amoA</i>	Ammonia monooxygenase (Amo)	$\text{NH}_4^+ + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{NH}_2\text{OH} + 3\text{H}^+ + 2\text{e}^-$
	<i>hao</i>	Hydroxylamine oxidoreductase (Hao)	$\text{NH}_2\text{OH} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{NO}_2^- + 5\text{H}^+ + 4\text{e}^-$
	<i>nxrA</i>	Nitrite oxidoreductase (Nxr)	$\text{NO}_2^- + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{NO}_3^- + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^-$
Denitrification	<i>narG</i> , <i>narH</i> , <i>narJ</i> , <i>narI</i>	Nitrate reductase (Nar)	$\text{NO}_3^- + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow \text{NO}_2^- + \text{H}_2\text{O}$
	<i>nirS</i> , <i>nirK</i>	Nitrite reductase (Nir)	$\text{NO}_2^- + 2\text{H}^+ + \text{e}^- \rightarrow \text{NO} + \text{H}_2\text{O}$
	<i>norB</i>	Nitric oxide reductase (Nor)	$2\text{NO} + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow \text{N}_2\text{O} + \text{H}_2\text{O}$
	<i>nosZ</i>	Nitrous oxide reductase (Nos)	$\text{N}_2\text{O} + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow \text{N}_2 + \text{H}_2\text{O}$
DNRA	<i>napA</i> , <i>napB</i>	Periplasmic nitrate reductase (Nap)	$\text{NO}_3^- + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow \text{NO}_2^- + \text{H}_2\text{O}$
	<i>nrfA</i>	Cytochrome c nitrite reductase (Nrf)	$\text{NO}_2^- + 8\text{H}^+ + 6\text{e}^- \rightarrow \text{NH}_4^+ + 2\text{H}_2\text{O}$

同时, 铁矿物的投加也会影响体系中反硝化相关基因(*narG*、*nirS*、*norB* 和 *nosZ*)和硝化相关基因(*amoA*、*hao* 和 *nxrA*)等的丰度。研究表明, 在投加 4 mmol/L 水铁矿的 anammox 系统中, 反硝化基因的拷贝数快速增加, 12 d 后 *nirS* 和 *nosZ* 的拷贝数分别达到 1.26×10^7 和 2.62×10^7 , 高于 *hzsB* 基因的 7.36×10^6 ^[73], 促进体系 anammox 过程与反硝化过程相耦合协同脱氮。据报道, 在投加 12 mmol/L 水铁矿和针铁矿的体系中, 反硝化基因拷贝数得到增加, 协同参与体系的脱氮过程^[40]。类似地, anammox 系统中加入 50 mg/L 磁铁矿有助于反硝化基因的上调, 与 NO_2^- 还原为 NO 过程相关的 *nirK* 和 *nirS* 基因拷贝数分别由 $(1.14 \pm 0.58) \times 10^6/\text{ng-DNA}$ 和 $(8.60 \pm 0.63) \times 10^6/\text{ng-DNA}$ 增至 $(2.70 \pm 0.76) \times 10^7/\text{ng-DNA}$ 和 $(5.73 \pm 0.26) \times 10^7/\text{ng-DNA}$, 分别增加 23.9% 和 51.6%^[122]。与反硝化基因不同, anammox 系统中硝化基因(*amoA*、*hao* 和 *nxrA*)则会受厌氧环境及体系中 Fe(III)/Fe(II)循环的影响而下调, 90 d 后投加 12 mmol/L 水铁矿和针铁矿的体系中 Feammox 反应占主导地位, 几乎未检测到 *amoA* 基因的存在^[40]。此外, DNRA 过程的标记功能基因 *napA*、*napB* 和 *nrfA* 则基本不受铁矿物的影响^[115]。

另一方面, 铁矿物也会影响微生物其他代谢活动相关的基因丰度。例如, 纳米磁铁矿(1 mg/L)可以促进微生物的生长, 与复制、重组、修复和信号传导相关的基因丰度显著增加, 而与细胞运动相关的基因丰度则降至 2.4%, 这可能因为 anammox 菌更倾向于吸附在铁矿物表面发挥脱氮效能^[90,125]。同时, 铁矿物的投加还可以促进铁还原菌对铁的需求, 在 1 mg/L 投加量情况下, 编码无机离子、脂质等转运和代谢的基因丰度增至 5.3%和 3.5%; 而在 10 mg/L 投加量情况下,

相关功能基因下调, 以防止铁元素在细胞内过量积累^[126-127], 这些结果为不同铁矿物投加量情况下微生物群落的自适应性提供了可能的解释^[123]。

4.4 酶活性

如图 4 所示, anammox 过程包括^[115,124]: (1) NO_2^- 在亚硝酸盐还原酶(nitrite reductase, Nir)作用下还原为中间产物 NO; (2) 少部分 NO_2^- 在亚硝酸盐氧化酶(nitrite oxidoreductase, Nxr)作用下氧化为 NO_3^- ; (3) 联氨合成酶(Hzs)催化 NO 与 NH_4^+ 生成 N_2H_4 ; (4) N_2H_4 被联氨脱氢酶(Hdh)氧化为 N_2 。

铁矿物可以促进电子转移, 并且增加细胞内的 Fe(II)浓度, 为含铁酶的合成提供充足的铁元素, 具有增强酶活性的潜能^[92,128]。例如, Ni 等^[70]发现, 长期实验条件下纳米磁铁矿(50 mg/L)有助于促进 Nir 相对活性增加 27.0%。然而也有研究发现, 长期暴露于纳米磁铁矿环境下, 参与 anammox 过程的 Nir 活性无明显变化, 而 Hdh 活性则显著降低, 但投加量的增大有助于削弱这种影响, 在 1 mg/L 和 10 mg/L 纳米磁铁矿作用下, Hdh 活性分别降低 77.0%和 27.0%^[123], 而微生物代谢稳定且正常, 氮的去除并不受影响, 这可能是因为磁铁矿刺激了其他特异性酶的活性^[129]。同时细胞外乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)水平基本不变, 表明纳米磁铁矿并不影响细胞完整性; 而活性氧簇(reactive oxygen species, ROS)水平甚至分别增加了 121.0%和 748.0%^[123], 可能破坏 anammox 菌体内的氧化还原平衡, 影响正常的代谢过程^[41,130-131]。以上现象推测归结于体系中 Feammox 过程得到增强, 弥补了 anammox 过程受到抑制的不足^[123]。综上所述, 铁矿物对 anammox 菌酶活性的影响较为复杂, 目前相关研究也不多, 有待进一步研究。

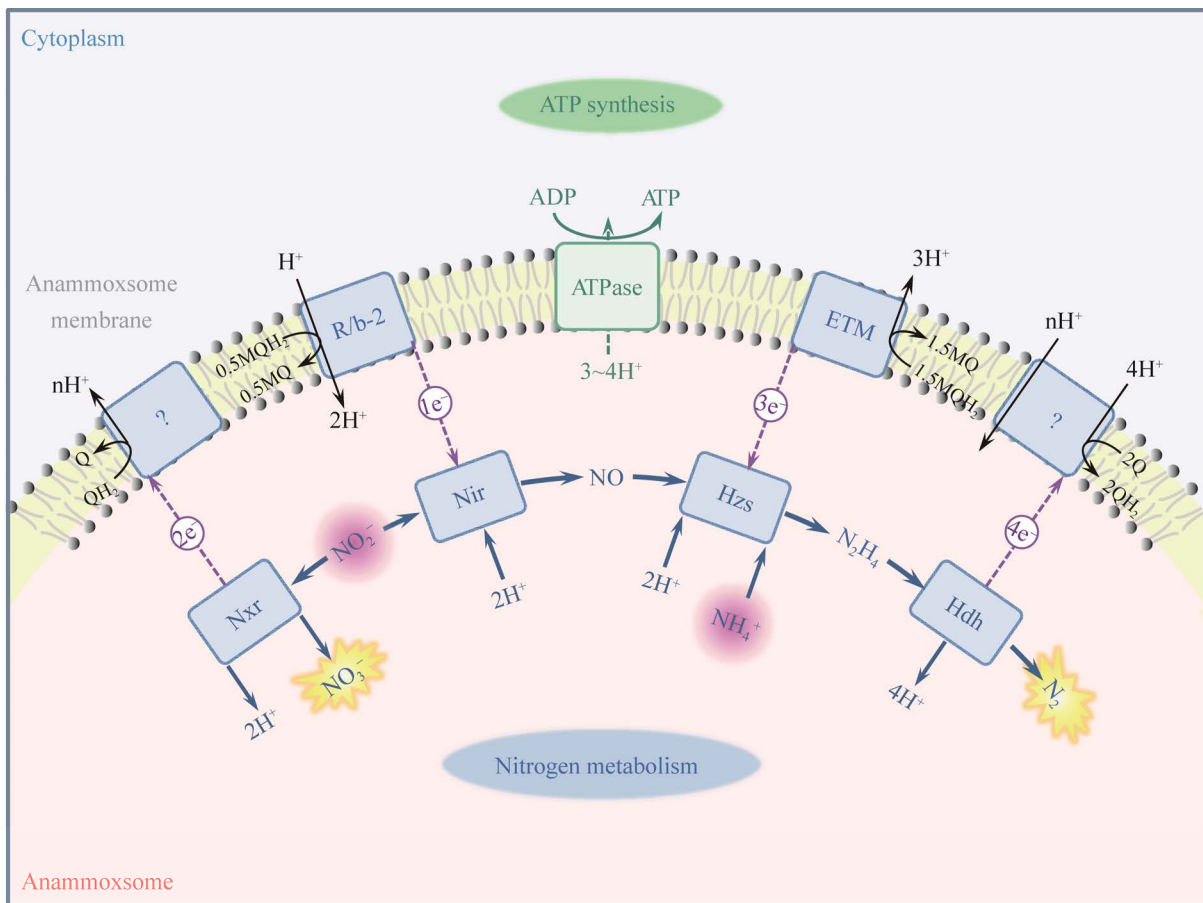


图4 Anammox 菌的分解代谢模型^[30] Nxr: 亚硝酸盐氧化酶; Nir: 亚硝酸盐还原酶; Hzs: 联氨合成酶; Hdh: 联氨脱氢酶; ○: 假定的细胞色素 c 蛋白及转移的电子数; ⊙: 假定的还原性细胞色素; R/b-2: 一种 Rieske-血红素 b 复合体; ETM: 电子传递模块; ATPase: 三磷酸腺苷(ATP)合成酶
Figure 4 Catabolism model of anammox bacteria^[30]. Nxr: Nitrite oxidoreductase; Nir: Nitrite reductase; Hzs: Hydrazine synthetase; Hdh: Hydrazine dehydrogenase; ○: Assumed cytochrome c protein and number of transferred electrons; ⊙: Assumed reductive cytochrome; R/b-2: Rieske-heme b complexes; ETM: Electron transfer module; ATPase: Adenosine triphosphate (ATP) synthetase.

5 总结和展望

本文基于铁矿物在促进污水生物脱氮方面的良好性能, 综述了常见的铁矿物对 anammox 系统的影响及其自身变化, 通过脱氮效率、厌氧氨氧化活性和氮素反应计量比揭示系统的宏观脱氮效能, 基于污泥浓度、血红素 c 含量、EPS 含量和颗粒化程度的变化, 阐明铁矿物对系统污泥特性的影响, 又深入分析了微生物群

落多样性、群落结构演替、功能基因丰度和酶活性的变化, 以剖析可能的微生物作用机制, 为铁矿物强化 anammox 系统的应用提供理论和技术指导。

铁矿物不仅可以促进铁还原菌的生长, 实现 anammox 与 Fe(III)还原过程的耦合, 同时还可以通过影响污泥性能, 增强颗粒污泥的稳定性, 多方面强化 anammox 系统的脱氮效能。然而目前尚存在着几点问题亟待解决, 主要包括:

(1) 铁矿物对 anammox 系统的强化作用机制缺乏关键性和规律性的数据支撑。适量铁矿物的投加有助于实现 anammox 系统脱氮效能的提升, 但 anammox 系统中铁矿物的种类、投加量和粒径等条件对强化过程的影响机制仍需研究, 而且强化过程中 anammox、NDFO、feammox、DNRA 和反硝化等过程的贡献率需进一步明晰, 从而实现铁矿物性质、微生物群落特征和反应过程与脱氮效能的精准关联, 为后续工程应用提供理论与技术指导。

(2) Anammox 菌对铁矿物的利用及铁元素的吸收、转运机制尚不明晰, 值得进一步研究。Anammox 菌具有编码转运蛋白 Feo B 的基因, 但完整的铁吸收转运途径仍不清晰, 后续研究可以将同位素标记法与蛋白组学、代谢组学结合起来, 探究 anammox 菌体外吸收铁和体内转运铁的具体途径, 阐明其中的铁还原和氧化途径, 以及相应的转运蛋白, 为解读 anammox 菌如何摄取利用铁元素提供重要的数据支撑。

(3) Anammox 菌对铁矿物的利用能力不足, 如何提升 anammox 菌对铁矿物的利用能力成为潜在问题。Anammox 菌缺乏有效转运 Fe(III) 的铁载体蛋白编码基因, 对 Fe(III) 的摄取能力略显不足。目前主要认为 anammox 菌是通过体外将 Fe(III) 还原为 Fe(II) 再摄取到细胞内进行利用。因此, 是否可以通过外加铁载体强化 anammox 菌摄取铁的能力值得进一步挖掘。

REFERENCES

- [1] Zhang XJ, Zhou Y, Zhao SY, Zhang RR, Peng ZX, Zhai HF, Zhang HZ. Effect of Fe(II) in low-nitrogen sewage on the reactor performance and microbial community of an anammox biofilter[J]. *Chemosphere*, 2018, 200: 412-418
- [2] Schalk J, De Vries S, Kuenen JG, Jetten MS. Involvement of a novel hydroxylamine oxidoreductase in anaerobic ammonium oxidation[J]. *Biochemistry*, 2000, 39(18): 5405-5412
- [3] Van Niftrik L, Geerts WJC, Van Donselaar EG, Humbel BM, Yakushevska A, Verkleij AJ, Jetten MSM, Strous M. Combined structural and chemical analysis of the anammoxosome: a membrane-bounded intracytoplasmic compartment in anammox bacteria[J]. *Journal of Structural Biology*, 2008, 161(3): 401-410
- [4] Wang ZB, Liu XL, Ni SQ, Zhuang XM, Lee T. Nano zero-valent iron improves anammox activity by promoting the activity of quorum sensing system[J]. *Water Research*, 2021, 202: 117491
- [5] Bao P, Li GX. Sulfur-driven iron reduction coupled to anaerobic ammonium oxidation[J]. *Environmental Science & Technology*, 2017, 51(12): 6691-6698
- [6] Wang R, Yang C, Zhang M, Xu SY, Dai CL, Liang LY, Zhao HP, Zheng P. Chemoautotrophic denitrification based on ferrous iron oxidation: reactor performance and sludge characteristics[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2017, 313: 693-701
- [7] Straub KL, Benz M, Schink B, Widdel F. Anaerobic, nitrate-dependent microbial oxidation of ferrous iron[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1996, 62(4): 1458-1460
- [8] Sawayama S. Possibility of anoxic ferric ammonium oxidation[J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2006, 101(1): 70-72
- [9] Robertson EK, Roberts KL, Burdorf LDW, Cook P, Thamdrup B. Dissimilatory nitrate reduction to ammonium coupled to Fe(II) oxidation in sediments of a periodically hypoxic estuary[J]. *Limnology and Oceanography*, 2016, 61(1): 365-381
- [10] Li XF, Hou LJ, Liu M, Zheng YL, Yin GY, Lin XB, Cheng L, Li Y, Hu XT. Evidence of nitrogen loss from anaerobic ammonium oxidation coupled with ferric iron reduction in an intertidal wetland[J]. *Environmental Science & Technology*, 2015, 49(19): 11560-11568
- [11] Rahman MM, Roberts KL, Grace MR, Kessler AJ, Cook PLM. Role of organic carbon, nitrate and ferrous iron on the partitioning between denitrification and DNRA in constructed stormwater urban wetlands[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 666: 608-617
- [12] Rowe AR, Chellamuthu P, Lam B, Okamoto A, Nealson KH. Marine sediments microbes capable of electrode oxidation as a surrogate for lithotrophic insoluble substrate metabolism[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2015, 5: 784
- [13] Croot PL, Heller MI, Wuttig K. Redox processes impacting the flux of iron(II) from shelf sediments to

- the OMZ along the Peruvian shelf[J]. *ACS Earth and Space Chemistry*, 2019, 3(4): 537-549
- [14] 李义纯, 李永涛, 李林峰, 唐明灯, 王艳红, 艾绍英. 水稻土中铁-氮循环耦合体系影响镉活性机理研究[J]. *环境科学学报*, 2018, 38(1): 328-335
Li YC, Li YT, Li LF, Tang MD, Wang YH, Ai SY. Mechanisms of the iron-nitrogen coupled cycles controlling variations of cadmium activity in paddy soil[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2018, 38(1): 328-335 (in Chinese)
- [15] Li H, Su JQ, Yang XR, Zhou GW, Lassen SB, Zhu YG. RNA stable isotope probing of potential Feammox population in paddy soil[J]. *Environmental Science & Technology*, 2019, 53(9): 4841-4849
- [16] Ding BJ, Qin YB, Luo WQ, Li ZK. Spatial and seasonal distributions of Feammox from ecosystem habitats in the Wanshan region of the Taihu watershed, China[J]. *Chemosphere*, 2020, 239: 124742
- [17] Li SJ, Liao YH, Pang YM, Dong XL, Strous M, Ji GD. Denitrification and dissimilatory nitrate reduction to ammonia in long-term lake sediment microcosms with iron(II)[J]. *Science of the Total Environment*, 2022, 807: 150835
- [18] Kuypers MMM, Marchant HK, Kartal B. The microbial nitrogen-cycling network[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2018, 16(5): 263-276
- [19] 杜林竹, 艾胜书, 刘轩彤, 王帆, 曲红, 边德军. 城市污水处理新型生物脱氮除磷技术研究进展[J]. *净水技术*, 2021, 40(11): 28-34
Du LZ, Ai SS, Liu XT, Wang F, Qu H, Bian DJ. Research progress on novel biological denitrification and dephosphorization technology for urban wastewater treatment[J]. *Water Purification Technology*, 2021, 40(11): 28-34 (in Chinese)
- [20] Presura E, Robescu LD. Energy use and carbon footprint for potable water and wastewater treatment[J]. *Proceedings of the International Conference on Business Excellence*, 2017, 11(1): 191-198
- [21] 杨庆, 王亚鑫, 曹效鑫, 刘秀红, 章世勇. 污水处理碳中和运行技术研究进展[J]. *北京工业大学学报*, 2022, 48(3): 292-305
Yang Q, Wang YX, Cao XX, Liu XH, Zhang SY. Research progress of carbon neutrality operation technology in sewage treatment[J]. *Journal of Beijing University of Technology*, 2022, 48(3): 292-305 (in Chinese)
- [22] Jiang Y, Xi BD, Li R, Li MX, Xu Z, Yang YN, Gao SB. Advances in Fe(III) bioreduction and its application prospect for groundwater remediation: a review[J]. *Frontiers of Environmental Science & Engineering*, 2019, 13(6): 1-11
- [23] Bar-Or I, Elvert M, Eckert W, Kushmaro A, Vigderovich H, Zhu QZ, Ben-Dov E, Sivan O. Iron-coupled anaerobic oxidation of methane performed by a mixed bacterial-archaeal community based on poorly reactive minerals[J]. *Environmental Science & Technology*, 2017, 51(21): 12293-12301
- [24] Yan WW, Mukherjee M, Zhou Y. Direct interspecies electron transfer (DIET) can be suppressed under ammonia-stressed condition-reevaluate the role of conductive materials[J]. *Water Research*, 2020, 183: 116094
- [25] Lin JY, Hu SW, Liu TX, Li FB, Peng LF, Lin Z, Dang Z, Liu CX, Shi ZQ. Coupled kinetics model for microbially mediated arsenic reduction and adsorption/desorption on iron oxides: role of arsenic desorption induced by microbes[J]. *Environmental Science & Technology*, 2019, 53(15): 8892-8902
- [26] Margalef-Marti R, Carrey R, Benito JA, Marti V, Soler A, Otero N. Nitrate and nitrite reduction by ferrous iron minerals in polluted groundwater: isotopic characterization of batch experiments[J]. *Chemical Geology*, 2020, 548: 119691
- [27] Hu YT, Liu T, Chen N, Feng CP. Iron oxide minerals promote simultaneous bio-reduction of Cr(VI) and nitrate: implications for understanding natural attenuation[J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 786: 147396
- [28] Dong L, Qi ZP, Li MQ, Zhang Y, Chen YR, Qi YF, Wu HM. Organics and nutrient removal from swine wastewater by constructed wetlands using ceramsite and magnetite as substrates[J]. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2021, 9(1): 104739
- [29] Ding J, Seow W, Zhou JZ, Zeng RJ, Gu J, Zhou Y. Effects of Fe(II) on anammox community activity and physiologic response[J]. *Frontiers of Environmental Science & Engineering*, 2020, 15(1): 1-11
- [30] Ferousi C, Lindhoud S, Baymann F, Kartal B, Jetten MS, Reimann J. Iron assimilation and utilization in anaerobic ammonium oxidizing bacteria[J]. *Current Opinion in Chemical Biology*, 2017, 37: 129-136
- [31] Wang HY, Peng L, Mao NJ, Geng JJ, Ren HQ, Xu K. Effects of Fe³⁺ on microbial communities shifts, functional genes expression and nitrogen transformation during the start-up of anammox process[J]. *Bioresource Technology*, 2021, 320: 124326

- [32] Chen Y, Jia FX, Liu YJ, Yu WR, Cai WW, Zhang XF, He HD, Yao H. The effects of Fe(III) and Fe(II) on anammox process and the Fe-N metabolism[J]. *Chemosphere*, 2021, 285: 131322
- [33] Sindhu L, Niu KL, Liu XL, Ni SQ, Fang X. Effect of Fe²⁺ addition on anammox consortia, nitrogen removal performance and functional genes analysis during start-up of anammox process[J]. *Journal of Water Process Engineering*, 2021, 43: 102251
- [34] Li J, Feng L, Biswal BK, Chen GH, Wu D. Bioaugmentation of marine anammox bacteria (MAB)-based anaerobic ammonia oxidation by adding Fe(III) in saline wastewater treatment under low temperature[J]. *Bioresource Technology*, 2020, 295: 122292
- [35] 陈翠忠, 额热艾汗, 刘洪光, 王健康, 蓝明菊, 刘生宝, 杜可清, 李俊峰. 铁对厌氧氨氧化过程及脱氮性能的影响[J]. *环境科学与技术*, 2021, 44(5): 14-24
- Chen CZ, Ereatihan, Liu HG, Wang JK, Lan MJ, Liu SB, Du KQ, Li JF. Effect of iron on anammox process and nitrogen removal performance: a review[J]. *Environmental Science & Technology*, 2021, 44(5): 14-24 (in Chinese)
- [36] Li J, Feng L, Biswal BK, Chen GH, Wu D. Bioaugmentation of marine anammox bacteria (MAB)-based anaerobic ammonia oxidation by adding Fe(III) in saline wastewater treatment under low temperature[J]. *Bioresource Technology*, 2020, 295: 122292
- [37] 吴彦成, 顾鑫, 朱继涛, 胡博, 贺美杰. 铁氨氧化污水生物脱氮技术的研究进展[J]. *中国给水排水*, 2020, 36(18): 38-44
- Wu YC, Gu X, Zhu JT, Hu B, He MJ. Research advances of biological nitrogen removal from wastewater via Fe(III) reduction coupled to anaerobic ammonium oxidation (Feammox) process[J]. *China Water & Wastewater*, 2020, 36(18): 38-44 (in Chinese)
- [38] Zhu TT, Lai WX, Zhang YB, Liu YW. Feammox process driven anaerobic ammonium removal of wastewater treatment under supplementing Fe(III) compounds[J]. *Science of the Total Environment*, 2022, 804: 149965
- [39] Zhang ZZ, Cheng YF, Bai YH, Xu LZJ, Xu JJ, Shi ZJ, Zhang QQ, Jin RC. Enhanced effects of maghemite nanoparticles on the flocculent sludge wasted from a high-rate anammox reactor: performance, microbial community and sludge characteristics[J]. *Bioresource Technology*, 2018, 250: 265-272
- [40] Huang S, Jaffé PR. Characterization of incubation experiments and development of an enrichment culture capable of ammonium oxidation under iron-reducing conditions[J]. *Biogeosciences*, 2015, 12(3): 769-779
- [41] Ma BR, Wang S, Li ZW, Gao MC, Li SS, Guo L, She ZL, Zhao YG, Zheng D, Jin CJ, et al. Magnetic Fe₃O₄ nanoparticles induced effects on performance and microbial community of activated sludge from a sequencing batch reactor under long-term exposure[J]. *Bioresource Technology*, 2017, 225: 377-385
- [42] Rajendran K, Sen S, Suja G, Senthil SL, Kumar TV. Evaluation of cytotoxicity of hematite nanoparticles in bacteria and human cell lines[J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2017, 157: 101-109
- [43] 汪海波, 马丁, 岳正波, 陶巍, 陈天虎, 王进. 处理采矿废水湿地沉积物中厌氧氨氧化过程[J]. *环境科学*, 2018, 39(9): 4215-4221
- Wang HB, Ma D, Yue ZB, Tao W, Chen TH, Wang J. Transformation of ammonia in wetland sediments for treatment of mining wastewater[J]. *Environmental Science*, 2018, 39(9): 4215-4221 (in Chinese)
- [44] Qin W, Wang CY, Ma YX, Shen MJ, Li J, Jiao K, Tay FR, Niu LN. Microbe-mediated extracellular and intracellular mineralization: environmental, industrial, and biotechnological applications[J]. *Advanced Materials*, 2020, 32(22): 1907833
- [45] Michel FM, Ehm L, Antao SM, Lee PL, Chupas PJ, Liu G, Strongin DR, Schoonen MAA, Phillips BL, Parise JB. The structure of ferrihydrite, a nanocrystalline material[J]. *Science*, 2007, 316(5832): 1726-1729
- [46] Yang HX, Lu R, Downs RT, Costin G. Goethite, α -FeO(OH), from single-crystal data[J]. *Acta Crystallographica Section E*, 2006, 62(12): i250-i252
- [47] Glazyrin K, McCammon C, Dubrovinsky L, Merlini M, Schollenbruch K, Woodland A, Hanfland M. Effect of high pressure on the crystal structure and electronic properties of magnetite below 25 GPa[J]. *American Mineralogist*, 2012, 97(1): 128-133
- [48] Maslen EN, Streltsov VA, Streltsova NR, Ishizawa N. Synchrotron X-ray study of the electron density in α -Fe₂O₃[J]. *Acta Crystallographica Section B*, 1994, 50(4): 435-441
- [49] Elreedy A, Fujii M, Koyama M, Nakasaki K, Tawfik A. Enhanced fermentative hydrogen production from industrial wastewater using mixed culture bacteria incorporated with iron, nickel, and zinc-based nanoparticles[J]. *Water Research*, 2019, 151: 349-361
- [50] Yang M, Ren XH, Hu LX, Zhou HH, Guo WL. Insights into the facet-dependent adsorption of antibiotic

- ciprofloxacin on goethite[J]. *Environmental Science and Pollution Research International*, 2021, 28(9): 11486-11497
- [51] Zhu YW, Yang QX, Lu TT, Qi W, Zhang HJ, Wang MJ, Qi ZC, Chen WF. Effect of phosphate on the adsorption of antibiotics onto iron oxide minerals: comparison between tetracycline and ciprofloxacin[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2020, 205: 111345
- [52] Bai SS, Jin C, Zhu SS, Ma F, Wang L, Wen QX. Coating magnetite alters the mechanisms and site energy for sulfonamide antibiotic sorption on biochar[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, 409: 125024
- [53] Nassar MY, Ahmed IS, Hendy HS. A facile one-pot hydrothermal synthesis of hematite (α -Fe₂O₃) nanostructures and cephalexin antibiotic sorptive removal from polluted aqueous media[J]. *Journal of Molecular Liquids*, 2018, 271: 844-856
- [54] Liang Y, Yu DH, Jin JZ, Xiong J, Hou JT, Wang MX, Tan WF. Microstructure of Al-substituted goethite and its adsorption performance for Pb(II) and As(V)[J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 790: 148202
- [55] Zhu LJ, Fu FL, Tang B. Three-dimensional transfer of Cr(VI) co-precipitated with ferrihydrite containing silicate and its redistribution and retention during aging[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 696: 133966
- [56] Yang JJ, Xia X, Liu J, Wang J, Hu YF. Molecular mechanisms of chromium(III) immobilization by organo-ferrihydrite co-precipitates: the significant roles of ferrihydrite and carboxyl[J]. *Environmental Science & Technology*, 2020, 54(8): 4820-4828
- [57] Lorenzo D, Dominguez CM, Romero A, Santos A. Wet peroxide oxidation of chlorobenzenes catalyzed by goethite and promoted by hydroxylamine[J]. *Catalysts*, 2019, 9(6): 553
- [58] You YY, Huang SB, He Z. Activation of persulfate for degradation of sodium dodecyl sulfate by a hybrid catalyst hematite/cuprous sulfide with enhanced FeIII/FeII redox cycling[J]. *Chemosphere*, 2022, 295: 133839
- [59] Li G, Wang C, Yan YP, Yan XR, Li WT, Feng XH, Li JS, Xiang QJ, Tan WF, Liu F, et al. Highly enhanced degradation of organic pollutants in hematite/sulfite/photo system[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2020, 386: 124007
- [60] Sirivat A, Paradee N. Facile synthesis of gelatin-coated Fe₃O₄ nanoparticle: effect of pH in single-step co-precipitation for cancer drug loading[J]. *Materials & Design*, 2019, 181: 107942
- [61] Niculescu AG, Chircov C, Grumezescu AM. Magnetite nanoparticles: synthesis methods-a comparative review[J]. *Methods*, 2022, 199: 16-27
- [62] Reichel VE, Matuszak J, Bente K, Heil T, Kraupner A, Dutz S, Cicha I, Faivre D. Magnetite-arginine nanoparticles as a multifunctional biomedical tool[J]. *Nanomaterials: Basel, Switzerland*, 2020, 10(10): 2014
- [63] Zong MR, Song D, Zhang X, Huang XP, Lu XC, Rosso KM. Facet-dependent photodegradation of methylene blue by hematite nanoplates in visible light[J]. *Environmental Science & Technology*, 2021, 55(1): 677-688
- [64] Liu PF, Wang CW, Wang Y, Li YH, Zhang B, Zheng LR, Jiang Z, Zhao HJ, Yang HG. Grey hematite photoanodes decrease the onset potential in photoelectrochemical water oxidation[J]. *Science Bulletin*, 2021, 66(10): 1013-1021
- [65] Xu JJ, Cheng YF, Jin RC. Long-term effects of Fe₃O₄ NPs on the granule-based anaerobic ammonium oxidation process: performance, sludge characteristics and microbial community[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2020, 398: 122965
- [66] Kang D, Guo LY, Hu QY, Xu DD, Yu T, Li YY, Zeng Z, Li WJ, Shen XJ, Zheng P. Surface convexity of anammox granular sludge: digital characterization, state indication and formation mechanism[J]. *Environment International*, 2019, 131: 105017
- [67] Pan C, Xu DD, Dong ZY, Li WJ, Kang D, Chen WD, Li YY, Zhang M, Hu BL, Zheng P. Effect of temperature decrease on anammox granular sludge: shock and adaptation[J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 798: 149242
- [68] Ren XM, Chen Y, Guo L, She ZL, Gao MC, Zhao YG, Shao MY. The influence of Fe²⁺, Fe³⁺ and magnet powder (Fe₃O₄) on aerobic granulation and their mechanisms[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2018, 164: 1-11
- [69] Chen H, Zhang B, Yu CQ, Zhang ZC, Yao J, Jin RC. The effects of magnetite on anammox performance: phenomena to mechanisms[J]. *Bioresource Technology*, 2021, 337: 125470
- [70] Ni SQ, Ni JY, Yang N, Wang J. Effect of magnetic nanoparticles on the performance of activated sludge treatment system[J]. *Bioresource Technology*, 2013, 143: 555-561
- [71] Gao F, Zhang HM, Yang FL, Li HJ, Zhang R. The effects of zero-valent iron (ZVI) and ferrous oxide

- (Fe₃O₄) on anammox activity and granulation in anaerobic continuously stirred tank reactors (CSTR)[J]. *Process Biochemistry*, 2014, 49(11): 1970-1978
- [72] Gan M, Li JY, Sun SJ, Cao YY, Zheng ZH, Zhu JY, Liu XX, Wang J, Qiu GZ. The enhanced effect of *Acidithiobacillus ferrooxidans* on pyrite based Cr(VI) reduction[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2018, 341: 27-36
- [73] Yang XR, Li H, Su JQ, Zhou GW. Anammox bacteria are potentially involved in anaerobic ammonium oxidation coupled to iron(III) reduction in the wastewater treatment system[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2021, 12: 717249
- [74] Wang Z, Zhang L, Zhang FZ, Jiang H, Ren S, Wang W, Peng YZ. Enhanced nitrogen removal from nitrate-rich mature leachate via partial denitrification (PD)-anammox under real-time control[J]. *Bioresource Technology*, 2019, 289: 121615
- [75] Nie SA, Zhu GB, Singh B, Zhu YG. Anaerobic ammonium oxidation in agricultural soils-synthesis and prospective[J]. *Environmental Pollution*, 2019, 244: 127-134
- [76] Martínez NB, Tejada A, Del Toro A, Sánchez MP, Zurita F. Nitrogen removal in pilot-scale partially saturated vertical wetlands with and without an internal source of carbon[J]. *Science of the Total Environment*, 2018, 645: 524-532
- [77] Howlett NG, Avery SV. Induction of lipid peroxidation during heavy metal stress in *Saccharomyces cerevisiae* and influence of plasma membrane fatty acid unsaturation[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1997, 63(8): 2971-2976
- [78] Blokhina O, Virolainen E, Fagerstedt KV. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review[J]. *Annals of Botany*, 2003, 91(2): 179-194
- [79] Sabumon PC. Effect of potential electron acceptors on anoxic ammonia oxidation in the presence of organic carbon[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2009, 172(1): 280-288
- [80] Boland DD, Collins RN, Miller CJ, Glover CJ, Waite TD. Effect of solution and solid-phase conditions on the Fe(II)-accelerated transformation of ferrihydrite to lepidocrocite and goethite[J]. *Environmental Science & Technology*, 2014, 48(10): 5477-5485
- [81] Yang YF, Jin Z, Quan X, Zhang YB. Transformation of nitrogen and iron species during nitrogen removal from wastewater via Feammox by adding ferrihydrite[J]. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 2018, 6(11): 14394-14402
- [82] Peng MW, Yu XL, Guan Y, Liu P, Yan P, Fang F, Guo JS, Chen YP. Underlying promotion mechanism of high concentration of silver nanoparticles on anammox process[J]. *ACS Nano*, 2019, 13(12): 14500-14510
- [83] Liu ST, Yang FL, Meng FG, Chen HH, Gong Z. Enhanced anammox consortium activity for nitrogen removal: impacts of static magnetic field[J]. *Journal of Biotechnology*, 2008, 138(3/4): 96-102
- [84] Guo Y, Chen YJ, Webeck E, Li YY. Towards more efficient nitrogen removal and phosphorus recovery from digestion effluent: latest developments in the anammox-based process from the application perspective[J]. *Bioresource Technology*, 2020, 299: 122560
- [85] Shu DT, He YL, Yue H, Yang SC. Effects of Fe(II) on microbial communities, nitrogen transformation pathways and iron cycling in the anammox process: kinetics, quantitative molecular mechanism and metagenomic analysis[J]. *RSC Advances*, 2016, 6(72): 68005-68016
- [86] Li X, Huang Y, Liu HW, Wu C, Bi W, Yuan Y, Liu X. Simultaneous Fe(III) reduction and ammonia oxidation process in anammox sludge[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2018, 64: 42-50
- [87] Liu HB, Chen ZH, Guan YN, Xu SY. Role and application of iron in water treatment for nitrogen removal: a review[J]. *Chemosphere*, 2018, 204: 51-62
- [88] 于妍, 刘宁, 廖祖刚, 赵剑强, 张倩倩. 铁型反硝化脱氮技术研究进展[J]. *中国环境科学*, 2022, 42(1): 83-91
- Yu Y, Liu N, Liao ZG, Zhao JQ, Zhang QQ. Research progress of iron-type denitrification removal technology[J]. *China Environmental Science*, 2022, 42(1): 83-91 (in Chinese)
- [89] Kiskira K, Papirio S, Van Hullebusch ED, Esposito G. Fe(II)-mediated autotrophic denitrification: a new bioprocess for iron bioprecipitation/biorecovery and simultaneous treatment of nitrate-containing wastewaters[J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2017, 119: 631-648
- [90] Ding LJ, An XL, Li S, Zhang GL, Zhu YG. Nitrogen loss through anaerobic ammonium oxidation coupled to iron reduction from paddy soils in a chronosequence[J]. *Environmental Science & Technology*, 2014, 48(18): 10641-10647
- [91] Guan QS, Cao WZ, Wang M, Wu GJ, Wang FF, Jiang C, Tao YR, Gao Y. Nitrogen loss through anaerobic

- ammonium oxidation coupled with iron reduction in a mangrove wetland[J]. *European Journal of Soil Science*, 2018, 69(4): 732-741
- [92] Zhou GW, Yang XR, Li H, Marshall CW, Zheng BX, Yan Y, Su JQ, Zhu YG. Electron shuttles enhance anaerobic ammonium oxidation coupled to iron(III) reduction[J]. *Environmental Science & Technology*, 2016, 50(17): 9298-9307
- [93] Huang S, Chen C, Peng XC, Jaffé PR. Environmental factors affecting the presence of *Acidimicrobiaceae* and ammonium removal under iron-reducing conditions in soil environments[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2016, 98: 148-158
- [94] Wang WG, Wang T, Liu QH, Wang H, Xue H, Zhang ZR, Wang YY. Biochar-mediated DNRA pathway of anammox bacteria under varying COD/N ratios[J]. *Water Research*, 2022, 212: 118100
- [95] Wang WG, Xie HC, Wang H, Xue H, Wang JJ, Zhou MD, Dai XH, Wang YY. Organic compounds evolution and sludge properties variation along partial nitrification and subsequent anammox processes treating reject water[J]. *Water Research*, 2020, 184: 116197
- [96] Liu YM, Guo JB, Lian J, Chen Z, Li YJ, Xing YJ, Wang T. Effects of extracellular polymeric substances (EPS) and N-acyl-L-homoserine lactones (AHLs) on the activity of anammox biomass[J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2018, 129: 141-147
- [97] Zhang Q, Zhang X, Bai YH, Xia WJ, Ni SK, Wu QY, Fan NS, Huang BC, Jin RC. Exogenous extracellular polymeric substances as protective agents for the preservation of anammox granules[J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 747: 141464
- [98] Wang WG, Yan Y, Zhao YH, Shi Q, Wang YY. Characterization of stratified EPS and their role in the initial adhesion of anammox consortia[J]. *Water Research*, 2020, 169: 115223
- [99] Tang CJ, Zheng P, Wang CH, Mahmood Q, Zhang JQ, Chen XG, Zhang L, Chen JW. Performance of high-loaded anammox UASB reactors containing granular sludge[J]. *Water Research*, 2011, 45(1): 135-144
- [100] Jetten MSM, Van Niftrik L, Strous M, Kartal B, Keltjens JT, Op Den Camp HJM. Biochemistry and molecular biology of anammox bacteria[J]. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, 2009, 44(2/3): 65-84
- [101] Kang D, Lin QJ, Xu DD, Hu QY, Li YY, Ding AQ, Zhang M, Zheng P. Color characterization of anammox granular sludge: chromogenic substance, microbial succession and state indication[J]. *Science of the Total Environment*, 2018, 642: 1320-1327
- [102] Ma HY, Zhang YL, Xue Y, Zhang YF, Li YY. Relationship of heme c, nitrogen loading capacity and temperature in anammox reactor[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 659: 568-577
- [103] Qiao S, Bi Z, Zhou JT, Cheng YJ, Zhang J. Long term effects of divalent ferrous ion on the activity of anammox biomass[J]. *Bioresource Technology*, 2013, 142: 490-497
- [104] Akram M, Reimann J, Dietl A, Menzel A, Versantvoort W, Kartal B, Jetten MSM, Barends TRM. A nitric oxide-binding heterodimeric cytochrome c complex from the anammox bacterium *Kuenenia stuttgartiensis* binds to hydrazine synthase[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2019, 294(45): 16712-16728
- [105] Su JX, Chen SL. A key piece in the global N-cycle: the N-N bond formation presented by heme-dependent hydrazine synthase[J]. *ACS Catalysis*, 2021, 11(11): 6489-6498
- [106] Zhang YL, Ma HY, Chen R, Niu QG, Li YY. Stoichiometric variation and loading capacity of a high-loading anammox attached film expanded bed (AAEEB) reactor[J]. *Bioresource Technology*, 2018, 253: 130-140
- [107] Kang D, Li YY, Xu DD, Li WJ, Li W, Ding AQ, Wang R, Zheng P. Deciphering correlation between chromaticity and activity of anammox sludge[J]. *Water Research*, 2020, 185: 116184
- [108] Wang WG, Xue H, Wang H, Ma J, Wu M, Wang YY. High adhesion ability of anammox granular microbes directly revealed by QCM-D technique[J]. *Environmental Research*, 2021, 194: 110646
- [109] Wang JJ, Jiang ZW, Wang WG, Wang H, Zhang Y, Wang YY. The connection between aeration regimes and EPS composition in nitrification biofilm[J]. *Chemosphere*, 2021, 265: 129141
- [110] Wei LL, Li Y, Noguera DR, Zhao NB, Song Y, Ding J, Zhao QL, Cui FY. Adsorption of Cu^{2+} and Zn^{2+} by extracellular polymeric substances (EPS) in different sludges: effect of EPS fractional polarity on binding mechanism[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2017, 321: 473-483
- [111] Wang WG, Liu QH, Xue H, Wang T, Fan YF, Zhang ZR, Wang H, Wang YY. The feasibility and mechanism of redox-active biochar for promoting anammox performance[J]. *Science of the Total Environment*,

- 2022, 814: 152813
- [112] Yu HQ, Fang HHP, Tay JH. Effects of Fe^{2+} on sludge granulation in upflow anaerobic sludge blanket reactors[J]. *Water Science and Technology*, 2000, 41(12): 199-205
- [113] Zhang ZZ, Zhang Y, Chen YG. Recent advances in partial denitrification in biological nitrogen removal: from enrichment to application[J]. *Bioresource Technology*, 2020, 298: 122444
- [114] Xu JJ, Cheng YF, Xu LZJ, Zhu XL, Zhu WQ, Jin RC. The performance and microbial community in response to MnO_2 nanoparticles in anammox granular sludge[J]. *Chemosphere*, 2019, 233: 625-632
- [115] Wang H, Fan YF, Zhou MD, Wang WG, Li X, Wang YY. Function of Fe(III)-minerals in the enhancement of anammox performance exploiting integrated network and metagenomics analyses[J]. *Water Research*, 2022, 210: 117998
- [116] Wang WG, Wang JJ, Wang H, Ma J, Wu M, Wang YY. Anammox granule enlargement by heterogenous granule self-assembly[J]. *Water Research*, 2020, 187: 116454
- [117] Wang WG, Wang H, Jiang ZW, Wang YY. Visual evidence for anammox granules expanding their size by aggregation of anammox micro-granules[J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 745: 141052
- [118] Zhang XJ, Zhou Y, Xu TF, Zheng KW, Zhang RR, Peng ZX, Zhang HZ. Toxic effects of CuO, ZnO and TiO_2 nanoparticles in environmental concentration on the nitrogen removal, microbial activity and community of anammox process[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2018, 332: 42-48
- [119] Chen CJ, Jiang Y, Zou XY, Guo ML, Liu H, Cui MH, Zhang TC. Insight into the influence of particle sizes on characteristics and microbial community in the anammox granular sludge[J]. *Journal of Water Process Engineering*, 2021, 39: 101883
- [120] Franca RDG, Pinheiro HM, Van Loosdrecht MCM, Lourenço ND. Stability of aerobic granules during long-term bioreactor operation[J]. *Biotechnology Advances*, 2018, 36(1): 228-246
- [121] Fu HM, Peng MW, Yan P, Wei Z, Fang F, Guo JS, Chen YP. Potential role of nanobubbles in dynamically modulating the structure and stability of anammox granular sludge within biological nitrogen removal process[J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 784: 147110
- [122] Lv L, Ren LF, Ni SQ, Gao BY, Wang YN. The effect of magnetite on the start-up and N_2O emission reduction of the anammox process[J]. *RSC Advances*, 2016, 6(102): 99989-99996
- [123] Li H, Chi ZF, Yan BX. Insight into the impact of Fe_3O_4 nanoparticles on anammox process of subsurface-flow constructed wetlands under long-term exposure[J]. *Environmental Science and Pollution Research International*, 2018, 25(29): 29584-29592
- [124] 王朱珺, 王尚, 刘洋荧, 冯凯, 邓晔. 宏基因组技术在氮循环功能微生物分子检测研究中的应用[J]. *生物技术通报*, 2018, 34(1): 1-14
- Wang ZJ, Wang S, Liu YY, Feng K, Deng Y. The applications of metagenomics in the detection of environmental microbes involving in nitrogen cycle[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2018, 34(1): 1-14 (in Chinese)
- [125] Ding BJ, Li ZK, Qin YB. Nitrogen loss from anaerobic ammonium oxidation coupled to iron(III) reduction in a riparian zone[J]. *Environmental Pollution*, 2017, 231: 379-386
- [126] Zhang ZZ, Xu JJ, Shi ZJ, Bai YH, Cheng YF, Hu HY, Jin RC. Unraveling the impact of nanoscale zero-valent iron on the nitrogen removal performance and microbial community of anammox sludge[J]. *Bioresource Technology*, 2017, 243: 883-892
- [127] Zhang ZZ, Xu JJ, Shi ZJ, Cheng YF, Ji ZQ, Deng R, Jin RC. Combined impacts of nanoparticles on anammox granules and the roles of EDTA and S^{2-} in attenuation[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2017, 334: 49-58
- [128] Akram M, Dietl A, Mersdorf U, Prinz S, Maalcke W, Keltjens J, Ferousi C, De Almeida NM, Reimann J, Kartal B, et al. A 192-heme electron transfer network in the hydrazine dehydrogenase complex[J]. *Science Advances*, 2019, 5(4): eaav4310
- [129] Hai RT, Wang YL, Wang XH, Du ZZ, Li Y. Impacts of multiwalled carbon nanotubes on nutrient removal from wastewater and bacterial community structure in activated sludge[J]. *PLoS One*, 2014, 9(9): e107345
- [130] Yan Y, Wang WG, Wu MX, Jetten MSM, Guo JH, Ma J, Wang H, Dai XH, Wang YY. Transcriptomics uncovers the response of anammox bacteria to dissolved oxygen inhibition and the subsequent recovery mechanism[J]. *Environmental Science & Technology*, 2020, 54(22): 14674-14685
- [131] Wang H, Yan Y, Zhang LM, Wang YY. Response of antioxidant defense to oxidative stress induced by H_2O_2 and NO in anammox bacteria[J]. *Chemosphere*, 2021, 282: 131008