

# 极端水质条件下异养硝化-好氧反硝化微生物的研究进展

马咏琪<sup>1</sup>, 台喜生<sup>2</sup>, 王佳丽<sup>1</sup>, 姜云鹏<sup>1</sup>, 安亮嘉<sup>1</sup>, 孙丽坤<sup>\*1</sup>

1 甘肃农业大学动物科学技术学院, 甘肃 兰州 730070

2 兰州城市学院城市环境学院, 甘肃 兰州 730070

马咏琪, 台喜生, 王佳丽, 姜云鹏, 安亮嘉, 孙丽坤. 极端水质条件下异养硝化-好氧反硝化微生物的研究进展[J]. 微生物学通报, 2024, 51(3): 743-757.

MA Yongqi, TAI Xisheng, WANG Jiali, JIANG Yunpeng, AN Liangjia, SUN Likun. Research progress in heterotrophic nitrifying-aerobic denitrifying bacteria under extreme water quality conditions[J]. Microbiology China, 2024, 51(3): 743-757.

**摘要:** 在高盐、高温、低温、高氨氮、重金属等极端水质条件影响下, 传统生物脱氮技术出现生物活性降低、反应速度减缓、处理效果不理想等问题, 因此, 开发能有效抵御极端水质环境的高效功能菌对提升生物脱氮工艺的稳定性至关重要。异养硝化-好氧反硝化菌是一种能同在单一有氧条件下进行同步异养硝化和好氧反硝化的功能微生物。研究发现部分异养硝化-好氧反硝化菌可以在极端水质条件下生长且能表现出良好脱氮性能, 为传统生物脱氮技术提供了良好的菌种资源。目前已筛选出假单胞菌属(*Pseudomonas*)、不动杆菌属(*Acinetobacter*)等多种耐受极端水质条件的异养硝化-好氧反硝化菌。相关研究发现在极端水质条件胁迫下, 一方面异养硝化-好氧反硝化菌与脱氮途径相关酶活性增加, 进而维持其脱氮性能的稳定; 另一方面该菌抗氧化酶体系活性上升, 从而抵御极端水质环境。本文对高氨氮浓度、高盐、高温、低温、重金属、极端 pH 等极端条件下异养硝化-好氧反硝化菌的种属、脱氮效率、代谢途径和作用机理, 以及工程应用现状进行综述, 指出技术瓶颈, 提出新的研究思路 and 方向, 为异养硝化-好氧反硝化菌的研发和工程应用提供理论指导。

**关键词:** 异养硝化-好氧反硝化菌; 极端水质条件; 生物脱氮; 代谢机理

资助项目: 甘肃农业大学青年研究生导师扶持计划专项(06190301); 国家自然科学基金(32160756); 甘肃农业大学“伏羲杰出人才项目”(gafx-04j03); 甘肃农业大学学科团队项目(GAU-XKMB-2022-24)

This work was supported by the Young Graduate Tutor Support Program of Gansu Agricultural University (06190301), the National Natural Science Foundation of China (32160756), the “Fuxi Outstanding Talents Project” of Gansu Agricultural University (gafx-04j03), and the Discipline Team Project of Gansu Agricultural University (GAU-XKMB-2022-24).

\*Corresponding author. E-mail: sunlk@gsau.edu.cn

Received: 2023-07-13; Accepted: 2023-09-28; Published online: 2023-11-17

## Research progress in heterotrophic nitrifying-aerobic denitrifying bacteria under extreme water quality conditions

MA Yongqi<sup>1</sup>, TAI Xisheng<sup>2</sup>, WANG Jiali<sup>1</sup>, JIANG Yunpeng<sup>1</sup>, AN Liangjia<sup>1</sup>, SUN Likun<sup>\*1</sup>

<sup>1</sup> College of Animal Science and Technology, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, Gansu, China

<sup>2</sup> College of Urban Environment, Lanzhou City University, Lanzhou 730070, Gansu, China

**Abstract:** Under extreme water quality conditions such as high salt, high or low temperatures, high ammonia nitrogen, and heavy metals, conventional biological denitrification suffer from reduced biological activity, slowed reaction, and unsatisfactory outcomes. Therefore, the development of efficient functional bacteria capable of withstanding extreme water quality environments is crucial for enhancing the stability of biological denitrification processes. Heterotrophic nitrifying-aerobic denitrifying bacteria can remove nitrogen under completely aerobic conditions. Some of these bacteria can grow under extreme water conditions and demonstrate efficient nitrogen removal capability, offering suitable strain resources for conventional biological nitrogen removal. A variety of heterotrophic nitrifying-aerobic denitrifying bacteria such as *Pseudomonas* and *Acinetobacter* capable of tolerating extreme water quality conditions have been screened out. Under extreme water quality conditions, heterotrophic nitrifying-aerobic denitrifying bacteria increase the activities of the enzymes involved in the denitrification pathway to maintain the stability of their denitrification performance. Moreover, they increase the activities of the antioxidant enzymes to adapt to the extreme water environments. We summarize the species, denitrification efficiency, metabolic pathways, and mechanisms of heterotrophic nitrifying-aerobic denitrifying bacteria in extreme water environments characterized by high concentrations of ammonia nitrogen, elevated salinity, extreme high or low temperatures, heavy metal contamination, and extreme pH. Additionally, this paper assesses the current application status of these bacteria in engineering, identifies the technical challenges, and proposes novel research ideas for future investigations.

**Keywords:** heterotrophic nitrifying-aerobic denitrifying bacteria; extreme water quality conditions; biological nitrogen removal; metabolic mechanism

我国幅员辽阔、人口众多，随着工业企业的发展，各类废水的排放量以及废水中有害物质的种类和含量不断增加，而不同地区污水处理厂的处理工艺方面存在地域差异。目前污水中常见的有毒有害物质主要有氨氮、磷、重金属等，这些物质过量排放对生态环境产生巨大威胁<sup>[1]</sup>。废水中的氨氮主要包括氨水和无机铵，如硫酸铵、氯化铵等。据报道，仅每年向水体

中排放的氨氮就达到 250 t<sup>[2]</sup>。高浓度的氨氮可引起水体富营养化，造成水生动植物死亡，严重危害水体安全和生态环境。工业废水中残留的重金属及畜禽养殖中人为投放营养物质和一定的健康维护手段造成养殖污水中也包含一定量的重金属离子<sup>[3]</sup>。微量的重金属离子不会对环境产生影响，但是过量的重金属离子由于其环境毒性、不可生物降解性、持久性会通过地

下水层水源在动植物以及人体内不断生物富集, 危害健康<sup>[4]</sup>。由于地域差异, 废水的温度对传统污水处理工艺影响显著, 我国北方地区由于冬季寒冷常导致污水处理厂出水质量不达标; 而纺织印染行业产生的废水温度常高达 80 °C 以上, 增加了污水处理成本。通常将以上提到的高低温、高盐、高碱、重金属等极其不适合生物生长的环境称为极端环境<sup>[5]</sup>。在面对极端环境时, 传统的污水脱氮工艺已无法满足污水处理工艺的可持续发展。

近几年出现的新型生物脱氮技术主要包括短程硝化反硝化技术、同步硝化反硝化技术、厌氧氨氧化技术和异养硝化好氧反硝化技术等。传统污水处理的脱氮工艺主要依靠自养硝化和厌氧反硝化过程, 自养硝化菌(nitrifying autotrophic bacterium, NAB)通过氨氧化过程将氨氮转化为亚硝酸盐和硝酸盐, 反硝化细菌则在厌氧条件下进行反硝化生化反应将硝态氮还原为氮气<sup>[6]</sup>。目前大部分关于异养硝化细菌的研究主要集中在污水脱氮方面, 有研究发现部分异养硝化细菌具有较强的氨氧化能力, 可用于好氧堆肥过程。例如王梓宇等从牛粪中筛选出一株异养硝化细菌 NS-1 并鉴定为水生产碱杆菌, 对氨氮去除率最高达 100.00%, 表现出较好的异养硝化性能, 属于异养硝化能力优异的菌株<sup>[7]</sup>。传统污水脱氮工艺由于自养硝化和厌氧反硝化过程所需条件不同, 需要在 2 个反应器中进行, 提高了建设成本, 反应耗时增长<sup>[8]</sup>。我国大部分城镇的污水处理厂针对废水的生物脱氮一般采用厌氧好氧(anaerobic-oxic, A/O)、厌氧-缺氧-好氧(anaerobic-anoxic-oxic, AAO)和氧化沟工艺, 但环境温度过高或者过低均会影响污水脱氮效果<sup>[9]</sup>。1985 年研究人员首次从废水处理厂分离出异养硝化好氧反硝化(heterotrophic nitrification and aerobic denitrification, HNAD)菌

株 *Thiosphaera pantotropha*, 它可以同时进行异养硝化和好氧反硝化<sup>[10]</sup>。这一发现为污水生物脱氮提供了新思路, 可通过 HNAD 菌解决传统脱氮过程中自养硝化过程和厌氧反硝化过程分离的问题。

随着研究的不断深入, 以 HNAD 菌株为代表的新型生物脱氮技术引起了广泛关注, 该生物脱氮技术打破了传统生物脱氮过程中硝化和反硝化需要在不同反应器中的局限性, 使生物脱氮在同一反应器中进行成为可能, 显著降低了废水处理脱氮成本, 提升了脱氮效率。然而前人的研究大都集中在 HNAD 菌株在中温条件下的筛选和脱氮性能的测定, 在实际的污水处理中常面临多种极端水质条件改变, 所以生物脱氮工艺在极端环境下的运行仍然是难点。目前对于 HNAD 菌株在极端环境中的研究仍然有限, 例如对耐高温、耐高氨氮以及耐重金属 HNAD 菌株的筛选较少, 近年来研究人员将复杂情况下 HNAD 菌株的筛选及其脱氮性能作为研究重点, 但是对具体的脱氮机理研究仍然较少, 需要进一步探究 HNAD 菌株对各种极端环境的耐受机理。另外, HNAD 菌株在实际生产中的应用研究仍然有限, 需要进一步发掘该菌株在实际污水处理过程中的潜力, 使其发挥最大优势。因此, 本文主要阐述在不同极端环境, 如高氨氮、高盐、高低温、高重金属含量等水质条件下 HNAD 菌株的脱氮性能和作用机理, 以及 HNAD 菌株在实际污水处理中的应用现状。

## 1 已分离的 HNAD 菌株种属及脱氮途径

自发现 HNAD 菌以来, 对其进行筛选研究一直是重点方向, 目前已分离筛选获得的 HNAD

菌包括芽孢杆菌属(*Bacillus*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)、产碱杆菌属(*Alcaligenes*)、副球菌属(*Paracoccus*)、不动杆菌属(*Acinetobacter*)和无色杆菌属(*Achromobacter*),还有一些真菌<sup>[11-13]</sup>。该类菌的主要脱氮途径包括两种:(1)完全硝化反硝化通路,氨氮由氨单加氧酶(ammonia monooxygenase, AMO)氧化为羟胺,羟胺由羟胺氧化还原酶(hydroxylamine oxidoreductase, HAO)催化生成亚硝酸根(与硝酸根可互相转化),亚硝酸根反硝化最终转化为氮气,或者羟胺通过丙酮肟双加氧酶(pyruvic oxime dioxygenase, POD)氧化为亚硝酸盐和丙酮酸。亚硝酸盐还原酶分为3种不同的类型,包括质周硝酸还原酶(nitrate reductase periplasmic, Nap)、呼吸硝酸还原酶(nitrate reductase, Nar)和同化硝酸还原酶(nitrate reductase assimilation, Nas)。(2)氨氮不转变为硝态氮或亚硝态氮,羟胺氧化酶(HAO)直接催化羟胺产生 $N_2O$ 或 $N_2$ <sup>[14]</sup>。HNAD途径所包含的关键酶有氨单加氧酶(AMO)、羟胺氧化酶(HAO)、硝酸盐还原酶(nitrate reductase, NAR)、亚硝酸盐还原酶(nitrite reductase, NIR)、一氧化氮还原酶(nitric-oxide reductase, NOR)和氧化亚氮还原酶(nitrous-oxide reductase, NOS)<sup>[15]</sup>,由于菌株的个体差异,其表达的酶系及具体的代谢途径也存在不同。

随着对HNAD菌株的深入挖掘,研究人员发现具有异养硝化好氧反硝化功能的微生物来源广泛,存在于空气、土壤和废水中<sup>[16]</sup>。这些菌株的共同特点是能够在好氧或兼性厌氧条件下同时进行硝化和反硝化反应,以促进有机物和含氮化合物的共同转化<sup>[17]</sup>。目前已发现的HNAD菌主要以氨氮、亚硝态氮或硝态氮为氮素来源,一方面通过同化作用转化为细胞的有机氮,另一方面通过异化作用将氮素转化为 $NO$ 、 $N_2O$ 、 $N_2$ 等含氮气体<sup>[18]</sup>。

### 1.1 高氨氮条件下HNAD菌的脱氮效率及其代谢途径

氨氮是水环境中的主要污染物之一,通常我们将氨氮浓度超过200.00 mg/L的废水定义为高氨氮废水,在水中主要以铵离子的形式存在,不易去除<sup>[19]</sup>。高氨氮废水若不经处理直接排入水体,会对水质及水生动植物造成严重危害,破坏生态。然而高氨氮中部分氮素本身具有一定的毒性,一旦进入动植物或人体体内,就会对生命系统造成巨大的损伤<sup>[20]</sup>。因此高氨氮废水的达标排放显得尤为重要。

研究人员发现部分HNAD菌在高氨氮条件下仍能存活,并且脱氮性能表现稳定,因此HNAD菌在高氨氮下的作用机理成为处理高氨氮废水的一大研究热点。有研究者从猪场沼液中分离获得了高效的HNAD菌,将分离的HNAD菌与生物膜反应器结合进行生物强化后用于探究该工艺在高氨氮废水中的脱氮能力,结果显示在氨氮浓度为400 mg/L时,从猪场沼液中富集驯化的HNAD菌对氨氮和总氮的平均去除率分别为100.00%和79.05%,该工艺对猪场沼液的处理表现良好<sup>[21]</sup>。高雅娟等从垃圾渗滤液中筛选分离出铜绿假单胞菌U1,在初始氨氮浓度为1000 mg/L时,菌株U1的最大总氮去除率为64.37%,最大氨氮去除率为76.73%;在总氮和氨氮含量分别是2345 mg/L和1473.80 mg/L的垃圾渗滤液中,菌株U1仍能有效去除氨氮,在高氨氮条件下部分HNAD菌仍然表现稳定,具有较大的实际应用潜力<sup>[22]</sup>。Zhang等从垃圾渗滤液中分离得到一种新型异养硝化细菌TF-1,可以在高盐、高氨氮两种极端条件下有效脱氮<sup>[23]</sup>。

于大禹等<sup>[24]</sup>通过模拟不同溶解氧浓度下的含氨氮废水,随着溶解氧浓度的增加,HNAD菌株H1的氨单加氧酶(AMO)活性提高;研究发

现在溶解氧浓度为 4.70 mg/L 时,用 H1 菌株处理不同混合模拟废水,在氨氮模拟废水中投加  $\text{NO}_2^-$  诱导羟胺氧化酶(HAO)产生大量的  $\text{NO}_2^-$ -N,在混合模拟废水中  $\text{NH}_4^+$ -N 的去除过程是短程的硝化反硝化过程;当在氨氮模拟废水中投加  $\text{NO}_3^-$  时也会诱导 HAO 产生  $\text{NO}_2^-$ -N,致使  $\text{NH}_4^+$ -N 需经过反硝化途径的亚硝酸盐水平被去除,  $\text{NH}_4^+$ -N 和  $\text{NO}_3^-$ -N 的降解并未发生竞争关系<sup>[24]</sup>。HNAD 菌属于异养需氧型微生物,在好氧和高 C/N 条件下可以快速脱氮,好氧条件能够及时补充脱氮所需的电子受体,高 C/N 及时补充消耗的碱度,保证脱氮时稳定的条件<sup>[25]</sup>。因此通过对耐高浓度氨氮的 HNAD 菌株进行分析发现,该菌株可以有效去除氨氮的原因是:(1) HNAD 菌株进行短程的硝化反硝化,实现氨氮、 $\text{NO}_3^-$ -N、 $\text{NO}_2^-$ -N 的同步去除,缩短脱氮周期;(2) 在对 HNAD 菌株加入额外的氧气和基质时提高了 HNAD 菌株脱氮途径中的关键酶活性,加快对高氨氮的去除<sup>[26]</sup>。

## 1.2 高温和低温条件下 HNAD 菌的脱氮效率及其耐受理理

目前已筛选的 HNAD 菌株常用来处理中温环境下的废水,在高温和低温条件下高效 HNAD 菌的研究鲜见报道。部分废水在排放时仍因温度问题而导致处理困难,例如工业生产加工,如炼钢炼铁、无机氮肥、无机化工、铁合金、食品加工等生产过程产生一定量的高温废水<sup>[27]</sup>。为处理高温废水通常会增加废水冷却步骤,造成热能浪费、污水处理成本增加等问题。在冬季室外水体温度通常低于 20 °C,常规的生物脱氮法受限于低温环境,导致冬季废水脱氮效果变差。在低温条件下反硝化关键酶基因表达延迟,抑制酶的产量和活性,减缓微生物的生长<sup>[28]</sup>,因此低温条件成为生物脱氮的限制因素。

郝敏娜等从太原市某污水处理厂活性污泥中分离得到一株在高温(50 °C)好氧条件下具有较高反硝化能力的菌株,鉴定其为波茨坦短芽孢菌<sup>[29]</sup>。张苗等从燃煤电厂生物滴滤系统填料的生物膜上筛选得到一株高效且耐高温的好氧反硝化菌 TAD1,经鉴定为螯台球菌,菌株 TAD1 在 50 °C 高温、好氧条件下能以硝酸盐为电子受体进行反硝化,24 h 脱氮率高达 99.12%,并且在此过程中无亚硝酸盐的积累<sup>[30]</sup>。Mével 等从深海热液喷口分离出芽孢杆菌 MS30,在 65 °C 时该菌株仍能发挥最佳硝化性能<sup>[31]</sup>。Lin 等研究建立了一个基于 HNAD 的高温生物膜系统,对高强度合成氨废水和餐厨垃圾厌氧消化废水进行了高效脱氮处理,结果表明 HNAD 系统中氮的去除性能随温度升高而提高,通过宏基因组分析表明,HNAD 系统中的碳代谢和能量生成随着温度升高而上调,从而进一步促进了异养硝化和反硝化<sup>[32]</sup>。陈思宇等从冬季水浸稻田土壤中分离得到一株耐低温的 HNAD 菌,该菌为嗜碱假单胞菌 D15,在 15–35 °C 条件下,菌株 D15 对氨氮、硝氮及亚硝氮的去除率几乎都保持在 100.00% 的高水平;当温度升至 35 °C 时,该菌在不同氮源条件下的总氮去除率降至 70.00% 左右<sup>[33]</sup>。魏渤惠等从冬季污水处理厂的活性污泥中分离出一株耐低温的 HNAD 菌株 *Glutamicibacter* sp. WS1,在 15 °C 低温条件下,菌株 WS1 对各无机氮的去除率在 98.00% 左右,通过氮平衡分析得到异养硝化-好氧反硝化和同化作用是菌株 WS1 去除不同氮源底物的主要途径,其中 47.00%–56.00% 的无机氮通过异养硝化-好氧反硝化作用转化为气态氮<sup>[34]</sup>。

HNAD 菌株的脱氮能力受温度影响主要是由于生化反应活性的变化、脱氮途径的改变以及微生物群落结构的变化<sup>[35]</sup>。这些菌株在高温时仍表现出良好的脱氮性能,这可能是由于温

度上升,关键酶的活性上升,反应速率加快<sup>[36]</sup>。研究发现,随着温度的升高,自养硝化作用效率降低幅度很大,而异养硝化作用在高温时仍保持较高的活性;这表明 HNAD 生物体系具有较好的耐热性,高温有利于 HNAD 相关代谢途径的进行,促进了氮的去除,这主要是因为高温不能直接促进氮去除途径,但可以上调碳代谢,促进能量生成,从而为异养硝化和反硝化提供更多的能量,增强了 HNAD 的脱氮能力<sup>[32]</sup>。在低温条件下,HNAD 菌株仍能正常生长,并且脱氮性能稳定,这可能是由于低温条件下某些基因表达增加<sup>[37]</sup>。耐冷 HNAD 菌株在低温条件驯化后可以诱导抗氧化酶体系的产生并提高酶活,这些抗氧化酶包括超氧化物歧化酶、过氧化物酶、过氧化氢酶、谷胱甘肽过氧化物酶、硫氧还蛋白过氧化物酶等<sup>[38]</sup>。另外,低温条件下 HNAD 菌铵态氮代谢能力优异,脂肪酸去饱和酶基因被上调,脂肪酸去饱和酶基因的表达已被发现可增加膜流动性并提高生物体的抗冻性,这可能与某些 HNAD 菌株在低温条件下仍能发挥脱氮功能有关<sup>[39]</sup>。

### 1.3 高盐条件下 HNAD 菌的脱氮效率及其耐盐抗氧化机理

随着石油化工、生物制药、食品加工等行业的发展,高盐废水的排放量逐年增加,高盐废水是指总溶解固体质量分数 $\geq 3.50\%$ 的废水<sup>[40]</sup>。高盐废水中含有高浓度的  $\text{Cl}^-$ 、 $\text{Na}^+$ 、 $\text{SO}_4^{2-}$ 、 $\text{Ca}^{2+}$  等,对生物处理有明显的抑制作用,生物脱氮效率低下,难以达到排放要求<sup>[41]</sup>。因此,快速高效环保地处理高盐废水是污水处理工程中的一个重要方向。在新型生物脱氮技术中筛选和应用耐高盐的高效脱氮微生物是高盐废水处理的关键措施。

孙玲玉等从医药废水处理厂的活性污泥中分离得到一株海杆菌 Y1,在盐度为 5.00% (质

量分数,以 NaCl 计),该菌株 24 h 对  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  的去除率为 99.31%,在初始起始  $\text{NO}_3^-\text{-N}$  质量浓度为 189.38 mg/L 时去除率高达 94.37%,总氮量(total nitrogen, TN)的去除率达到 88.00%以上<sup>[42]</sup>。高宇轩从高盐化工废水中筛选到一株耐盐且高效脱氮的巨大芽孢杆菌 N07,在 8.00% 的高盐环境下菌株 N07 可以正常生长和脱氮,对于总氮和氨氮的最高去除率分别达到 85.95% 和 44.55%;以硝态氮作为唯一氮源,初始氮浓度为 150.00 mg/L,硝态氮最高去除率 94.94%;以亚硝态氮作为唯一氮源,初始氮浓度为 75.00 mg/L,10 h 内亚硝态氮去除率达到 100.00%;用菌株 N07 处理核酸生产废水可以完全去除污水中的氮素,表明该类 HNAD 菌在高盐环境下能进行同步硝化反硝化脱氮过程<sup>[43]</sup>。由于 HNAD 菌株的工程应用效果不理想,有研究通过启动曝气生物膜反应器富集 HNAD 菌,并设计添加 150.00  $\mu\text{mol/L}$  海藻糖,结果显示添加海藻糖可以促进高盐环境中 HNAD 菌群富集并强化生物系统的脱氮性能<sup>[44]</sup>。

为了探究不同种类和浓度的盐离子对菌株的抑制机制,Chen 等设计批量实验研究了不同盐离子种类和组合对不动杆菌 TAC-1 反硝化效率和活性的抑制作用,发现不同盐组合对菌株 TAC-1 有协同抑制作用, $\text{Na}_2\text{SO}_4$  对菌株 TAC-1 的抑制作用最强,主要是因为  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  破坏了细胞呼吸、DNA 复制、转录和翻译,并诱导氧化应激<sup>[45]</sup>。朱晓华对耐盐 HNAD 菌株嗜水气单胞菌 HN-02 进行研究,发现高盐环境导致机体代谢异常,氧自由基反应和脂质过氧化反应的协调与动态平衡关系被打破,活性氧自由基(reactive oxygen species, ROS)迅速积累,正常生理代谢受到影响;机体抗氧化酶活的应激反应是系统性的,抗氧化酶体系如超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)和过氧化物酶

(peroxidase, POD)是协同作用的,在高盐环境下,菌株 HN-02 机体内首先诱导 SOD 活力迅速提高, SOD 作为清除活性氧的第一道防线,可将  $O_2^-$ 歧化为  $H_2O_2$ ,减轻脂质过氧化对机体造成的损伤;此后,POD 和过氧化氢酶(catalase, CAT)协同作用清除  $H_2O_2$  形成  $H_2O$ ,减少细胞伤害<sup>[46]</sup>。因此,HNAD 菌株耐盐机理主要体现在它可以产生抗氧化酶对抗高盐冲击,并且相关的酶具有一定的耐盐性<sup>[47]</sup>,以及 HNAD 菌通过合成相容溶质对细胞内大分子起保护作用<sup>[48]</sup>。

#### 1.4 重金属胁迫下 HNAD 菌的脱氮效率及其重金属耐受机理

随着我国工业化进程加快,工业废水中重金属的达标排放对污水处理的方法提出了新要求。不同重金属废水中有毒有害物质种类存在明显差异,与废水产生源头相关。我国当前的重金属废水主要来自化工产业以及生物制药等行业<sup>[49]</sup>。常见的化工行业重金属污染物包括汞、镉、铬、铅、锌、铜、镍等。在畜禽养殖产业中由于使用饲料添加剂、抗生素等,造成畜禽养殖废水中也含有重金属。畜禽养殖污水中的有毒重金属包括镍、铬、铅、砷、镉、汞等。重金属在污水中难以去除,会引起机体中毒,影响生物处理系统的活性和效率。传统重金属废水处理有离子交换法、生物膜法、吸附法和活性污泥法等,但处理成本高、出水水质差异大<sup>[50]</sup>。

张霓从太钢焦化废水处理厂的污泥中分离出一株高效 HNAD 菌株恶臭假单胞菌 ZN1,重金属对菌株 ZN1 抑制顺序为  $Ni^{2+}>Cr^{6+}>Zn^{2+}>Cu^{2+}$ ,并且菌株 ZN1 含有  $Cu^{2+}$ 抗性基因 *copB-1*,该基因使菌株 ZN1 在  $Cu^{2+}$ 高达 800.00 mg/L 时仍有 62.10%的  $NH_4^+-N$  去除率,对  $Cu^{2+}$ 表现出极高耐受性<sup>[51]</sup>。Yang 等分离到一株高效 HNAD 菌株恶臭假单胞菌 NP5,菌株 NP5 具有很强的重

金属抗性,可以去除金属毒性较大的  $Cr^{6+}$ ,在该菌株体内成功扩增出脱氮除磷关键酶的基因,表明该菌株能同时进行硝化和反硝化,并且具有除磷能力<sup>[8]</sup>。Wei 等从污水处理厂分离出一株铜绿假单胞菌 P-1,该菌株在高浓度  $Cd^{2+}$ 和  $Pb^{2+}$  (50.00–200.00 mg/L)的水质环境中仍能有效地去除铵<sup>[16]</sup>。Wang 等研究了复合 HNAD 菌假胞菌 DM01、戴尔福特菌 YH01、食酸菌 YH02 (DM01+YH01+YH02)对尿素的去除特性,以及重金属和盐度对尿素去除率的影响,结果表明当废水中尿素质量浓度为 200.00 mg/L 时去除率为 91.80%,重金属离子( $Ni^{2+}$ 、 $Cd^{2+}$ 、 $Cu^{2+}$ 、 $Zn^{2+}$ )会降低复合菌群对尿素的去除效率,抑制顺序为  $Cd^{2+}>Cu^{2+}>Ni^{2+}>Zn^{2+}$ ,但  $Fe^{2+}$ 能增强复合菌群对尿素的去除效率<sup>[47]</sup>。

涂李欣分离出一株恶臭假单胞菌 LX1,加入  $Cr_2O_3$ 、NiO 和  $PbCl_2$ 后菌株 LX1 在 100.00 mg/L 浓度下  $NH_4^+-N$  最大去除率仍分别高达 90.30%、89.25%、90.86%;比较铬胁迫下该菌株与无胁迫菌株的转录组发现,其转运功能、氧化应激和细胞膜的组成在 HNAD 菌株应对铬胁迫中起重要作用;在重金属条件下其生物膜的形成、细菌分泌系统、蛋白质输出、DNA 复制、固氮途径、酪氨酸代谢等途径上调显著;热休克蛋白(heat shock proteins 20, HSPs 20)的显著下调也表明 HSPs 在菌株应激反应中发挥重要作用<sup>[52]</sup>。Wei 等研究了 HNAD 铜绿假单胞菌 P-1 对  $Cd^{2+}$ 和  $Pb^{2+}$ 胁迫的响应,结果表明,菌株 P-1 可以有效去除浓度为 50.00–200.00 mg/L 的  $Cd^{2+}$ 和  $Pb^{2+}$ ,大多数细胞在 100.00 mg/L 的  $Cd^{2+}$ 或  $Pb^{2+}$ 胁迫下具有相对完整的表面,通过 RNA Seq 转录组分析发现调控双组分系统和膜转运蛋白的差异表达基因转录水平上调;铜绿假单胞菌 P-1 可能通过调节信号转导以适应环境变化,并通过改变细胞膜的膜转运蛋白以控制金属离子的

进入来响应  $\text{Cd}^{2+}$  和  $\text{Pb}^{2+}$  胁迫<sup>[16]</sup>。Yang 等通过研究恶臭假单胞菌 NP5 的耐重金属特性, 在  $\text{Cr}^{6+}$  浓度为 20.00 mg/L 时,  $\text{Cr}^{6+}$  对 NP5 菌株的 HNAD 过程无明显的生物毒性,  $\text{Cr}^{6+}$  为 50.00 mg/L 时仅部分抑制  $\text{NH}_4^+-\text{N}$  和  $\text{PO}_4^{3-}-\text{P}$  的去除, 在 100.00 mg/L 时效率降至 10.00% 左右, 该菌株表现出优异的重金属抗性, 这归因于其独特的自我解毒能力<sup>[8]</sup>。综上所述, HNAD 菌株的抗重金属性能主要归因于重金属离子可通过共价作用结合酶的亲电子中心, 成为酶的辅基, 进而激活酶的催化能力; 此外, HNAD 菌株具有重金属抗性基因, 在特定环境中可编码相应的金属抗性蛋白<sup>[35,53]</sup>。尽管脱氮性能优异的 HNAD 菌株已经有很多报道, 但是能够在含有重金属的工业废水中有效去除氮的 HNAD 菌株数量有限, 因此, 利用 HNAD 菌株进行含重金属工业废水的处理研究和应用具有很大的发展潜力。

### 1.5 极端 pH 条件下 HNAD 菌的脱氮效率及耐受机理

大多数 HNAD 菌的最适生长 pH 范围在 7.00–7.50 之间, pH 值通常会影 响 HNAD 菌的生长和繁殖, 中性偏碱性环境有利于 HNAD 菌脱氮的进行<sup>[54]</sup>。在 pH 为 5.00 时, HNAD 菌在氮转化途径的相关酶活性大大降低<sup>[55]</sup>。Yang 等从酸性制药废水中分离出不动杆菌 *Acinetobacter* sp. JR1, 发现菌株 JR1 在初始 pH 4.50、氨氮为 103.00 mg/L 时, 总氮去除率高达 97.90%<sup>[56]</sup>。耐碱异养硝化菌 *Serratia marcescens* W5 在 pH 10.00 时, 氨氮去除率仍可达 80.00% 以上<sup>[57]</sup>。菌株 *Aeromonas* sp. HN-02 的抗酸碱 pH 范围达 2.30–11.00, 而且当 pH 在 4.00–10.00 时对应的氨氮去除率高达 70.00%<sup>[58]</sup>。这些 HNAD 菌能够在极端 pH 环境下生长并进行脱氮可能是因为 在偏酸性条件下, HNAD 菌在反硝化过程中逐渐产碱进而缓解偏酸的情况<sup>[59]</sup>; 在弱碱环境

下, 由于氨单加氧酶利用的基质为  $\text{NH}_3$  而不是  $\text{NH}_4^+$ , 产生的自由  $\text{NH}_3$  更多, 更有利于进行异养硝化作用<sup>[60]</sup>。

### 1.6 其他极端条件下 HNAD 菌的脱氮效率及耐受机理

HNAD 菌除了能耐受高盐、高低温、高浓度氨氮等极端条件, 还能耐受抗生素以及新型污染物微塑料等其他极端条件。抗生素是由细菌、真菌和放线菌等微生物或高等动植物分泌的具有抗病原体或其他活性的代谢产物, 能够干扰细胞的正常发育<sup>[61]</sup>。大量研究发现, 在制药废水、医疗废水、畜牧废水和水产养殖中抗生素含量高, 在城市污水处理厂、地表水、地下水、饮用水、土壤和底泥中都检测到抗生素的残留<sup>[62]</sup>。Zhang 等测定了海洋单胞菌 MCH、MAH 的异养硝化好氧反硝化性能及耐药性, 结果表明这些菌株对多肽、四环素类、磺胺类、呋喃类和大环内酯类抗生素的耐药性强且脱氮性能良好<sup>[63]</sup>。Liang 等研究发现, 无色杆菌 JL9 在磺胺甲恶唑条件下对总氮的去除率为 91.83%, 并且对其降解途径深入分析发现抗生素的降解主要通过开环、S–N 键切割、胺化、羟基化和甲基化实现<sup>[64]</sup>。塑料是当代社会生产与生活中必不可少的一个重要材料, 微塑料被普遍认为是一个首要的环境问题, 与气候变化一同被认为是一个新出现的复杂问题。史文超等分离出两株好氧反硝化菌 C11 和 F11, 它们在两种典型微塑料即 60.00 nm 聚苯乙烯(polystyrene, PS) 和 37.00–74.00  $\mu\text{m}$  聚酰胺(polyamide, PA)的胁迫下可完全去除浓度为 100.00 mg/L 的氨氮; 典型微塑料的累积会抑制好氧反硝化菌群的反硝化性能, PA 对好氧反硝化作用的抑制作用更大<sup>[65]</sup>。

## 2 HNAD 菌株的工程应用现状

HNAD 菌株在高氨氮废水处理中表现了较



强的适应性,同时在高盐、高温、低温、重金属胁迫等极端环境也表现出较好的脱氮性能,但是HNAD菌株在工程应用方面推广有限。目前许多脱氮研究都仅局限在实验室阶段,主要针对菌株分离筛选鉴定以及脱氮性能测定,投入工程应用的案例较少,因为游离态HNAD菌株直接投入废水中无法与原有的微生物系统形成稳定的协作关系,容易导致菌体流失。针对这一问题,有研究提出了HNAD菌株固定化技术,使游离态菌株被固定在一定的空间中,并且使菌株保持活性可以被循环使用<sup>[66]</sup>。其中,移动床生物膜反应器(moving bed biofilm reactor, MBBR)引起了广泛的关注,该方法向反应器中投加一定数量的悬浮载体,提高反应器中的生物量及微生物种类,从而提高反应器的处理效率,并且具有占地面积小、成本低且易于操作等优点<sup>[67]</sup>。Zhang等提出了一种基于HNAD的新型MBBR,通过接种HNAD菌,新型MBBR对 $\text{NH}_4^+$ 耐受性从200.00 mg/L提高到1 000.00 mg/L, TN去除率从30.40%提高到80.70%,缩短了反应启动时间,提高了TN去除率<sup>[68]</sup>。Xiang等将一株新型HNAD菌株*Zobellella* B307应用于MBBR工艺,在盐度为5.00%–65.00%的条件下仍具有较高的生长和脱氮效率,这主要是接种*Zobellella* B07可提高HNAD菌的丰度和氮代谢相关功能基因的丰度<sup>[69]</sup>。Zou等在10 °C条件下向SBR反应器投加异养硝化菌, $\text{NH}_4^+$ -N浓度由14.89 mg/L降低至3.02 mg/L,说明低温菌在实际低温废水处理中具有良好的应用潜力<sup>[70]</sup>。张苗等将曝气生物滤池与螯台球菌TAD1相结合,在滤池温度为50 °C时,菌株的氨氮和TN去除率在12 h内均达到了100.00%<sup>[30]</sup>。Ma等利用假单胞菌*Pseudomonas* sp. HJ3建立生物强化系统对煤气化废水进行处理,发现该系统可以有效去除67.07%±0.76%的

氨氮、57.95%±0.12%的总氮和74.91%±0.33%的苯酚<sup>[71]</sup>。

除MBBR技术外,还有其他一些方法用来提高HNAD菌株在工业废水处理过程中的效率。高宇轩等从垃圾渗滤液中筛选出6株HNAD菌并进行复配形成复合菌剂F6,探究了该复合菌剂在垃圾渗滤液处理过程中的脱氮效果,结果显示复合菌剂F6能有效去除高氨氮垃圾渗滤液中的 $\text{NH}_4^+$ -N、TN和化学需氧量(chemical oxygen demand, COD),在实际应用中具有良好的前景<sup>[72]</sup>。孙巍等通过响应面法优化混合菌剂的包埋载体,将HNAD菌株(种名为LJ2、YG8、LJ9)复合菌剂进行固定化后用于污水处理,发现其表现出良好的脱氮效果<sup>[73]</sup>。对HNAD菌株进行复配及固定化技术极大增强了HNAD菌株的生存能力,解决了HNAD菌株直接投入废水容易流失的问题,同时固定化后的菌剂可以循环利用,具有良好的发展前景。

### 3 结语与展望

总而言之,在不同极端水质条件下HNAD菌脱氮效率良好,可以将氨氮转化为亚硝酸根再转化为氮气,或者氨氮转化为羟胺再转化为 $\text{N}_2\text{O}$ 或 $\text{N}_2$ 。在不同极端环境胁迫下,HNAD菌可以通过某些差异基因表达使相应酶活产量增加,例如抗氧化酶体系增加细胞抗性,维持良好脱氮性能。在工程应用方面,目前多采用固定化技术、菌剂复配等方法解决HNAD菌在污水处理中不稳定易流失的问题。HNAD在废水处理的工程应用中有很大的发展潜力,但在极端环境胁迫下,对于其脱氮机理和代谢途径仍需进一步研究:(1)在不同菌株中由于种属差异大导致氮素转化相关酶和相关关键基因存在较大差异,缺乏深入的系统研究。(2)大部分HNAD菌的脱氮效果研究尚处于实验室阶段且

仅限于单菌种,关于 HNAD 菌应用于实际废水处理仍然有限。(3) 目前大部分研究集中于研究单一极端条件下 HNAD 菌的脱氮效果,在多种极端条件下的研究仍然缺乏。后续研究方向建议:(1) 针对不同种属提出特定的脱氮过程,同时通过基因敲除、超表达等手段验证关键酶的编码基因在氮代谢中的作用,拓展 HAND 菌株不同脱氮途径及其机理解释;(2) 利用多组学测序深入分析 HNAD 菌在极端水质条件下的关键酶和关键酶基因,克隆关键酶基因,构建脱氮关键基因的重组菌株,高效异源表达关键酶,提取纯化直接用于生物脱氮;(3) 在后续实际污水处理中,面对多个极端环境共胁迫可以筛选 2 种以上极端环境下均耐受且脱氮性能良好的 HNAD 菌株,挖掘适于工程应用的 HNAD 功能菌剂,解决污水处理中由于存在多种胁迫因素而导致 HNAD 菌株在实际应用中效果不理想的难题,不断完善工程应用工艺,开发出更加高效、绿色、环保的污水脱氮工艺。

## REFERENCES

- [1] WATARI T, ASANO K, OMINE T, HATAMOTO M, ARAKI N, MIMURA K, NAGANO A, YAMAGUCHI T. Effects of denitrifying granular sludge addition on activated sludge and anaerobic-aerobic systems for municipal sewage treatment[J]. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, 2022, 57(9): 830-839.
- [2] FANG K, GONG H, HE W Y, PENG F, HE C H, WANG K J. Recovering ammonia from municipal wastewater by flow-electrode capacitive deionization[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2018, 348: 301-309.
- [3] 曹文庚,王妍妍,张栋,孙晓悦,文爱欣,那静. 工业废水去除重金属技术的研究现状与进展[J]. *中国地质*, 2023, 50(3): 756-776.
- CAO WG, WANG YY, ZHANG D, SUN XY, WEN AX, NA J. Research status and new development on heavy metals removal from industrial wastewater[J]. *Geology in China*, 2023, 50(3): 756-776 (in Chinese).
- [4] 丁昕颖,张淑芬,付龙,王振,马珊珊,李晴晴,李伟,王树茂,徐婷婷. 关于畜禽养殖污水资源化利用的探讨及思考[J]. *畜牧业环境*, 2020(2): 31-32.
- DING XY, ZHANG SF, FU L, WANG Z, MA SS, LI QQ, LI W, WANG SM, XU TT. Discussion and thinking on resource utilization of livestock and poultry breeding sewage[J]. *Animal Industry and Environment*, 2020(2): 31-32 (in Chinese).
- [5] SHU WS, HUANG LN. Microbial diversity in extreme environments[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2022, 20(4): 219-235.
- [6] SONG T, ZHANG XL, LI J, WU XY, FENG HX, DONG WY. A review of research progress of heterotrophic nitrification and aerobic denitrification microorganisms (HNADMs)[J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 801: 149319.
- [7] 王梓宇,王佳丽,唐德富,孙旭春,韩向敏,孙丽坤. 一株水生产碱杆菌(*Alcaligenes aquatilis*)的分离鉴定及其氨氧化效果[J]. *微生物学通报*, 2023, 50(5): 2002-2016.
- WANG ZY, WANG JL, TANG DF, SUN XC, HAN XM, SUN LK. Isolation, identification, and deamination characterization of a strain of *Alcaligenes aquatilis*[J]. *Microbiology China*, 2023, 50(5): 2002-2016 (in Chinese).
- [8] YANG L, WANG XH, CUI S, REN YX, YU J, CHEN N, XIAO Q, GUO LK, WANG RH. Simultaneous removal of nitrogen and phosphorous by heterotrophic nitrification-aerobic denitrification of a metal resistant bacterium *Pseudomonas putida* strain NP5[J]. *Bioresource Technology*, 2019, 285: 121360.
- [9] 王欣怡. 用于寒冷地区低温生活污水处理适冷菌筛选及应用研究[D]. 北京: 中国石油大学(北京)硕士学位论文, 2018.
- WANG XY. Screening and application of cold-suitable bacteria for the treatment of low-temperature domestic sewage in cold area[D]. Beijing: Master's Thesis of China University of Petroleum (Beijing), 2018 (in Chinese).
- [10] ROBERTSON LA, KUENEN JG. *Thiosphaera pantotropha* gen. nov. sp. nov., a facultatively anaerobic, facultatively autotrophic sulphur bacterium[J]. *Microbiology*, 1983, 129(9): 2847-2855.
- [11] 张宇红,董先博,刘香宇,许家琪,徐子凌. 新型异养硝化-好氧反硝化菌 *Paracoccus* sp. QD-19 的分离及脱氮特性研究[J]. *生物技术通报*, 2023(3): 301-310.
- ZHANG YH, DONG XB, LIU XY, XU JQ, XU ZL. Isolation of a novel heterotrophic nitrification-aerobic denitrification bacterium *Paracoccus* sp. QD-19 and its

- characterization of removing nitrogen[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2023(3): 301-310 (in Chinese).
- [12] 樊笑, 胡子涵, 刘国, 覃利, 屠宇姣, 邓曦鹏, 张稳. 异养硝化-好氧反硝化菌的分离及脱氮特性[J]. *环境科学与技术*, 2022, 45(11): 1-9.  
FAN X, HU ZH, LIU G, QIN L, TU YJ, DENG XP, ZHANG W. Isolation and identification of two heterotrophic nitrification-aerobic denitrification strains and their nitrogen removal characteristics[J]. *Environmental Science & Technology*, 2022, 45(11): 1-9 (in Chinese).
- [13] 夏远航, 杨小丽, 李海华, 赵博. 异养硝化-好氧反硝化菌 *Acinetobacter johnsonii* sp. N26 的脱氮性能及代谢途径[J]. *微生物学通报*, 2023, 50(4): 1374-1395.  
XIA YJ, YANG XL, LI HH, ZHAO B. Optimization of nitrogen removal performance and metabolic pathway of a heterotrophic nitrifying-aerobic denitrifying bacterial strain *Acinetobacter johnsonii* sp. N26[J]. *Microbiology China*, 2023, 50(4): 1374-1395 (in Chinese).
- [14] 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.
- [15] 乔森, 刘雪洁, 周集体. 异养硝化-好氧反硝化在生物脱氮方面的研究进展[J]. *安全与环境学报*, 2014, 14(2): 128-135.  
QIAO S, LIU XJ, ZHOU JT. Research progress of heterotrophic nitrification-aerobic denitrification in biological denitrification[J]. *Journal of Safety and Environment*, 2014, 14(2): 128-135 (in Chinese).
- [16] 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*, 2021, 28(6): 7503-7514.
- [17] XI HP, ZHOU XT, ARSLAN M, LUO ZJ, WEI J, WU ZR, GAMAL EL-DIN M. Heterotrophic nitrification and aerobic denitrification process: promising but a long way to go in the wastewater treatment[J]. *Science of the Total Environment*, 2022, 805: 150212.
- [18] HUANG F, PAN LQ, HE ZY, ZHANG MY, ZHANG MZ. Identification, interactions, nitrogen removal pathways and performances of culturable heterotrophic nitrification-aerobic denitrification bacteria from mariculture water by using cell culture and metagenomics[J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 732: 139268.
- [19] 孙峰, 王智. 高浓度氨氮废水处理技术研究进展[J]. *中国资源综合利用*, 2015, 33(4): 34-37.  
SUN F, WANG Z. Research progress of high concentrations ammonia nitrogen wastewater treatment technology[J]. *China Resources Comprehensive Utilization*, 2015, 33(4): 34-37 (in Chinese).
- [20] 罗万东. 功能菌强化生物膜组合工艺处理高氨氮化工废水研究[D]. 重庆: 重庆理工大学硕士学位论文, 2022.  
LUO WD. Study on treatment of high ammonia nitrogen chemical wastewater by functional bacteria enhanced biofilm combined process[D]. Chongqing: Master's Thesis of Chongqing University of Technology, 2022 (in Chinese).
- [21] 李宸. 新型生物膜反应器组合工艺处理高氨氮废水研究[D]. 重庆: 重庆理工大学硕士学位论文, 2019.  
LI C. Study on the treatment of high ammonia nitrogen wastewater by a new combined biofilm reactor[D]. Chongqing: Master's Thesis of Chongqing University of Technology, 2019 (in Chinese).
- [22] 高雅娟, 靳静晨, 高洁, 高宇轩, 吴慧娟, 张闻天, 李晨晨, 张国伟, 靳永胜. 耐高浓度氨氮的异养硝化好氧反硝化菌株 U1 的鉴定及其脱氮特性[J]. *微生物学通报*, 2022, 49(7): 2442-2456.  
GAO YJ, JIN JC, GAO J, GAO YX, WU HJ, ZHANG WT, LI CC, ZHANG GW, JIN YS. Identification and denitrification characteristics of heterotrophic nitrification and aerobic denitrification strain U1 resistant to high concentrations of ammonia nitrogen[J]. *Microbiology China*, 2022, 49(7): 2442-2456 (in Chinese).
- [23] ZHANG Q, ZHU YN, YUAN CB, ZHANG C, CUI ML, ZHAO TT. Nitrogen removal and mechanism of an extremely high-ammonia tolerant heterotrophic nitrification-aerobic denitrification bacterium *Alcaligenes faecalis* TF-1[J]. *Bioresource Technology*, 2022, 361: 127643.
- [24] 于大禹, 张琳颖, 高波. 异养硝化-好氧反硝化菌异养硝化性能的影响因素[J]. *化工进展*, 2012, 31(12): 2797-2800.  
YU DY, ZHANG LY, GAO B. Factors affecting the heterotrophic nitrification property of heterotrophic nitrification-aerobic denitrifier[J]. *Chemical Industry and Engineering Progress*, 2012, 31(12): 2797-2800 (in Chinese).
- [25] 何环, 余莹, 韩亚涛, 占迪, 石开仪. 异养硝化好氧

- 反硝化菌脱氮特性的研究进展[J]. 工业水处理, 2017, 37(4): 12-17.
- HE H, YU X, HAN YT, ZHAN D, SHI KY. Research progress in the denitrification characteristics of heterotrophic nitrification-aerobic denitrification bacteria[J]. Industrial Water Treatment, 2017, 37(4): 12-17 (in Chinese).
- [26] CHEN Q, NI J. Ammonium removal by *Agrobacterium* sp. LAD9 capable of heterotrophic nitrification-aerobic denitrification[J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2012, 113(5): 619-623.
- [27] 宋珩. 基于沸石处理的高温氨氮废水资源化研究[D]. 北京: 北京化工大学硕士学位论文, 2014.
- SONG Y. Study on recycling of high temperature ammonia nitrogen wastewater based on zeolite treatment[D]. Beijing: Master's Thesis of Beijing University of Chemical Technology, 2014 (in Chinese).
- [28] LYU PY, WEI BH, MA WK, LUO X. Nitrogen removal characteristics of a cold-tolerant aerobic denitrification bacterium, *Pseudomonas* sp. 41[J]. Catalysts, 2022, 12(4): 412.
- [29] 郝敏娜, 杨云龙. 高温好氧反硝化菌的分离鉴定及脱氮特性[J]. 环境工程学报, 2014, 8(7): 3058-3062.
- HAO MN, YANG YL. Isolation and identification of a thermophilic aerobic denitrifier and its denitrification characteristics[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2014, 8(7): 3058-3062 (in Chinese).
- [30] 张苗, 黄少斌. 高温好氧反硝化菌的分离鉴定及其反硝化性能研究[J]. 环境科学, 2011, 32(1): 259-265.
- ZHANG M, HUANG SB. Identification and denitrification characteristics of a thermophilic aerobic denitrifier[J]. Chinese Journal of Environmental Science, 2011, 32(1): 259-265 (in Chinese).
- [31] MÉVEL G, PRIEUR D. Heterotrophic nitrification by a thermophilic *Bacillus* species as influenced by different culture conditions[J]. Canadian Journal of Microbiology, 2000, 46(5): 465-473.
- [32] LIN ZY, ZHOU J, HE L, HE XJ, PAN ZL. High-temperature biofilm system based on heterotrophic nitrification and aerobic denitrification treating high-strength ammonia wastewater: nitrogen removal performances and temperature-regulated metabolic pathways[J]. Bioresource Technology, 2022, 344: 126184.
- [33] 陈思宇, 刘晶, 杨正, 黄元昊, 彭英杰, 舒志恒, 张俊豪, 兰时乐. 低温异养硝化-好氧反硝化菌的分离及其除氮特性[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2022, 48(6): 712-717.
- CHEN SY, LIU J, YANG Z, HUANG YH, PENG YJ, SHU ZH, ZHANG JH, LAN SL. Isolation and nitrogen removal characteristics of a low temperature heterotrophic nitrification-aerobic denitrification bacterium[J]. Journal of Hunan Agricultural University (Natural Sciences Edition), 2022, 48(6): 712-717 (in Chinese).
- [34] 魏渤惠, 罗晓, 吕鹏翼, 马文凯, 苏金卫, 李伟, 崔建升. 高效异养硝化-好氧反硝化菌 *Glutamicibacter* sp. WS1 低温下对多种氮源的脱氮特性及氮代谢机制[J]. 环境科学, 2023, 44(9): 5006-5016.
- WEI BH, LUO X, LYU PY, MA WK, SU JW, LI W, CUI JS. Nitrogen removal characteristics and nitrogen metabolism mechanism of heterotrophic nitrifying aerobic denitrifying bacteria *Glutamicibacter* sp. WS1 at low temperature to multiple nitrogen sources[J]. Environmental Science, 2023, 44(9): 5006-5016 (in Chinese).
- [35] LIN ZY, HUANG W, ZHOU J, HE XJ, WANG JL. The variation on nitrogen removal mechanisms and the succession of ammonia oxidizing archaea and ammonia oxidizing bacteria with temperature in biofilm reactors treating saline wastewater[J]. Bioresource Technology, 2020, 314: 123760.
- [36] ROUT PR, BHUNIA P, DASH RR. Simultaneous removal of nitrogen and phosphorous from domestic wastewater using *Bacillus cereus* GS-5 strain exhibiting heterotrophic nitrification, aerobic denitrification and denitrifying phosphorous removal[J]. Bioresource Technology, 2017, 244: 484-495.
- [37] 丁晓宇, 卢兴顺, 吕航, 林岩, 武琳慧. 耐低温异养硝化-好氧反硝化菌的分离鉴定及脱氮特性[J]. 水处理技术, 2022, 48(12): 65-70, 76.
- DING XY, LU XS, LÜ H, LIN Y, WU LH. Isolation, identification and nitrogen removal characteristics of heterotrophic nitrification-aerobic denitrification bacteria under low temperature[J]. Technology of Water Treatment, 2022, 48(12): 65-70, 76 (in Chinese).
- [38] 冯叶. 低温冲击对异养硝化-好氧反硝化菌 HN-02 的影响研究[D]. 成都: 西南交通大学硕士学位论文, 2014.
- FENG Y. Effect of low temperature shock on heterotrophic nitrification-aerobic denitrifying bacteria HN-02[D]. Chengdu: Master's Thesis of Southwest Jiaotong University, 2014 (in Chinese).
- [39] ZHAO TT, CHEN PP, ZHANG LJ, ZHANG L, GAO YH, AI S, LIU H, LIU XY. Heterotrophic nitrification and aerobic denitrification by a novel *Acinetobacter* sp.

- TAC-1 at low temperature and high ammonia nitrogen[J]. *Bioresource Technology*, 2021, 339: 125620.
- [40] PERNETTI M, Di PALMA L. Experimental evaluation of inhibition effects of saline wastewater on activated sludge[J]. *Environmental Technology*, 2005, 26(6): 695-704.
- [41] 旷玉丹, 吴志宇, 李杏清, 黎建平. 高盐废水处理技术综述[J]. *广州化工*, 2022, 50(7): 36-38.  
KUANG YD, WU ZY, LI XQ, LI JP. Review on high salt wastewater treatment technology[J]. *Guangzhou Chemical Industry*, 2022, 50(7): 36-38 (in Chinese).
- [42] 孙玲玉, 颜家保, 胡杰, 鲍彦舟. 耐盐异养硝化-好氧反硝化菌的筛选及特性研究[J]. *化工环保*, 2022, 42(4): 485-491.  
SUN LY, YAN JB, HU J, BAO YZ. Screening and characteristic research of salt-tolerant heterotrophic nitrification-aerobic denitrification bacteria[J]. *Environmental Protection of Chemical Industry*, 2022, 42(4): 485-491 (in Chinese).
- [43] 高宇轩. 耐盐异养硝化-好氧反硝化菌 N07 的脱氮特性及应用研究[D]. 北京: 北京农学院硕士学位论文, 2022.  
GAO YX. Study on nitrogen removal characteristics and application of salt-tolerant heterotrophic nitrification-aerobic denitrifying bacteria N07[D]. Beijing: Master's Thesis of Beijing University of Agriculture, 2022 (in Chinese).
- [44] 郭雷, 肖芃颖, 李龙山, 陈爽, 袁港. 海藻糖强化高盐胁迫下异养硝化-好氧反硝化菌群的代谢机制[J]. *生物工程学报*, 2022, 38(12): 4536-4552.  
GUO L, XIAO PY, LI LS, CHEN S, YUAN G. Mechanism of trehalose-enhanced metabolism of heterotrophic nitrification-aerobic denitrification community under high-salt stress[J]. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2022, 38(12): 4536-4552 (in Chinese).
- [45] CHEN AL, SU X, XING ZL, XU FQ, CHEN SJ, XIANG JX, LI J, LIU H, ZHAO TT. Effect mechanism of individual and combined salinity on the nitrogen removal yield of heterotrophic nitrification-aerobic denitrification bacteria[J]. *Environmental Research*, 2022, 214: 113834.
- [46] 朱晓华. HN-02 菌脱氮性能与抗氧化酶体系对盐胁迫响应特征研究[D]. 成都: 成都理工大学硕士学位论文, 2015.  
ZHU XH. Study on nitrogen removal performance of HN-02 strain and response characteristics of antioxidant enzyme system to salt stress[D]. Chengdu: Master's Thesis of Chengdu University of Technology, 2015 (in Chinese).
- [47] WANG MM, CAO G, ZHANG D, FENG NX, PAN YZ. Removal of urea by heterotrophic nitrification-aerobic denitrification mixed strains and effects of heavy metals and salinity[J]. *Environmental Science*, 2020, 41(6): 2787-2795.
- [48] WANG T, JIANG ZZ, DONG WB, LIANG XY, ZHANG LH, ZHU YM. Growth and nitrogen removal characteristics of *Halomonas* sp. B01 under high salinity[J]. *Annals of Microbiology*, 2019, 69(13): 1425-1433.
- [49] 李红艳. 重金属废水污染治理方法探究[J]. *资源节约与环保*, 2020(9): 89-90.  
LI HY. Study on pollution control methods of heavy metal wastewater[J]. *Resources Economization & Environmental Protection*, 2020(9): 89-90 (in Chinese).
- [50] KHAN FSA, MUBARAK NM, TAN YH, KHALID M, KARRI RR, WALVEKAR R, ABDULLAH EC, NIZAMUDDIN S, ALI MAZARI S. A comprehensive review on magnetic carbon nanotubes and carbon nanotube-based buckypaper for removal of heavy metals and dyes[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, 413: 125375.
- [51] 张霓. 异养硝化-好氧反硝化细菌 *Pseudomonas putida* ZN1 的脱氮及耐重金属特性研究[D]. 太原: 太原理工大学硕士学位论文, 2019.  
ZHANG N. Study on nitrogen removal and heavy metal tolerance of heterotrophic nitrification-aerobic denitrification bacteria *Pseudomonas putida* ZN1[D]. Taiyuan: Master's Thesis of Taiyuan University of Technology, 2019 (in Chinese).
- [52] 涂李欣. 异养硝化细菌 *Pseudomonas putida* strain LX1 对重金属离子的耐受性及其作用机制研究[D]. 西安: 西安建筑科技大学硕士学位论文, 2022.  
TU LX. Tolerance of heterotrophic nitrifying bacteria *Pseudomonas putida* strain LX1 to heavy metal ions and its mechanism of action[D]. Xi'an: Master's Thesis of Xi'an University of Architecture and Technology, 2022 (in Chinese).
- [53] ZHANG N, CHEN H, LYU YK, WANG Y. Nitrogen removal by a metal-resistant bacterium, *Pseudomonas putida* ZN1, capable of heterotrophic nitrification-aerobic denitrification[J]. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 2019, 94(4): 1165-1175.
- [54] 邹玉兰, 王莹, 陈虎, 吕永康. 恶劣环境下异养硝化-好氧反硝化菌的研究进展[J]. *工业水处理*, 2020, 40(12):

- 8-13.
- ZOU YL, WANG Y, CHEN H, LYU YK. Research progress of heterotrophic nitrifying and aerobic denitrifying bacteria under harsh environment[J]. *Industrial Water Treatment*, 2020, 40(12): 8-13 (in Chinese).
- [55] 刘诗园, 张婷, 高雅娟, 李晨晨, 杨永宇, 张国伟, 谭骞骞, 靳永胜. 耐高浓度氨氮微生物 Y5 的脱氮特性及应用研究[J]. *工业水处理*, 2023. DOI: 10.19965/j.cnki.iwt.2023-0604.
- LIU SY, ZHANG T, GAO YJ, LI CC, YANG YY, ZHANG GW, TAN QQ, JIN YS. Resistance to high concentration of ammonia nitrogen denitrification characteristics and application of microbial Y5 research[J]. *Industrial Water Treatment*, 2023. DOI: 10.19965/j.cnki.iwt.2023-0604 (in Chinese).
- [56] YANG JR, WANG Y, CHEN H, LYU YK. Ammonium removal characteristics of an acid-resistant bacterium *Acinetobacter* sp. JR1 from pharmaceutical wastewater capable of heterotrophic nitrification-aerobic denitrification[J]. *Bioresource Technology*, 2019, 274: 56-64.
- [57] WANG T, DANG QF, LIU CS, YAN JQ, FAN B, CHA DS, YIN YY, ZHANG YB. Heterotrophic nitrogen removal by a newly-isolated alkalitolerant microorganism, *Serratia marcescens* W5[J]. *Bioresource Technology*, 2016, 211: 618-627.
- [58] CHRN MX, WANG WC, FENG Y, ZHU XH, ZHOU HZ. Impact resistance of different factors on ammonia removal by heterotrophic nitrification-aerobic denitrification bacterium *Aeromonas* sp. HN-02[J]. *Bioresource Technology*, 2014, 167: 456-461.
- [59] DUAN JM, FANG HD, SU B, CHEN JF, LIN JM. Characterization of a halophilic heterotrophic nitrification-aerobic denitrification bacterium and its application on treatment of saline wastewater[J]. *Bioresource Technology*, 2015, 179: 421-428.
- [60] ZHANG QL, LIU Y, AI GM, MIAO LL, ZHENG HY, LIU ZP. The characteristics of a novel heterotrophic nitrification-aerobic denitrification bacterium, *Bacillus methylotrophicus* strain L7[J]. *Bioresource Technology*, 2012, 108: 35-44.
- [61] 顾芳, 胡平, 蔡德敏, 刘好雨. 畜禽健康养殖中抗生素应用及其替代品研究进展[J]. *动物营养学报*, 2023, 35(10): 6247-6256.
- GU F, HU P, CAI DM, LIU HY. Research progress on the application of antibiotics and their substitutes in healthy livestock breeding[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2023, 35(10): 6247-6256 (in Chinese).
- [62] 刘玉学, 李彭, 王拯. 我国污水处理厂中典型抗生素的分布及处理研究[J]. *中国给水排水*, 2023, 39(10): 23-30.
- LIU YX, LI P, WANG Z. Study on the distribution and treatment of typical antibiotics in wastewater treatment plants in China[J]. *China Water & Wastewater*, 2023, 39(10): 23-30 (in Chinese).
- [63] 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.
- [64] LIANG DH. Effects of various antibiotics on aerobic nitrogen removal and antibiotic degradation performance: mechanism, degradation pathways, and microbial community evolution[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2022, 422: 126818.
- [65] 史文超, 桂梦瑶, 杜俊逸, 马志飞, 吴代赦. 典型微塑料对好氧反硝化菌群脱氮特性及反硝化相关基因的影响[J]. *环境工程学报*, 2021, 15(4): 1333-1343.
- SHI WC, GUI MY, DU JY, MA ZF, WU DS. Effects of typical microplastics on the denitrification characteristics and denitrification related genes of aerobic denitrifying bacteria[J]. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 2021, 15(4): 1333-1343 (in Chinese).
- [66] YİĞİTOĞLU M, TEMOÇİN Z. Immobilization of *Candida rugosa* lipase on glutaraldehyde-activated polyester fiber and its application for hydrolysis of some vegetable oils[J]. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 2010, 66(1/2): 130-135.
- [67] CASAS ME, CHHETRI RK, OOI G, HANSEN KMS, LITTY K, CHRISTENSSON M, KRAGELUND C, ANDERSEN HR, BESTER K. Biodegradation of pharmaceuticals in hospital wastewater by staged Moving Bed Biofilm Reactors (MBBR)[J]. *Water Research*, 2015, 83: 293-302.
- [68] ZHANG Q, CHEN X, ZHANG ZY, LUO WD, WU H. Performance and microbial ecology of a novel moving bed biofilm reactor process inoculated with heterotrophic nitrification-aerobic denitrification bacteria for high ammonia nitrogen wastewater treatment[J]. *Bioresource Technology*, 2020, 315: 123813.
- [69] XIANG ZZ, CHEN XI, BAI J, LI BH, LI H, HUANG X.

- Bioaugmentation performance for moving bed biofilm reactor (MBBR) treating mariculture wastewater by an isolated novel halophilic heterotrophic nitrification aerobic denitrification (HNAD) strain (*Zobellella* B307)[J]. *Journal of Environmental Management*, 2023, 325: 116566.
- [70] ZOU SQ, YAO S, NI JR. High-efficient nitrogen removal by coupling enriched autotrophic-nitrification and aerobic-denitrification consortiums at cold temperature[J]. *Bioresource Technology*, 2014, 161: 288-296.
- [71] MA WW, HAN YX, MA WC, HAN HJ, XU CY, ZHU H. Simultaneous nitrification and denitrification (SND) bioaugmentation with *Pseudomonas* sp. HJ3 inoculated for enhancing phenol and nitrogen removal in coal gasification wastewater[J]. *Water Science and Technology*, 2019, 80(8): 1512-1523.
- [72] 高宇轩, 靳静晨, 高雅娟, 张闻天, 李晨晨, 靳永胜. 异养硝化-好氧反硝化复合菌剂在垃圾渗滤液处理中的应用[J]. *生物技术进展*, 2022, 12(4): 630-637.
- GAO YX, JIN JC, GAO YJ, ZHANG WT, LI CC, JIN YS. Application of heterotrophic nitrification aerobic denitrifying bacteria in the landfill leachate treatment[J]. *Current Biotechnology*, 2022, 12(4): 630-637 (in Chinese).
- [73] 孙巍, 夏春雨, 李长秀, 林美琴, 韦明肯. 异养硝化-好氧反硝化复合菌剂的固定化与脱氮性能研究[J]. *广东石油化工学院学报*, 2022, 32(3): 35-40.
- SUN W, XIA CY, LI CX, LIN MQ, WEI MK. Study on the immobilization and nitrogen removal performance of heterotrophic nitrification and aerobic denitrification compound bacterial agent[J]. *Journal of Guangdong University of Petrochemical Technology*, 2022, 32(3): 35-40 (in Chinese).