

DOI:10.19853/j.zgjsps.1000-4602.2023.15.004

污泥发酵液强化污水厂尾水人工湿地深度脱氮

王泽春¹, 冯景伟¹, 张 浏², 凡春丽¹, 刘 乐², 石志孔²

(1. 合肥工业大学土木与水利工程学院 安徽省农村水环境治理与水资源利用工程实验室, 安徽 合肥 230009; 2. 安徽省生态环境科学研究院, 安徽 合肥 230071)

摘要: 以污泥发酵液作为外加碳源强化污水厂尾水人工湿地深度脱氮, 探究了污泥发酵液投加量和淹水高度对人工湿地除污效能的影响, 并测定了湿地的氮素转化速率、功能酶活性和微生物群落结构。结果表明, 未添加污泥发酵液的人工湿地(空白组)对总氮的去除率为34%~36%, 而投加污泥发酵液后去除率最高可达64%~78%。添加污泥发酵液的试验组对总磷、COD的去除率比空白组显著提高, 空白组与试验组的硝态氮浓度无显著性差异, 试验组的亚硝态氮累积量显著下降。投加0.25%、0.5%、0.75%污泥发酵液显著提高了反硝化速率、硝化速率以及氨单加氧酶、硝酸盐还原酶、亚硝酸盐还原酶的活性($p < 0.05$), 具有反硝化功能的索氏菌属(*Thauera*)丰度分别增加了2.6%、3.8%和7.9%。硝态氮和溶解氧显著影响微生物群落结构。

关键词: 污水厂尾水; 深度脱氮; 人工湿地; 污泥发酵液; 酶活性; 微生物群落结构

中图分类号: TU992 文献标识码: A 文章编号: 1000-4602(2023)15-0023-11

Enhanced Denitrification of Constructed Wetland for Treatment of Sewage Treatment Plant Effluent by Sludge Fermentation Liquid

WANG Ze-chun¹, FENG Jing-wei¹, ZHANG Liu², FAN Chun-li¹, LIU Le²,
SHI Zhi-kong²

(1. Anhui Provincial Engineering Laboratory for Rural Water Environment and Resources, School of Civil and Hydraulic Engineering, Hefei University of Technology, Hefei 230009, China;
2. Anhui Academy of Environmental Science and Research, Hefei 230071, China)

Abstract: The sludge fermentation liquid was used as additional carbon source of constructed wetland to enhance denitrification of sewage treatment plant effluent. The effects of sludge fermentation liquid dosage and flooding height on the pollutants removal in the constructed wetland were studied. The nitrogen transformation rate, the activities of various functional enzymes and the microbial community structure in the constructed wetland were measured. The results showed that the removal rate of TN in constructed wetland was only 34%–36% without adding sludge fermentation liquid. After adding sludge fermentation liquid, the removal rate of TN could reach 64%–78%. The removal rates of TP and COD in the experimental group with sludge fermentation liquid increased significantly compared with the wetland without sludge fermentation liquid (blank group). There was no significant difference in NO_3^- -N concentration between the blank group and the experimental group. The accumulation of NO_2^- -N in the

基金项目: 安徽省重点研究与开发计划项目(202104i07020013)

通信作者: 冯景伟 E-mail: jingweifeng@hfut.edu.cn; 张浏 E-mail: zlbod5@163.com

sludge fermentation liquid group decreased significantly. The denitrification rate, nitrification rate, ammonia monooxygenase, nitrate reductase and nitrite reductase activities significantly increased by adding sludge fermentation liquid of 0.25%, 0.5% and 0.75% ($p < 0.05$). After adding 0.25%, 0.5% and 0.75% sludge fermentation liquid, the relative abundance of *Thauera* with denitrifying function increased by 2.6%, 3.8% and 7.9% respectively. NO_3^- -N and DO in constructed wetland significantly affected the microbial community.

Key words: sewage treatment plant effluent; enhanced denitrification; constructed wetland; sludge fermentation liquid; enzymatic activity; microbial community

截至2020年中国城镇污水总量已攀升至约 $5.58 \times 10^8 \text{ m}^3$, 年增长率为3.82%^[1]。城镇污水排放到自然水体中,会造成水体富营养化等一系列的环境问题。虽然我国对城镇污水处理厂尾水有着严格的排放要求,但是对于巢湖、太湖等敏感水域,即使污水处理厂尾水水质达到了《城镇污水处理厂污染物排放标准》(GB 18918—2002)中的一级A排放标准,尾水中的氮素仍然会引起水体富营养化^[2]。为了满足敏感水域或者地方更为严格的污水厂尾水排放要求,仍需对其进行深度处理。污水厂尾水深度处理的关键在于脱氮,而脱氮的难点是硝态氮(NO_3^- -N)的去除。在污水处理过程中,大量的氨氮(NH_4^+ -N)经过曝气转化为 NO_3^- -N,污水厂尾水中的氮素主要以 NO_3^- -N形式存在,有时占到TN含量的80%以上^[3]。

人工湿地技术由于运行费用低、操作简便、景观效果好等优势,在污水处理厂尾水深度净化中备受关注,并得到了广泛应用^[4],但是由于缺乏稳定、经济和有效的碳源补充,多数污水厂尾水湿地的脱氮效果不佳。以有机物为碳源进行异养反硝化脱氮是污水厂尾水湿地中氮素的主要去除途径^[5],因此,有机碳源是污水厂尾水湿地异养反硝化脱氮的主要限制因子。污水厂尾水中有机物的可生物利用性低,通常需要外加有机碳源来实现深度脱氮。

以污泥发酵液、餐厨垃圾发酵液为主的新型废弃物类液态有机碳源,不仅可提供丰富的挥发性脂肪酸(VFAs)作为反硝化反应的电子供体,而且为废弃物处理处置提供了新的资源化途径。王开乐等验证了剩余污泥发酵液用作A/O工艺外加碳源处理低C/N合成氨废水的可行性^[6],但是污泥发酵液在污水厂尾水湿地深度脱氮中的研究还很缺乏。以VFAs为碳源时的反硝化速率高于投加甲醇和乙醇

等工业有机碳源的反硝化速率^[7]。但是,废弃物类液态碳源成分较为复杂,碳源以外其他干扰物质的去除率与碳源消耗率的耦合程度会对污水厂尾水湿地净化出水水质产生影响^[8],势必也会影响湿地系统中的微生物种群,进而影响反硝化速率。为此,考察污泥发酵液作为外加碳源对污水厂尾水湿地系统脱氮效能的影响,重点分析了其投加量对氮素转化、有机物和磷去除,以及湿地填料生物膜脱氮功能酶活性和氮素转化速率的影响,以期污泥发酵液用于污水厂尾水湿地的深度脱氮提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验装置

人工湿地试验装置建于合肥工业大学校园内,室外自然环境下运行,其构造如图1所示。人工湿地采用PVC制成,设计了3种不同高度的湿地,长为0.8 m,宽为0.3 m,高分别为0.4、0.7、1.3 m,每种高度湿地各4组,共12组。试验装置编号A、B、C代表高度分别为0.4、0.7、1.3 m的湿地,编号1、2、3、4代表投加0、0.25%、0.5%、0.75%污泥发酵液的湿地。湿地填充粒径为2~5 cm的砾石,填料层的孔隙率为49%。湿地中种植鸢尾(4株/ m^2)。人工湿地采用潮汐流方式运行(进水10 min、淹水36 h、排空1 h、空置8 h),填料层高度分别为0.35、0.65、1.25 m,运行水位在填料层以下5 cm。

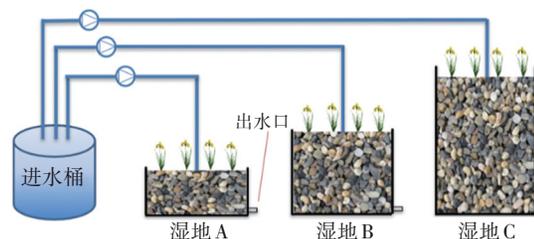


图1 试验装置示意

Fig.1 Schematic diagram of constructed wetlands

1.2 污泥发酵液的制备

采用热碱预处理脱水污泥,然后加入活性污泥进行厌氧发酵制备污泥发酵液。脱水污泥和活性污泥均取自合肥市某污水处理厂。将脱水污泥的含固率调到 60% 左右,进行加热和碱预处理,即用 NaOH 溶液将污泥 pH 调到 12,24 h 后在 80 °C 下热处理 90 min,热处理结束后在常温下反应 12 h,得到预处理污泥。向 28 L 恒温厌氧发酵罐中加入 8 L 预处理污泥,加入 12 L 自来水和 4 L 接种活性污泥,混匀加入 NaOH 溶液调节 pH 至 10,然后通氮气 30 min,32 °C 恒温厌氧发酵,总发酵时间为 10 d,每天采样测试 VFAs、COD、氮、磷、蛋白质和多糖,VFAs 的积累量在发酵的第 8 天达到最大值,因此取第 8 天的污泥水解上清液用纱布过滤并在 2 °C 下储藏备用。第 8 天的污泥水解液中 COD、TN、NH₄⁺-N、TP、VFAs、蛋白质、多糖浓度分别为 5 685、376、367、201、1 230、1 738、403 mg/L。

1.3 进水水质

人工模拟污水处理厂尾水,通过在自来水中加入富里酸、硝酸钾、亚硝酸钠、氯化铵、磷酸二氢钾等制得,水质指标见表 1。不同发酵液投加量下的碳氮比(COD/NO₃⁻-N)分别约为 3.5、6、8、10。

表 1 人工湿地进水水质

Tab.1 Influent quality of constructed wetlands
mg·L⁻¹

项 目	A-1、B-1、 C-1	A-2、B-2、 C-2	A-3、B-3、 C-3	A-4、B-4、 C-4
COD	34.1±0.9	54.2±0.6	76.9±0.2	96.9±1.3
TN	10.5±0.1	11.0±0.1	12.3±0.1	13.4±0.1
NH ₄ ⁺ -N	1.1±0.1	2.2±0.1	3.8±0.1	5.4±0.1
NO ₃ ⁻ -N	9.7±0.1	9.4±0.1	9.3±0.1	9.5±0.1
NO ₂ ⁻ -N	0.6±0.1	0.5±0.1	0.6±0.1	0.6±0.1
TP	0.9±0.1	1.3±0.1	1.8±0.1	2.3±0.1

1.4 分析项目及方法

COD:重铬酸钾法,TN:碱性过硫酸钾消解紫外分光光度法,NO₃⁻-N:紫外分光光度法,NO₂⁻-N:紫外分光光度法,NH₄⁺-N:纳氏试剂分光光度法,TP:钼酸铵分光光度法,pH:玻璃电极法,DO:电化学探头法。

硝化速率和反硝化速率、厌氧氨氧化速率、氨单加氧酶(AMO)、硝酸盐还原酶(NAR)、亚硝酸盐还原酶(NIR)活性和电子传输系统活性(ETSA)的

测定参考文献[9]、[10]和[11]中的方法;微生物群落结构由生工生物工程(上海)股份有限公司测定。

2 结果与讨论

2.1 污泥发酵液投加量对去除 COD 的影响

不同污泥发酵液投加量下,各湿地对 COD 的去除效果如图 2 所示。

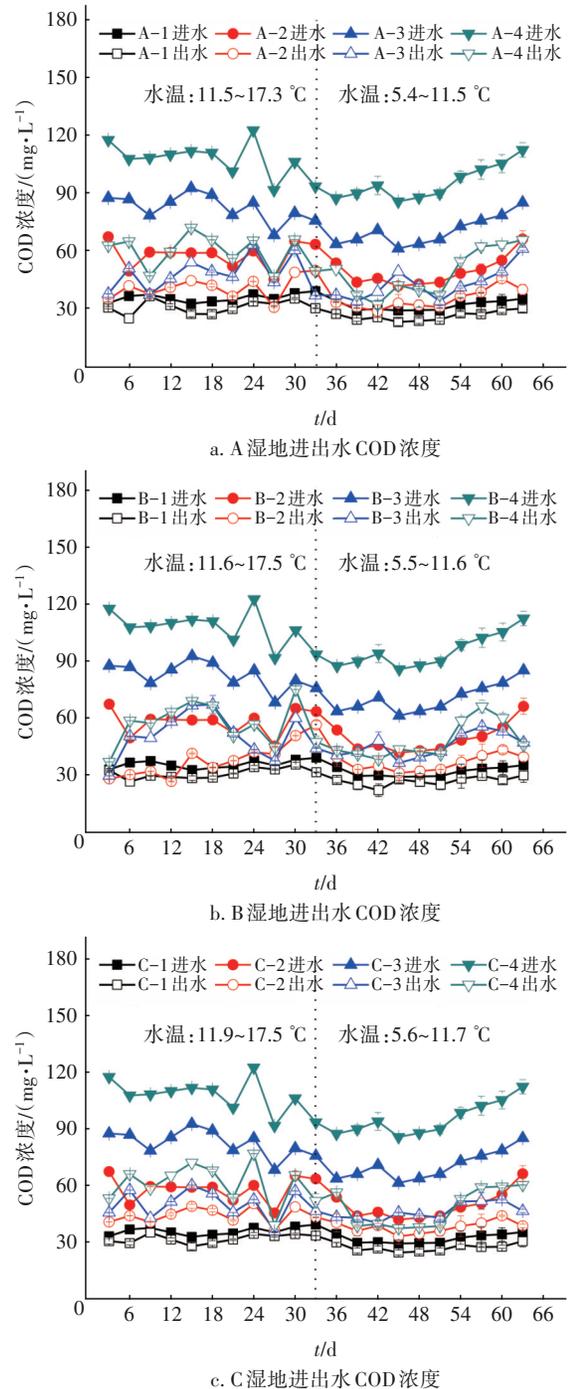


图 2 人工湿地进出水 COD 浓度

Fig.2 COD concentration in influent and effluent of constructed wetlands

当水温在13℃左右时,各湿地对COD的去除率最高可达50%,已有研究表明,由于湿地填料生物膜结构及其内部微氧环境的复杂性,某些人工湿地中存在相当数量的异养型微生物,可以高效去除污水中的有机物,即使在低温条件下也有着高效的COD去除能力^[12]。单因素方差分析结果显示,不同淹水高度的人工湿地对COD的去除率无显著差异($p>0.05$),这表明淹水高度对去除COD的影响很小。

人工湿地内部DO水平是影响微生物活性和各种生化反应的重要因素,对有机物的去除有较大影响。潮汐流人工湿地可以明显改善传统人工湿地复氧能力低的缺陷^[13],当DO充裕时,进水中有机物的可用率成为其去除的主要限制因素^[14]。由图2可知,向污水厂尾水中投加不同数量的污泥发酵液提高了进水的C/N,进水COD平均值从34.1 mg/L增加到96.9 mg/L,12组人工湿地出水COD平均浓度在29~55 mg/L之间波动,3种淹水高度人工湿地的出水COD浓度无显著性差异($p>0.05$),说明在3个淹水高度下湿地均有一定的抗COD冲击能力。其中,A-1、B-1、C-1出水可达到《地表水环境质量标准》(GB 3838—2002)的IV类水标准,A-2、B-2、C-2可达V类水标准,其他湿地出水均未达到V类水标准。富里酸是难生物降解的有机物,未添加污泥发酵液时COD去除率为14%左右,添加污泥发酵液后COD去除率为62%左右。污泥发酵液是混合碳源,含有易被微生物利用的小分子有机物(如VFAs、乙醇等)和难被微生物利用的大分子有机物(如蛋白质、多糖等)。淹水时间超过12 h后,湿地系统内DO环境就达到了缺氧状态($DO<0.6$ mg/L),36 h的淹水时间也有利于蛋白质、多糖等大分子物质被微生物吸收利用^[15]。

2.2 污泥发酵液投加量对脱氮性能的影响

各人工湿地进出水TN浓度随时间的变化见图3。进水TN平均浓度范围为10~14 mg/L,随着淹水高度的增加,TN去除率逐渐升高,这说明可以通过增加人工湿地填料层的淹水高度来提高脱氮效率。进水C/N为3.5和6时,出水TN浓度无显著性差异($p>0.05$);进水C/N为8时,出水TN浓度有显著性差异($p<0.05$);进水C/N为10时,出水TN浓度差异极显著($p<0.01$)。表明污泥发酵液投加量为0.5%和0.75%时显著提高了人工湿地的脱氮效率。

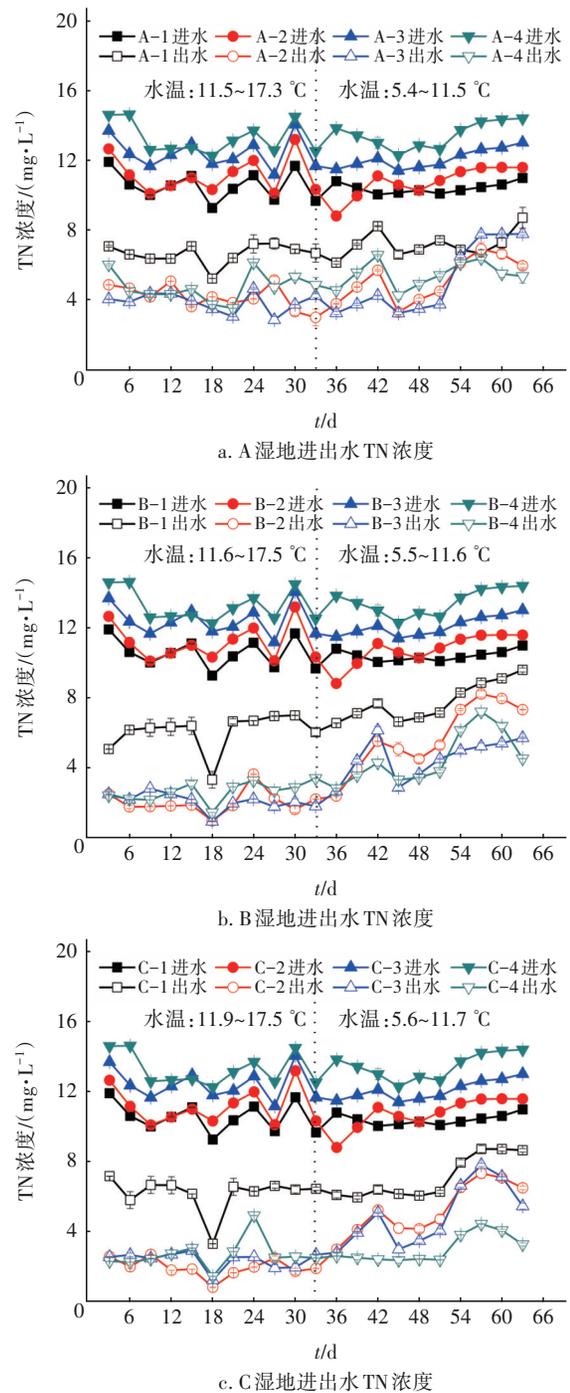


图3 人工湿地进出水TN浓度

Fig.3 Total nitrogen concentration in influent and effluent of constructed wetlands

污泥发酵液的TN浓度(约360 mg/L)较高,与未投加污泥发酵液的空白组相比,投加0.75%的污泥发酵液分别给低淹水、中淹水、高淹水人工湿地带入0.07、0.14和0.21 g/d的TN,使进水TN负荷增加了27.6%,但是污泥发酵液作为碳源分别使低淹水、中淹水、高淹水人工湿地的TN去除率增加了

30%、39%和42%。空白组和污泥发酵液投加组的出水TN浓度有显著性差异($p < 0.05$),在低淹水和中淹水人工湿地中,投加0.5%污泥发酵液时TN去除效果最好;在高淹水人工湿地中,投加0.75%污泥发酵液时TN去除效果最好。尾水中的氮素以 NO_3^- -N为主,污泥发酵液中含有VFAs等易生物利用的碳源,添加污泥发酵液有利于提高微生物菌群的多样性和丰富度,从而提高反硝化速率^[16],整体来看,淹水深度为1.2 m的人工湿地比0.6 m和0.3 m的人工湿地有更适宜于反硝化菌生长的厌氧环境,有利于反硝化脱氮。添加0.75%污泥发酵液时,高淹水人工湿地对TN的去除效果最好,低淹水和中淹水人工湿地出水中仍含有部分 NO_3^- -N和 NO_2^- -N,也会使出水 NH_4^+ -N浓度升高。在低淹水和中淹水人工湿地中,添加了0.5%污泥发酵液比添加了0.75%污泥发酵液的人工湿地出水TN平均浓度低。

湿地进水 NH_4^+ -N平均浓度为1.1~5.4 mg/L,中、高淹水湿地出水 NH_4^+ -N浓度较高且大致相同,低淹水湿地出水 NH_4^+ -N浓度较低(见图4),即随着淹水高度的增加, NH_4^+ -N去除率逐渐降低,不同淹水高度湿地的出水 NH_4^+ -N浓度有显著性差异($p < 0.05$)。相对于中淹水和高淹水湿地而言,低淹水时DO浓度高,有利于硝化细菌等好氧菌的生长,因此氨氮去除率较高。此外,污泥发酵液中含有较高浓度的 NH_4^+ -N,部分 NH_4^+ -N会被氧化成硝酸盐或者亚硝酸盐,可以成为反硝化反应或者厌氧氨氧化反应的底物,但是相较于空白组,污泥发酵液的投加最终会引起出水 NH_4^+ -N浓度的升高,在3种不同淹水高度的湿地中,与空白组相比,污泥发酵液的投加使出水 NH_4^+ -N浓度呈现极显著差异性($p < 0.01$)。投加0.75%污泥发酵液的湿地中,低淹水湿地出水 NH_4^+ -N浓度可达到《地表水环境质量标准》(GB 3838—2002)的V类水标准,中淹水和高淹水湿地出水 NH_4^+ -N浓度未达到该标准。

进水 NO_3^- -N平均浓度范围为9.5~9.7 mg/L,由于淹水时间为36 h,在淹水12 h以后,12组湿地的DO均降到了0.6 mg/L以下,可满足反硝化对DO的要求,故12组湿地的 NO_3^- -N去除率均较高(75%~83%)。湿地进水 NO_2^- -N平均浓度为0.5~0.6 mg/L,高淹水湿地的 NO_2^- -N积累量低,进水的氮元素以 NO_3^- -N为主, NO_3^- -N的去除主要是通过反硝化来

实现,4种不同C/N人工湿地的出水 NO_3^- -N浓度大致相当,但 NO_2^- -N却有着不同程度的积累(0.1~6.9 mg/L),并且C/N越低 NO_2^- -N的积累量越高,推测原因是在反应初期污泥发酵液中含有易降解的有机物,且 NO_2^- -N的还原速度小于 NO_3^- -N的还原速度,导致 NO_3^- -N的浓度快速下降, NO_2^- -N不断积累。

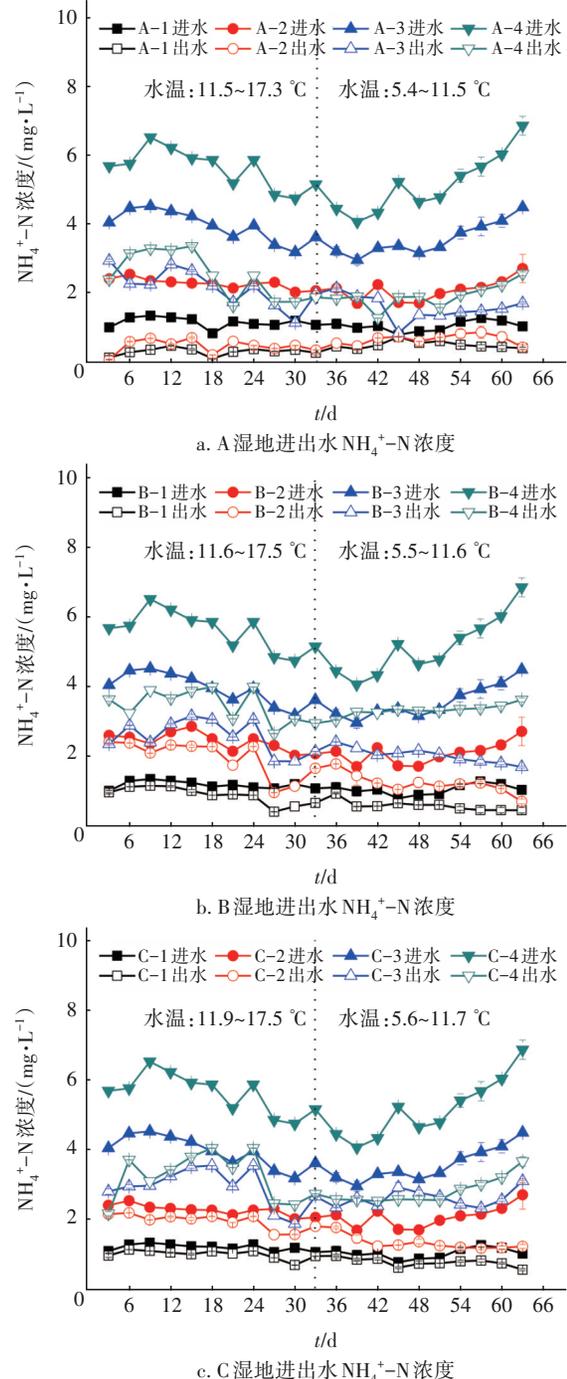


图4 人工湿地进出水 NH_4^+ -N浓度

Fig.4 Ammonia nitrogen concentration in influent and effluent of constructed wetlands

2.3 污泥发酵液投加量对除磷性能的影响

湿地进水 TP 平均浓度范围是 0.9~2.3 mg/L, 出水 TP 浓度随淹水高度的变化见图 5。

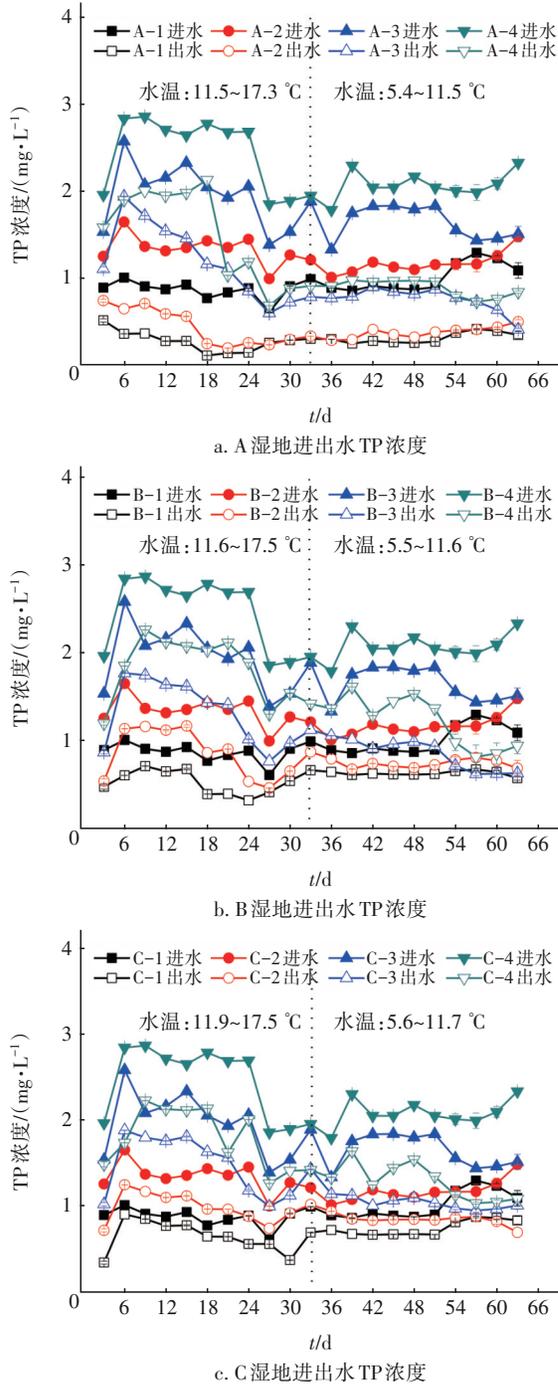


图 5 人工湿地进出水 TP 浓度

Fig.5 Total phosphorus concentration in influent and effluent of constructed wetlands

污泥发酵液中含有较高的 TP (约 200 mg/L), 随进水加到人工湿地中后, 相对于空白组会使湿地出水 TP 浓度升高, A-1 和 A-2 出水 TP 可以达到 GB

3838—2002 的 V 类水标准, 其余湿地出水均不能达到 V 类水标准。未投加污泥发酵液, 投加 0.25% 污泥发酵液时, 不同淹水高度的湿地出水 TP 浓度差异极显著 ($p < 0.01$); 分别投加 0.5%、0.75% 污泥发酵液时, 不同淹水高度的湿地出水 TP 浓度有显著性差异 ($p < 0.05$)。人工湿地中磷的去除是通过植物吸收、微生物同化和填料吸附等作用实现的, 其中, 通过填料吸附和沉淀作用去除的磷大约占湿地除磷的 70%~87%, 而且有氧环境下的吸附能力比厌氧环境提高了 35%^[17]。从本试验中人工湿地对 TP 的去除率可知, 低淹水时 TP 去除效果最好, 潮汐流方式运行的人工湿地有助于提高填料孔隙中气体和外界气体的交换速度, 增加湿地内部 DO 含量, 进而增强植物根际嗜磷菌代谢活性, 促进湿地对 TP 的去除。中淹水、高淹水人工湿地中反硝化菌的丰度高于低淹水人工湿地, 反硝化细菌优先利用人工湿地中的 COD, 抑制反硝化除磷菌的生长。从长期运行来看, 污泥发酵液作为碳源丰富了进水底物, 增强了微生物的多样性, 可以保证人工湿地除磷的稳定运行^[18]。

2.4 硝化、反硝化、厌氧氨氧化速率分析

人工湿地填料生物膜的硝化速率和反硝化速率如图 6(a) 所示, A-1、B-1、C-1 湿地填料生物膜的硝化速率最低, A-2、A-3 和 A-4 湿地填料生物膜的硝化速率分别是 A-1 的 1.1、2.3 和 5.8 倍, A-3 湿地填料生物膜的硝化速率与 A-1 有显著差异 ($p < 0.05$), A-4 湿地填料生物膜的硝化速率与 A-1 差异极显著 ($p < 0.01$), 这表明添加污泥发酵液使进水 NH_4^+-N 浓度升高, 有利于硝化细菌的繁殖, 提高了湿地的硝化速率, 进而提高了湿地的 NH_4^+-N 去除率。B-1、B-2、B-3、B-4 和 C-1、C-2、C-3、C-4 的硝化速率也有相同的规律。

A-1、B-1、C-1 湿地填料生物膜的反硝化速率最低, A-2、A-3 和 A-4 湿地填料生物膜的反硝化速率分别是 A-1 的 3.3、10.6 和 24.4 倍, A-2 湿地填料生物膜的反硝化速率与 A-1 有显著差异 ($p < 0.05$), A-3 和 A-4 的反硝化速率与 A-1 的差异极显著 ($p < 0.01$), B-1、B-2、B-3、B-4 和 C-1、C-2、C-3、C-4 的反硝化速率也有相同的规律。这表明污泥发酵液可以作为异养反硝化的碳源, 并且反硝化速率显著高于未添加污泥发酵液的对照组 ($p < 0.01$)。

厌氧氨氧化细菌是一种化能自养细菌, 在缺氧

条件下用 NO_2^- -N作为电子受体将 NH_4^+ -N氧化为 N_2 。如图6(b)所示,在低淹水湿地中(缺氧环境),厌氧氨氧化速率最快的是A-4,其原因可以解释为在长时间淹水的情况下,进水的 NH_4^+ -N浓度高,有利于厌氧氨氧化菌的繁殖,同时在低淹水湿地中存在着不同程度的 NO_2^- -N积累,有利于厌氧氨氧化的发生。在中淹水湿地中(厌氧环境),厌氧氨氧化速率最快的是B-3,在高淹水湿地中(厌氧环境),厌氧氨氧化速率最快的是C-3。有学者指出在碳源为乙酸钠和存在 NH_4^+ -N的情况下,厌氧氨氧化菌对 NO_2^- -N有更高的亲和力而非反硝化菌^[19],本试验中添加的是污泥发酵液和富里酸的混合碳源,推测在厌氧状态下污泥发酵液中的反硝化菌会对厌氧氨氧化菌产生抑制,对 NO_2^- -N有更强的选择优势。此外,污泥发酵液的投加会增加进水 NH_4^+ -N浓度,湿地中 NO_2^- -N浓度和 NH_4^+ -N浓度会共同影响厌氧氨氧化菌的活性和丰度。

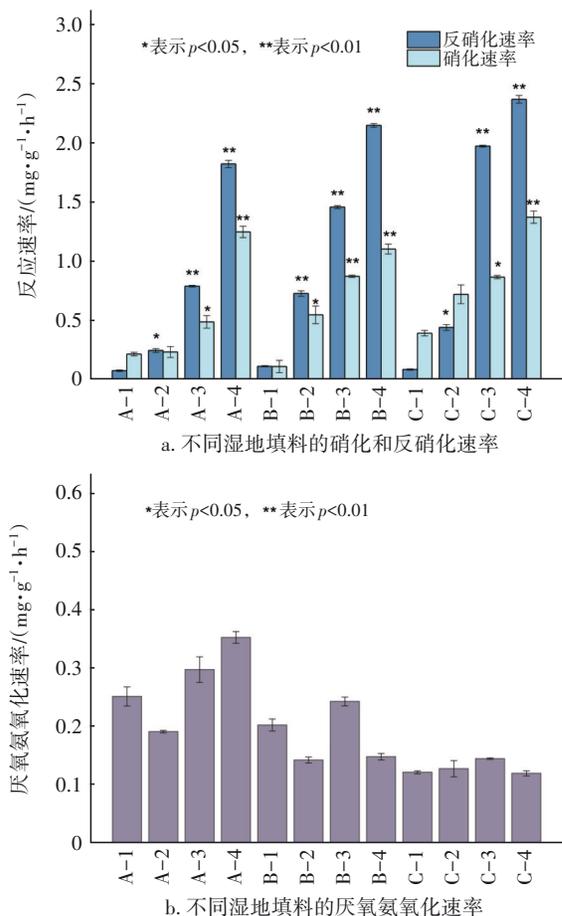


图6 不同湿地填料生物膜的反应速率

Fig.6 Reaction rate of biofilm on the fillings of constructed wetlands

从图6数据来看,反硝化速率最大,其次是硝化速率,厌氧氨氧化速率最小,因此,起主要脱氮作用的是硝化和反硝化作用。

2.5 微生物酶活性和电子传递系统活性分析

氨单加氧酶(AMO)是硝化反应中起作用的关键酶之一,在有氧的条件下有助于 NH_4^+ -N转化为 NO_3^- -N^[20]。如图7所示,A-1、B-1、C-1湿地填料生物膜的AMO活性最低,A-2、A-3和A-4湿地填料生物膜的AMO活性分别是A-1的2.0、4.7和10.7倍,A-2的AMO活性与A-1无显著差异($p > 0.05$),A-3、A-4的AMO活性与A-1差异极显著($p < 0.01$)。B-1、B-2、B-3、B-4和C-1、C-2、C-3、C-4的AMO活性也有相似的规律。AMO的活性变化规律与硝化速率的相似。

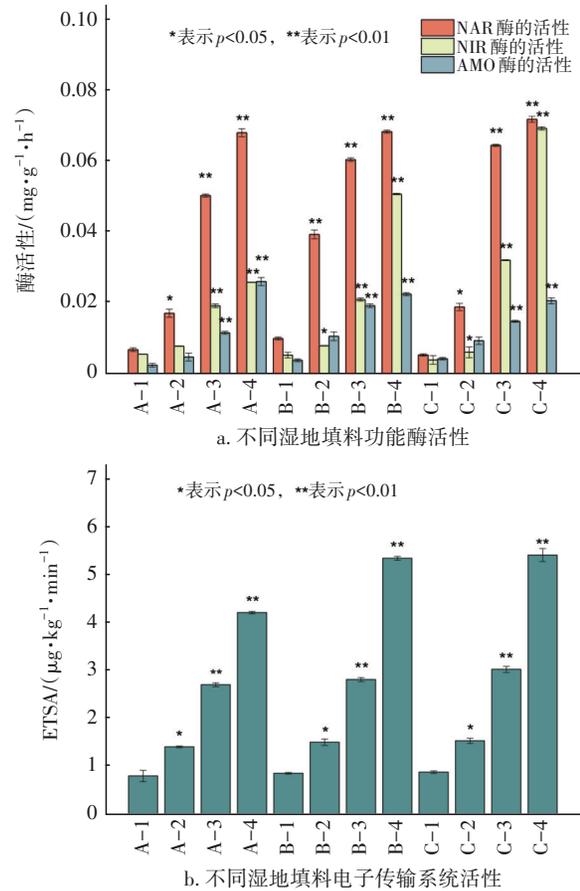


图7 功能酶的活性

Fig.7 Activity of functional enzymes

反硝化过程中反硝化酶起到非常关键的作用,它可将 NO_3^- -N、 NO_2^- -N和NO等还原成 N_2 。其中硝酸盐还原酶(NAR)能将 NO_3^- -N还原成 NO_2^- -N,如图7所示,A-1、B-1、C-1湿地填料生物膜的NAR活

性最低,A-2、A-3和A-4的NAR活性分别是A-1的2.5、7.4和10.0倍,A-2的NAR活性与A-1有显著差异($p < 0.05$),A-3、A-4的NAR活性与A-1差异极显著($p < 0.01$)。B-1、B-2、B-3、B-4和C-1、C-2、C-3、C-4的NAR活性也有相同的规律。NAR是反硝化过程中率先起作用的关键酶,其活性对反硝化过程至关重要。污泥发酵液的添加提高了湿地填料生物膜的NAR活性,从而将更多的 NO_3^- -N还原成 NO_2^- -N,有利于后续反硝化脱氮的进行。总之,污泥发酵液作为碳源加入人工湿地中,可以使填料生物膜的NAR活性显著增强,这也是投加污泥发酵液能够强化微生物反硝化脱氮的原因之一。

亚硝酸盐还原酶(NIR)是反硝化过程中重要的酶,其作用是将 NO_2^- -N还原成 NO ,其活性影响着 NO_2^- -N的积累量。从图7可以看出,A-1、B-1、C-1湿地填料生物膜的NIR活性最低,A-2、A-3和A-4湿地填料生物膜的NIR活性分别是A-1的1.4、3.5和4.7倍,A-2的NIR活性与A-1无显著差异($p > 0.05$),A-3、A-4的NIR活性与A-1差异极显著($p < 0.01$)这也解释了添加污泥发酵液的人工湿地A-1、B-1、C-1出现了 NO_2^- -N积累,而A-4、B-4、C-4出水未出现 NO_2^- -N过度积累的原因。污泥发酵液的加入提高了湿地填料附着微生物的NAR和NIR活性,强化了微生物的反硝化作用,进而提高了 NO_3^- -N和TN的去除率。

微生物硝化、反硝化、厌氧氨氧化等反应都存在着电子传输,电子传输系统活性(ETSA)可以间接反映微生物体内酶的活性,例如在反硝化过程,NAR、NIR还原 NO_3^- -N和 NO_2^- -N时,电子会发生转移并在反应中被消耗^[21]。A-1、B-1、C-1填料生物膜的ETSA都较低,添加污泥发酵液的湿地的ETSA较对照组湿地均显著提高($p < 0.05$),这与NAR、NIR、AMO等活性的变化规律相同。

2.6 湿地填料生物膜微生物群落结构

不同C/N和不同淹水高度时,湿地中门水平微生物群落的相对丰度见图8。湿地中的优势微生物菌门包括变形菌门(*Proteobacteria*,相对丰度为62.0%~78.9%)、拟杆菌门(*Bacteroidetes*,相对丰度为9.5%~20.4%)、*Parcubacteria*菌门(相对丰度为0.2%~14.1%)、酸杆菌门(*Acidobacteria*,相对丰度为0.6%~3.0%)、绿弯菌门(*Chloroflexi*,相对丰度为0.4%~2.4%)、厚壁菌门(*Firmicutes*,相对丰度为

0.5%~2.2%)、疣微菌门(*Verrucomicrobia*,相对丰度为0.4%~1.1%)、*Candidatus Saccharibacteria*菌门(相对丰度为0.1%~2.0%)和放线菌门(*Actinobacteria*,相对丰度为0.1%~1.4%)。

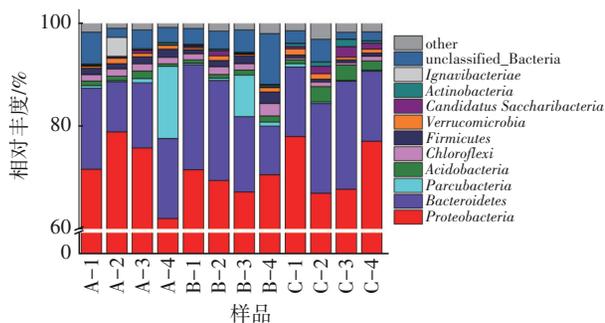


图8 门水平微生物群落的相对丰度

Fig.8 Relative abundance of microbial communities at phylum level

变形菌门(*Proteobacteria*)是几乎所有的人工湿地系统中最大的门类,且与进水碳源种类无关^[22],其不仅具有脱氮除磷功能,还能降解有机物。拟杆菌门(*Bacteroidetes*)的主要功能是去除有机物,它能将碳水化合物水解成单糖,再分解成乳酸、乙酸等挥发性酸,还能促进植物生长,防止病原体侵袭根系且具有反硝化功能^[23]。在低淹水、中淹水、高淹水人工湿地中拟杆菌门(*Bacteroidetes*)的平均相对丰度分别为13.5%、16.0%、16.4%,这也在一定程度上证明了有足够淹水高度的潮汐流人工湿地的反硝化作用强于低淹水湿地系统。*Parcubacteria*是典型的异养反硝化菌^[24],酸杆菌门(*Acidobacteria*)具有降解有机物的作用,且可利用碳源将硝酸盐还原成亚硝酸盐^[25],绿弯菌门(*Chloroflexi*)和厚壁菌门(*Firmicutes*)可降解水中有机物,与水解和酸化有关。*Candidatus Saccharibacteria*可降解硝酸盐,且与短程反硝化脱氮有关^[26],放线菌门(*Actinobacteria*)可作为反硝化细菌,还可以促进植物生长^[27]。

进一步分析了湿地微生物群落结构在属水平的变化,结果见图9。可知占比最大的是水杆菌属(*Aquabacterium*),在低淹水、中淹水、高淹水人工湿地中的平均丰度分别为31.1%、26.0%、20.5%,低淹水湿地所占丰度最高。水杆菌属是兼性厌氧菌,据报道,缺氧区的DO和进水C/N有利于兼性厌氧微生物的生长^[28],由于中淹水和高淹水人工湿地内部大部分时间都处于厌氧状态,不利于水杆菌属的大量繁殖。12个样品中丰度第二的是黄杆菌属

(*Flavobacterium*),在低淹水、中淹水、高淹水人工湿地中的平均丰度分别为 8.2%、9.0%、9.9%,淹水高度为 1.2 m 的湿地平均丰度最高。黄杆菌属是异养反硝化菌属,且还可代谢细胞内的糖类,分泌有机酸,从而降解蛋白质等高分子物质,此外还具有反硝化功能^[29]。12 个样品中丰度排第三的是索氏菌属(*Thauera*),C/N 为 3.5、6、8 和 10 的湿地中其平均相对丰度分别为 2.2%、4.8%、6.0%、10.1%。索氏菌属(*Thauera*)是携带 NirS 基因的反硝化菌属,通常被认为是完全反硝化菌,可以将 NO_3^- -N 和 NO_2^- -N 转化为 N_2 ^[30]。索氏菌属(*Thauera*)的丰度随发酵液投加量的增大而升高。此外湿地填料中还存在厌氧氨氧化菌属(*Parcubacteria_genera_incertae_sedis*),其可在缺氧条件下以 NO_2^- -N 作为电子受体将 NH_4^+ -N 氧化为 N_2 ,其丰度和湿地填料厌氧氨氧化速率有大致相同的规律。C/N 为 3.5、6、8 和 10 的湿地中马赛菌属(*Massilia*)平均相对丰度分别为 0.4%、0.3%、1.3% 和 0.6%。噬酸菌属(*Acidovorax*)、丛毛单胞菌属(*Comamonas*)、动胶菌属(*Zoogloea*)等常见的反硝化菌属在 12 个样品中也有一定的丰度。

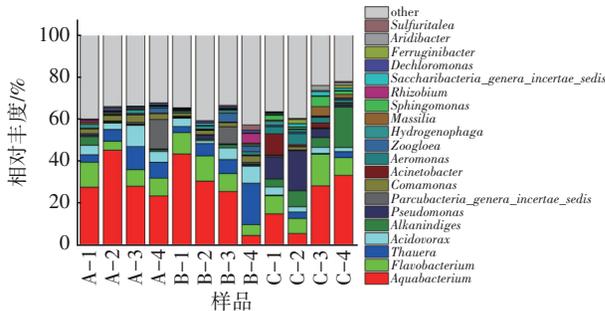


图9 属水平微生物群落的相对丰度

Fig.9 Relative abundance of microbial communities at genus level

2.7 典型对应分析

为了进一步研究水环境因子和微生物菌群间的相关性,进行典型对应分析。结果表明, NO_3^- -N、DO 对微生物菌群影响最大, NH_4^+ -N、TN、COD 对微生物菌群影响较大(见图 10)。主成分(AX1 和 AX2)可以解释 70.36% 的微生物菌群,说明结果具有一定的参考意义。湿地进水中的氮素以 NO_3^- -N 为主,反硝化脱氮主要依靠湿地中的微生物,氮素转化速率(反硝化速率、硝化速率和厌氧氨氧化速率)中反硝化速率最高,因此, NO_3^- -N 对湿地菌群影响最大。以潮汐流方式运行的人工湿地有助于提

高填料孔隙中气体和外界气体的交换速度,增加湿地内的 DO 含量,为湿地内部各种微生物提供了合适的 DO 环境,微生物种群得以增加。COD 对微生物群落结构影响较大,这是因为有机物可以为人工湿地内部的异养微生物的生长和繁殖提供营养。添加污泥发酵液会增加进水 NH_4^+ -N 和 TN 浓度,进而影响到脱氮菌群的结构。

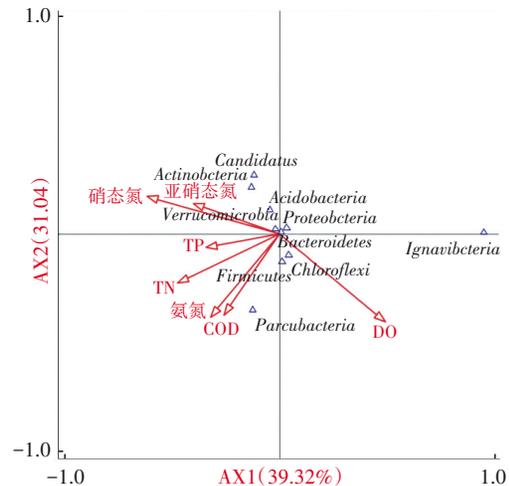


图 10 环境因子和人工湿地细菌门水平的典型对应分析

Fig.10 Canonical correspondence analysis of environmental factors and bacterial phylum levels in constructed wetlands

3 结论

① 投加污泥发酵液作为污水厂尾水脱氮的碳源时,可强化反硝化脱氮过程,与未投加污泥发酵液时相比,污泥发酵液投加量为 0.25%、0.5% 和 0.75% 时 TN 去除率分别提高了 25%~30%、31%~39%、30%~42%,湿地填料生物膜 AMO、NAR、NIR 和 ETSA 分别提高了 2.0~10.7、2.5~10.0、1.4~4.7、1.8~5.2 倍,湿地系统的硝化速率和反硝化速率分别提高了 1.1~5.8 倍和 3.3~27.4 倍。低淹水和中淹水高度下污泥发酵液投加量为 0.5%、高淹水时污泥发酵液投加量为 0.75% 脱氮效果最佳。在处理污水厂尾水时,可根据不同的淹水高度,适当调整湿地进水中的污泥发酵液投加量。

② 投加污泥发酵液可以抑制 NO_2^- -N 的积累,提高 COD、 NH_4^+ -N 和 TP 的去除率,但也增加了 COD、 NH_4^+ -N 和 TP 进水负荷,从而增加湿地出水浓度。投加 0.25% 污泥发酵液时各湿地出水 COD 和 NH_4^+ -N 可以达到地表水 V 类标准,A-1(空白组)和 A-2 出水 TP 可达到地表水 V 类标准,其余的均无法

达到地表水V类标准。

③ 污泥发酵液投加量显著影响湿地填料表面生物膜的微生物群落结构,污泥发酵液的投加提高了具有反硝化、硝化和厌氧氨氧化功能的索氏菌属(*Thauera*)、马赛菌属(*Massilia*)和*Parcubacteria_genera_incertae_sedis*菌属含量。典型对应分析结果表明, NO_3^- -N和DO是影响湿地水平微生物群落结构的主要因素。

参考文献:

- [1] KE X, LIU C, TANG S Q, *et al.* Characterization of *Acinetobacter indicus* ZJB20129 for heterotrophic nitrification and aerobic denitrification isolated from an urban sewage treatment plant [J]. *Bioresource Technology*, 2022, 347: 126423.
- [2] 胡晓燕,朱元荣,孙福红,等. 河流氮磷和水量输入对太湖富营养化的影响机理研究[J]. *环境科学研究*, 2022, 35(6): 1407-1418.
HU Xiaoyan, ZHU Yuanrong, SUN Fuhong, *et al.* Mechanism research of the effects of water quality (nitrogen and phosphorus concentrations) and water volume on eutrophication of Lake Taihu [J]. *Research of Environmental Sciences*, 2022, 35 (6) : 1407-1418 (in Chinese).
- [3] 陈云峰,文辉,张彦辉. 不同固态碳源用于反硝化去除污水处理厂尾水中硝态氮的研究[J]. *给水排水*, 2010, 46(11): 140-143.
CHEN Yunfeng, WEN Hui, ZHANG Yanhui. Study on removal of nitrate nitrogen from tail water of sewage treatment plant by denitrification using different solid carbon sources [J]. *Water & Wastewater Engineering*, 2010, 46(11): 140-143 (in Chinese).
- [4] 肖海文,刘馨瞳,翟俊,等. 人工湿地类型的选择及案例分析[J]. *中国给水排水*, 2021, 37(22): 11-17.
XIAO Haiwen, LIU Xintong, ZHAI Jun, *et al.* Type selection of constructed wetlands and related design case analysis [J]. *China Water & Wastewater*, 2021, 37(22) : 11-17 (in Chinese).
- [5] TIAN T, YU H Q. Denitrification with non-organic electron donor for treating low C/N ratio wastewaters [J]. *Bioresource Technology*, 2020, 299: 122686.
- [6] 王开乐,周集体,田天,等. 剩余污泥碱解液用作低C/N合成氨废水反硝化碳源研究[J]. *环境工程*, 2021, 39(12): 31-37.
WANG Kaile, ZHOU Jiti, TIAN Tian, *et al.* Application of alkali-hydrolyzed residual of activated sludge as a denitrification carbon source for treating ammonia wastewater with a low C/N ratio [J]. *Environmental Engineering*, 2021, 39(12): 31-37 (in Chinese).
- [7] ZHENG X, ZHOU W, WAN R, *et al.* Increasing municipal wastewater BNR by using the preferred carbon source derived from kitchen wastewater to enhance phosphorus uptake and short-cut nitrification-denitrification [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2018, 344: 556-564.
- [8] MA S, HU H, WANG J, *et al.* The characterization of dissolved organic matter in alkaline fermentation of sewage sludge with different pH for volatile fatty acids production [J]. *Water Research*, 2019, 164: 114924.
- [9] ZHANG X, SONG Z, GUO W, *et al.* Behavior of nitrogen removal in an aerobic sponge based moving bed biofilm reactor [J]. *Bioresource Technology*, 2017, 245: 1282-1285.
- [10] 赵锋,许海,詹旭,等. 太湖春夏两季反硝化与厌氧氨氧化速率的空间差异及其影响因素[J]. *环境科学*, 2021, 42(5): 2296-2302.
ZHAO Feng, XU Hai, ZHAN Xu, *et al.* Patial differences and influencing factors of denitrification and anammox rates in spring and summer in Lake Taihu [J]. *Environmental Science*, 2021, 42 (5) : 2296-2302 (in Chinese).
- [11] YANG X, HE Q, GUO F, *et al.* Nanoplastics disturb nitrogen removal in constructed wetlands: responses of microbes and macrophytes [J]. *Environmental Science & Technology*, 2020, 54(21): 14007-14016.
- [12] 付昆明,姜姗,苏雪莹,等. 碳氮比对颗粒污泥CANON反应器脱氮性能和 N_2O 释放的冲击影响[J]. *环境科学*, 2018, 39(11): 5101-5107.
FU Kunming, JIANG Shan, SU Xueying, *et al.* Impact of C/N ratio on nitrogen removal performance and N_2O release of granular sludge CANON reactor [J]. *Environmental Science*, 2018, 39 (11) : 5101-5107 (in Chinese).
- [13] 杜新,施春红,马方曙. 有机负荷对潮汐流人工湿地净化农村生活污水的影响[J]. *生态与农村环境学报*, 2015, 31(3): 380-384.
DU Xin, SHI Chunhong, MA Fangshu. Impact of organic pollutant loading on effect of artificial tidal flow wetland purifying rural domestic sewage [J]. *Journal of Ecology and Rural Environment*, 2015, 31 (3) : 380-384 (in Chinese).

- [14] ZHAN X, YANG Y, CHEN F, *et al.* Treatment of secondary effluent by a novel tidal-integrated vertical flow constructed wetland using raw sewage as a carbon source: contribution of partial denitrification-anammox [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2020, 395: 125165.
- [15] 王淑莹, 操沈彬, 杜睿, 等. 污泥发酵液为碳源的反硝化过程亚硝酸盐积累[J]. *北京工业大学学报*, 2014, 40(5): 743-750.
- WANG Shuying, CAO Shenbin, DU Rui, *et al.* Nitrite accumulation during the denitrification process with sludge fermentation liquid as carbon source [J]. *Journal of Beijing University of Technology*, 2014, 40(5): 743-750 (in Chinese).
- [16] SAGE M, DAUFIN G, GÉSAN-GUIZIOU G. Denitrification potential and rates of complex carbon source from dairy effluents in activated sludge system [J]. *Water Research*, 2006, 40(14): 2747-2755.
- [17] 王帅, 高红杰, 宋永会, 等. 潮汐流人工湿地净化城市河水中试研究[J]. *环境工程技术学报*, 2013, 3(4): 298-304.
- WANG Shuai, GAO Hongjie, SONG Yonghui, *et al.* Pilot study on purification of urban river water by using tidal flow constructed wetland [J]. *Journal of Environmental Engineering Technology*, 2013, 3(4): 298-304 (in Chinese).
- [18] 李亚静, 陈修辉, 孙力平, 等. 丙酸/乙酸比值对反硝化除磷的影响[J]. *中国给水排水*, 2011, 27(1): 79-81.
- LI Yajing, CHEN Xiuhui, SUN Liping, *et al.* Effects of propionic/acetic acid ratios on denitrifying phosphorus removal [J]. *China Water & Wastewater*, 2011, 27(1): 79-81 (in Chinese).
- [19] JETTEN M S M, NIFTRIK L V, STROUS M, *et al.* Biochemistry and molecular biology of anammox bacteria [J]. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, 2009, 44(2/3): 65-84.
- [20] ZHANG C, GUIASOLA A, BAEZA J A. Achieving simultaneous biological COD and phosphorus removal in a continuous anaerobic/aerobic A-stage system [J]. *Water Research*, 2021, 190: 116703.
- [21] WU Z, XU F, YANG C, *et al.* Highly efficient nitrate removal in a heterotrophic denitrification system amended with redox-active biochar: a molecular and electrochemical mechanism [J]. *Bioresource Technology*, 2019, 275: 297-306.
- [22] SÁNCHEZ O. Constructed wetlands revisited: microbial diversity in the -omics Era [J]. *Microbial Ecology*, 2017, 73(3): 722-733.
- [23] MENG P, PEI H, HU W, *et al.* How to increase microbial degradation in constructed wetlands: influencing factors and improvement measures [J]. *Bioresource Technology*, 2014, 157: 316-326.
- [24] WU L, LI Z, ZHAO C, *et al.* A novel partial-denitrification strategy for post-anammox to effectively remove nitrogen from landfill leachate [J]. *Science of the Total Environment*, 2018, 633: 745-751.
- [25] WANG P, ZHANG H, ZUO J, *et al.* A hardy plant facilitates nitrogen removal via microbial communities in subsurface flow constructed wetlands in winter [J]. *Scientific Reports*, 2016, 6(1): 33600.
- [26] GU Y, WEI Y, XIANG Q, *et al.* C:N ratio shaped both taxonomic and functional structure of microbial communities in livestock and poultry breeding wastewater treatment reactor [J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 651: 625-633.
- [27] HU H, MA S, ZHANG X, *et al.* Characteristics of dissolved organic nitrogen in effluent from a biological nitrogen removal process using sludge alkaline fermentation liquid as an external carbon source [J]. *Water Research*, 2020, 176: 115741.
- [28] DONG X, REDDY G B. Soil bacterial communities in constructed wetlands treated with swine wastewater using PCR-DGGE technique [J]. *Bioresource Technology*, 2010, 101(4): 1175-1182.
- [29] MAO W, YANG R, SHI H, *et al.* Identification of key water parameters and microbiological compositions triggering intensive N₂O emissions during landfill leachate treatment process [J]. *Science of the Total Environment*, 2022, 833: 155135.
- [30] SEELEY M E, SONG B, PASSIE R, *et al.* Microplastics affect sedimentary microbial communities and nitrogen cycling [J]. *Nature Communications*, 2020, 11(1): 2372.

作者简介:王泽春(1997-),男,安徽安庆人,硕士研究生,研究方向为人工湿地污水深度处理技术。

E-mail: 1732864707@qq.com

收稿日期:2022-08-10

修回日期:2022-09-13

(编辑:李德强)