#### 2016,35(11):2154-2162

林 燕,张焕杰,刘 曦,等. 固定反硝化菌强化人工湿地处理低污染水研究[J]. 农业环境科学学报, 2016, 35(11):2154-2162. LIN Yan, ZHANG Huan-jie, LIU Xi, et al. Performance of immobilized denitrifying bacteria in constructed wetland for slightly-polluted water treatment[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2016, 35(11):2154-2162.

# 固定反硝化菌强化人工湿地处理低污染水研究

林 燕,张焕杰,刘 曦,俞 璐,朱文颖,孔海南\*

(上海交通大学环境科学与工程学院,上海 200240)

**摘 要**:将固定反硝化菌 Pseudomonas stutzeri(以聚乙烯醇、海藻酸钠为材料包埋固定)投加至人工湿地不同位置,进行低污染水模 拟脱氮实验,以探究固定反硝化菌的最佳投加位置;采用高通量测序技术分析各系统微生物组成,并考察最优系统在低温下的脱氮 效果。结果表明,上层投加固定反硝化菌对湿地脱氮的强化效果最佳,TN 与 NO<sub>3</sub>-N 去除率分别为 60.31%与 64.98%;微生物多样性 指数显示,投加固定反硝化菌虽降低了系统微生物丰富度,但各处理系统内主要微生物物种差异不大,Proteobacteria(变形菌门)丰 度最高,投加固定反硝化菌系统中 Nitrospira(硝化螺旋菌门)比例增大,有利于脱氮效果的提高。在 15 ℃条件下,上层投加固定反硝 化菌系统的 TN 与 NO<sub>3</sub>-N 去除率分别为 50.86%与 55.06%,高于空白湿地系统(TN 与 NO<sub>3</sub>-N 去除率为 24.81%与 27.53%)。 关键词:固定化;人工湿地;脱氮;微生物多样性

中图分类号:X52 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2016)11-2154-09 doi:10.11654/jaes.2016-0540

Performance of immobilized denitrifying bacteria in constructed wetland for slightly-polluted water treatment LIN Yan, ZHANG Huan-jie, LIU Xi, YU Lu, ZHU Wen-ying, KONG Hai-nan<sup>\*</sup>

(1.School of Environmental Science and Engineering, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China)

Abstract : Denitrifying bacteria Pseudomonas stutzeri isolated from lab were fixed with PVA and SA and were added to dosing positions (upper, lower, upper and lower) to simulate the release of the nitrate-rich source in low pollution water, aiming to determine the optimal dosing position. The reasons of enhanced nitrogen removal in microbial community diversity were analyzed by using high-throughput sequencing technology, and the effect of strengthening efficiency at low temperature was investigated. Results showed that the system dosing in upper layer got the best performance, and the removal rates of total nitrogen and nitrate were 60.31% and 64.98%, respectively. The results of microbial diversity index of each system showed that the microbial species diversity in the control system was higher than othes. But overall, there was little difference between the four systems, and the most abundant phylum was Proteobacteria in each system. And the increased percentage of Nitrospirain dosing systems was conducive to improve the nitrogen removal. The results showed that the removal rates of total nitrogen and nitrate in the system dosing in upper layer were 50.86% and 55.06%, respectively, while that in the control system were 24.81% and 27.53% at 15  $^{\circ}$ C.

Keywords: immobilization; constructed wetland; denitrification; microbial diversity

作者简介:林 燕(1976—)女,浙江宁波人,副教授,研究方向为水污染控制与生态修复。E-mail:linyan2002@sjtu.edu.cn

收稿日期:2016-04-19

基金项目:国家水体污染控制与治理科技重大专项(2012ZX07105-003)

<sup>\*</sup>通信作者:孔海南 E-mail:hnkong@sjtu.edu.cn

近年来,人工湿地被广泛用于流域水体及污水厂 尾水等的处理<sup>[1-2]</sup>,但其脱氮效率受气温影响较大,低 温时脱氮效果不佳<sup>[3-4]</sup>,且脱氮过程中产生的 NO<sub>2</sub>-N 积累对微生物产生毒害作用而阻碍生物脱氮<sup>[9]</sup>等。固 定化微生物技术具有环境适应能力强、耐毒害能力强 等优点<sup>[6-7]</sup>,可弥补湿地脱氮的不足,强化脱氮效果。张 永栋等<sup>[8]</sup>进行的聚乙烯醇凝胶包埋方法固定化细菌联 合植物的除氮研究,唐美珍等<sup>[9]</sup>进行的 Pseudomonas flava WD-3 固定化技术及其强化 SBR 污水处理的应 用研究,张会萍等<sup>[10]</sup>进行的陶粒固定化脱氮菌群对景 观水中 NO<sub>3</sub>-N 的去除研究,都证实了该强化技术的 可行性。但对于固定化脱氮菌投加至人工湿地时投加 方式的研究尚少,且大多研究是对强化结果的考查, 而对强化原因的分析较少。

本研究考查了固定化反硝化菌投加至湿地系统 时,不同投加位置(上层、下层、上下层)对系统低污染 水脱氮效果的影响,采用高通量测序技术从微生物层 面分析强化原因,并考察其在低温下的系统脱氮强化 效果。

#### 1 材料与方法

#### 1.1 固定化反硝化菌

菌种:Pseudomonas stutzeri A1501(序列号为NR\_ 074829.1),实验室分离所得。

固定化材料:聚乙烯醇(PVA)、海藻酸钠(SA)。

固定化方法:硼酸包埋法。

固定化颗粒:密度为 0.93 g·mL<sup>-1</sup>,平均 1 g 固定 化颗粒中所含反硝化菌质量为 0.02 g。

#### 1.2 进水水质

人工湿地系统进水为人工模拟低污染水,其主要 污染物为 NO<sub>3</sub>-N 和 COD,由自来水与 KNO<sub>3</sub>、葡萄 糖、K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>、MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 等试剂配制而成。相关水质 参数见表 1。

Table 1 Properties of the influent of CWs(mg·L<sup>-1</sup>)

主要水质指标 Main water quality parameters	NO <sub>3</sub> -N	ΤN	COD
浓度范围 Concentration range	3~4	3~5	13~15

#### 1.3 实验装置及运行

实验室模拟水平潜流人工湿地系统装置如图 1 所示。材质为聚氯乙烯,尺寸为 0.8 m(长)×0.25 m (宽)×0.7 m(高),总容积 0.14 m<sup>3</sup>,内部填充 8~12 mm





粒径砾石,填充高度 0.50 m,有效水深 0.45 m。湿地植物为芦苇,种植密度为 40 株·m<sup>-2</sup>,种植前置于 10%修正的 Hoagland 培养液中生长一周<sup>[10]</sup>。系统采用连续运行方式,流量为 20 L·d<sup>-1</sup>,水力停留时间为 2.0 d。

1.3.1 固定化反硝化菌的投加位置实验

固定化反硝化菌的投加位置主要为湿地上下两 层(均匀投加,三组湿地系统固定化反硝化菌的投加 总量相同),分别设在填料表面下 10 cm 与 35 cm 处。 各系统均在 25 ℃条件下运行(人工气候室控制)。根 据各系统中投加位置的不同,实验设置 4 组处理系 统:第一组为空白(处理系统 1);第二组为下层投加 固定化反硝化菌(处理系统 2);第三组为上层投加固 定化反硝化菌(处理系统 3);第四组为上下层均投加 固定化反硝化菌(处理系统 4)。

1.3.2 固定化反硝化菌对人工湿地脱氮的强化实验

为探究固定化反硝化菌在低温下(15℃,人工气候 室控制)对人工湿地脱氮的强化效果,根据 1.3.1 的实 验结果,设置以下两组处理系统:第一组为空白(处理 系统 1);第二组为投加固定化反硝化菌强化人工湿地 脱氮效果最佳的处理系统(由 1.3.1 实验确定)。比较分 析不同处理系统中 TN、NO₃-N 的去除效果。

#### 1.4 测试方法

水质监测:NO3-N、NO2-N、TN 的测定采用QC-8500 流动注射仪<sup>[12]</sup>。DO、pH 测定分别采用 HQ300D DO 测定仪<sup>[13]</sup>和 PHS-3CT pH 计<sup>[14]</sup>。

微生物多样性分析:高通量测序平台(Illumina-Miseq 2×300 bp),微基生物科技有限公司。

## 2 结果与分析

#### 2.1 投加位置对人工湿地处理系统脱氮的影响

2.1.1 各人工湿地处理系统脱氮效果分析

由图 2 可知,在各人工湿地系统运行的前 28 d, 各处理系统出水 TN 浓度随进水 TN 浓度的变化而波

动,但上下层均投加固定化反硝化菌的湿地系统出水 TN 浓度变化较小, 投加固定化反硝化菌的三组强化 湿地系统对 TN 的去除效果优于空白湿地系统。这主 要是因为投加反硝化菌减少了湿地系统启动及脱氮 微生物群落形成的时间。在运行的第28~50d,各处理 系统出水 TN 浓度均维持在相对稳定水平,空白湿地 TN 去除率较前阶段提高,出水 TN 浓度与下层投加 反硝化菌湿地相差不大,说明随着系统的连续运行, 空白湿地内植物逐渐适应系统环境并开始稳定生长, 由此可见人工湿地内进行污染物去除的主要复合生 态系统:基质-微生物-植物形成并稳定发挥作用。

由图2和图3可以看出,各人工湿地处理系统在 进水 TN 浓度为 3~5 mg·L<sup>-1</sup>、NO3-N 浓度为 3~4 mg· L<sup>-1</sup>的条件下,处理系统3对TN的去除效果最好,即 上层投加固定化反硝化菌对人工湿地脱氮的强化效 果最佳,其TN去除率可达60.31%,优于处理系统1 (空白对照人工湿地系统 TN 去除率为 37.24%)、处理 系统 2 (下层投加固定化反硝化菌 TN 去除率为

#### 农业环境科学学报 第 35 卷第 11 期

44.35%)和处理系统 4(上下层均投加固定化反硝化 菌 TN 去除率为 57.74%)。

综合各处理系统出水 TN 浓度以及 TN 去除率来 看,投加固定化反硝化菌的位置不同,对人工湿地脱 氮的强化效果也不同,装置运行前期上层投加固定化 反硝化菌系统的 TN 去除率最高,运行后期上层投加 与上下层均投加固定化反硝化菌系统的 TN 去除率 差别不大。分析其原因,主要有以下两点:

第一,潜流人工湿地内的水流分布特性显示,当 进水口位于人工湿地基质表层,出水口位于与进水口 平行高度处时,进入人工湿地的污水首先流经靠近湿 地进水口上层部分,该处投加固定化反硝化菌对强化 人工湿地脱氮效果最明显,孔德川等<sup>10</sup>用 CFD Fluent 多孔介模型对分层式潜流人工湿地内部的流场进行 模拟的分析结果表明(图 4),进入人工湿地的污水水 流分布主要在进水口区、出水口区以及人工湿地的底 层区域。若据此来看,湿地下层投加固定化反硝化菌对 脱氮的强化效果应为最佳,但湿地下层流速较快,水流



80

Figure 3 Changes of nitrite and nitrate concentrations in effluent of CWs



图 4 人工湿地潜流流线图 Figure 4 The contour of stream function of the subsurface flow wetland

流经下层时停留时间较短,且流经湿地上层的水体中 NO<sub>3</sub>-N 去除效果较差,从而使系统整体出水 TN 浓度 偏高。因此,在投加位置的选择上,上层投加与上下层 投加均为较好的方式。

第二,在本实验中湿地上层是植物根系生长的主要区域,发达的根系不仅为微生物生长提供了依附介质和环境,而且植物根系的分泌物和脱落物能够为微生物提供生长所需的营养物质和反硝化作用所需的碳源。Salvato等<sup>106</sup>及 Henry等<sup>107</sup>研究表明植物根际分泌物对反硝化作用起到促进作用。这主要体现在三方面:NO<sub>3</sub>-N含量、根际溶解氧的量和根际可溶性有机碳量。植物的同化作用,使得植物根际附近的 NO<sub>3</sub>-N含量降低;植物根系的呼吸作用使根际附近氧分压降低,以利于反硝化作用的进行;植物根系在代谢过程中会向外释放分泌物,其中的有机可溶性物质包括碳水化合物氨基酸、维生素和有机酸,可供植物吸收利

用,并为根际微区中的微生物提供能源。因此,上层投加固定化反硝化菌具备反硝化作用所需的良好条件,反硝化作用较强,从而对强化人工湿地脱氮效果较明显。

在人工湿地系统的脱氮过程中,NOž-N 虽为整 个脱氮过程的中间产物,但其浓度变化对系统脱氮效 果的影响也很重要,实验中考查 NOž-N 浓度变化是为 了分析投加固定化反硝化菌对人工湿地系统 NOž-N 去除及是否积累的情况的影响。从图 3 中可以看出, 在各处理系统运行的前 10 d,处理系统 4 出水中的 NOž-N 浓度稍高于其他 3 个处理系统 4 出水中的 NOž-N 浓度稍高于其他 3 个处理系统 5 但相差仅在 0.1~0.3 mg·L<sup>-1</sup>范围内,而在各处理系统运行的 30~50 d,处理系统 3 与处理系统 4 的 NOž-N 浓度则明显低 于处理系统 1 与处理系统 2。这说明,投加固定化反 硝化菌在一定程度上减少了系统脱氮过程中 NOž-N 的积累。

2.1.2 各人工湿地处理系统反硝化强度分析

由表 2 所示的反硝化强度结果可知,处理系统运行 10 d 时,在人工湿地系统上层,处理系统 3 与上下 层均投加固定化反硝化菌的处理系统 4 反硝化强度 明显强于处理系统 1 与处理系统 2;在人工湿地系统 下层,下层投加固定化反硝化菌的处理系统 2 与上下 层均投加固定化反硝化菌的处理系统 4 反硝化强度 明显强于处理系统 1 与处理系统 3。显然,这主要是 由于向人工湿地系统投加反硝化菌而产生的结果。但 随着系统运行时间的增加,处理系统 3 与处理系统 4 内无论上层还是下层的反硝化强度的差异逐渐缩小, 说明随着系统的运行,湿地植物的生长以及湿地微生 物的繁殖,人工湿地处理系统 3 与 4 内的反硝化菌数 量接近。这与 2.1.1 所得的处理系统 3 与处理系统 4

表	2 各湿地处理系统的反硝化强度(mg·kg <sup>-1</sup> ·h <sup>-1</sup> )
Table 2	Denitrification intensity in different CWs(mg·kg <sup>-1</sup> ·h <sup>-1</sup> )

		5	Ŭ	•	
时间 Time/d	位置 Position	系统 1 System 1	系统 2 System 2	系统 3 System 3	系统 4 System 4
10	上层 Upper layer	5.43±0.12	4.96±0.21	6.42±0.18	6.03±0.09
	下层 Lower layer	5.96±0.17	6.58±0.07	5.03±0.24	5.67±0.13
20	上层 Upper layer	6.22±0.22	6.05±0.12	7.18±0.20	7.12±0.15
	下层 Lower layer	7.06±0.15	9.39±0.04	6.11±0.16	6.28±0.11
40	上层 Upper layer	6.04±0.09	6.41±0.15	7.21±0.21	6.81±0.24
	下层 Lower layer	6.02±0.14	7.94±0.13	6.32±0.18	6.42±0.27

注:反硝化强度计算公式: $\psi = \frac{(C_1 - C_2) \times (V_1 + V_2)}{t \times m \times k}$ 

式中:ψ 为单位时间消耗的硝酸盐氮的量,mg·kg<sup>-1</sup>·h<sup>-1</sup>;C<sub>1</sub>、C<sub>2</sub>为初始、一定培养时间后,溶液中硝酸盐氮的浓度,mg·L<sup>-1</sup>;V<sub>1</sub>、V<sub>2</sub>分别为加入培养液、基质中水的体积,L;t为培养时间,h;m为加入的基质质量,kg;k为基质水分系数,k=1-w,w为基质含水率。基质含水率的测定方法:取基质进行反硝化强度的同时进行含水率的测定。称取一定质量的基质,记为 M,在 105 ℃下烘干 6-7 h 至恒重,称量其干重,记为 Md,则基质含水率计算公式为 w=(M-Md)/M×100%

2158

## 农业环境科学学报 第 35 卷第 11 期

在运行的 28~50 d, TN、NO₃-N 的去除效果相差不大 这一结论一致。

综合表 3 可见,不同位置处投固定化反硝化菌对 各系统中不同位置处溶解氧浓度的变化虽有一定的 影响,且投加固定化反硝化菌的各系统出水溶解氧浓 度均低于空白对照组系统,但投加固定化反硝化菌的 各系统溶解氧浓度的变化并未影响对系统的强化脱 氮效果。

值得一提的是,处理系统2下层的反硝化强度在 系统运行的整个过程中一直保持较高的水平,但其出 水结果显示的TN及NO3-N去除率并不高。一方面 这是由于湿地内水流分布的原因,另外,实际上反硝 化强度的测定结果不仅与基质微生物数量有关,测定 条件及测定过程中的碳源种类及数量也产生了重要 的影响。

2.1.3 各人工湿地处理系统微生物多样性分析

采用高通量测序技术,根据 barcode 序列区分各 个样品数据。样品 1、2、3、4(分别对应系统 1~4)中 所获得的优化有效序列条数分别为 14 057、13 545、 15 989、14 350条;在 97%的相似水平下,对取自 4 个 处理系统样品的测序结果进行多样性指数分析,具体 结果如表 4 所示。4 个样品可分别划分为 6682、6408、 6504、5821 个 OTUs。对比分析 Chao、Ace 以及 Shannon 值可以得出,样品 1 中该 3 个指数值最大,可以 说明空白对照组人工湿地系统中的微生物物种多样 性最高,群落丰富度大;而样品 4 中该 3 个指数值最 小,说明上下层均投加固定化反硝化菌的人工湿地系 统中的微生物物种多样性最低,群落丰富度小。

对比分析 4 个样品的 Simpson 值可以得出如上 相同结论。

对4个处理系统样品以门水平进行微生物群落 结构分析可知,4组样品所包含的微生物门类差异不 大,均包含 Proteobacteria(变形菌门)、Chloroflexi(绿 弯菌门)、Nitrospira(硝化螺旋菌门)、Acidobacteria(酸 杆菌门)等,且4组样品中所占的比例最大,即丰度最 高的微生物均为 Proteobacteria(变形菌门),其次为 Chloroflexi(绿弯菌门),其他微生物门类在各自处理 系统中所占的比例有所不同,如图5所示。分析对比 图 6 可知,对于处理系统 1 与处理系统 2 来说, Acidobacteria(酸杆菌门)的丰度高于 Bacteroidetes(拟杆 菌门),也高于 Nitrospira(硝化螺旋菌门),而处理系 统 3 与处理系统 4 中所包含的 Acidobacteria(酸杆菌 门)与 Nitrospira(硝化螺旋菌门)的比例相差不大,但 均大于 Bacteroidetes(拟杆菌门),另外各处理系统中 的微生物群落所占门类还包括 Gemmatimonadetes(芽 单胞菌门)、Bacteroidetes(拟杆菌门)、Chlorobi(绿菌 门)等。

Proteobacteria(变形菌门)是细菌中最大的一门,

进水 Influent	位置 Position	系统 1 System 1	系统 2 System 2	系统 3 System 3	系统 4 Svstem 4
6.31±0.61	上层 Upper laver	4.03±0.52	4.11±0.46	3.91±0.27	4.06+0.74
	下层 Lower laver	1.68±0.14	1.75±0.61	1.57±0.48	1.68±0.79
	出水 effluent	4.48±0.96	4.26±0.98	4.13±0.92	4.28±0.95

表3 各湿地处理系统水体溶解氧浓度(mg·L<sup>-1</sup>) Table 3 Dissolved oxygen in different CWs(mg·L<sup>-1</sup>)

#### 表 4 指数分析结果

Table 4 Index analysis statistics

样品号	Doade	0.03					
Sample ID	Reaus	OTU	Ace	Chao	Coverage	Shannon	Simpson
1	14 057	6682	24 825(24 085,25 597)	16 192(15 394,17064)	0.687 700	8.33(8.31,8.3)	0.000 4(0.000 4,0.000 5)
2	13 545	6408	24 506(23 773,25 271)	15 443(14 669,16 289)	0.689 922	8.29(8.27,8.31)	$0.000\ 5(0.000\ 4, 0.000\ 5)$
3	15 989	6504	23 200(22 505,23 924)	15 274(14 525,16 094)	0.738 946	7.98(7.96,8.01)	0.001 6(0.001 4,0.001 8)
4	14 350	5821	17 406(16 858,17 980)	12 125(11 564,12 740)	0.750 801	7.97(7.94,7.99)	0.001 8(0.001 3,0.001 8)

注:0.03 为相似水平; Reads 为被分入所有 OTU 中的总优化序列数; OTU 为实验中该样品优化序列划分得到的 OTU 数目; Chao、Ace、Coverage、 Shannon、Simpson 各指数下括号中两数字分别表示统计学中的下限和上限值。

Notes: The similar level is 0.03; Reads indicate total optimized number of sequences in all OTU; OTU is obtained by optimization sequence dividing; the (\*\_lci, \*\_hci) in each index of Chao, Ace, Coverage, Shannon, Simpson indicates the lower and upper limit statistically.





图 5 环形发育树 Figure 5 Phylogenetic tree

包括很多病原菌,如大肠杆菌、沙门氏菌、霍乱弧菌、 幽门螺杆菌等著名的种类。但其中所包含的自由生活 的种类,如β-变形菌中无机化能种类,如可以氧化氨 的 Nitrosomonas(亚硝化单胞菌属),γ-变形菌中的 Vibrionaceae(弧菌科)和 Pseudomonadaceae(假单胞 菌科)等,对生物的脱氮过程都起着重要的作用。本实 验中,用于强化人工湿地脱氮效果而投加的固定化反 硝化菌即为 Pseudomonas(假单胞菌属)。从图 6 可看 出,处理系统 3 与处理系统 4 中微生物群落所含 Proteobacteria(变形菌门)多于处理系统 1 与处理系 统 2,结合以上对于 4 个处理系统脱氮效果的分析, 恰好说明投加固定化反硝化菌能够强化人工湿地脱 氮效果的原因之一,即为投加的高效反硝化菌在人工 湿地微生物反硝化作用中起到重要作用。

图 6 中所示的 Nitrospira(硝化螺旋菌门)在处理 系统 3 与处理系统 4 中所占的比例大于其在处理系 统 1 与处理系统 2 中所占比例。通过对该门类细菌的 分析表明,Nitrospira(硝化螺旋菌门)是一类革兰氏阴 性细菌,其中的 Nitrospira(硝化螺旋菌属)作为硝化 细菌(Nitrifier),可将亚硝酸盐氧化成硝酸盐,系统微 生物群落中的该菌群增多,可减少 NO<sub>2</sub>-N 的积累,从 而减轻 NO<sub>2</sub>-N 积累对系统脱氮微生物的毒害作用, 以利于反硝化作用的进行,提高人工湿地系统整体的 脱氮效果。

图 7 所示为对 4 个处理系统样品以属水平进行 的微生物群落多样性分析。由图可知,4 个处理系统 所包含的主要微生物种类差异不大,但各菌属所占比 例各有不同,Pseudomonas(假单胞菌属)在处理系统 2、处理系统 3 与处理系统 4 中所占比例均大于其在 处理系统 1 中所占比例。这说明,投加至人工湿地系 统的反硝化菌得以较好地生长繁殖,但从各处理系统 出水的脱氮效果来看,处理系统 2 中,Psedomonas(假 单胞菌属)的增多并未在很大程度上强化系统脱氮效 果,而处理系统 3 与处理系统 4 脱氮效果却得以加 强。从微生物方面分析其原因,可以发现,在处理系统 3 与处理系统 4 中,与 Psedomonas(假单胞菌属)所占



Figure 6 Microbial community barplot at phylum level



Figure 7 Microbial community barplot at genus level

比例同样增加的菌属还包括 Thioalkalispira(硫碱杆 菌属)与 Nitrospira(硝化螺旋菌属),而 Nitrospira(硝 化螺旋菌属)的存在可以与反硝化菌形成一个完整的 硝化-反硝化的脱氮微生物体系。

# 2.2 低温下投加固定化反硝化菌对人工湿地脱氮的 强化效果

根据 2.1 所得结果,将固定化反硝化菌强化人工 湿地脱氮在低温(15 ℃)下进行,该实验分两组:第一 组为空白(处理系统 1);第二组为上层投加固定化反 硝化菌(处理系统 3)。比较分析不同处理系统中 TN、 NO<sub>3</sub>-N 的去除效果。

由图 8 和图 9 可以看出,2.1 中脱氮效果最好的 处理系统 3,在转为 15 ℃的条件下,依然具有优于处 理系统 1 的脱氮效果。在进水 TN 及 NO<sub>3</sub>-N 浓度范围 不变的条件下,处理系统 1 与处理系统 3 的 TN 去除率 分别可以达到 24.81%和 50.86%,NO<sub>3</sub>-N 的去除率分 别可以达到 27.53%和 55.06%。对比 2.1 中实验结果, 当温度由 25 ℃降至 15 ℃时,处理系统 1 与处理系统 3 的 TN 去除率分别降低了 12.43%和 9.45%,NO<sub>3</sub>-N 的去除率分别降低了 23.15%和 9.92%,显然,固定化 反硝化菌所具有的耐低温性能在投加至人工湿地系统后同样体现了优势。由图 8 和图 9 还可以看出,随着系统运行时间的增加,投加固定化反硝化菌的人工湿地系统对氮素的去除率也增加。这表明,固定化反硝化菌不但具有耐低温性能,而且随着对低温环境的适应,能够表现出较好的脱氮性能。

由图 9 可以看出,在 15 ℃的运行条件下,空白对 照组湿地系统与上层投加固定化反硝化菌的湿地系 统出水 NO<sub>2</sub>-N 浓度相差不大,说明固定化反硝化菌 的投加不会增加处理系统脱氮中的 NO<sub>2</sub>-N 积累。综 合 2.1.1 中对两处理系统 TN 去除率的结果分析可以 得出,在处理系统 3 脱氮效果优于处理系统 2 的同时 (二者 TN 去除率分别为 50.86%和 24.81%),两处理 系统出水 NO<sub>2</sub>-N 浓度相差不大。这说明,在低温条件 下,固定化反硝化菌的投加也能够相对减少人工湿地 系统脱氮过程中 NO<sub>2</sub>-N 的积累,从而对系统的脱氮 效果起到强化作用。

## 3 结论

在实验装置运行的50d内,处理系统1、2、3、4的





TN 去除率分别达 37.24%、44.35%、60.31%、57.74%。 投加固定化反硝化菌强化了人工湿地脱氮效果,其 中,上层投加固定化反硝化菌对人工湿地脱氮的强化 效果最佳。

不同位置处投加固定化反硝化菌对湿地系统中 微生物多样性产生不同程度的影响,但各处理系统间 微生物群落多样性总体差异不大,均为 Proteobacteria [变-6yChloroflexi(绿弯菌门)]所占比例最大,且上层 与上下层均投加固定化反硝化菌的湿地系统出现的 微生物群落多样性的细微变化,如Nitrospira(硝化螺 旋菌门)所占比例增大,反而有利于提高系统脱氮 效果。

在 15 ℃条件下,上层投加固定化反硝化菌的湿 地 TN 去除率可达 50.86%,高于空白对照组湿地,说 明固定化反硝化菌所具有的耐低温性能在投加至人 工湿地系统后同样表现出较好的脱氮性能。

#### 参考文献:

[1] Zhang T, Xu D, He F, et al.Application of constructed wetland for water pollution control in China during 1990—2010[J]. Ecological Engi-



Figure 9 Changes of nitrite and nitrate concentrations i effluent of CWs

neering, 2012, 47:189-197.

- [2] Rai U N, Tripathi R D, Singh N K, et al.Constructed wetland as an ecotechnological tool for pollution treatment for conservation of Ganga river[J]. Bioresource Technology, 2013, 148:535-541.
- [3] Shen H, Hu H Y, Pan Y B.Study on enhanced measures for operation of subsurface flow constructed wetlands in winter[J]. China Water and Wastewater, 2007, 23(5):44.
- [4] Lu S, Zhang P, Jin X, et al.Nitrogen removal from agricultural runoff by full-scale constructed wetland in China[J]. Hydrobiologia, 2009, 621 (1):115-126.
- [5] 王小晓, 龚珞军, 韩 炜, 等. 自然复氧人工湿地处理农村污水动力 学研究[J]. 环境科学与技术, 2014, 37(2):143-148. WANG Xiao-xiao, GONG Ge-jun, HAN Wei, et al. Dynamics study on two-stage constructed wetland treatment with natural reaeration to treat rural sewage[J]. Environmental Science and Technology, 2014, 37(2): 143-148.
- [6] Isaka K, Kimura Y, Osaka T, et al. High -rate denitrification using polyethylene glycol gel carriers entrapping heterotrophic denitrifying bacteria[J]. Water Research, 2012, 46(16):4941-4948.
- [7] Zhang J, Wu P, Hao B, et al. Heterotrophic nitrification and aerobic denitrification by the bacterium Pseudomonas stutzeri YZN - 001 [J]. Bioresource Technology, 2011, 102(21);9866-9869.
- [8] 张永栋, 汪龙眠, 张毅敏, 等. 聚乙烯醇凝胶包埋固定化细菌联合植

#### 2162

农业环境科学学报 第 35 卷第 11 期

物的除氮研究[J]. 生态与农村环境学报, 2014, 30(6):744-748. ZHANG Yong-dong, WANG Long-mian, ZHANG Yi-min, et al. Nitrogen removal of polyvinyl alcohol(PVA) gel embedded with nitrifying/ denitrifying bacteria coupled with plant[J]. Journal of Ecology and Rural Environment, 2014, 30(6):744-748.

[9] 唐美珍,张凤凤,罗琳,等. Pseudomonas flava WD-3 固定化技术及 其强化 SBR 污水处理的应用研究[J]. 环境科学学报, 2016, 36(5): 1639-1647.

TANG Mei-zhen, ZHANG Feng-feng, LUO Lin, et al. The immobilization of Pseudomonas flava WD-3 and its application in SBR for sewage treatment[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2016, 36(5):1639-1647.

- [10] 张会萍,陈 畅,侯文华,等. 陶粒固定化脱氮菌群对景观水中 NO<sub>3</sub>-N 的去除[J]. 环境科学研究, 2013, 26(6):684-688. ZHANG Hui-ping, CHEN Chang, HOU Wen-hua, et al. Utilizing denitrifying bacteria immobilized with ceramsite to remove NO<sub>3</sub>-N from landscape water[J]. Research of Environmental Sciences, 2013, 26(6): 684-688.
- [11] Shao Y, Pei H, Hu W, et al. Bioaugmentation in lab scale constructed wetland microcosms for treating polluted river water and domestic wastewater in Northern China [J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2014, 95:151-159.
- [12] 徐苏红. 浅谈我国环境监测站常用的分析方法[J]. 工业, 2016(14): 67.

XU Su-hong. Discussion on common analysis methods of environmental monitoring stations in China[J]. Industry, 2016(14):67.

- [13] 崔利峰. 水口水库主要养殖水域水体溶解氧时空分布规律[J]. 福建农业科技, 2016, 47(1):28-31.
  CUI Li-feng. Spatial and temporal distribution of DO in main aquacul-ture water body in Shuikou reservoir[J]. Fujian Agricultural Science and Technology, 2016, 47(1):28-31.
- [14] Qu F, Huang L, Zhang N, et al. Characterization of dissolved organic matter in the effluent of electroplating wastewater treatment by MBR[J]. 2016, 4(2):117-122.
- [15] 孔德川, 丁爱中, 郑 蕾, 等. 分层式潜流人工湿地水力学特性数值 模拟与分析[J]. 环境工程学报, 2011, 5(4):741-744. KONG De-chuan, DING Ai-zhong, ZHENG Lei, et al. Numerical simulation and analysis of hydraulic characteristics of layered subsurface flow constructed wetland[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2011, 5(4):741-744.
- [16] Salvato M, Borin M, Doni S, et al. Wetland plants, micro-organisms and enzymatic activities interrelations in treating N polluted water [J]. Ecological Engineering, 2012, 47:36-43.
- [17] Henry S, Texier S, Hallet S, et al. Disentangling the rhizosphere effect on nitrate reducers and denitrifiers: Insight into the role of root exudates[J]. Environmental Microbiology, 2008, 10(11): 3082-3092.