



文章栏目: 水污染防治

DOI 10.12030/j.cjee.202009011

中图分类号 X703

文献标识码 A

孙晓文, 季诚云, 杨永强, 等. 垂直-潮汐流人工湿地处理养猪沼液: 短程硝化的实现及机理[J]. 环境工程学报, 2021, 15(3): 992-1005.

SUN Xiaowen, JI Chengyun, YANG Yongqiang, et al. Achievement and mechanism of partial nitrification in vertical-tidal flow constructed wetland treating anaerobically-digested swine wastewater[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2021, 15(3): 992-1005.

垂直-潮汐流人工湿地处理养猪沼液: 短程硝化的实现及机理

孙晓文^{1,2}, 季诚云³, 杨永强^{1,*}, 吴世军¹, 陈繁荣¹

1. 中国科学院广州地球化学研究所, 矿物学与成矿学重点实验室/广东省矿物物理与材料研究开发重点实验室, 广州 510640

2. 中国科学院大学, 北京 100049

3. 义乌市水处理有限责任公司, 义乌 322001

第一作者: 孙晓文(1994—), 男, 硕士研究生。研究方向: 水污染控制及修复。E-mail: sunxiaowen@gig.ac.cn

*通信作者: 杨永强(1978—), 男, 博士, 副研究员。研究方向: 水污染控制技术。E-mail: yqyang@gig.ac.cn

摘要 养猪沼液具有高 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、低碳氮比的特点, 难以实现低成本、高效率处理。以沸石为基质, 设计了一种间歇性曝气垂直-潮汐流人工湿地用于处理养猪沼液, 以期在高污染物负荷下实现短程硝化, 为厌氧氨氧化提供合适底物。结果表明, 系统在 20 d 左右启动短程硝化, 出水 $\text{NO}_2\text{-N}$ 浓度达 $375 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。在系统稳定运行期间, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 去除负荷高达 $343 \text{ g}\cdot(\text{m}^2\cdot\text{d})^{-1}$, 且 $\text{NO}_2\text{-N}$ 累积率始终高于 90%, 显示了系统良好的短程硝化性能, 出水 $\text{NO}_2\text{-N}/\text{NH}_4^+\text{-N}$ 比可满足厌氧氨氧化需求。低温会显著抑制系统短程硝化 ($P<0.01$), 随着温度回升, 短程硝化性能明显好转。游离氨抑制和养猪沼液良好的 pH 缓冲能力是本系统实现短程硝化的关键因素, 而沸石对 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的吸附、系统结构及运行方式有助于实现高效的短程硝化。qPCR 研究结果表明, 系统中 amoA 丰度远高于 nxrA 丰度, 证实亚硝酸盐氧化菌被抑制。以上研究结果可为人工湿地优化及其在养猪沼液处理中的应用提供参考。

关键词 养猪沼液; 人工湿地; 短程硝化; 潮汐流; qPCR

养猪废水具有高 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、高 COD、水质水量波动大等特点, 较难实现低成本达标排放^[1]。传统的生物脱氮途径为硝化-反硝化, 即 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 先在好氧环境下被氨氧化菌 (ammonia-oxidizing bacteria, AOB) 氧化为 $\text{NO}_2\text{-N}$, 然后再由亚硝酸盐氧化菌 (nitrite-oxidizing bacteria, NOB) 氧化为 $\text{NO}_3\text{-N}$, 最后在缺氧环境下被反硝化菌还原为 N_2 ^[2]。理论上, 1 mg $\text{NO}_3\text{-N}$ 通过反硝化转化成 N_2 需要消耗有机碳 3.705 mg(以 COD 计)^[3]。然而, 大部分污水中的氮以 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 形式存在, 在好氧去除 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的同时, 污水中的有机物被异养菌大量降解, 导致反硝化由于缺少有机碳源被严重抑制^[4]。例如, 在进水 COD 与 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 比值高达 11.3 时, 同步硝化-反硝化系统才取得了较好的脱氮效果^[5]。此外, 我国规

收稿日期: 2020-09-02; 录用日期: 2020-10-20

基金项目: 广东省应用型科技研发专项 (2017B020236003); 中国科学院广州地球化学研究所“一三五”项目 (135PY201604); 广东省科技计划项目 (2017B030314175)

模化养猪场大多建有厌氧发酵装置(主要为沼气池)。厌氧处理后的沼液具有 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度高、COD/TN低(甚至 <1.0)等特点^[6-7]。一些厌氧和好氧生物处理工艺可有效处理养猪废水,但存在能耗大、成本高、管理难度大等问题^[8],难以在小型养猪企业推广应用。

由于较低的运行成本和维护要求,表面流和水平潜流人工湿地在欧美发达国家畜禽养殖废水处理中应用案例较多^[9-10],在我国也有一些示范和应用案例^[11-12]。此外,垂直潜流人工湿地强化了氧在滤床中的扩散,在处理养猪废水时实现了较高的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 去除率($>85\%$)^[13-14]。但是,上述人工湿地较低的氧气传递速率导致系统处理效能较低^[15]、占地面积过大。我国畜禽养殖企业的可用土地普遍低于欧美发达国家,这限制了传统人工湿地技术的推广应用。

潮汐流人工湿地(tidal flow constructed wetland, TFCW)通过周期性的淹水-排水,有效提升了系统的供氧,从而具有通过强化好氧微生物分解和污染物与生物膜接触来提高处理效率的潜力^[15]。理论上TFCW每排出1 L水可以吸入1 L空气,能为系统提供约280 mg氧气^[3]。可见,TFCW的供氧量与水力负荷成正比,且基本能够满足处理生活污水时对氧气的需求。但是,这种供氧量远低于通过硝化去除1 L养猪沼液中的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ (>200 mg)所需的氧气(>900 mg),仍需要进一步优化。SUN等^[15]采用五级串联的TFCW处理养猪废水的中试研究结果表明,系统对 BOD_5 的总去除率高达82%,但对 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的去除率和去除负荷仅为58%和 $14\text{ g}\cdot(\text{m}^2\cdot\text{d})^{-1}$ 。因此,采用多级潮汐流重复处理的方式对 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的去除效能较低。HAN等^[16]采用潮汐流-垂直潜流竖向组合的人工湿地处理养猪沼液,在水力负荷为 $16.7\text{ cm}\cdot\text{d}^{-1}$ 的条件下, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的去除率和去除负荷分别为74%和 $56\text{ g}\cdot(\text{m}^2\cdot\text{d})^{-1}$,明显高于前人的研究结果,这与其在潮汐层采用了沸石有关。沸石具有多孔结构、大比表面积和对 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 良好的吸附性能,是理想的人工湿地填料之一^[17],尤其适用于TFCW。间歇淹水曝气和落干通风换气是提升系统供氧的有效途径,在活性污泥系统^[7]、人工湿地^[18]及地下渗滤系统^[19]中均有应用。然而,采用淹水曝气供氧方式,人工湿地的水力负荷和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 去除负荷并未得到明显提升^[20-21]。因此,有必要采用多种手段对TFCW进行优化,以期在处理养猪沼液时实现高 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 去除负荷。

短程硝化-反硝化和短程硝化-厌氧氨氧化工艺大幅降低了对有机碳源的需求甚至几乎无需有机碳源,成为养猪废水等高氨氮废水处理研究的热点^[22-23]。这类新型生物脱氮工艺成功的关键是如何稳定实现短程硝化,即通过对溶解氧(dissolved oxygen, DO)、温度、游离氨(free ammonia, FA)等关键参数的准确调控,选择性地抑制NOB而不抑制AOB^[24]。有研究^[25]表明,FA抑制是养猪废水等高氨氮废水实现短程硝化的主要途径。前人在这方面的研究主要集中在活性污泥系统或者曝气生物滤池^[26-27],尚未见到在人工湿地中实现高效短程硝化的报道。

为此,本研究设计了一种基于沸石的间歇性曝气垂直-潮汐流人工湿地(vertical-tidal flow constructed wetland, V-TFCW)处理养猪沼液,并进行了250 d的现场小试运行,以期在高污染物负荷条件下实现稳定高效的短程硝化,为后续的厌氧氨氧化提供合适的底物。本文主要分析了水力负荷、FA和温度对V-TFCW系统短程硝化的影响,并对去除 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 相关的功能基因进行了qPCR定量分析。本研究结果可为人工湿地优化及处理养猪废水等高氨氮废水提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验装置及用水

实验系统设置于浙江省嵊州市某生猪养殖场(规模为2 000头)露天场地内,主要包括混凝沉淀桶和V-TFCW实验柱(图1)。该猪场建有容积为 750 m^3 的沼气池,其水力停留时间约20 d。用潜污泵定期将沼气池出水泵入混凝沉淀桶(聚乙烯材质,容积为600 L,垂直高度为96 cm),按照1 L污水投加50 mL的比例投加质量分数10%的聚合氯化铝溶液,然后进行搅拌和反应,以去除悬浮固

体、总磷和部分有机物；混凝后的清液作为V-TFCW的进水。

V-TFCW实验柱由直径为16 cm、高为170 cm的PVC管制成，从上到下分为布水层、沸石层和排水层(图1)。其中，布水层安装有喷淋装置，可将污水均匀喷洒于填料表面；沸石层填充了150 cm天然沸石(粒径2~4 mm)；排水层高度5 cm，填充了粒径15~20 mm的砾石。排水层还设置有开孔排水管和曝气管，排水管上安装有电磁阀控制系统排水，曝气管与高压风机连接，并装有球阀和泄压阀调节曝气量。计量泵、高压风机和电磁阀的开启与关闭均由时间控制器控制。

1.2 运行方案

V-TFCW采用间歇性模式运行，每3 h为1个运行周期。每周期第0~10 min进水，每间隔40 min后曝气20 min，每周期共曝气2次，每周期结束前30 min电磁阀开启，系统排水，排水完毕后电磁阀关闭。实验运行时间从2018年7月至2019年3月，共分为3个阶段：第1阶段为挂膜期(1~23 d)，实验柱未接种污泥，而是利用污水中的微生物自然挂膜；第2阶段为稳定运行期(24~144 d)，这2个阶段的水力负荷均为 $66 \text{ cm}\cdot\text{d}^{-1}$ (每周期进水1.5 L)；第3阶段为低温运行阶段(145~247 d)，水力负荷为 $33 \text{ cm}\cdot\text{d}^{-1}$ (每周期进水0.75 L)。由于3个阶段淹水时间保持不变，因此，系统的水力停留时间一直是2.5 h。

1.3 分析项目与方法

$\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 、COD和TP分别采用纳氏试剂分光光度法(HJ/T 535-2009)、紫外分光光度法(HJ/T 346-2007)、N-(1-萘基)乙二胺分光光度法(GB 7493-1987)、快速消解分光光度法(HJ/T 399-2007)和钼酸铵分光光度法(GB 11893-1989)测定；pH采用Sartorius PB-10 pH计测定。游离氨(FA)^[28]、游离亚硝酸(free nitrite acid, FNA)^[28]、亚硝态氮累积率(nitrite accumulation rate, NAR)、氨氮去除负荷(ammonia removal rate, ARR)和亚硝态氮产率(nitrite production rate, NPR)等参数分别按照式(1)~式(5)进行计算。

$$\rho(\text{FA}) = \frac{17}{14} \times \frac{\rho(\text{NH}_4^+\text{-N})10^{\text{pH}}}{e^{6.334/(273+T)} + 10^{\text{pH}}} \quad (1)$$

$$\rho(\text{FNA}) = \frac{46}{14} \times \frac{\rho(\text{NO}_2^-\text{-N})}{e^{-2.300/(273+T)}10^{\text{pH}}} \quad (2)$$

$$R_{\text{NO}_2} = \frac{\rho(\text{NO}_2^-\text{-N})}{\rho(\text{NO}_3^-\text{-N}) + \rho(\text{NO}_2^-\text{-N})} \times 100\% \quad (3)$$

$$R_1 = \rho(\text{NH}_4^+\text{-N})_{\Delta} Q \quad (4)$$

$$R_2 = \rho(\text{NO}_2^-\text{-N}) Q \quad (5)$$

式中： $\rho(\text{FA})$ 、 $\rho(\text{FNA})$ 分别为游离氨、游离亚硝酸的浓度， $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ； R_{NO_2} 为亚硝态氮累积率； R_1 、 R_2 分别为氨氮去除负荷和亚硝态氮产率， $\text{g}\cdot(\text{m}^2\cdot\text{d})^{-1}$ ； $\rho(\text{NH}_4^+\text{-N})$ 、 $\rho(\text{NO}_3^-\text{-N})$ 、 $\rho(\text{NO}_2^-\text{-N})$ 分别为 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 的浓度， $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ； $\rho(\text{NH}_4^+\text{-N})_{\Delta}$ 为 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 去除浓度， $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ； T 为温度， $^{\circ}\text{C}$ ； Q 为人工湿地水力负荷， $\text{m}\cdot\text{d}^{-1}$ 。

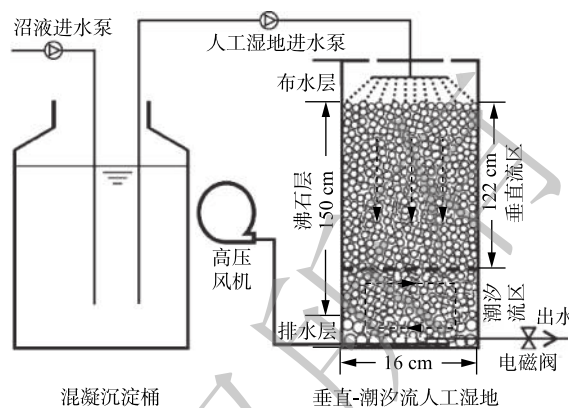


图1 实验装置示意

Fig. 1 Schematic diagram of the experimental devices

1.4 NO₂⁻-N 对 COD 测定影响的校正

根据 V-TFCW 进水 NH₄⁺-N 浓度和预期的出水 NO₂⁻-N 浓度，用 NaNO₂ 基准级试剂配制 0~1 000 mg·L⁻¹ NO₂⁻-N 梯度溶液，采用快速消解分光光度法测定其 COD；以 NO₂⁻-N 浓度和测得的 COD 值分别为横、纵坐标作图，得出拟合方程 ($R^2=0.9982$)，方程如式 (6) 所示。

$$y = 1.122x - 10.965 \quad (6)$$

由拟合方程的斜率可知，每增加 1 mg NO₂⁻-N 会引起 COD 值 1.122 mg 的变化。基于上述结果，本文采用式 (7) 对测得的 COD 值进行了校正。

$$\rho_{\text{COD,校正}} = \rho_{\text{COD,实测}} - [1.122\rho(\text{NO}_2\text{-N}) - 10.965] \quad (7)$$

式中： $\rho_{\text{COD,校正}}$ 为校正后的 COD 值，mg·L⁻¹； $\rho_{\text{COD,实测}}$ 、 $\rho(\text{NO}_2\text{-N})$ 分别为测定的 COD 值和 NO₂⁻-N 浓度，mg·L⁻¹。

1.5 脱氮功能基因 qPCR

采用土壤基因组 DNA 提取试剂盒 (MPBiomedicals, 美国) 提取填料表面生物膜样品的 DNA。采用 ABI7500 型荧光定量 PCR 仪 (LifeTechnologies, 美国) 对提取的 DNA 进行定量聚合酶链反应 (quantitative polymerase chain reaction, qPCR)，分别测定细菌、AOB、NOB 和厌氧氨氧化菌的功能基因丰度值，计算单位干重填料上附着的生物膜中功能基因的拷贝数，各目标基因的引物序列如表 1 所示。

表 1 qPCR 引物序列
Table 1 Primer sequences of qPCR

名称	目标基因	引物	序列(5'-3')	来源
细菌	bacteria 16S rRNA	16S-F	TGTGTAGCGGTGAAATGCG	[29]
		16S-R	CATCGTTTACGGCGTGGAC	
AOB	amoA	amoA-1F	GGGGTTTCTACTGGTGGT	[30]
		amoA-2R	CCCCTCKGSAAAGCCTTCTTC	
NOB	nrxA	F1norA	CAGACCGACGTGTGCGAAAAG	[31]
		R1norA	TCYACAAGGAACGGAAGGTC	
厌氧氨氧化菌	anammox 16S rRNA	Brod541F AMX820R	GAGCACGTAGGTGGGTTTGT AAAACCCCTCTACTTAGTGCCC	[32]

2 结果与讨论

2.1 混凝预处理对沼液水质的影响

养猪沼液中污染物浓度波动较大，NH₄⁺-N 浓度和 COD 值分别为 552~1 312 mg·L⁻¹ 和 443~1 229 mg·L⁻¹。该猪场采用的是干清粪工艺，与水泡粪工艺相比，具有污水量少、污染物浓度较低等特点^[33]。清粪频次和程度、沼气池有效池容以及温度变化均会导致沼液中污染物浓度的波动。由表 2 可知，在不考虑有机氮的情况下，本研究沼液 COD/TIN 平均值仅为 0.90±0.20，与部分文献中报道的数值^[7] 相近。沼液经混凝预处理后，COD 平均值从 747 mg·L⁻¹ 降至 465 mg·L⁻¹，NH₄⁺-N 平均浓度从 846 mg·L⁻¹ 降至 734 mg·L⁻¹。由于混凝预处理对 COD 的去除率高于对 NH₄⁺-N 的去除率，导致混凝出水中 COD/TIN 进一步降低至 0.63±0.14。混凝预处理对 TP 的去除效果最明显，其平均浓度由 53.5 mg·L⁻¹ 降至 14.9 mg·L⁻¹，平均去除率为 72.1%。

表2 混凝预处理及V-TFCW进出水水质

Table 2 Influent and effluent quality of the coagulation pretreatment unit and V-TFCW at different stages

运行阶段	分析样品	pH	污染物浓度/(mg·L ⁻¹)					污染物去除率/%			
			NH ₄ ⁺ -N	NO ₃ ⁻ -N	NO ₂ ⁻ -N	COD	TP	NH ₄ ⁺ -N	COD	TP	COD/TIN ^a
混凝预处理系统	沼液	7.78 (0.26) ^b	846 (219)	2.49 (3.04)	0.22 (0.15)	747 (221)	53.5 (10.7)	—	—	—	0.90 (0.20)
	混凝出水	8.02 (0.25)	734 (157)	2.60 (3.02)	0.26 (0.64)	465 (159)	14.9 (6.26)	11.9 (10.6)	36.7 (15.0)	72.1 (10.7)	0.63 (0.14)
阶段1	进水	7.78 (0.18)	643 (49.4)	1.73 (0.70)	0.01 (0.00)	561 (33.9)	15.9 (3.26)	—	—	—	0.88 (0.12)
	出水	8.52 (0.61)	11.6 (1.75)	0.64 (0.83)	188 (265)	206 (42.8)	2.89 (1.93)	98.2 (0.41)	63.1 (9.84)	82.8 (8.60)	11.0 (15.0)
阶段2	进水	8.10 (0.24)	760 (166)	2.02 (2.62)	0.29 (0.74)	500 (176)	16.1 (6.80)	—	—	—	0.65 (0.13)
	出水	7.03 (0.43)	241 (166)	16.0 (14.6)	446 (107)	290 (157)	12.5 (5.16)	70.9 (19.2)	44.4 (20.9)	25.6 (16.3)	0.40 (0.14)
阶段3	进水	7.92 (0.23)	704 (154)	3.96 (3.83)	0.26 (0.53)	370 (87.0)	12.16 (5.22)	—	—	—	0.53 (0.07)
	出水	8.50 (0.25)	438 (149)	13.1 (12.9)	112 (52.4)	262 (51.5)	12.1 (7.21)	38.0 (13.6)	31.8 (15.3)	20.4 (19.5)	0.51 (0.19)

注：a为TIN为总无机氮(total inorganic nitrogen)，即NH₄⁺-N、NO₃⁻-N和NO₂⁻-N之和；b为“()”内为对应值标准差。

2.2 V-TFCW 短程硝化的启动及运行

V-TFCW 对混凝预处理后的养猪沼液处理效果如图2所示。在第1阶段挂膜期(1~23 d)第10天时，NH₄⁺-N浓度由进水的678 mg·L⁻¹降至10.4 mg·L⁻¹，但是出水中几乎不含NO₃⁻-N和NO₂⁻-N，这说明系统仍未挂膜成功，其对NH₄⁺-N的去除仍以沸石吸附为主^[34]；此时，COD值从进水的538 mg·L⁻¹降至236 mg·L⁻¹，去除率达到56.1%，显示出异养菌繁殖速率快于自养硝化菌。在第23天时，出水中NH₄⁺-N和NO₃⁻-N仍维持在低浓度，而NO₂⁻-N浓度达375 mg·L⁻¹；此时NAR为99.7%，NPR为247.8 g·(m²·d)⁻¹(图3)，这说明系统在间歇性曝气供氧条件下，AOB增殖速度较快，而NOB由于被抑制未能培养起来，V-TFCW短程硝化成功启动。与此同时，系统对COD的去除率进一步提升至70.1%。目前，在污水处理相关的研究中，接种污泥和自然挂膜2种系统启动方式均有应用，前者更为普遍。YANG等^[26]利用以沸石为基质的曝气生物滤池处理高氨氮废水时，以接种污泥的方式用时约30 d完成硝化菌挂膜；XUE等^[35]在膜生物反应器中也用时约30 d将NH₄⁺-N浓度逐渐升高到目标浓度，完成短程硝化挂膜。而在处理真实污水的基于生物膜法的研究中，采用自然挂膜的方式启动系统也较常见。例如，在地下渗滤系统中异养菌和硝化菌的挂膜时间分别为7 d和15 d^[19]时；在处理黑水的悬浮填料生物反应器中，则需要43 d完成硝化菌挂膜^[36]。在本研究中，采用自然挂膜的方式启动短程硝化的时间约为20 d，略长于地下渗滤系统，但是略短于生物膜反应器和传统活性污泥系统。

在第2阶段稳定运行期(24~144 d)，水力负荷与挂膜期相同，为66 cm·d⁻¹。由图2可知，进水NH₄⁺-N浓度在此阶段呈现前期低、后期高的特征，平均浓度为760 mg·L⁻¹(表2)。出水NH₄⁺-N浓度从前期的约15 mg·L⁻¹逐渐升高到第113天的456 mg·L⁻¹，之后保持在380 mg·L⁻¹左右，平均浓度为

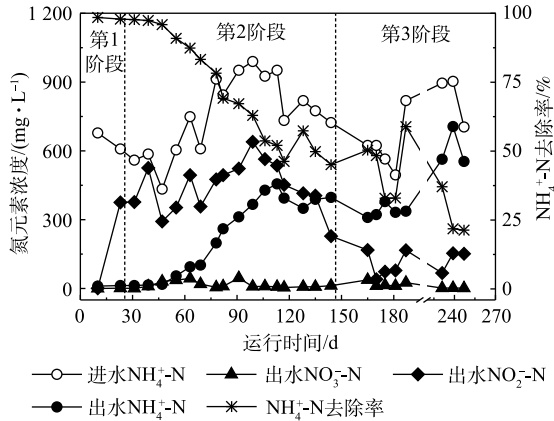


图2 V-TFCW在不同阶段的氮转化和NH₄⁺-N去除率
Fig. 2 Nitrogen transformation and NH₄⁺-N removal efficiency in V-TFCW at different stages

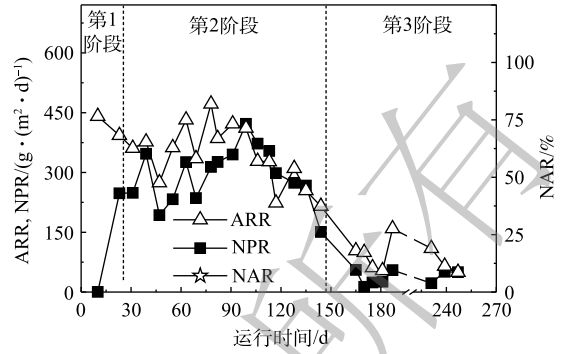


图3 V-TFCW在不同阶段ARR、NPR和NAR变化情况

Fig. 3 Variations of ARR, NPR, and NAR in V-TFCW nitrification system at different stages

241 mg·L⁻¹。与进出水浓度波动幅度较大不同，NH₄⁺-N去除量变化则相对较小(平均值为520 mg·L⁻¹)。出水NO₂-N与进水NH₄⁺-N变化趋势相一致，随进水NH₄⁺-N浓度的增(减)而增(减)，出水NO₂-N平均浓度为446 mg·L⁻¹，而出水NO₃-N平均浓度仅为16.0 mg·L⁻¹(表2)。由图3可知，V-TFCW在此阶段的NAR为90.6%~99.9%，这说明NOB已被彻底抑制，短程硝化非常稳定。此外，ARR和NPR平均值分别为343 g·(m²·d)⁻¹和294 g·(m²·d)⁻¹，且NPR/ARR值不断增加，这表明微生物对NH₄⁺-N去除的贡献越来越大，随着吸附逐渐达到平衡，沸石吸附发挥的作用越来越小。在此阶段后期，NPR一度高于ARR，推测其原因是，前期累积在沸石表面的NH₄⁺-N被AOB转化，而随污水新进入系统的NH₄⁺-N未能填补这些空位(或在曝气阶段被洗脱了下来)，导致生成的NO₂-N高于去除的NH₄⁺-N。

由图4可知，进水温度在第2阶段不断降低，同时V-TFCW对NH₄⁺-N的去除负荷ARR也不断减少(图3)，在第144天时(温度约为6℃)降至此阶段的最小值(215 g·(m²·d)⁻¹)，而出水NO₂-N浓度也仅为228 mg·L⁻¹，远低于该阶段平均值(446 mg·L⁻¹)。这表明冬季低温气候已经对V-TFCW的短程硝化产生了较明显的抑制作用。DELATOLLA等^[37]对曝气生物滤池的研究表明，当温度由20℃降低至4℃时，NH₄⁺-N的去除率下降了56%。王思萌等^[38]在对SBR进行梯度降温研究时也发现，当水温由30℃降至15℃时，NH₄⁺-N去除率由85.6%降至35.2%，TN去除率由76.4%降至30.7%。为了减弱低温对V-TFCW短程硝化的影响，本研究第3阶段系统水力负荷设置为33 cm·d⁻¹。

在第3阶段(145~247 d)，温度在第170天左右时降到了实验过程中的最低值(约2℃)，此时，系统出水中NO₂-N和NO₃-N浓度仅为40.0 mg·L⁻¹和11.3 mg·L⁻¹(图2)，表明AOB活性已经受到低温严重抑制。此后，随着温度逐渐回升，出水NO₂-N浓度不断升高；当温度升高至16℃时，出水NO₂-N浓度达到167 mg·L⁻¹，但是仍低于第2阶段相近温度时的数值。此外，需要指出的是，此阶段NH₄⁺-N去除量的下降滞后于生成的NO₂-N，且ARR通常明显高于NPR(图3)，这表明沸石在冬季低温条件下发挥了更重要的去除NH₄⁺-N的作用；但是这种吸附作用维持的时间有限，第239天和第247天的ARR仅略高于或低于NPR(图4)，表明吸附作用再次由于达

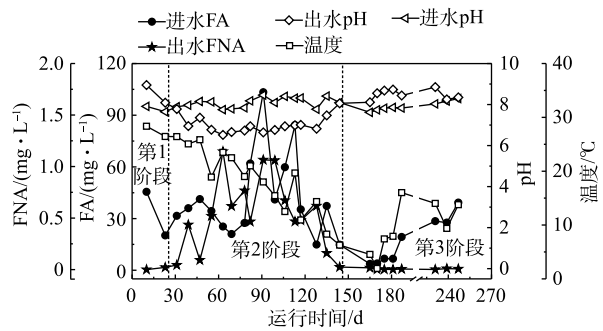


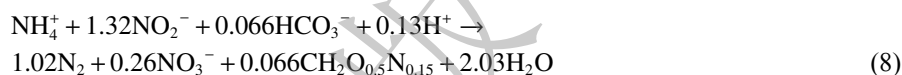
图4 V-TFCW在不同阶段FA、FNA、pH和温度变化情况

Fig. 4 Variations of FA, FNA, pH and temperature in V-TFCW at different stages

到相对平衡而难以发挥直接去除 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的功能。由图3可知, NAR在第3阶段经历了先降低后升高的过程, 且后期基本与第2阶段数值相近。

综上所述, 低于 $10\text{ }^\circ\text{C}$ 的低温对V-TFCW的短程硝化作用产生了显著抑制($P<0.01$), 而低于 $5\text{ }^\circ\text{C}$ 的低温则可使该系统基本失去短程硝化功能, 并且低温对短程硝化的抑制具有可逆性; 随着温度的回升, 系统短程硝化功能逐渐增强, 然而短期的温度回升并不能使系统恢复到最佳运行状态。此外, 降低水力负荷在抵消低温对V-TFCW内硝化菌的抑制方面作用不大, 这与饱和淹水的移动床生物膜反应器具有明显差异^[39]; 从水力停留时间角度分析, 降低V-TFCW的水力负荷并没有延长水力停留时间, 而饱和淹水系统的水力负荷与水力停留时间呈反比, 降低水力负荷可以增加微生物与污染物的接触时间, 从而提升处理效果。因此, 对于不饱和的人工湿地, 难以调节水力停留时间, 今后应开展通过增温、保温的方式应对低温气候的研究, 如可以通入热风增温, 改为埋地式保温等。

为了评估V-TFCW出水中氮素比值是否满足厌氧氨氧化的化学计量关系^[40](式(8)), 对3个阶段出水中 $\text{NO}_2^-\text{-N}/\text{NH}_4^+\text{-N}$ 比值进行了分析(图5)。



由式(8)可知, 厌氧氨氧化反应底物 $\text{NO}_2^-\text{-N}/\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的理论比值为1.32。如图5所示, 在系统运行前期(23~78 d), 沸石对 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的过量吸附导致 $\text{NO}_2^-\text{-N}/\text{NH}_4^+\text{-N}$ 比值远高于厌氧氨氧化方程理论比值。在第82~135天, 出水 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 平均浓度分别为 $(504\pm 79.2)\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $(369\pm 62.8)\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 两者比值为 1.40 ± 0.32 , 接近1.32; 之后随着温度降低, 系统短程硝化作用减弱, 出水 $\text{NO}_2^-\text{-N}/\text{NH}_4^+\text{-N}$ 比值远低于1.32。因此, 在排除低温影响的前提下, V-TFCW稳定运行以后, 其出水能够满足厌氧氨氧化反应对底物氮素比的要求, 基于该系统运行模式及 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 去除原理可以推测, 调整系统水力负荷能够进一步调节系统出水 $\text{NO}_2^-\text{-N}/\text{NH}_4^+\text{-N}$ 比值。然而, 大量研究表明, 过高的 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 浓度($> 40\sim 280\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)对厌氧氨氧化具有强烈的抑制作用^[41]; 通过对前人工作的对比分析, JIN等^[41]将进水和出水 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 浓度分别控制在 $280\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $100\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 作为厌氧氨氧化受到抑制的警戒值。本研究V-TFCW出水中 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 浓度远高于 $280\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 如此高的 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 浓度是否会对基于人工湿地的厌氧氨氧化形成抑制仍需进一步研究。

2.3 V-TFCW短程硝化的实现机理及效率

短程硝化的主要影响因素包括FA^[42]、FNA^[42]、DO^[43]和温度^[44]。SEUNTJENS等^[44]发现AOB在高温($30\sim 40\text{ }^\circ\text{C}$)下的生长速度要优于NOB; XUE等^[35]的研究也表明, 在 $15\sim 25\text{ }^\circ\text{C}$ 下为全程硝化, 而将温度调控到 $(35\pm 1)\text{ }^\circ\text{C}$ 后形成短程硝化。本研究结果则表明, 不管温度多低, 系统均以短程硝化为主, 可见温度并非导致本实验NOB被抑制的因素。此外, V-TFCW上部为不饱和的垂直流区、下部为潮汐流区(图1), 这种结构导致上部难以调节DO, 而且并未调控下部淹水曝气时的DO, 因此, 可排除低DO($0.5\sim 1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)实现短程硝化的可能性。

ANTHONISEN等^[28]在1976年首次报道了FA浓度分别在 $10\sim 150\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $0.1\sim 1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 内对AOB和NOB活性产生抑制作用。VADIVELU等^[42]在SBR中发现FA浓度达到 $7.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时可以完

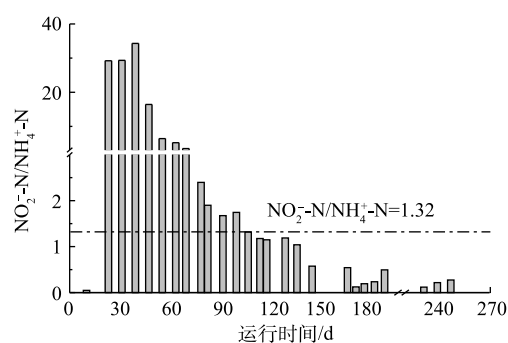


图5 V-TFCW出水中 $\text{NO}_2^-\text{-N}/\text{NH}_4^+\text{-N}$ 变化情况
Fig. 5 Variation of $\text{NO}_2^-\text{-N}/\text{NH}_4^+\text{-N}$ in V-TFCW effluent

全抑制 NOB 的活性。CHUNG 等^[45]在连续流反应器中的研究表明,进水 FA 为 20~25 mg·L⁻¹时, NAR 能达到 (90±5)%。可见在不同的系统中,抑制 NOB 的 FA 浓度范围有所差别。本实验 3 个阶段进水 NH₄⁺-N 平均浓度分别为 643、760 和 704 mg·L⁻¹(表 2),均导致了较高的 FA 浓度(图 4)。在系统启动阶段,进水 FA 平均浓度为 32.9 mg·L⁻¹,高于文献中报道的 NOB 抑制浓度,因此,V-TFCW 在很短的时间内就形成了短程硝化。在第 2 阶段稳定运行期,进水 FA 波动幅度较大,平均浓度为 41.9 mg·L⁻¹,大部分数值均高于 20 mg·L⁻¹,系统继续呈现良好的短程硝化效果。此阶段出水 FNA 平均值为 0.54 mg·L⁻¹,而 FNA 对 NOB 的起始抑制浓度为 0.22~2.8 mg·L⁻¹^[28],故 FNA 对 NOB 的抑制作用较微弱。

由硝化方程^[46]可知,将 1 mol NH₄⁺氧化到 NO₂⁻会产生 2 mol H⁺,如果不能中和新生成的 H⁺,系统 pH 将会大幅降低。例如在处理生活污水的地下渗滤系统中,通过硝化反应去除约 40 mg·L⁻¹的 NH₄⁺-N 就能使出水 pH 降至 3.5 左右^[19]。SUN 等^[47]在处理养猪废水时,部分下行流芦苇床单元出水也发生了明显的酸化,pH 由进水的 7.28 降到了 5.71,并且该低 pH 严重影响了后续单元污染物去除效能。类似的,VÁZQUEZ 等^[13]采用垂直流人工湿地处理养猪废水时(水力负荷为 3.9 cm·d⁻¹),当 NH₄⁺-N 由进水的 232 mg·L⁻¹降至出水的 6.7 mg·L⁻¹时,即使系统发生了良好的反硝化脱氮,pH 仍从 7.95 降到了 4.86。因此,在不饱和的生物膜系统中,良好的硝化作用易导致系统 pH 降低。污水中 FA 浓度与 pH 成正比,过低的 pH 不利于系统维持高 FA。本实验在第 2 阶段产生约 450 mg·L⁻¹ NO₂⁻-N,而 pH 仅由进水的 8.10 小幅降至出水的 7.03,这与养猪沼液具有较强的酸碱缓冲能力有关。此外,pH 是影响硝化菌生长繁殖的关键参数之一,当其低于 6.0 和高于 9.0 均会抑制 AOB 的生长^[48]。本研究中 V-TFCW 进出水 pH 均在 6.5~8.9,可推断基质表面生物膜 pH 不会抑制 AOB 生长繁殖。因此,养猪沼液良好的酸碱缓冲能力对在系统内维持较高的 FA 和适宜的 pH 均至关重要。

以上分析了外在因素对 V-TFCW 实现短程硝化的影响。下面分析其结构本身和运行模式的作用。污水经由喷淋装置进入上部垂直流区,在向下渗流穿过该层时,污水中的 NH₄⁺-N 被沸石大量吸附,由于水力负荷高,使得进入下部潮汐流区的污水中仍含有较高浓度 NH₄⁺-N,从而有利于在 V-TFCW 中形成 FA 抑制;在淹水曝气期间,垂直流区填料孔隙充满了新鲜空气,而潮汐流区填料中的污水也达到了饱和 DO,在好氧条件下,亚硝化反应在沸石表面生物膜上高效进行;下一周期所进污水将之前生成的 NO₂⁻淋洗下来,使沸石恢复了对 NH₄⁺的吸附能力。因此,沸石在 V-TFCW 中具有离子吸附和生物膜载体双重作用,并且实现了原位再生,这对于实现高效短程硝化非常重要。前人采用沸石曝气生物滤池处理 NH₄⁺-N 浓度为 250~550 mg·L⁻¹的污水时也实现了高效短程硝化,NPR 甚至高达 760 g·(m²·d)⁻¹^[26]。沸石对 NH₄⁺-N 的吸附作用有利于维持合适的 FA 浓度,从而在好氧条件下选择性抑制 NOB 的活性^[26,49]。

此外,间接淹水曝气和落干通风换气 2 种供氧方式在生物膜法系统中均有应用^[18-19];在 20 °C 时 1 L 空气中氧气约为 280 mg,而 1 L 水中饱和溶解氧仅约 9 mg,因此,落干通风换气供氧方式更高效、节能。但前提是,必须选择对 NH₄⁺-N 吸附能力强的填料,否则 NH₄⁺-N 将随污水排出系统,导致落干时由于缺乏 NH₄⁺-N 而难以发生硝化作用。由图 1 可知,在 V-TFCW 下部是间歇性淹水曝气供氧,由于其氧气利用率很低,曝气排出的空气则给上部垂直流区供氧;而且,垂直流区沸石高度远高于潮汐流区,导致该区能够吸附更多的 NH₄⁺-N,加之落干换气供氧更高效,因此,垂直流区在 V-TFCW 短程硝化中发挥了更重要的作用。

不同人工湿地在处理养猪废水时对 NH₄⁺-N 去除负荷以及短程硝化效率等参数见表 3。饱和淹水的人工湿地由于供氧不足,水力负荷一般较低,并且难以实现短程硝化^[8,50]。DU 等^[51]采用以沸石为基质的复合垂直流人工湿地处理养猪废水时,在水力负荷和水力停留时间分别为 4 cm·d⁻¹和 7 d 的条件下,取得了高于 95%的 NH₄⁺-N 和 TN 去除率,而沸石吸附在脱氮中始终发挥了重要的作用。

表3 不同类型人工湿地处理养猪废水概况

Table 3 Treatment of swine wastewater by different types of constructed wetlands

湿地类型	基质类型	HLR/ ($\text{cm}\cdot\text{d}^{-1}$)	HRT/d	进水 $\text{NH}_4^+\text{-N}/$ ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	$\text{NO}_2^-\text{-N}/$ ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	NAR/ %	ALR ^b / ($\text{g}\cdot(\text{m}^2\cdot\text{d})^{-1}$)	ARR/ ($\text{g}\cdot(\text{m}^2\cdot\text{d})^{-1}$)	$\text{NH}_4^+\text{-N}$ 去 除率/%	来源
水平潜流人工湿地	砾石	6	8.5	185	—	—	11	2.42	22	[50]
多级表面流人工湿地	稻田土壤	1.25	32	700	—	—	7.89	7.75	98.2	[8]
垂直潜流人工湿地	花岗岩	0.38	—	212	—	—	0.6	0.58	97.0	[13]
三级垂直潜流人工湿地	砾石、砖渣、 沸石/石灰石 ^a	4.7	—	155	8	—	7.3	4.0	55.3	[53]
垂直潜流人工湿地	沸石/海蛎壳/砖渣	2.0	—	786	—	—	15.7	13.3	84.6	[14]
曝气垂直潜流人工湿地	生物炭/砾石	6.4	3	150	—	—	9.59	8.50	88.6	[20]
曝气垂直潜流+水平潜流 组合人工湿地	砾石	1.7	—	792	—	—	13.2	13.15	99.6	[21]
复合型人工湿地	火山岩	0.7	—	1 164	—	—	8	7	80	[54]
复合型人工湿地	沸石、砾石	3.8	4	448	—	—	27.3	17.2	63.0	[55]
复合型人工湿地	煤渣、砾石、粗砂	1.96	0.27	540	—	—	10.6	10.5	98.8	[56]
循环流人工湿地	砾石、煤渣	0.33	7	800	—	—	2.0	1.52	76	[57]
间歇曝气潮汐-垂直潜 流人工湿地	脱水污泥DAS	8.8	—	435	—	—	38.5	37.3	97	[52]
潮汐-垂直潜流人工湿地	沸石/石灰石、 砖渣	16.7	2.76	157	20	—	76.7	56.0	73.0	[16]
复合垂直流人工湿地	沸石	4	7	700	—	—	18.7	18.4	>95	[51]
垂直-潮汐流人工湿地	沸石	66	0.1	760	446	>90	502	343	70.9	本研究

注：a：基质类型中“、”表示分层填料，“/”表示混合填料；b：ALR为氨氮表面负荷(ammonia loading rate)。

胡沅胜等^[52]采用间歇曝气方式有效改善了潮汐-垂直潜流人工湿地的供氧，实现了较高的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 去除率(97%)和ARR($37.3\text{ g}\cdot(\text{m}^2\cdot\text{d})^{-1}$)，而且缺氧-好氧交替环境有利于实现短程硝化-反硝化，从而取得了90%的TN去除率。在较高水力负荷下运行的潮汐-垂直潜流人工湿地取得了更高的ARR($56.0\text{ g}\cdot(\text{m}^2\cdot\text{d})^{-1}$)，并且发生了轻微的 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 累积^[16]。

由表3可知，人工湿地较高的进水 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度以及由此产生的高FA并不一定能使系统实现短程硝化。其主要原因为，人工湿地为推流模式，在低水力负荷下，污水在湿地内部流动时 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度不断降低，很难在整个剖面上实现高FA。与之相比，本研究设计的以沸石为基质的间歇曝气V-TFCW在高水力负荷($66\text{ cm}\cdot\text{d}^{-1}$)下实现了高ARR($343\text{ g}\cdot(\text{m}^2\cdot\text{d})^{-1}$)；同时，第2阶段出水中 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 浓度均值高达 $446\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ，实现了高效的短程硝化。因此，在人工湿地等生物膜法系统中，实现短程硝化的关键是高效供氧以及在系统内维持较高的FA浓度，这意味着出水 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度可能较高。

2.4 功能基因丰度

为进一步揭示V-TFCW装置沿程 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的转化途径，本研究在第2阶段结束时采集了V-TFCW沸石层上层(140 cm)、中层(75 cm)和下层(10 cm)的填料，对其表面生物膜中amoA基因、nxrA基因、anammox 16S rRNA基因及bacteria 16S rRNA基因进行了qPCR定量分析，结果如图6所示。氨单加氧酶编码基因amoA和亚硝酸盐氧化酶编码基因nxrA分别是 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 好氧化到 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 氧化到 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 的功能标记^[58]；而anammox 16S rRNA基因则是在缺氧条件下将 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 转化为 N_2 的功能标记^[32]。

由图6可知,细菌绝对丰度从上层的 8.2×10^8 拷贝数 $\cdot g^{-1}$ 逐渐减少至下层的 1.5×10^8 拷贝数 $\cdot g^{-1}$,呈现出沿水流方向降低的趋势。amoA也表现出相似的趋势,其绝对丰度从上层的 4.2×10^8 拷贝数 $\cdot g^{-1}$ 降至下层的 2.7×10^7 拷贝数 $\cdot g^{-1}$ 。DU等^[51]在种植物的复合垂直流人工湿地也有类似的发现,amoA丰度从进水侧的 6.85×10^4 拷贝数 $\cdot g^{-1}$ 降至出水侧的 1.92×10^4 拷贝数 $\cdot g^{-1}$ 。然而,nxrA在垂向分布上则表现不同,其绝对丰度在下层最高(3.7×10^6 拷贝数 $\cdot g^{-1}$),在上层和中层较低(1.8×10^5 拷贝数 $\cdot g^{-1}$ 和 1.6×10^5 拷贝数 $\cdot g^{-1}$)。总体来看,在V-TFCW中AOB丰度均远高于NOB,且越靠近进水端两者的差值越大,表明NOB在上层被抑制程度最高,这与不同层位的 NH_4^+-N 浓度差异有关。养猪沼液在从表层进入V-TFCW向下渗滤的过程中, NH_4^+-N 由于被沸石吸附浓度不断降低,导致上层 NH_4^+-N 浓度最高,下层 NH_4^+-N 浓度最低,FA的变化趋势也一致。有研究^[59]表明,AOB真正的底物是FA而不是 NH_4^+ 。V-TFCW上层更高的FA浓度为AOB提供了丰富的底物,促进了其新陈代谢,同时也抑制了NOB的活性;而下层较低的FA浓度则减轻了对NOB的抑制,这决定了AOB和NOB功能基因丰度在垂向上的分布。厌氧氨氧化菌为专性厌氧菌,在超过 $2 \mu mol \cdot L^{-1}$ 氧时其新陈代谢就会被可逆的抑制^[60]。V-TFCW系统以好氧为主,在局部会形成短时缺氧环境,显然,这种好氧为主的环境并不适合厌氧氨氧化菌繁殖,导致其基因的平均丰度仅为 1.6×10^4 拷贝数 $\cdot g^{-1}$ (图6)。

3 结论

1) 采用V-TFCW以自然挂膜的方式处理养猪沼液,约20d左右成功启动短程硝化;稳定运行期间系统具有良好的短程硝化性能,出水氮素比可满足厌氧氨氧化对底物的要求。

2) 低于 $10 \text{ }^\circ\text{C}$ 的低温对V-TFCW的短程硝化作用产生了显著抑制($P < 0.01$),而低于 $5 \text{ }^\circ\text{C}$ 的低温则可使该系统基本失去短程硝化功能,但低温对短程硝化的抑制具有可逆性。

3) 较高的进水FA($32.9 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $41.9 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)是V-TFCW在启动和稳定运行阶段实现短程硝化的主要原因,养猪沼液良好的酸碱缓冲能力对于维持系统内适宜的pH和FA至关重要。

4) V-TFCW中AOB丰度自上而下逐渐降低,但均远高于NOB丰度,两者在垂向上的分布与不同层位FA的浓度有关。

参考文献

- [1] 姜超,隋倩雯,陈梅雪,等. 实时控制序批式膜生物反应器处理养猪废水的短程硝化[J]. 环境工程学报, 2017, 11(11): 5868-5876.
- [2] PAN Y T, LIU Y W, PENG L, et al. Substrate diffusion within biofilms significantly influencing the electron competition during denitrification[J]. Environmental Science & Technology, 2019, 53(1): 261-269.
- [3] ZHAN X, YANG Y Q, CHEN F R, 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.
- [4] 张玲玲,杨永强,张权,等. 组合型人工湿地对二级好氧单元出水的深度处理[J]. 环境工程学报, 2019, 13(7): 1592-1601.

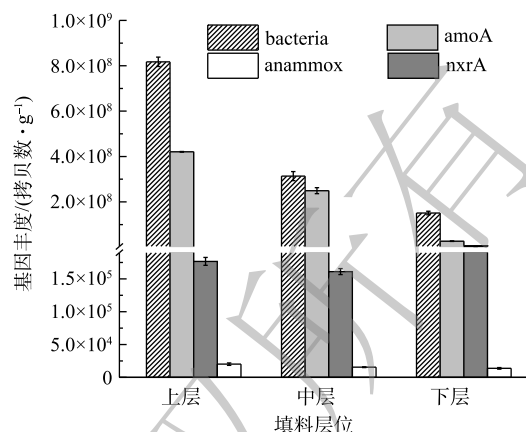


图6 V-TFCW不同层位的氮功能基因丰度

Fig. 6 Nitrogen functional gene abundance in different layers of V-TFCW

- [5] IANNAcone F, CAPUA F D, GRANATA F, et al. Effect of carbon-to-nitrogen ratio on simultaneous nitrification denitrification and phosphorus removal in a microaerobic moving bed biofilm reactor[J]. *Journal of Environmental Management*, 2019, 250: 109518.
- [6] 曾凤, 霍守亮, 刘俊, 等. 猪场废水厌氧发酵液循环脱氮工艺[J]. *环境工程学报*, 2012, 6(9): 2941-2946.
- [7] 董宝刚, 宋小燕, 刘锐, 等. 间歇曝气SBR与传统SBR处理养猪沼液的比较研究[J]. *环境科学*, 2016, 37(11): 4309-4316.
- [8] LI X, LI Y Y, LI Y, et al. Enhanced nitrogen removal and quantitative analysis of removal mechanism in multistage surface flow constructed wetlands for the large-scale treatment of swine wastewater[J]. *Journal of Environmental Management*, 2019, 246: 575-582.
- [9] HEALY M G, RODGERS M, MULQUEEN J. Treatment of dairy wastewater using constructed wetlands and intermittent sand filters[J]. *Bioresource Technology*, 2007, 98(12): 2268-2281.
- [10] KNIGHT R L, PAYNE V W E, BORER R E, et al. Constructed wetlands for livestock wastewater management[J]. *Ecological Engineering*, 2000, 15(1/2): 41-55.
- [11] ZHANG M M, LUO P, LIU F, et al. Nitrogen removal and distribution of ammonia-oxidizing and denitrifying genes in an integrated constructed wetland for swine wastewater treatment[J]. *Ecological Engineering*, 2017, 104: 30-38.
- [12] LIU F, ZHANG S N, LUO P, et al. Purification and reuse of non-point source wastewater via Myriophyllum-based integrative biotechnology: A review[J]. *Bioresource Technology*, 2018, 248: 3-11.
- [13] VAZQUEZ M A, VARGA D D L, PLANA R, et al. Vertical flow constructed wetland treating high strength wastewater from swine slurry composting[J]. *Ecological Engineering*, 2013, 50: 37-43.
- [14] 李鹏宇, 王振, 袁林江, 等. 不同类型潜流湿地处理养猪废水的对比[J]. *环境工程学报*, 2013, 7(4): 1341-1345.
- [15] SUN G, ZHAO Y, ALLEN S, et al. Generating "tide" in pilot-scale constructed wetlands to enhance agricultural wastewater treatment[J]. *Engineering in Life Sciences*, 2006, 6(6): 560-565.
- [16] HAN Z F, DONG J, SHEN Z Q, et al. Nitrogen removal of anaerobically digested swine wastewater by pilot-scale tidal flow constructed wetland based on in-situ biological regeneration of zeolite[J]. *Chemosphere*, 2019, 217: 364-373.
- [17] LIU M H, WU S B, CHEN L, et al. How substrate influences nitrogen transformations in tidal flow constructed wetlands treating high ammonium wastewater?[J]. *Ecological Engineering*, 2014, 73: 478-486.
- [18] WU H M, FAN J L, ZHANG J, et al. Optimization of organics and nitrogen removal in intermittently aerated vertical flow constructed wetlands: Effects of aeration time and aeration rate[J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2016, 113: 139-145.
- [19] YANG Y Q, ZHAN X, WU S J, et al. Effect of hydraulic loading rate on pollutant removal efficiency in subsurface infiltration system under intermittent operation and micro-power aeration[J]. *Bioresource Technology*, 2016, 205: 174-182.
- [20] FENG L K, WANG R G, JIA L X, et al. Can biochar application improve nitrogen removal in constructed wetlands for treating anaerobically-digested swine wastewater?[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2020: 379.
- [21] MASI F, RIZZO A, MARTINUZZI N, et al. Upflow anaerobic sludge blanket and aerated constructed wetlands for swine wastewater treatment: A pilot study[J]. *Water Science and Technology*, 2017, 76(1): 68-78.
- [22] 杜龔, 周北海, 袁蓉芳, 等. UASB-SBR工艺处理规模化畜禽养殖废水[J]. *环境工程学报*, 2018, 12(2): 497-504.
- [23] ISHIMOTO C, SUGIYAMA T, MATSUMOTO T, et al. Full-scale simultaneous partial nitrification, anammox, and

- denitrification process for treating swine wastewater[J]. *Water Science and Technology*, 2020, 81(3): 456-465.
- [24] 高军军, 钱飞跃, 王建芳, 等. 利用好氧颗粒污泥持续增殖启动高性能亚硝化反应器[J]. *环境科学*, 2017, 38(9): 3787-3792.
- [25] 张树军, 马富国, 曹相生, 等. 低C/N高氨氮消化污泥脱水液部分亚硝化研究[J]. *环境科学*, 2009, 30(6): 1695-1700.
- [26] YANG Y Y, CHEN Z G, WANG X J, et al. Partial nitrification performance and mechanism of zeolite biological aerated filter for ammonium wastewater treatment[J]. *Bioresource Technology*, 2017, 241: 473-481.
- [27] WEI D, NGO H H, GUO W, et al. Partial nitrification granular sludge reactor as a pretreatment for anaerobic ammonium oxidation (Anammox): Achievement, performance and microbial community[J]. *Bioresource Technology*, 2018, 269: 25-31.
- [28] ANTHONISEN A C, LOEHR R C, PRAKASAM T B S, et al. Inhibition of nitrification by ammonia and nitrous-acid[J]. *Journal Water Pollution Control Federation*, 1976, 48(5): 835-852.
- [29] LIU M, GILL J J, YOUNG R, et al. Bacteriophages of wastewater foaming-associated filamentous *Gordonia* reduce host levels in raw activated sludge[J]. *Scientific Reports*, 2015, 5: 13754.
- [30] ROTTHAUWE J H, WITZEL K P, LIESACK W. The ammonia monooxygenase structural gene amoA as a functional marker: Molecular fine-scale analysis of natural ammonia-oxidizing populations[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1997, 63(12): 4704-4712.
- [31] ATTARD E, POLY F, COMMEAUX C, et al. Shifts between *Nitrospira*- and *Nitrobacter*-like nitrite oxidizers underlie the response of soil potential nitrite oxidation to changes in tillage practices[J]. *Environmental Microbiology*, 2010, 12(2): 315-326.
- [32] HAN P, HUANG Y T, LIN J G, et al. A comparison of two 16S rRNA gene-based PCR primer sets in unraveling anammox bacteria from different environmental samples[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2013, 97(24): 10521-10529.
- [33] 边武英, 金娟, 叶波, 等. 清粪工艺对规模化沼气工程沼液养分含量的影响[J]. *浙江农业科学*, 2017, 58(11): 1993-1996.
- [34] KARADAG D, KOC Y, TURAN M, et al. Removal of ammonium ion from aqueous solution using natural Turkish clinoptilolite[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2006, 136(3): 604-609.
- [35] XUE Y, YANG F L, LIU S T, et al. The influence of controlling factors on the start-up and operation for partial nitrification in membrane bioreactor[J]. *Bioresource Technology*, 2009, 100(3): 1055-1060.
- [36] 陈伟华, 陈同辉, 陈洪斌, 等. 悬浮填料生物膜反应器处理黑水的启动挂膜[J]. *环境工程学报*, 2016, 10(2): 566-572.
- [37] DELATOLLA R, TUFENKJI N, COMEAU Y, et al. Kinetic analysis of attached growth nitrification in cold climates[J]. *Water Science and Technology*, 2009, 60(5): 1173-1184.
- [38] 王思萌, 苗圆圆, 彭永臻. 低温投加短程硝化污泥下城市污水SPN/A工艺运行特性[J]. *中国环境科学*, 2019, 39(4): 1456-1463.
- [39] 赵昕燕, 卞伟, 侯爱月, 等. 季节性温度对短程硝化系统微生物群落的影响[J]. *中国环境科学*, 2017, 37(4): 1366-1374.
- [40] STROUS M, HEIJNEN J J, KUENEN J G, et al. The sequencing batch reactor as a powerful tool for the study of slowly growing anaerobic ammonium-oxidizing microorganisms[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 1998, 50(5): 589-596.
- [41] JIN R C, YANG G F, YU J J, et al. The inhibition of the Anammox process: A review[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2012, 197: 67-79.
- [42] VADIVELU V M, KELLER J, YUAN Z G. Effect of free ammonia and free nitrous acid concentration on the anabolic and catabolic processes of an enriched *Nitrosomonas* culture[J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2006, 95(5): 830-839.

- [43] BLACKBURNE R, YUAN Z G, KELLER J. Partial nitrification to nitrite using low dissolved oxygen concentration as the main selection factor[J]. *Biodegradation*, 2008, 19(2): 303-312.
- [44] SEUNTJENS D, VAN TENDELOO M, CHATZIGIANNIDOU I, et al. Synergistic exposure of return-sludge to anaerobic starvation, sulfide, and free ammonia to suppress nitrite oxidizing bacteria[J]. *Environmental Science & Technology*, 2018, 52(15): 8725-8732.
- [45] CHUNG J, BAE W, LEE Y W, et al. Shortcut biological nitrogen removal in hybrid biofilm/suspended growth reactors[J]. *Process Biochemistry*, 2007, 42(3): 320-328.
- [46] VYMAZAL J. Removal of nutrients in various types of constructed wetlands[J]. *Science of the Total Environment*, 2007, 380(1-3): 48-65.
- [47] SUN G, GRAY K R, BIDDLESTONE A J, et al. Treatment of agricultural wastewater in a combined tidal flow-downflow reed bed system[J]. *Water Science and Technology*, 1999, 40(3): 139-146.
- [48] WANG J L, YANG N. Partial nitrification under limited dissolved oxygen conditions[J]. *Process Biochemistry*, 2004, 39(10): 1223-1229.
- [49] CHEN J, WANG X J, CHEN Z G, et al. Application of a synthetic zeolite as a storage medium in SBRs to achieve the stable partial nitrification of ammonium[J]. *Environmental Science Water Research & Technology*, 2019, 5(2): 287-295.
- [50] LEE C Y, LEE C C, LEE F Y, et al. Performance of subsurface flow constructed wetland taking pretreated swine effluent under heavy loads[J]. *Bioresource Technology*, 2004, 92(2): 173-179.
- [51] DU L, ZHAO Y, WANG C, et al. Effects of plant on denitrification pathways in integrated vertical-flow constructed wetland treating swine wastewater[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2020, 201: 110752.
- [52] 胡沅胜, 赵亚乾, 赵晓红, 等. 间歇曝气铝污泥基质人工湿地处理高浓度养猪废水[J]. *中国给水排水*, 2015, 31(17): 124-128.
- [53] 牟锐, 沈志强, 周岳溪, 等. 生物沸石人工湿地处理分散养猪冲洗水性能[J]. *环境科学*, 2016, 37(9): 3508-3517.
- [54] ZHANG X, INOUE T, KATO K, et al. Performance of hybrid subsurface constructed wetland system for piggery wastewater treatment[J]. *Water Science and Technology*, 2016, 73(1): 13-20.
- [55] BORIN M, POLITEO M, DE STEFANI G. Performance of a hybrid constructed wetland treating piggery wastewater[J]. *Ecological Engineering*, 2013, 51: 229-236.
- [56] 刘小真, 石湖泉, 陈福根. 人工湿地对规模化养猪废水处理效果评价[J]. *生态环境学报*, 2018, 27(11): 2110-2116.
- [57] 高红杰, 彭剑峰, 宋永会, 等. 铵饱和和天然钙型沸石基质人工湿地对模拟养猪废水的处理效能[J]. *环境保护科学*, 2010, 36(6): 14-16.
- [58] ZHI W, JI G D. Quantitative response relationships between nitrogen transformation rates and nitrogen functional genes in a tidal flow constructed wetland under C/N ratio constraints[J]. *Water Research*, 2014, 64: 32-41.
- [59] SUZUKI I, DULAR U, KWOK S C. Ammonia or ammonium ion as substrate for oxidation by *Nitrosomonas-Europaea* cells and extracts[J]. *Journal of Bacteriology*, 1974, 120(1): 556-558.
- [60] 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.

(责任编辑: 曲娜)

Achievement and mechanism of partial nitrification in vertical-tidal flow constructed wetland treating anaerobically-digested swine wastewater

SUN Xiaowen^{1,2}, JI Chengyun³, YANG Yongqiang^{1,*}, WU Shijun¹, CHEN Fanrong¹

1. Key Laboratory of Mineralogy and Metallogeny/Guangdong Provincial Key Laboratory of Mineral Physics and Materials, Guangzhou Institute of Geochemistry, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510640, China

2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

3. Yiwu Water Treatment Co. Ltd., Yiwu 322001, China

*Corresponding author, E-mail: yqyang@gig.ac.cn

Abstract The anaerobically-digested swine wastewater (ADSW) is characterized by the high concentration of $\text{NH}_4^+\text{-N}$ and low carbon/nitrogen ratio, making it a challenge to remove nitrogen with low-cost and high-efficiency. An intermittent aeration vertical-tidal flow constructed wetland (V-TFCW) employing zeolite as a substrate was designed to treat ADSW in order to achieve partial nitrification (PN) under high pollutant loading rate and provide suitable substrates for anammox. During the start-up stage, PN was successfully achieved within about 20 days, the $\text{NO}_2^-\text{-N}$ in the effluent was up to $375 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. During the stable operating stage, the $\text{NH}_4^+\text{-N}$ removal rate was up to $343 \text{ g}\cdot(\text{m}^2\cdot\text{d})^{-1}$, and the nitrite accumulation rate was always higher than 90%, demonstrating the excellent PN performance of the V-TFCW. Furthermore, the effluent $\text{NO}_2^-\text{-N}/\text{NH}_4^+\text{-N}$ ratio could meet the demand of anammox. PN was significantly inhibited due to the low temperature, while it improved obviously with the rise of temperature. Analysis of the PN mechanism showed that free ammonia inhibition and the strong pH buffer capacity of ADSW were vital to achieving PN in V-TFCW. Moreover, adsorption of $\text{NH}_4^+\text{-N}$ by zeolite, system structure, and operation mode contributed to the efficient PN. The qPCR data demonstrated that the abundances of *amoA* were much higher than those of *nxrA* in V-TFCW, confirming the inhibition of nitrite-oxidizing bacteria. This study provides references for the optimization of constructed wetland and its applications in the treatment of ADSW.

Keywords anaerobically-digested swine wastewater; constructed wetlands; partial nitrification; tidal flow; qPCR