

doi: 10.7541/2019.053

不同生物促生剂添加量对垂直流人工湿地水质净化效果的影响

童伟军^{1,2} 郑文萍^{2,3} 马琳^{2,3} 张义² 贺锋² 吴振斌²

(1. 武汉理工大学 资源与环境工程学院, 武汉 430070; 2. 中国科学院水生生物研究所淡水生态与生物技术国家重点实验室, 武汉 430072; 3. 中国科学院大学, 北京 100049)

摘要: 以垂直流人工湿地为研究对象, 探讨不同生物促生剂添加量对系统中N、P以及COD去除效果的影响, 并通过测定人工湿地系统中基质磷酸酶和脲酶活性来进行机理分析。结果表明, 添加生物促生剂可显著提高系统的脱氮效率, TN和 NH_4^+-N 去除效率均达到80%以上, 较对照系统分别提高了71.5%和31.7%, 对TP和COD的去除效率最高可达到36.0%和91.6%, 较对照系统分别提高了9.1%和5.9%。同时可提高系统中基质磷酸酶和脲酶活性, 对系统中基质脲酶活性更具有显著性的影响, 基质磷酸酶、脲酶活性和COD去除率间存在显著正相关。研究中所采用的生物促生剂在本系统中最适宜添加量为5 $\mu\text{L/L}$, 即每升进水中添加5 μL 生物促生剂。

关键词: 生物促生剂; 水质净化; 基质酶活; 垂直流人工湿地

中图分类号: X703

文献标识码: A

文章编号: 1000-3207(2019)02-0431-08

在中国农村地区, 由于其落后的经济现状以及对污水治理的重视不足, 农村地区污水处理设施有限, 生活污水没有得到有效地治理, 90%以上的农村生活污水没有经过适当的处理处置就直接排入当地的河湖^[1], 而生活污水中丰富的氮磷等营养物质会造成水体富营养化等水环境问题以及其他潜在的危险问题^[2]。因此, 利用经济、高效的污水处理系统对农村地区生活污水进行治理对于维护农村居民身体健康以及农村水域环境良好具有十分重要的意义。

在过去的各种研究中, 诸多污水处理系统已被应用于农村生活污水的处理, 如稳定塘^[3]、生物滤池^[4]、人工湿地^[5,6]等, 而在这些现有的污水处理系统中, 人工湿地由于建设运行费用低、出水水质好以及维护管理方便等优点而得到广泛的应用^[7,8], 人工湿地是处理生活污水最有效的生态系统之一, 特别是垂直流人工湿地, 其系统充氧更加充分, 有利于好氧微生物的生长和硝化反应的进行, 并在氮磷等污染物质的去除过程中起着重要的作用。污水在通过垂直流人工湿地系统中多孔基质的过程中, 在湿地植物以及微生物的作用下而得到净化^[9]。

因此, 湿地系统中基质、植物以及微生物是人工湿地发挥净化作用的3个主要因素, 污染物通过一系列复杂的物理、化学、生物作用而得到去除^[10]。

在污水处理过程中, 大分子有机物降解为小分子的营养物质, 主要是微生物通过一系列广泛的机制进行的。在垂直流人工湿地系统中, 微生物对有机物的降解同样发挥着重要作用。但是高浓度高负荷的生活污水, 垂直流人工湿地的净化性能有限, 通过向系统中添加生物促生剂来提高系统中微生物活性进而提高系统对污染物的净化能力是从根本上解决这一问题的重要手段之一。生物促生剂是一种富含能量物质、无毒表面活性剂、电子受体、酶等的复合制剂, 可以刺激系统中关键酶活性以及提高微生物活性。生物促生剂包含的多种成分, 如多肽、氨基酸、激素^[11], 可以促进微生物的新陈代谢, 促使微生物在较差的环境里快速生长^[12]。目前有很多关于人工湿地对污染物的净化能力以及微生物活性的研究^[13,14], 但将生物促生剂应用于人工湿地系统中用以提高系统中微生物活性进而提高系统对污水降解能力的研究还未有报道。

收稿日期: 2018-03-12; **修订日期:** 2018-06-05

基金项目: 国家自然科学基金(51178452、51709254和51709255)资助 [Supported by the National Natural Science Foundation of China(51178452, 51709254 and 51709255)]

作者简介: 童伟军(1993—), 男, 安徽宣城人; 硕士研究生; 主要研究方向为水体生态修复。E-mail: tongwj0713@foxmail.com

通信作者: 贺锋(1973—), 男, 研究员; E-mail: hefeng@ihb.ac.cn

本研究以垂直流人工湿地作为研究对象,将生物促生剂应用于人工湿地处理生活污水的研究中,通过研究不同添加量的生物促生剂对垂直流人工湿地系统的水质净化效果,筛选出生物促生剂在垂直流人工湿地系统中最优的添加量,并分析系统中基质酶活和污染物去除率的相关性,探究生物促生剂在水质净化方面的作用机理,为后续生物促生剂在人工湿地的应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验装置

本实验以垂直流人工湿地系统作为研究对象,采用内径为250 mm的PVC管制成,管高920 mm,填料高度为600 mm,装置从下到上依次填入粒径为5—8 mm粗砾石100 mm高,粒径为3—5 mm细砾石300 mm高以及粒径为1—2 mm石英砂200 mm高,系统中种植已放入自来水中稳定半月的美人蕉(*Canna flaccida*),如图1所示。实验系统共分为4组,分别是CK、B1、B5和B10,其中CK系统为对照组,不添加生物促生剂,B1、B5和B10系统为实验组,分别添加1、5和10 $\mu\text{L/L}$ 的生物促生剂于进水中混合均匀,然后通过蠕动泵经布水器均匀输送至人工湿地系统中,每组设置3个平行。

1.2 实验材料

实验所添加的生物促生剂为实验室自主配置的生物促生剂,参考相关文献确定生物促生剂中发挥激活系统土著微生物活性的物质有氨基酸、酶类、维生素、电子受体以及微量元素等^[15, 16],最终

确定生物促生剂的制备过程:分别称取酵母浸膏25 g、天冬氨酸3.6 g、色氨酸14.4 g、维生素H 1 g、氯化钠0.5 g、6-苄基嘌呤0.45 g以及其他微量元素,混合溶解于200 mL蒸馏水中,过滤后弃去残渣,所得滤液即为所制得的生物促生剂,放入4℃冰箱中储存备用。

1.3 系统运行条件

系统进水采用自配污水,其中碳源主要采用蛋白胨、牛肉膏和葡萄糖,含量分别为0.16、0.11和0.2 g/L,氮源主要采用氯化铵,含量为0.057 g/L,磷源主要采用磷酸氢二钾,含量为0.038 g/L,微量元素主要采用无水氯化钙和无水硫酸镁,含量分别为0.004和0.002 g/L,另含有0.007 g/L NaCl。实际配置的污水化学需氧量(COD)浓度为(408.7±18.6) mg/L,总氮(TN)浓度为(45.20±2.92) mg/L,总磷(TP)浓度为(5.93±0.51) mg/L,氨氮(NH_4^+-N)浓度为(19.62±1.93) mg/L,水温(27.54±1.07)℃,pH为7.31±0.05。系统采用间歇式进水,单个系统进水量为15 L,水力负荷为200 mm/d,水力停留时间为3d。系统建成后,稳定2月后开始本实验研究。

1.4 主要监测指标及方法

所有系统在装置进水采样口和出水采样口进行采样,水样采样频率为每3天1次,基质采样频率为每9天1次。TN采用碱性过硫酸钾消解紫外分光光度法; NH_4^+-N 采用纳氏试剂分光光度法;TP采用钼酸铵分光光度法;COD采用快速消解分光光度法,均参照《水和废水监测分析方法》进行^[17]。

磷酸酶活性采用p-硝基苯磷酸二钠法,以p-硝

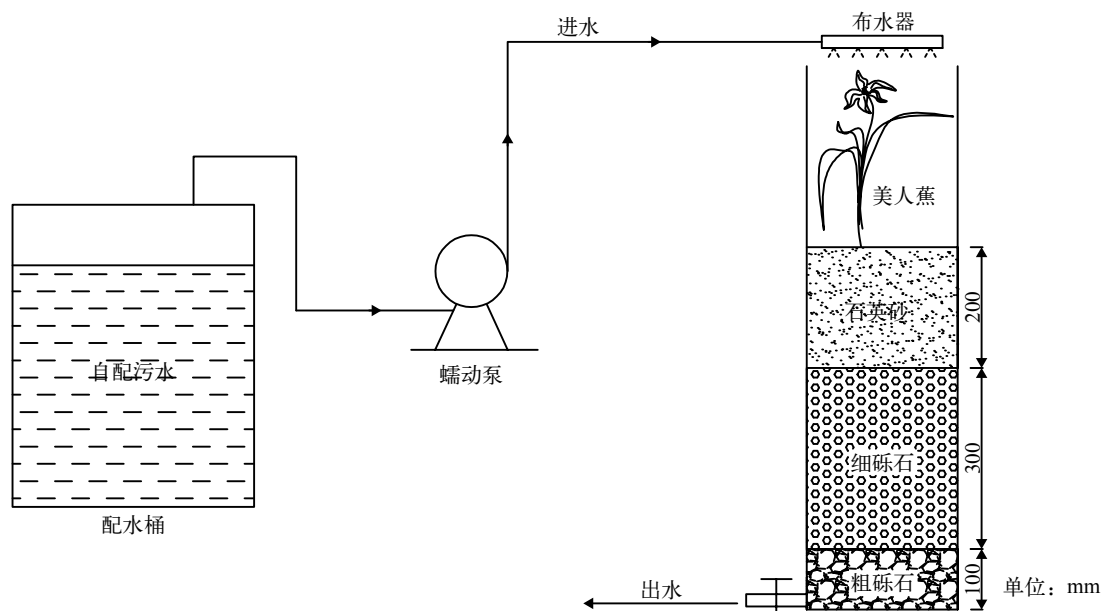


图1 垂直流人工湿地实验装置图

Fig. 1 Experimental device schematic of a vertical flow constructed wetland

基苯磷酸二钠为酶促反应基质, 测定反应后p-硝基酚含量, 磷酸酶活性以1 g土壤作用于基质(p-硝基苯磷酸二钠)24h释放出的p-硝基苯酚量表示; 脲酶活性采用奈氏比色法, 以尿素作为脲酶酶促反应基质, 测定反应结束后生成的 NH_4^+ -N含量, 脲酶活性以1 g土在37℃培养24h释放出 NH_4^+ -N的含量表示^[18]。

1.5 数据处理

所有数据均利用SPSS 22软件进行One-way ANOVA方差利用LSD法进行多个样本的均数比较以及对系统水质净化效果和基质酶活进行Pearsons相关性分析, 显著性水平均设为0.05。

2 结果

2.1 不同生物促生剂添加量对水质净化效果的影响

本实验的垂直流人工湿地系统运行于2017年2月至7月, 水样每3天采集1次进行水质指标的分析, 各系统去除率见表1以及水质各指标去除率变化如图2所示。

由表1可知, 各个系统水质指标的去除率均存在着 $\text{B5} > \text{B1} > \text{B10} > \text{CK}$ 的规律。实验组(B1、B5、B10)的出水 NH_4^+ -N和TN去除率均达到80%以上,

相较于对照组(CK)的 NH_4^+ -N和TN去除率分别提高了近70%和30%, 二者具有极显著性差异($P < 0.01$), 而不同实验组间只有B5系统的TN去除率显著高于B10系统($P < 0.05$), 其他系统间无显著性差异。对于TP去除率, 实验组B1、B5和B10系统去除率分别达到30.8%、36.0%和27.2%, B5系统显著高于B10系统($P < 0.05$); 与对照组CK相比, B5系统与其具有极显著性差异($P < 0.01$), TP去除率提高了10%左右。对于COD去除率, 与TP去除率存在着类似的规律。B1系统和B5系统对COD的去除率分别达到89.6%和91.6%, 显著高于CK系统($P < 0.05$), 但

表1 各系统污染物平均去除率

Tab. 1 Average removal rates of pollutants in different systems

系统 System	NH_4^+ -N (%)	TN (%)	TP (%)	COD (%)
CK	21.4±15.2 ^a	62.1±11.1 ^a	26.9±8.8 ^a	85.7±6.8 ^a
B1	92.2±3.2 ^b	92.2±2.2 ^{bc}	30.8±10.7 ^{ab}	89.6±4.7 ^{bc}
B5	92.9±4.3 ^b	93.8±1.8 ^b	36.0±13.6 ^b	91.6±6.0 ^c
B10	91.8±3.4 ^b	91.8±2.9 ^c	27.2±11.4 ^a	86.3±7.7 ^{ab}

注: 表中数字均为平均值±标准偏差的形式, 同一列中不同上标表示LSD检验差异显著($P < 0.05$)

Note: Numbers in the table are in the form of average value ± standard deviation, and the value with different superscript letters in the same column are significantly different ($P < 0.05$) according to LSD tests

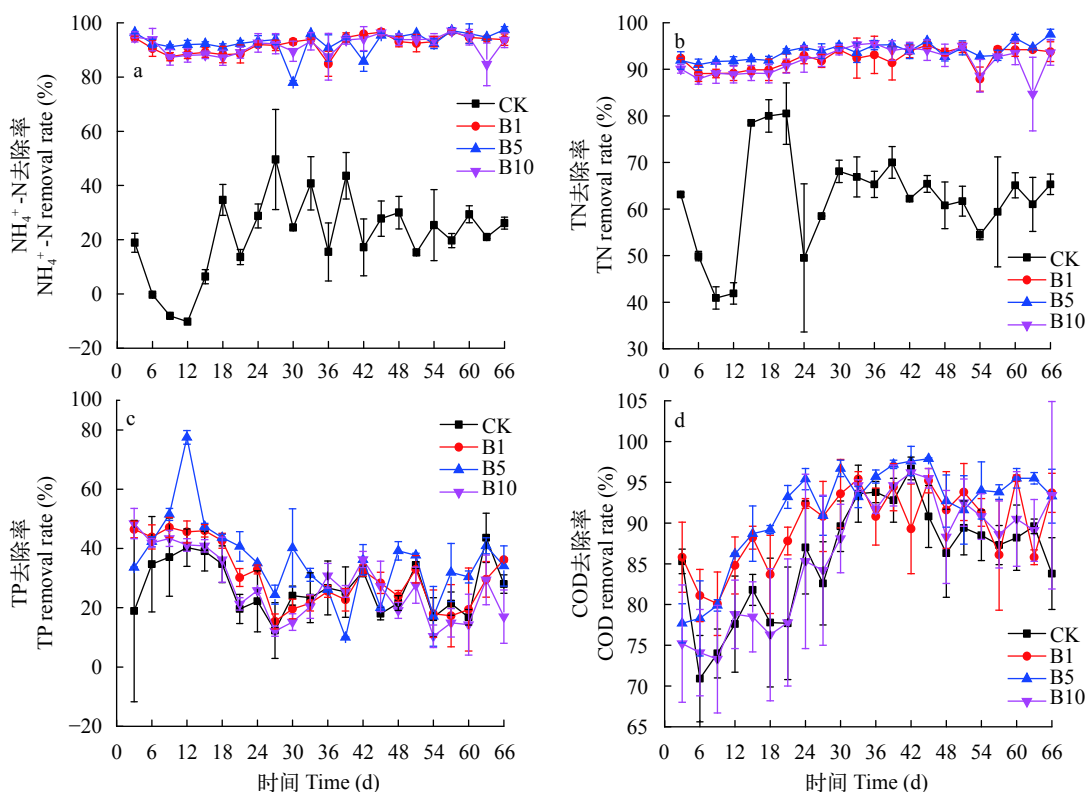


图2 各系统污染物去除率变化

Fig. 2 Variation of pollutant removal rates in different systems

B1系统和B5系统间却无显著性差异; B10系统对COD的平均去除率为86.3%, 与B5系统存在显著性差异($P<0.05$)。

2.2 不同生物促生剂添加量对基质酶活的影响

系统中基质磷酸酶和脲酶活性随系统运行时间变化如图3所示。实验组的基质磷酸酶活性高于对照组, 但各系统间无显著性差异。对于系统中基质脲酶活性, B5系统与CK系统存在极显著性差异($P<0.01$), B10系统与CK系统存在显著性差异($P<0.05$); 而实验组间, 只有B5系统与B1系统间存在显著性差异($P<0.05$), 其他系统间无显著性差异。

2.3 水质净化效果与基质酶活间的相关性

由表2可知, 系统COD去除率与基质磷酸酶活性呈极显著正相关($P<0.01$), 相关性系数达到0.602, 同时, COD去除率也与基质脲酶活性呈显著正相关($P<0.05$)。但TP去除率与磷酸酶活性、TN去除率与脲酶活性均无显著相关性。

3 讨论

3.1 不同生物促生剂添加量对水质净化效果的影响

人工湿地对氮的去除主要有3个方面的作用, 分别是高等湿地植物的吸收转化、微生物硝化反硝化生物脱氮作用以及氨的挥发, 其中湿地微生物的作用是湿地去除氮的主要因素^[19-22], 通过生物硝化反硝化或厌氧氨氧化去除的氮量占湿地系统总氮去除量75.2%—85.6%^[23, 24]。在本研究中, 实验组的 NH_4^+ -N和TN去除率在整个系统运行的周期内均保持一个稳定的状态, 对氮的去除均到80%以上, 如图2a、2b所示, 极显著高于对照组($P<0.01$), 这说明生物促生剂的添加可显著提高垂直流人工湿地系统对氮的去除。B5系统 NH_4^+ -N、TN平均去除

率分别较对照组提高了71.5%和31.7%, 可能是由于生物促生剂是随进水一同垂直进入人工湿地系统中, 同时最先与系统上层基质接触, 继而对上层基质中附着的微生物产生作用, 而硝化细菌多分布于垂直流人工湿地上层好氧区, 生物促生剂促进了硝化细菌的生长繁殖, 从而提高了人工湿地对 NH_4^+ -N的去除。随着生物促生剂进入人工湿地系统中下层基质, 生物促生剂逐渐被消耗利用, 其对反硝化细菌产生的作用弱于对硝化细菌的作用, 使得人工湿地系统中硝化作用强于反硝化作用, NO_3^- -N在人工湿地系统中发生积累, 最终使得人工湿地系统 NH_4^+ -N去除率明显高于TN去除率。李继洲等^[25, 26]的研究也得到了类似的结果, 其利用生物激活剂原位生物修复污染水体和黑臭水体, NH_4^+ -N去除率分别达到78.2%和76.6%, 得出生物激活剂的添加对 NH_4^+ -N降解作用最为显著的结果。在未添加生物促生剂的系统中, NH_4^+ -N和TN去除率呈现出“降低-升高-稳定”的过程, 此为人工湿地自然降解污染物的过程, 因为在实验前期阶段, 湿地系统尚未完全成熟, 湿地植物尚未完全发育, 进而向湿地系统内部输氧不充分, 还未在植物根区形成好氧-缺氧-厌氧的连续环境, 抑制了硝化反硝化细菌的生长繁殖, 进而导致氮的去除效率较低^[27]; 实验阶段的中后期, 随着湿地系统的运行, 植物生长逐渐稳定, 硝化反硝化细菌作用得到提高, NH_4^+ -N和TN去除率逐渐增加。而生物促生剂的添加, 在人工湿地运行前期就可提高湿地系统对氮的去除效率。

人工湿地对磷的去除途径主要有基质的物理吸附, 湿地植物的化学吸附以及微生物作用, 其中基质的物理吸附在是主要磷去除途径^[28]。在湿地运行前期, 基质的孔隙率较大, 物理吸附作用强, TP去除率高, 随着湿地的运行, 基质孔隙率逐渐降低, 对磷的吸附作用减弱, TP的去除率也逐渐降

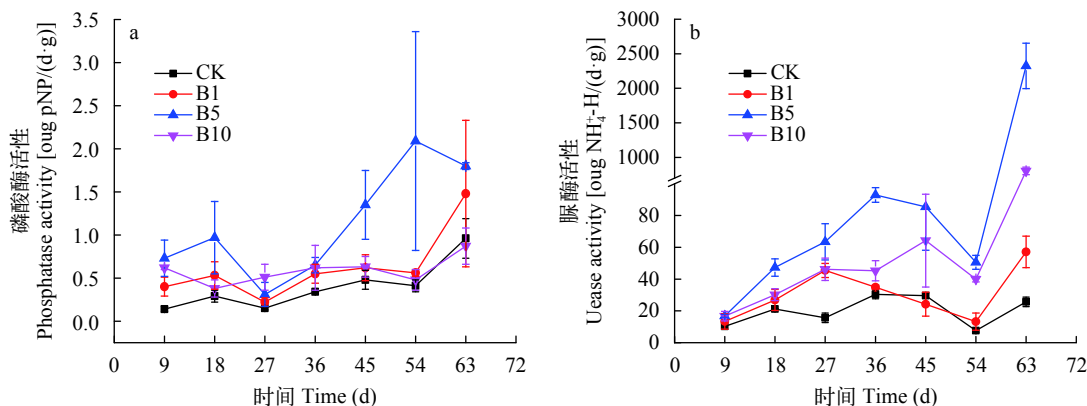


图3 各系统基质酶活性变化

Fig. 3 Variation of substrate enzymatic activities in different systems

表 2 基质酶活与污染物去除率间的相关性

Tab. 2 Correlations between substrate enzymatic activities and pollutant removal rates

酶活 Enzymatic activity	TN去除率 TN removal rate	TP去除率 TP removal rate	COD去除率 COD removal rate
磷酸酶活性 Phosphatase activity	—	-0.02	0.602**
脲酶活性 Urease activity	0.178	—	0.393*

注: 表中数据表示每行的酶活性和每列的污染物去除率的相关系数, * $P<0.05$, ** $P<0.01$

Note: The values in the table are correlation coefficients between enzymatic activity in each row and pollutant removal rate in each column, * $P<0.05$, ** $P<0.01$

低^[29]。这能够解释本实验湿地系统对TP去除率随时间变化的情况, 呈现出一种“降低-稳定”的过程(图 2c)。在本研究中, B5系统的TP去除率显著高于CK系统以及B10系统, 而其他系统间无显著性差异, 适量生物促生剂的添加可以显著提高人工湿地系统对TP的去除, 当添加量过低时, 其发挥作用不显著; 反之, 当添加量过高时, 会造成资源浪费, 增加污水处理成本, 同时生物促生剂中的营养成分可使水体中污染物浓度增加, 影响出水水质, 生物促生剂添加量对TP去除具有显著影响。胡湛波等^[30]利用生物促生剂修复城市黑臭河道水体, 曝气作用以及生物促生剂的添加显著提升了 NH_4^+-N 和TP的去除。

人工湿地中有机物的去除主要是微生物的作用, 当污水通过人工湿地时, 不溶性有机物被基质以及湿地植物根系所截留, 然后被微生物利用分解; 可溶性有机物通过基质表面生物膜的吸附和微生物代谢而去除。植物的泌氧作用使得湿地系统中呈现出连续的好氧-缺氧-厌氧的区域, 有利于系统中微生物对有机物的降解^[31]。在本研究中, 系统对COD的去除呈现出一个“上升-稳定”的过程(图 2d), 由于在实验阶段的前期, 湿地系统尚未稳定成熟, 系统中微生物对有机物降解能力有限; 随着湿地系统的运行, 连续的好氧-缺氧-厌氧的区域在系统中形成, 好氧菌、兼性菌以及厌氧菌对有机物降解更彻底。B1、B5系统对COD的去除率显著高于CK、B10系统。当生物促生剂添加量逐渐增大时, 系统对COD去除率逐渐增大, 当添加量为 $10 \mu\text{L/L}$ 时, COD去除率反而降低, 是因为生物促生剂添加过多, 其中营养物质未被完全利用而成为出水中COD的部分来源, 此结果与TP的内容具有一致性, 对生物促生剂添加量的优选具有重要意义, 方一丰

等^[32]、李弦等^[33]都进行了生物促生剂添加量的优选工作。另外, 江淦福等^[15]将生物促生剂应用于接触氧化池, 对COD的去除率提高了20%以上。

3.2 不同生物促生剂添加量对基质酶活的影响

湿地系统中基质磷酸酶与有机磷的转化有关, 它能够使磷酸酯水解而释放出磷酸根, 磷酸酶活性与温度、溶解氧、底物浓度水平以及微生物活动有直接关系。由图 3a可知, 在整个实验周期内, 各系统基质磷酸酶活性随系统运行时间而逐渐增加, 随着系统的运行, 系统中微生物数量逐渐增加, 微生物分泌磷酸酶能力得到提高。实验组的基质磷酸酶活性高于对照组的基质磷酸酶活性, 其中生物促生剂添加量为 $5 \mu\text{L/L}$ 的系统基质磷酸酶活性最高, 但各系统间无显著性差异, 说明生物促生剂的添加对人工湿地系统中基质磷酸酶活性作用不显著。这可能与湿地植物根系分泌物有一定的关系, 诸多研究已表明, 植物根系分泌物对人工湿地微生物群落结构有显著影响, 且不同湿地植物产生的影响也不尽相同^[34-37]。可能由于本研究中人工湿地系统都种植了湿地植物美人蕉, 其根系分泌物导致各系统中能够分泌磷酸酶的微生物数量相差不大, 致使各系统磷酸酶活性无显著性差异。而生物促生剂对各系统基质磷酸酶活性不显著, 可能说明生物促生剂对人工湿地系统中能够分泌磷酸酶的微生物的作用弱于湿地植物根系分泌物对其的影响。还可能是由于配水中的磷主要来源于磷酸氢二钾, 有机磷含量非常低, 磷酸酶可以发挥的作用太小。

湿地系统中脲酶能够酶促有机质分子中肽键的水解, 脲酶活性可受到诸多因素的影响, 如温度、溶解氧、微生物活动等。由图 3b可知, 所有系统基质脲酶活性在整个实验阶段呈现一个“升高-降低-升高”的过程, 但各系统变化幅度各不相同, 对照组变化不明显, 而实验组变化剧烈, 特别是B5系统, 其基质脲酶活性变化最大, 该系统运行第63天时基质脲酶活性出现剧烈增长, 可能是因为在持续的有机氮的输入条件下, 人工湿地系统中能够分泌脲酶的微生物数量在生物促生剂的作用下得到显著增加, 从而显著提高了系统基质脲酶活性。同时生物促生剂的添加量对基质脲酶活性有显著影响, B5、B10系统显著高于对照组($P<0.05$), B1系统与对照组无显著性差异, 但该实验组仍高于对照组, 可能是由于生物促生剂添加量过少时, 其对系统内能够分泌脲酶的微生物作用能力有限, 当生物促生剂添加量逐渐增加时, 它的作用逐渐增强, 基质脲酶活性得到提高。生物促生剂对酶活的影响只报道于

利用生物促生剂修复受污土壤的研究, Manuel Tejada进行了大量这类研究, 利用生物促生剂修复的土壤的脲酶活性比未利用生物促生剂的土壤提高了90%以上, 磷酸酶活性、脱氢酶也得到了相同的结果^[12]。

3.3 水质净化效果与基质酶活间的相关性分析

对系统基质磷酸酶活性与TP去除率做相关性分析发现: 磷酸酶活性与TP去除率无显著相关性, 这可以说明磷酸酶并不是人工湿地去除磷的主要途径, 前文也已提到人工湿地基质的物理吸附作用是湿地系统中磷去除的主要途径, 这一结果与诸多研究相一致^[38, 39]。另外, 由于实验配水主要采用磷酸氢二钾作为磷源, 其中的有机磷在TP比例中所占不大, 磷酸酶酶促磷酸酯水解释放正磷酸盐对污水中TP的去除作用不大, 使得基质磷酸酶活性与TP去除率无显著相关性。但在一些研究中, 二者存在相反的关系^[5, 14], 磷酸酶活性与TP去除率间的相关性受到诸多因素的影响, 如温度、溶解氧水平、污水成分等, 若要探明二者关系还需更加深入的研究。

脲酶是一种酰胺酶, 能够酶促有机质分子中肽键的水解。在本实验中, 进水配方含有蛋白胨、牛肉膏和葡萄糖, 使得进水中含有部分有机氮, 可能因为这部分有机氮在TN含量中比例不高, 所以致使脲酶活性与TN去除率间无显著相关性, 在本研究中脲酶的作用并不是系统脱氮的主要途径而是硝化、反硝化作用。但脲酶活性与COD去除率间却存在显著正相关($P < 0.05$), 这可能是因为进水中有机氮的COD含量占进水COD含量比例较高。但是一些研究得出了相反的关系, 王林等^[40]利用人工湿地处理养殖废水, 得出了脲酶活性与TN去除率具有显著相关性, 而与高锰酸盐指数不相关的结论。因此, 人工湿地基质脲酶活性与污染物去除率间的相关关系与进水成分有很大的关系, 与进水中有机氮含量以及基质中有机氮的分布有着直接的关系^[41]。

4 结论

本研究发现使用生物促生剂可有效提高垂直流人工湿地对污水的处理的效果。在本实验的条件下生物促生剂最佳添加量为5 $\mu\text{L/L}$, 生物促生剂的添加可显著提高人工湿地系统 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、TN的去除率, 适当添加量的生物促生剂也可提高系统对TP、COD的去除率, 同时, 生物促生剂可提高系统中基质磷酸酶、脲酶活性。

参考文献:

- [1] Wang X, Zhang W, Huang Y, *et al.* Modeling and simulation of point-non-point source effluent trading in Taihu Lake area: perspective of non-point sources control in China [J]. *Science of the Total Environment*, 2004, **325**(1-3): 39—50
- [2] Wang L, Guo F, Zheng Z, *et al.* Enhancement of rural domestic sewage treatment performance, and assessment of microbial community diversity and structure using tower vermifiltration [J]. *Bioresour Technol*, 2011, **102**(20): 9462—9470
- [3] Bansah K, Suglo R. Sewage treatment by waste stabilization pond systems [J]. *Journal of Energy and Natural Resources Management*, 2016, **3**(1): 7—14
- [4] Luo W, Yang C, He H, *et al.* Novel two-stage vertical flow biofilter system for efficient treatment of decentralized domestic wastewater [J]. *Ecological Engineering*, 2014, **64**(11): 415—423
- [5] Wu S Q, Chang J J, Dai Y, *et al.* Treatment performance and microorganism community structure of integrated vertical-flow constructed wetland plots for domestic wastewater [J]. *Environmental Science & Pollution Research International*, 2013, **20**(6): 3789—3798
- [6] Coleman J, Hench K, Garbutt K, *et al.* Treatment of domestic wastewater by three plant species in constructed wetlands [J]. *Water Air & Soil Pollution*, 2001, **128**(3—4): 283—295
- [7] Akinbile C O, Yusoff M S, Zuki A Z A. Landfill leachate treatment using sub-surface flow constructed wetland by *Cyperus haspan* [J]. *Waste Management*, 2012, **32**(7): 1387—1393
- [8] Ranieri E, Gikas P, Tchobanoglous G. BTEX removal in pilot-scale horizontal subsurface flow constructed wetlands [J]. *Desalination & Water Treatment*, 2013, **51**(13—15): 3032—3039
- [9] Prochaska C A, Zouboulis A I. Treatment performance variation at different depths within vertical subsurface-flow experimental wetlands fed with simulated domestic sewage [J]. *Desalination*, 2009, **237**(1—3): 367—377
- [10] Truu M, Juhanson J, Truu J. Microbial biomass, activity and community composition in constructed wetlands [J]. *Science of the Total Environment*, 2009, **407**(13): 3958—3971
- [11] Parrado J, Bautista J, Romero E J, *et al.* Production of a carob enzymatic extract: potential use as a biofertilizer [J]. *Bioresour Technol*, 2008, **99**(7): 2312—2318
- [12] Tejada M, Benítez C, Gómez I, *et al.* Use of biostimulants on soil restoration: Effects on soil biochemical properties and microbial community [J]. *Applied Soil Ecology*, 2011, **49**(5): 11—17
- [13] Choi J Y, Maniquiz M C, Geronimo F K, *et al.* Development of a horizontal subsurface flow modular construc-

- ted wetland for urban runoff treatment [J]. *Water Science & Technology*, 2012, **66**(9): 1950—1957
- [14] Guo W, Li Z, Cheng S, *et al.* Enzyme activities in pilot-scale constructed wetlands for treating urban runoff in China: temporal and spatial variations [J]. *Desalination & Water Treatment*, 2015, **56**(11): 3113—3121
- [15] Jiang G F, Hu C, Sun Y Y. Application of bio-energizer and micatrol in contact oxidation pond [J]. *Industrial Water & Wastewater*, 2013, **44**(5): 49—52 [江淦福, 胡冲, 孙胤轶. 生物促生剂、解毒剂在接触氧化池中的应用. *工业用水与废水*, 2013, **44**(5): 49—52]
- [16] Wang H R, Li M Z, Zhang Y, *et al.* Pilot scale research on the bio-energizer for the strengthened treatment of printing and dyeing wastewater [J]. *Industrial Water Treatment*, 2016, **36**(5): 40—43 [王慧荣, 李明智, 张宇, 等. 生物促生剂强化处理印染废水的中试研究. *工业水处理*, 2016, **36**(5): 40—43]
- [17] State Environmental Protection Administration of China. Water and Exhausted Water Monitoring Analysis Method [M]. Beijing: China Environmental Science Press. 2002, 227—285 [国家环境保护总局. 水和废水监测分析方法. 北京: 中国环境科学出版社. 2002, 227—285]
- [18] Guan S Y. Soil Enzyme and Method [M]. Beijing: Agriculture Press. 1986, 294—313 [关松荫. 土壤酶及其研究法. 北京: 农业出版社. 1986, 294—313]
- [19] Dierberg F E, Debusk T A, Jackson S D, *et al.* Submerged aquatic vegetation-based treatment wetlands for removing phosphorus from agricultural runoff: response to hydraulic and nutrient loading [J]. *Water Research*, 2002, **36**(6): 1409—1422
- [20] Verhoeven J T A, Meuleman A F M. Wetlands for wastewater treatment: Opportunities and limitations [J]. *Ecological Engineering*, 1999, **12**(1-2): 5—12
- [21] Bai J H, Ouyang H, Deng W, *et al.* A review on nitrogen transmission processes in natural wetlands [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2005, **25**(2): 326—333 [白军红, 欧阳华, 邓伟, 等. 湿地氮素传输过程研究进展. *生态学报*, 2005, **25**(2): 326—333]
- [22] Ding Y, Wang W, Wang Y H, *et al.* Research on the mechanism of nitrogen removal and its main influencing factors in horizontal subsurface flow constructed wetlands [J]. *Industrial Water Treatment*, 2015, **35**(6): 6—10 [丁怡, 王玮, 王宇晖, 等. 水平潜流人工湿地的脱氮机理及其影响因素研究. *工业水处理*, 2015, **35**(6): 6—10]
- [23] USEPA. Constructed wetlands and aquatic plant systems for municipal wastewater treatment [G]. Center for Environmental Research Information Cincinnati. 1988
- [24] Hu Y, He F, Wang L, *et al.* The fate of ammonium in integrated vertical-flow constructed wetlands using stable isotope technique [J]. *Polish Journal of Environmental Studies*, 2016, **25**(3): 1027—1032
- [25] Li J Z, Ji H R, Yuan X Y, *et al.* Study on remediation of black-odorous water by dosing bio-energizer, glucose and amino acid [J]. *Hubei Agricultural Sciences*, 2013, **52**(13): 3027—3030 [李继洲, 嵇浩然, 袁旭音, 等. 投加生物促生剂、葡萄糖和氨基酸修复黑臭水体的效果. *湖北农业科学*, 2013, **52**(13): 3027—3030]
- [26] Li J Z, Hu L. Preliminary study on in-situ bioremediation for polluted water [J]. *Sichuan Environment*, 2005, **24**(1): 1—3 [李继洲, 胡磊. 污染水体的原位生物修复研究初探. *四川环境*, 2005, **24**(1): 1—3]
- [27] Yin W, Li P J, Ke X, *et al.* Treatment of urban surface runoff by constructed wetlands [J]. *Journal of Liaoning Technical University*, 2006, **25**(4): 614—617 [尹炜, 李培军, 可欣, 等. 城市地表径流人工湿地生态处理工程. *辽宁工程技术大学学报*, 2006, **25**(4): 614—617]
- [28] Lu S Y, Jin X C, Yu G. Phosphorus removal mechanism of constructed wetland [J]. *Ecology & Environment*, 2006, **15**(2): 391—396 [卢少勇, 金相灿, 余刚. 人工湿地的磷去除机理. *生态环境学报*, 2006, **15**(2): 391—396]
- [29] Xiong J Q, Zhao Z N, Yuan G, *et al.* Phosphorus removal of vertical flow constructed wetlands using difference substrates for purifying highly polluted river water [J]. *Environmental Chemistry*, 2014, **33**(7): 1208—1213 [熊家晴, 赵泽宁, 葛媛, 等. 不同基质垂直流人工湿地对高污染河水中磷的去除效果. *环境化学*, 2014, **33**(7): 1208—1213]
- [30] Hu Z B, Liu C, Zhou Q N. Effects of aeration to remediation of black-odorous urban river by using biostimulants [J]. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 2012, **6**(12): 4281—4288 [胡湛波, 刘成, 周权能, 等. 曝气对生物促生剂修复城市黑臭河道水体的影响. *环境工程学报*, 2012, **6**(12): 4281—4288]
- [31] Wang W L, Han R M, Wang G X, *et al.* Research advancements on the radial oxygen loss in wetland plants and its diffusion effect in natural sediments [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2015, **35**(22): 7286—7297 [王文林, 韩睿明, 王国祥, 等. 湿地植物根系泌氧及其在自然基质中的扩散效应研究进展. *生态学报*, 2015, **35**(22): 7286—7297]
- [32] Fang Y F, Huang G T, Lin F K, *et al.* Study on the biostimulant for the in-situ remediation of the scenic water [J]. *Water Purification Technology*, 2005, **24**(2): 5—8 [方一丰, 黄光团, 林逢凯, 等. 景观水原位修复的生物激活剂研究. *净水技术*, 2005, **24**(2): 5—8]
- [33] Li X, Lin F K, Xu Z. Application of multiple enzymes bio-stimulant in rehabilitation of polluted rivers [J]. *Water Purification Technology*, 2009, **28**(4): 38—41 [李弦, 林逢凯, 胥铮. 复合酶生物促进剂在污染河道修复中的应用研究. *净水技术*, 2009, **28**(4): 38—41]
- [34] Qiu Z. Water purification technology research advance in rhizosphere effect of constructed [J]. *Wetland Plants on Root Microorganism*, 2018, **37**(7): 26—30 [裘湛. 人工湿地植物根际效应对根部微生物影响的研究进展. *净水技术*, 2018, **37**(7): 26—30]
- [35] Zhang Y, Zhou Q H, Zhang L P, *et al.* Analysis on Rhizo-

- sphere microbial diversity of wetland plants in winter [J]. *Environmental Science & Technology*, 2013, **36**(11): 108—111 [张燕, 周巧红, 张丽萍, 等. 冬季湿地植物根际微生物群落结构多样性分析. 环境科学与技术, 2013, **36**(11): 108—111]
- [36] Lu S L, Zhang C, Xu J W. Root exudates of wetland plants and the influence on the microbial community in constructed wetlands [J]. *Ecology & Environmental Sciences*, 2011, **20**(4): 676—680 [陆松柳, 张辰, 徐俊伟. 植物根系分泌物分析及对湿地微生物群落的影响研究. 生态环境学报, 2011, **20**(4): 676—680]
- [37] Lei X, Li B, Li X, *et al.* Rhizosphere microbial communities of three plants in vertical-flow constructed wetland [J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2015, **34**(5): 1373—1381 [雷旭, 李冰, 李晓, 等. 复合垂直流人工湿地系统中不同植物根际微生物群落结构. 生态学杂志, 2015, **34**(5): 1373—1381]
- [38] Wu S L, Liu H, Cui L H, *et al.* The enzyme activities and its correlation with the purification of pollutants in integrated constructed wetland [J]. *Environmental Engineering*, 2015, **33**(1): 15—18 [吴属连, 刘欢, 崔理华. 复合人工湿地系统酶活性及其与污染物净化效果的相关性. 环境工程, 2015, **33**(1): 15—18]
- [39] Reddy K R. Fate of nitrogen and phosphorus in a wastewater retention reservoir containing aquatic macrophytes [J]. *Journal of Environmental Quality*, 1983, **12**(12): 137—141
- [40] Wang L, Li B, Yu J H, *et al.* The comparative analysis of the substrate enzyme activity and water purification effect in different wetland microcosm [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2017, **41**(3): 692—699 [王林, 李冰, 余家辉, 等. 不同湿地模型净水效果与基质酶活性相关性的比较研究. 水生生物学报, 2017, **41**(3): 692—699]
- [41] Xu Q L, Wang X M, Cui L H, *et al.* Spatial distribution of substrate enzyme and its relationship with TN, TP and organic matter content in a vertical flow constructed wetland [J]. *Research of Environmental Sciences*, 2016, **29**(8): 1213—1217 [许巧玲, 王小毛, 崔理华, 等. 垂直流湿地基质中酶的分布与氮磷及有机质的关系. 环境科学研究, 2016, **29**(8): 1213—1217]

THE IMPACT OF DIFFERENT AMOUNT BIOSTIMULANTS SUPPLEMENT ON THE PERFORMANCE OF WATER PURIFICATION IN VERTICAL FLOW CONSTRUCTED WETLAND

TONG Wei-Jun^{1,2}, ZHENG Wen-Ping^{2,3}, MA Lin^{2,3}, ZHANG Yi², HE Feng² and WU Zhen-Bin²

(1. College of Resources and Environmental Engineering, Wuhan University of Technology, Wuhan 430070, China; 2. State Key Laboratory of Freshwater Ecology and Biotechnology, Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072, China; 3. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: We studied the effects of different amount biostimulants supplement on the removal efficiency of nitrogen, phosphorus and COD in vertical flow constructed wetland. The mechanism was analyzed by determining the activities of substrate phosphatase and urease in the constructed wetland systems. The results showed that biostimulants supplement could improve nitrogen removal efficiency in the systems, and the removal rates of $\text{NH}_4^+\text{-N}$ and TN reached up to 80%, increasing by 71.5% and 31.7% respectively when compared with the control group. The maximum removal rates of TP and COD reached up to 36.0% and 91.6%, increasing by 9.1% and 5.9%, respectively. Meanwhile, the biostimulants could improve the enzymatic activities of substrate phosphatase and urease in the system, and the biostimulants had a significant influence on substrate urease activity. Significant positive relationships were found between COD removal rate and the activities of substrate phosphatase and urease. The most suitable amount of biostimulant supplement used in this system is 5 $\mu\text{L/L}$, which means 5 μL biostimulants was supplied to 1 L influent.

Key words: Biostimulants; Water purification; Substrate enzymatic activity; Vertical flow constructed wetland