

生物强化反应器净化循环养殖废水的研究

钱伟¹, 陆开宏^{1*}, 郑忠明¹, 吕镇梅², 谢丽凤¹, 张克鑫¹

(1. 宁波大学生命科学与生物工程学院,应用海洋生物技术教育部重点实验室,浙江 宁波 315211;

2. 浙江大学生命科学学院,浙江 杭州 310029)

摘要: 利用生物膜的高效截留原理,设计了生物强化反应器,在装有弹性纤维载体的反应器内接种具有硝化反硝化作用的复合菌群,经6周左右的人工挂膜后,弹性纤维载体表面出现了肉眼可见的生物膜。试验以循环养殖废水为研究对象,探讨了不同水力停留时间(HRT)和温度(WT)对生物强化反应器净化水质效果的影响。结果显示,HRT和WT对生物强化反应器净化养殖废水效果的影响显著($P < 0.05$)。对HRT和WT各处理水平下的 COD_{Mn} 、TN和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 去除率进行差异显著性分析,并综合考虑反应器的运行时间、费用和操作等因素,选取 $\text{HRT} = 18 \text{ h}$ 、 $\text{WT} = 30 \text{ }^\circ\text{C}$ 作为反应器的最佳运行条件,在此条件下反应器稳定运行3周左右。试验期间, COD_{Mn} 、TN及 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的平均去除率分别达44.18%、51.31%及82.08%。此外,还对反应器内载体表面的生物膜进行了可培养微生物数量动态监测。强化反应器在正式运行的25 d内,其生物膜上的可培养微生物数量不断增多,氨氧化细菌数量由 $35.91 \times 10^4 \text{ CFU/mg}$ 增长到 $89.43 \times 10^4 \text{ CFU/mg}$,硝化细菌数量由 $25.75 \times 10^4 \text{ CFU/mg}$ 增长到 $61.65 \times 10^4 \text{ CFU/mg}$,反硝化细菌数量由 $14.23 \times 10^4 \text{ CFU/mg}$ 增长到 $100.95 \times 10^4 \text{ CFU/mg}$;氨氧化细菌和硝化细菌在与氮素循环相关的可培养细菌中占据着主导地位(59.95%~81.25%)。脱氮细菌不断地吸附于载体表面,并成功地定殖和繁殖使得生物膜不断成熟和稳定(TN和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 去除率分别达51.31%及82.08%)。结果表明,生物强化反应器对循环养殖废水中 COD_{Mn} 、TN和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的去除效果明显。

关键词: 生物反应器; 微生物载体; 水力停留时间; 温度

中图分类号: X 171

文献标识码: A

水质是鱼类正常生存的基本条件,尤其是工厂化封闭式循环养殖系统,如何保证鱼类的存活和生长是令人关注的问题^[1]。工厂化养殖是集约化、高密度和高产出的一种养殖模式,这类养殖模式主要以投饵为主,养殖密度越高,投饵量越大,相伴而来的却是水质因生物量的增加而被污染,主要污染是残饵、排泄物及有机碎屑等,这些物质不断地被水体中的微生物氧化分解,导致水体中氨氮、亚硝酸氮的大量积累,造成养殖对象的中毒,甚至死亡。其中,氨氮可以破坏鱼的鳃组织,导致其呼吸机能下降,皮肤充血,甚至失去活力;亚硝酸氮可使血红蛋白转化成不能与氧结合的高铁血红蛋白,即使含

氧丰富的水体,鱼类仍表现出浮头症状^[2-3]。此外,养殖污染物的排放、沉积可引起水体富营养化,造成水质恶化,严重时导致养殖生态系统失衡、紊乱乃至崩溃。因此,如何控制水体中氮的存在形式和浓度,减少氮对养殖对象和环境的危害,已成为工厂化养殖中亟需解决的问题。

采用生物反应器(生物膜法)去除水体中的氨氮的应用较为广泛^[3-4],在处理过程中,氨态氮在硝化细菌作用下转化为硝态氮,后者进一步被反硝化细菌转化为氮气^[5]。近年来,生物膜技术在封闭循环工厂化水产养殖方面已有相关的研究和应用^[6-7]。封闭循环养殖废水水质净化的整套

收稿日期:2010-09-22 修回日期:2010-11-10

资助项目:国家“八六三”高技术研究发展计划(2007AA10Z409);宁波大学2010年优秀学位论文培育基金(PY20100012)

通讯作者:陆开宏,E-mail:lukaihong@nbu.edu.cn

设备一般包括固液分离装置、流着净化装置、生物过滤器(生化反应器或生物包)、泡沫分离-臭氧消毒装置、纯氧注入装置和植物滤池等功能单元^[2,8],其中生物过滤器在整个循环水水处理系统中起着核心作用。传统的生物过滤器主要以沸石、麦饭石及塑料块等作为滤料,依靠在固体基质表面天然富集的生物膜净化养殖废水。由于没有投加特定的功能性菌群,所以这类生物过滤器对养殖废水的净化效果并不是很理想,而且生物膜抗环境因素变化能力较差,易受水流冲击而遭到破坏^[9-14]。为此,本试验利用生物膜的高效截留作用,开发了生物强化反应器。反应器经人工投加菌群、驯化及富集后,加之外源条件的控制,使载体上的生物膜能够形成具有水质净化功能的优势菌群且具有较强的抗环境因素变化能力。相比传统活性污泥法(conventional activated sludge process, CAS),强化反应器内致密的生物膜孔径及微生物分泌的胞外聚合物(extracellular polymeric substance, EPS),能够高效截留废水中的大颗粒物,提高有机物和氨氮的去除率,同时该装置可被设计整合于敞开式植物滤池中与植物联合作用协同净化养殖废水。

生物强化反应器净化循环养殖废水效果取决于生物膜上的生物量及其活性、反应器的水力停留时间(HRT)、温度(WT)、DO、pH、有机物浓度及载体类型等^[15-19]。本试验对主要影响因素(HRT、WT)进行了分析,以期为进一步优化反应器装置及其工艺流程提供依据。

1 材料与方法

1.1 复合菌群的构建

菌种由浙江大学微生物研究所提供,用于构建复合菌群的菌种信息见表1。把不同菌种的菌悬液(OD_{600} 在0.8~1.0)各取1 mL(等体积比)接种于50 mL反硝化富集培养液中,在摇床培养箱中(37 °C, 200 r/min)培养48 h。8 000 r/min离心10 min收集菌体,用0.9%的生理盐水重悬洗涤2次,加无菌水后经漩涡混合器(Vortex Genius 3, IKA)震荡后(OD_{600} 在0.8~1.0)作为复合菌群的母液。

表1 构建复合菌群的菌种信息

Tab.1 Information about the multiple bacteria used in the study

脱氮微生物 denitrifier	新陈代谢的异化作用类型 the dissimilation type of metabolism
产气肠杆菌 <i>Enterobacter aerogenes</i>	兼性厌氧型 facultative anaerobic type
水杆菌属 <i>Aquabacterium</i> sp.	兼性厌氧型 facultative anaerobic type
黄杆菌属 <i>Flavobacterium</i> sp.	好氧型 aerobic type

1.2 试验装置

生物强化反应器由有机玻璃制成,设有进水区、反应区和出水区,进水区与反应区之间用隔板隔开(图1)。反应器长160 cm,深26 cm,横截面呈梯形,有效容积约为85 L。反应器有4个工作单元,每个工作单元由菱形模块,斜坡模块

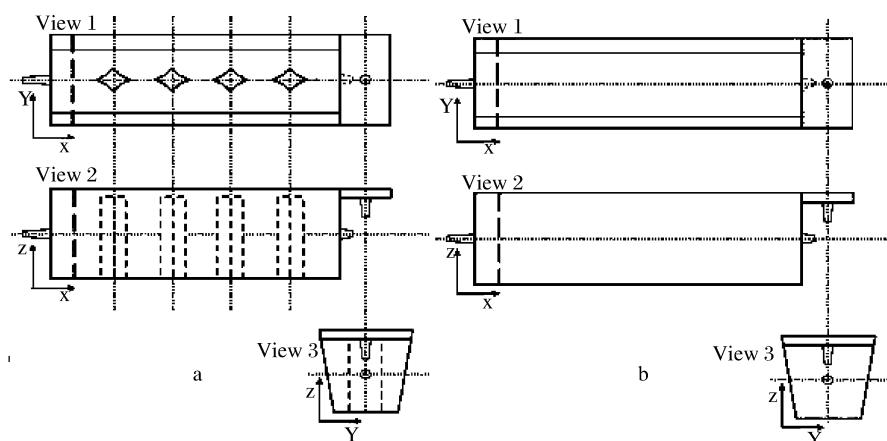


图1 反应器三视图

a. 强化反应器(ES); b. 对照反应器(CS)。

Fig.1 Three orthographic views of reactor

a. Enhanced biological treatment system(ES); b. Control system(CS).

(石子垒成)组成。菱形模块是反应器中最重要的结构。其具有多孔的凹槽,内部中空并填有弹性纤维载体,以利于复合菌群附着生长并形成生物膜。试验设置了一个空白反应器(CS)。该空白反应器不具备工作单元。

1.3 复合菌群挂膜流程

将放有弹性纤维载体的菱形结构内注入一定量的反硝化富集培养基(以刚好没过填料为宜),接种一定量的复合菌群母液于结构中,使用气泵间歇性曝气挂膜(间隔 2 h),反应器采用加热棒加热(28 ℃),挂膜期间不定期的添加反硝化富集培养基,以利于菌群的生长繁殖。挂膜时间为 6 周左右,此时可以清晰的看到载体上有明显的生物膜形成。之后,点通结构外壁,匀速注入反应器 3 倍体积的循环养殖废水进行冲洗,随后注入循环养殖废水进行生物水质净化。

1.4 反应器进、出水水质监测分析

试验用水取自宁波大学水产养殖校内学生实习基地内的循环养殖水体(其各项水质指标列于表 2)。水体经蠕动泵(保定兰格, YZ151X)由反应器进水口注入,从排水口排出。反应器进、出水的水质监测指标包括 WT、pH、DO、COD_{Mn}、TN、TP、NH₄⁺-N、NO₃⁻-N、NO₂⁻-N 等,具体测定方法^[20]: WT、DO 采用便携式溶氧仪(YSI55, USA); pH 采用 Mettler Toledo FiveEasy pH 计; COD_{Mn}采用高锰酸盐指数法(GB 11892 - 89); TN 采用碱性过硫酸钾消解紫外分光光度法(GB 11894 - 89); TP 采用钼酸铵分光光度法(GB 11893 - 89); NH₄⁺-N、NO₃⁻-N、NO₂⁻-N 采用全自动间断化学分析仪(Smart Chem 2000)。

1.5 水力停留时间对反应器净化水质效果的影响

水力停留时间(hydraulic retention time, HRT)是指待处理污水在反应器内的平均停留时间,即污水与生物反应器内微生物作用的平均时间。其公式为 $HRT = V/Q$, 式中 V 为反应器有效容积(m^3), Q 为反应器的进、出水流量(m^3/h)。在不同的 HRT 条件下考察了反应器净化水质的效果^[17,21]。

水力停留时间通过调节进水蠕动泵的转速来实现,试验分别在 HRT 为 1、6、12、18、24 h 的运行条件下各稳定运行 3 d,为保证供氧要求,采用间歇性曝气(间隔 2 h),试验期间水温为 28 ℃左右。每天监测对照和处理反应器进出水的各项水质指标。

表 2 反应器所治理循环养殖废水水体的主要水质指标
Tab.2 The water characteristics of recirculating aquacultural wastewater

水质指标 water quality indices	测量值 value
pH	6.73 ~ 7.18
水温(℃) water temperature(WT)	15.21 ~ 23.16
溶解氧(mg/L) DO	3.65 ~ 4.73
氨态氮(mg/L) NH ₄ ⁺ -N	3.34 ~ 4.21
硝态氮(mg/L) NO ₃ ⁻ -N	0.35 ~ 0.52
亚硝态氮(mg/L) (NO ₂ ⁻ -N)	0.050 2 ~ 0.059 5
总氮(mg/L) TN	4.08 ~ 6.11
总磷(mg/L) TP	2.56 ~ 3.67
高锰酸盐指数(mg/L) COD _{Mn}	21.57 ~ 24.87

注:试验水体自 2010 年 4 月 14 日至 2010 年 6 月 10 日无间断取样,所有数据结果来自于 3 个独立平行水样的算术均值。

Notes: The data was collected from 2010-04-14 - 2010-06-10 without interruption, All analytical value are reported as an average of three independent measurements.

1.6 水温对反应器净化水质效果的影响

反应器水温通过调节加热棒来实现,试验分别在 WT 为 15、20、25、30、35、37 ℃的运行条件下各稳定运行 3 d,为保证供氧要求,采用间歇性曝气(间隔 2 h),试验期间水力停留时间为 12 h。每天监测对照和处理反应器进出水的各项水质指标。

1.7 强化反应器运行期间生物膜上可培养微生物数量变化

反应器正式运行期间,其生物膜上的可培养微生物数量采用常规的平板计数法进行测定,采样间隔为 5 d。将生物膜样品进行适量稀释后,涂布于细菌、放线菌、真菌、氨氧化细菌、硝化细菌和反硝化细菌的培养基平板上,涂布后置于 37 ℃培养箱中。细菌培养 24 h,放线菌、真菌及反硝化细菌培养 72 h,氨氧化细菌和硝化细菌各培养 14 d 后计数平板上菌落。其中,细菌培养采用营养琼脂培养基,放线菌采用高氏合成 I 号培养基,真菌采用虎红琼脂培养基,氨氧化细菌、硝化细菌及反硝化细菌培养所用的培养基参照《微生物学实验》^[22]。

1.8 数据处理

统计分析等数据处理在 SPSS 18.0 统计软件上进行,不同处理间的指标值先进行单因素方差分析(One-Way ANOVA),然后进行 Duncan 氏多重比较。

2 结果与分析

反应器经过 6 周左右的挂膜后,载体及菱形结构表面出现了肉眼可见的生物膜。而在空白反

反应器内未观察到有明显的生物膜形成。此时,反应器进入正式运行阶段。

2.1 水力停留时间对反应器净化水质效果的影响

HRT 对 COD_{Mn} 去除效果的影响 高锰酸盐指数(COD_{Mn})通常作为水体受还原性有机、无机物质污染程度的综合指标^[21-22]。反应器正式运行期间进出水的 COD_{Mn} 浓度及去除率如图 2 所示。可以看出,对照组反应器内 COD_{Mn} 在不同的 HRT 条件下没有明显变化,而强化反应器内 COD_{Mn} 的去除率与 HRT 间存在着显著相关关系。随着 HRT 的不断增长, COD_{Mn} 的平均去除率由 11.65% 提高至 54.33%,说明 HRT 时间越长, COD_{Mn} 的去除效果越好。

HRT 对脱氮效果的影响 废水生物脱氮的基本原理是在传统二级生物处理中,有机氮化物经氨化微生物的氨化作用转化为氨氮,在此基础上,通过硝化反应将氨氮转化为亚硝态氮、硝态氮,再通过反硝化反应将硝态氮转化为氮气从水中逸出,从而达到脱氮的目的^[13,18]。

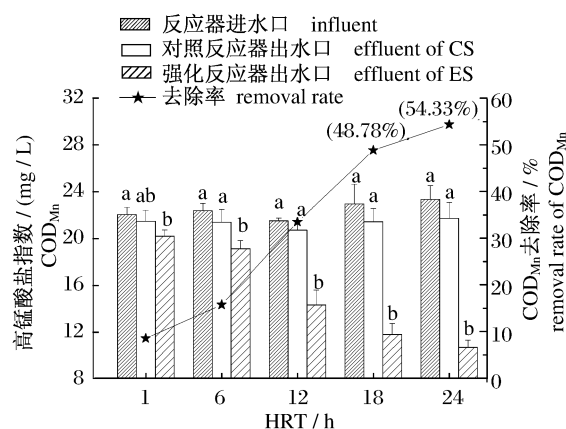


图 2 HRT 对 COD_{Mn} 去除效果的影响

竖线表示标准差;同一水力停留时间下,不同字母表示差异显著($P < 0.05$)。

Fig. 2 The effect of HRT on removal rate of COD_{Mn}

Bars indicate SD. Letters indicate the differences between groups within same HRT. Means not sharing a common letter are significantly different ($P < 0.05$).

由图 3-A 可以看出,随着 HRT 的不断延长,强化反应器 TN 的去除率依次为 8.25%、15.24%、

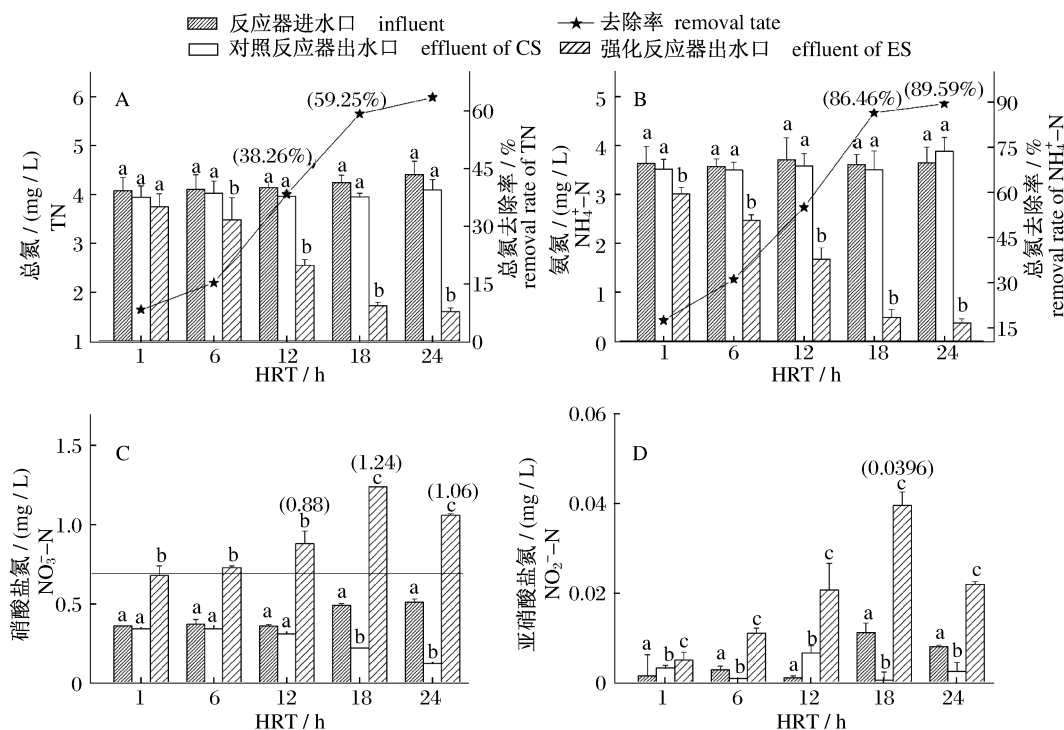


图 3 HRT 对反应器净化循环养殖废水效果的影响

竖线表示标准差;同一水力停留时间下,不同字母表示差异显著($P < 0.05$)。

Fig. 3 The effect of HRT on reactor purification of recirculating aquacultural wastewater

Bars indicate SD. Letters indicate the differences between groups within same HRT. Means not sharing a common letter are significantly different ($P < 0.05$).

38.26%、59.25%和63.52%，而对照组TN的去除率微乎其微。特别是当HRT由6h延长至18h时，TN的去除率由15.24%升高至59.25%。由于水体中 NH_4^+ -N浓度占了TN浓度的绝大部分(65%~85%)，所以HRT对 NH_4^+ -N的影响规律与对TN的影响规律基本相同(图3-B)。特别是当HRT为24h时， NH_4^+ -N的去除率高达89.59%。

另外，随着HRT的不断延长，强化反应器出水口水体的 NO_3^- -N和 NO_2^- -N浓度不断升高(图3-C、D)。循环养殖废水水体的 NO_3^- -N和 NO_2^- -N平均浓度为0.4mg/L和0.0075mg/L左右，经强化反应器处理后两者的浓度分别为0.98mg/L和0.02mg/L左右。特别是当HRT为18h时，出水口水体的 NO_3^- -N和 NO_2^- -N浓度达到最高值(1.24mg/L和0.04mg/L)，这表明当HRT为18h时，氨氧化速率处于最快阶段，废水中的大部分 NH_4^+ -N能被硝化细菌迅速转化为 NO_3^- -N和 NO_2^- -N。

2.2 水温对反应器净化水质效果的影响

WT对 COD_{Mn} 去除效果的影响 反应器正式运行期间不同温度条件下进出水的 COD_{Mn} 浓度及去除率如图4所示。可见，不同水温条件下，对照组反应器内 COD_{Mn} 浓度没有显著变化，而强化反应器内 COD_{Mn} 的去除率与WT间存在着显著相关关系(图6)。随着WT的不断升高， COD_{Mn} 的平均去除率依次为13.26%、19.91%、18.11%、33.27%、40.28%和44.71%。当WT低于25℃时， COD_{Mn} 的平均去除率为17%左右；而当WT处于25~37℃时， COD_{Mn} 的平均去除率为40%左右。可以看出，WT对 COD_{Mn} 的去除是一个重要的影响参数，适当的升温将会提高 COD_{Mn} 的去除率。

WT对脱氮效果的影响 试验表明，WT对强化反应器降解氨氮效果的影响很大，随着WT的升高，TN和 NH_4^+ -N的去除率也随之升高(图5-A、B)，但当WT超过30℃后，TN的去除率增幅不再显著。同样， NH_4^+ -N的去除率也在WT超过30℃后不再升高甚至有下降的趋势。强化反应器中进出口水体的 NO_3^- -N和 NO_2^- -N浓度一直处于相对稳定的状态(0.53mg/L和0.05mg/L)。值得一提的是当WT在30℃时，出水口 NO_3^- -N和 NO_2^- -N浓度达到最

高值(0.80mg/L和0.09mg/L)，而对照组出水口水体的 NO_3^- -N和 NO_2^- -N浓度甚至可以忽略不计(图5-C、D)。

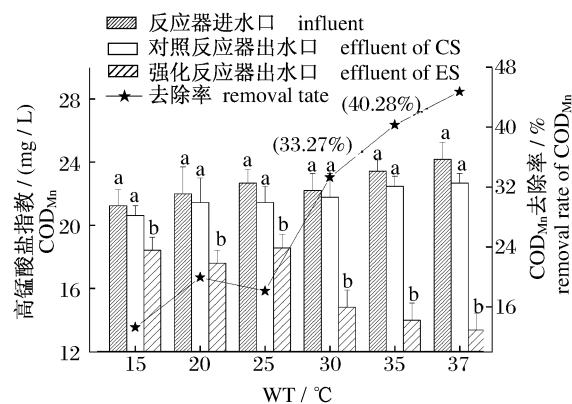


图4 WT对 COD_{Mn} 去除效果的影响

竖线表示标准差；同一温度下，不同字母表示差异显著($P < 0.05$)。

Fig. 4 The effect of WT on removal rate of COD_{Mn}

Bars indicate SD. Letters indicate the differences between groups within same water temperature. Means not sharing a common letter are significantly different ($P < 0.05$).

2.3 反应器运行工艺优化及其效果

反应器运行工艺的综合优化 HRT和WT是反应器净化水质的两个重要影响参数。对HRT和WT各处理水平下的 COD_{Mn} 、TN和 NH_4^+ -N去除率进行差异显著性分析(图6)。当 $\text{HRT} \geq 18$ h时，各处理水平下的 COD_{Mn} 、TN和 NH_4^+ -N去除率并无显著性差异；当 $\text{WT} \geq 25$ ℃时，各处理水平下的TN去除率并无显著性差异；当 $\text{WT} \geq 30$ ℃时，各处理水平下的 COD_{Mn} 和 NH_4^+ -N去除率并无显著性差异。综合考虑反应器的运行时间、费用和操作等因素，选取 $\text{HRT} = 18$ h、 $\text{WT} = 30$ ℃作为反应器的最佳运行条件。

反应器在最佳HRT和WT条件下的水质净化效果 反应器在最佳运行条件下($\text{HRT} = 18$ h、 $\text{WT} = 30$ ℃)，稳定运行3周左右。在此期间，不定期检测反应器的进出水 COD_{Mn} 、TN及 NH_4^+ -N等水质指标，各项指标动态及平均去除率如表3和图7所示。可以看出，循环养殖废水经生物强化反应器的处理后，水体内的污染指标明显下降， COD_{Mn} 、TN及 NH_4^+ -N的平均去除率分别高达44.18%、51.31%及82.08%，其中最高时分别达58.20%、65.12%及86.16%。由图7可以看出， COD_{Mn} 和TN的去除率随着进水浓度波动而

波动。当强化反应器进水口水体的 COD_{Mn} 和 TN 浓度较高时,两者的去除率均处在较高值。 NH_4^+ -

N 的去除率在整个试验阶段均处在较稳定状态 $82.08\% \pm 4.00\%$ 。

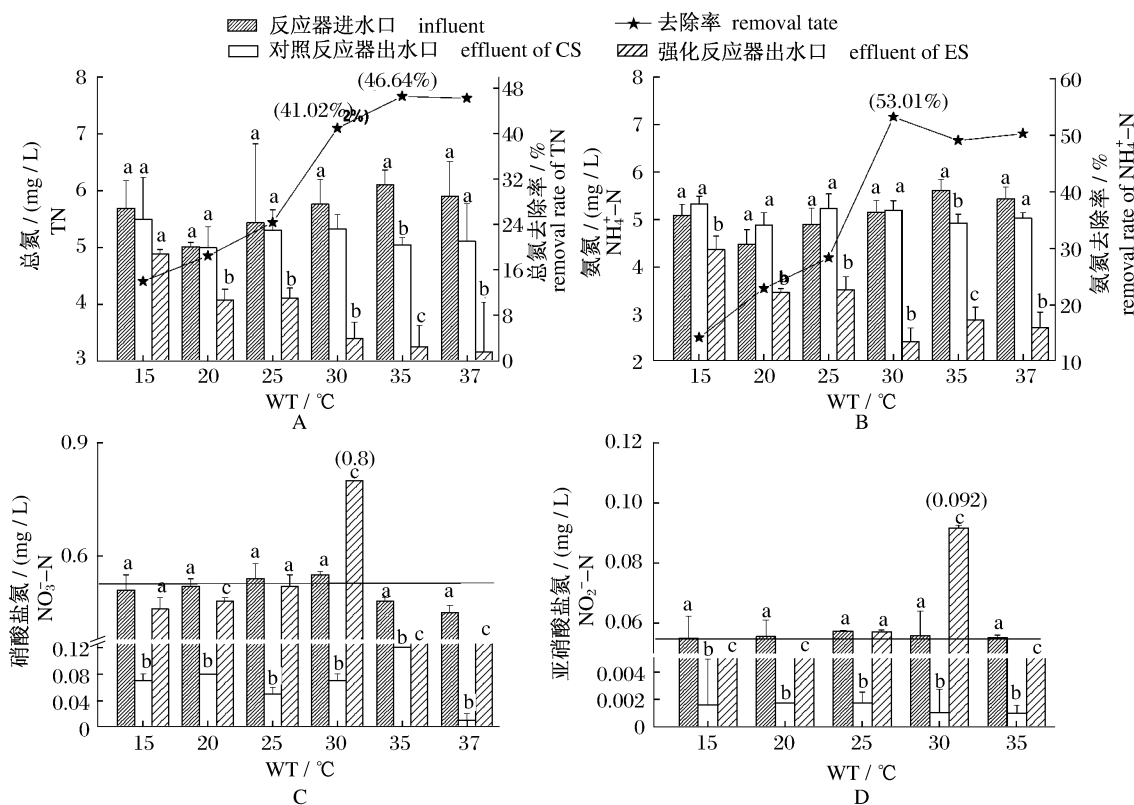


图 5 WT 对反应器净化循环养殖废水效果的影响

竖线表示标准差;同一温度下,不同字母表示差异显著($P < 0.05$)。

Fig. 5 The effect of WT on reactor purification of recirculating aquacultural wastewater

Bars indicate S. D. Letters indicate the differences between groups within same water temperature. Means not sharing a common letter are significantly different ($P < 0.05$).

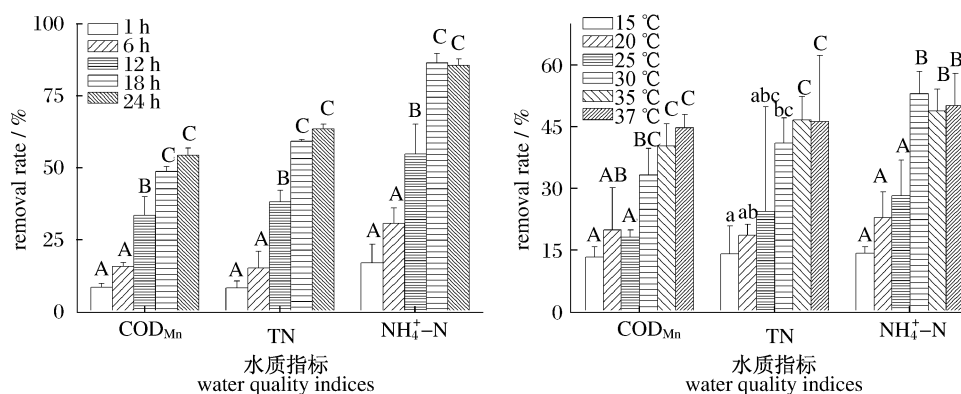


图 6 HRT 和 WT 与各水质指标去除率之间的显著性差异分析

竖线表示标准差;不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$),不同大写字母表示差异极显著($P < 0.01$)。

Fig. 6 Analysis of significant differences between HRT and WT within removal rate of COD_{Mn} , TN and NH_4^+ -N

Bars indicate S. D. Letters indicate the differences between groups. Means not sharing a lower case letter are significantly different ($P < 0.05$). Means not sharing a capital letter are highly significant ($P < 0.01$).

表3 反应器对高锰酸盐指数、总氮以及氨氮的平均去除率
Tab.3 Average removal rate of COD_{Mn} , TN and $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ in the effluent of each system

	高锰酸盐指数 (%) COD_{Mn}	总氮 (%) TN	氨氮 (%) $\text{NH}_4^+ \text{-N}$
强化反应器 ES	44.18 ± 6.38	51.31 ± 10.84	82.08 ± 4.00
对照反应器 CS	8.04 ± 5.62	11.56 ± 4.57	13.34 ± 5.23

注:数据结果以“算术平均值 \pm 标准差(SD)”表示。

Notes: Results are presented as the mean \pm standard deviation (SD).

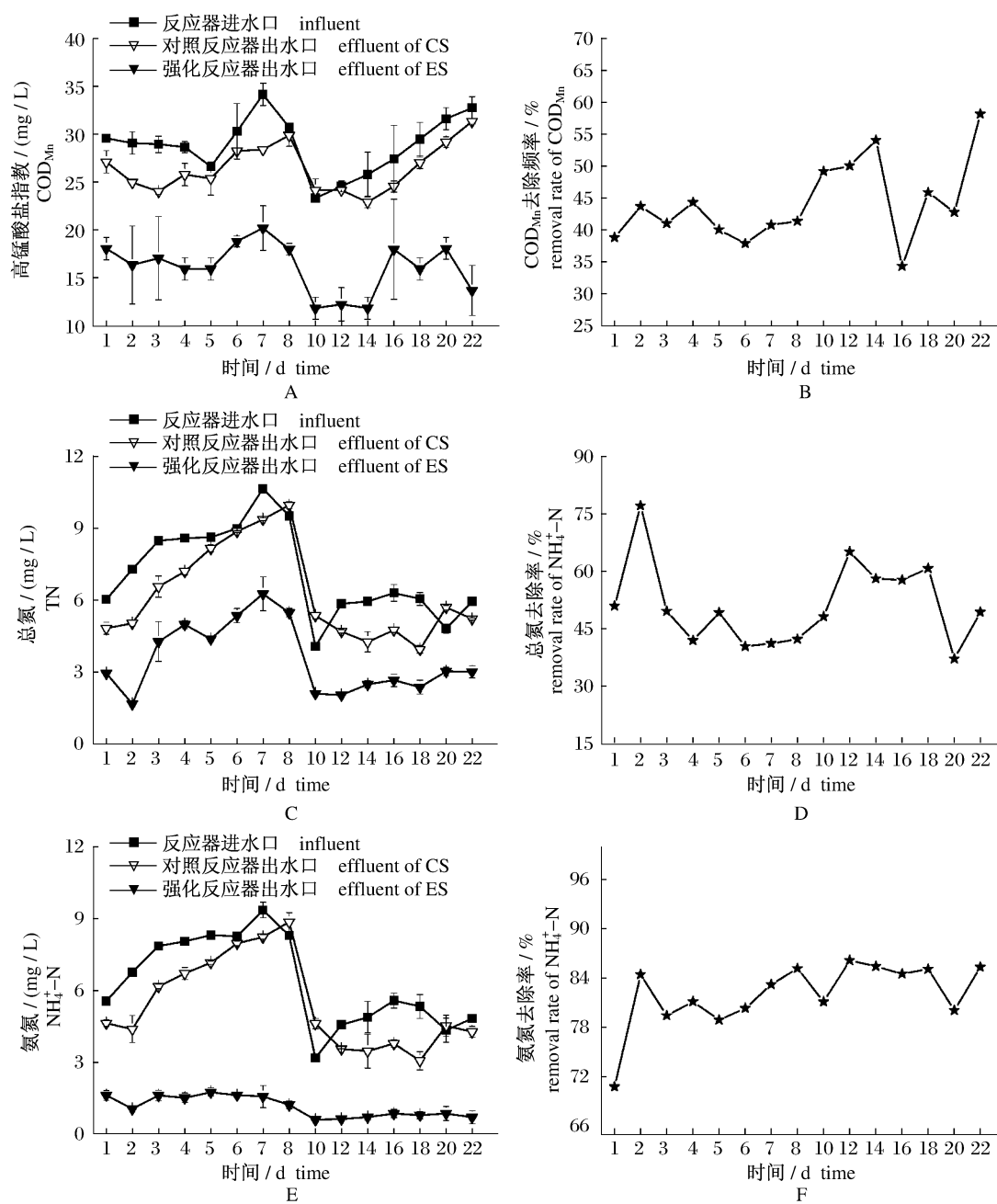


图7 强化反应器及对照反应器进出水指标监测趋势图

Fig.7 Influent and effluent water quality indices of ES and CS

空白反应器对于该水体没有明显的净化效果。由此可知,生物强化反应器发挥了明显作用,对循环养殖废水具有较好的处理效果。强化反应器内由石块垒成的斜坡及菱形模块减少了水流对载体上附着微生物的冲击,使得人工所投的菌种及外源的脱氮细菌能够成功地在载体及菱形模块表面增值并形成生物膜,发挥污水净化作用。

2.4 强化反应器中可培养微生物的数量动态

强化反应器在“2.1”和“2.2”条件下运行数周后,载体表面附着的生物膜已变成棕褐色,并且散发出泥腥味,同时膜上开始出现藻类。除此之外,肉眼可观察到膜上有个体较大的寡毛类环节动物出现,水生动物在数量和种类上逐渐增加。图8为强化反应器在最佳HRT和WT条件下运行25d时间内其生物膜上可培养微生物的数量动态,可见,可培养细菌数量随着反应器运行时间的延长而明显增多。此外,在试验初期氨氧化细菌和硝化细菌在与氮素循环相关的可培养细菌中占据着主导地位;之后,随着试验的进行反硝化细

菌数量不断增多,到试验末期反硝化细菌在与氮素循环相关的可培养细菌中占据着主导地位(40.05%)。随着试验时间的推移,人工投加的反硝化细菌能够成功地定殖于载体表面,形成生物膜。强化反应器对循环养殖废水 NH_4^+-N 的去除率高达90%左右(图7-F),这一结果说明,随着强化反应器的运行,循环养殖废水中的微生物和接种的脱氮菌不断的吸附于菱形模块表面,并成功地定殖和繁殖使得生物膜不断成熟和稳定,且脱氮菌的数量不断增多,在对养殖废水的氮素去除中发挥了重要作用。

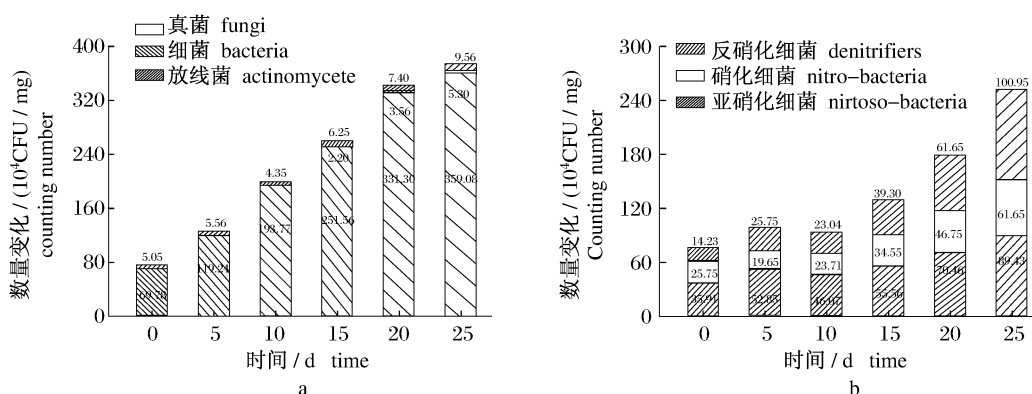


图8 平板计数法对强化反应器中生物膜内可培养微生物的监测

a. 优势微生物数量变化; b. 氮素循环相关可培养细菌数量变化。

Fig. 8 Number of cultivable microorganisms of the biofilm in AS counted using agar plate assay method

a. The quantitative change of superior microorganisms; b. The quantitative change of cultivated nitrogen cycle bacteria.

3 讨论

利用膜生物反应器在封闭式循环养殖系统中降解有机物及 NH_4^+-N 等有害物质,是目前研究养殖污染控制方法的核心内容之一。欧美有些国家从20世纪60年代开始工厂化养鱼,20世纪70年代采用机械过滤、生物包净水、纯氧、富氧、臭氧灭菌、热泵控温装置、自动排污等设备进行工厂化养鱼,单产高达 $200 \sim 500 \text{ kg/m}^3$,养殖用水循环利用率高达90%以上,基本达到了无废生产及零排放标准。本试验以循环养殖废水为原水,运用生物强化反应技术,使得人工投加的脱氮菌及外源微生物能够迅速地在载体表面定殖和繁殖,能够有效处理内循环养殖废水,提高养殖用水循环利用率。

3.1 挂膜过程影响因素分析

对生物填料挂膜过程有影响的主要因素有:溶解氧、温度、微生物源、营养盐和pH

值等^[18-21]。

溶解氧对微生物的生长繁殖有重要影响,溶解氧含量与好氧微生物的生长量成正相关性,而对厌氧微生物的生长起抑制作用。如溶解氧低于 1 mg/L ,好氧微生物的增长将受到抑制^[18]。本试验在挂膜过程中溶氧浓度范围在 $3.00 \sim 5.00 \text{ mg/L}$,因此本试验的溶氧浓度能充分满足好氧微生物代谢的需要。同时又考虑到菌种*Enterobacter aerogenes*和*Aquabacterium sp.*为兼性反硝化细菌,所以在挂膜过程中采用载体底部间歇性曝气(间隔2h),从而在载体周围形成局部厌氧环境,以利于两者及外来厌氧微生物的生长、繁殖。由于在生物膜内部存在溶解氧浓度梯度,从而使其内部存在同步硝化反硝化的可能性(图9)。溶解氧在进入生物膜的过程中逐渐衰减,直至为零。溶解氧在生物膜的表面,其浓度相对较高,以好氧菌和硝化细菌为主。在溶解氧衰

减的同时,含碳化合物被吸附降解,氨氮的硝化反应开始,硝酸盐的浓度开始积累,达到最高峰,而在生物膜内部,由于溶解氧浓度梯度的存在,使其内部处于缺氧状态,反硝化细菌处于优势。氨氮

在降解的过程中,在絮体表层的富氧区充分硝化,其浓度随着氧浓度梯度的衰减而增加,到达生物膜内部的缺氧区,经反硝化细菌作用后生成 N_2 排放出。

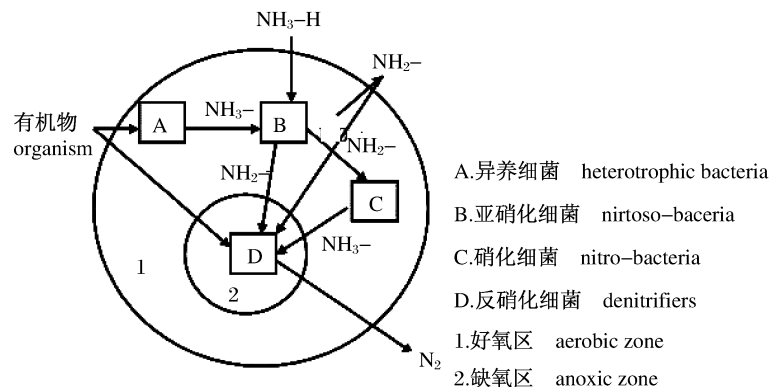


图9 生物膜同步硝化反硝化模型

Fig.9 Biofilm synchronization nitrification and denitrification model

温度是影响微生物生长的重要环境因子。在生物填料挂膜过程中,温度的影响主要体现在细菌增殖速度上,在适宜的温度范围内,每升高 $10^\circ C$,酶促反应速度将提高 $1 \sim 2$ 倍,因而微生物的代谢速率和生长速率均可相应提高。适宜硝化细菌生长繁殖的温度在 $25 \sim 30^\circ C$,在挂膜期间,平均水温为 $28 \sim 30^\circ C$,非常有利于硝化细菌及其他微生物的生长繁殖^[22]。挂膜期间 pH 值影响着微生物体内酶的活性,进而影响微生物细胞的生物化学过程。酶只有在适宜的 pH 条件下才能发挥其最大活性。本次试验的 pH 值在 $6.73 \sim 7.18$,属于细菌和微型动物的适宜范围,因此,对挂膜无不利影响^[19]。

挂膜试验中利用的是经人工筛选后兼有硝化反硝化功能的菌种(表1),3株菌种在硝酸盐起始浓度 20 mg/L 、pH 7.00 的反硝化分离培养基中可达近 90% 的脱氮效果,是较为理想的具有脱氮能力的功能菌株。3株菌种(表1)经强化培育后,选取 OD_{600} 在 $0.8 \sim 1.0$ 范围内的菌悬液(菌液浓度为 $2.62 \times 10^8 \text{ CFU/mL}$)作为挂膜接种时的母液。母液按 1:50 的体积比接种于反应器的类菱形结构内。由于 *Flavobacterium* sp. 菌株培养 7 d 后开始出现红色絮状沉淀,该沉淀为粘稠状,具有一定吸附能力。所以,在挂膜期间不定期地向类菱形结构内注入一定量该菌的红色絮状沉淀,使得生物膜更快、更稳定地生长。试验期间,

载体表面的生物膜外观呈现出无色透明、淡绿色、黄绿色、褐色的变化过程,载体上的生物也对应出现从无到以藻类为主、再到出现菌胶团、微型动物的一些列变化过程。

3.2 水力停留时间对反应器净化水质效果的影响

水力停留时间是影响处理效果的一个重要因素^[21]。根据 1991-1995 年对美国实际运行的地下渗滤湿地系统研究,污染组分的去除率与水力停留时间基本符合一级反应动力学方程^[23]。模型如下:

$$\frac{C_i}{C_0} = e^{-K_T t} \quad (1)$$

式中, C_i 为某指标出水浓度 (mg/L), C_0 为某指标进水浓度 (mg/L), K_T 为一级反应速率常数 (d^{-1}), t 为系统水力停留时间。式(1)表明,基质出水浓度与水力停留时间是负指数关系。从图 2 和图 3 可以看出,随着 HRT 的不断延长,强化反应器出水口水体的 COD_{Mn} 、TN 和 NH_4^+-N 不断降低,其去除率也不断升高。特别是当 HRT 由 1 h 延长至 24 h 时, NH_4^+-N 的去除率由 17.03% 增长到 89.59%。由此可以看出,水力停留时间与 COD_{Mn} 、TN 和 NH_4^+-N 的去除效果正好符合一级反应动力学方程(式 1)。

强化反应器中的有机物向生物膜表面的扩散需要一定的时间,进水水流量的停留时间越长,水

质净化效果越好。增大进水水流量将相应地缩短原位修复系统的水力停留时间,导致微生物与污染物的接触时间减少,影响生物膜处理养殖水体的效果。实际应用中,从既要满足水质处理的要求,又要从提高效益的角度出发,尽可能减小反应器规模,适当缩短水力停留时间,因此,应根据养殖负荷进行科学设计并强化其他相关因子的协同作用。

3.3 水温对反应器净化水质效果的影响

水温是影响微生物生长和生命代谢活性的主要因素,一般而言,水温越低,微生物活性越小^[19,21]。硝化细菌和反硝化细菌都属于中温细菌。大多数菌株的生长温度范围为 5 ~ 35 °C,最适生长温度为 25 ~ 30 °C^[1-2],在温度低至一定值时,细胞膜呈凝胶状态,营养物质的跨膜运输受阻,细胞会因“饥饿”而停止生长。

运用生物脱氮法处理循环养殖废水时应充分考虑温度对脱氮效果及对养殖鱼类的影响。温度的变化对微生物的生理特性有重要的影响,从而进一步影响微生物对污水的净化效果。

因此,在确定脱氮的最适温度时应充分考虑到是否适宜养殖鱼类的生长。北方常见的养殖鱼类以冷水性鱼类为主,如鲟(*Acipenseriformes*)、虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)等,其适宜温度为 12 ~ 18 °C。因此,应当从低温自然环境中分离、筛选出具有高效代谢活性的耐冷型脱氮菌,根据适当的情况进行驯化和扩大培养,然后投加到脱氮工艺中并且适当的可以延长反应器的水力停留时间,以提高脱氮效率^[24]。此外,还可以利用微生物固定化技术,以改善生物反应器的运作性能。VAN GINKEL 等^[25]曾作了固定化尝试,并发现固定化硝化细菌具有较强的耐低温能力。为了提高低温生物脱氮处理效率,国外一些学者还利用基因工程技术,将耐冷型脱氮菌的适冷性基因克隆到中温菌中,使这种工程菌既可在常温下具有高效脱氮功能又可在低温下发挥作用,使微生物的活性不受季节的影响。2000 年 Chevalier^[26]成功地从南极和北极分离到 4 株耐冷的丝状蓝细菌(Cyanobacteria),该菌在低温环境条件下对氮和磷有较高的去除率。姜安玺等^[27]率先通过对低温环境条件下的活性污泥进行长期驯化培养,筛选出 4 种在 0 ~ 9 °C 下可降解生活污水中有机物的耐冷菌,并作了单菌和混合菌的降解试验。结果表明,耐冷菌在低温条件下具有较高的降解能力。南方常见的养殖鱼类以暖水性

鱼类为主,如四大家鱼、罗非鱼(*tilapia*)、石斑鱼(*Epinephelus sp.*)等,其适宜生长温度为 25 ~ 35 °C。为此,应当筛选适宜该温度范围的脱氮菌株,经驯化和富集培养后投加到脱氮工艺中,以提高脱氮效率。

本试验以鲫(*Carassius auratus*)作为封闭式循环养殖鱼类,考察水温对反应器净化水质效果的影响。试验结果表明,在水力停留时间相同的条件下,当水温为 15 ~ 37 °C 时,水温变化对强化反应器 COD_{Mn} 和 NH₄⁺-N 的去除效果影响显著(图 4、图 5-A)。当水温为 30 °C 时,强化反应器中 NO₃⁻-N 和 NO₂⁻-N 的浓度上升至最大值(图 5),出现上述现象的原因可能是由于人工投加的复合菌群为中温细菌,最适生长温度为 25 ~ 30 °C。因为,生物膜上菌体中的酶要在 25 °C 及以上时才能够发挥催化氨氮转化为氮气的生物活性,而在 25 °C 以下时,由于未达到酶的最适温度,氨氮不能够被完全降解^[21,28]。

4 结论

本试验利用强化反应器进行循环养殖废水处理中,着重考虑了 HRT 和 WT 对微生物处理的影响,并采用生物强化技术,使投加的外源脱氮菌以及废水中的微生物成功定殖、增殖并形成生物膜,在 HRT = 18 h 和 WT = 30 °C 条件下,对循环养殖水中 COD_{Mn}、TN 和 NH₄⁺-N 的去除率分别达到 44.18%、51.31% 和 82.08%。本试验所用净化装置投资少,占地面积少,操作方便,并能在植物滤池中与植物协同作用强化养殖废水的处理效果。

参考文献:

- [1] 罗国芝,孙大川,冯是良. 闭合循环水产养殖系统生产过程中生物过滤器功能的形成[J]. 水产学报,2005,29(4):574-577.
- [2] 曹蓉,刑海. 生物膜处理城市河道污染水体的挂膜试验研究[J]. 环境工程学报,2008,2(3):374-377.
- [3] JOHN F B, PATRICK J W. The effect of acute and chronic ammonia exposure during early life stages of gulf toadfish, *Opsanus beta*[J]. Aquatic Toxicology, 2005,75:225-237.
- [4] DAS P C, AYYAPPAN S, JENA J K, et al. Nitrite toxicity in *Cirrhinus mrigala*(Ham.); acute toxicity and sub-lethal effect on selected haematological

- parameters[J]. *Aquaculture*, 2004, 235: 633-644.
- [5] 泮进明. 循环流水水产养殖系统接种商品硝化菌的试验研究[J]. *水产学报*, 2004, 28(4): 419-424.
- [6] 曾胡龙, 蔡生力, 戴习林. 一种从环境中分离和富集硝化细菌的方法[J]. *水产学报*, 2007, 31(6): 737-742.
- [7] 黄可谈, 朱亮, 李国平. 模拟河道生物反应器原位修复受污染水源水研究[J]. *北京师范大学学报: 自然科学版*, 2009, 45(3): 295-300.
- [8] 臧维玲, 蔡云龙, 戴习林. 罗氏沼虾育苗循环水处理技术与模式[J]. *水产学报*, 2004, 28(5): 530-534.
- [9] CHART C. Performance of membrane separation bioreactor for domestic wastewater treatment [J]. *Journal of Membrane Science*, 1994, 87(1): 119-129.
- [10] 樊耀波, 王菊思. 水和废水处理中的膜生物反应器技术[J]. *环境科学*, 1995, 16(5): 79-81.
- [11] 范晓军. 膜生物反应器技术及其在污水回用处理中的应用[D]. 北京: 清华大学, 1995: 12.
- [12] PU P, HU W, YAN J, *et al.* A physico-ecological engineering experiment for water treatment in a hypertrophic lake in China [J]. *Ecological Engineering*, 1998, 10: 179.
- [13] JEAN P B. Development in recirculation systems for Mediterranean fish species [J]. *Aquacultural Engineering*, 2000, 22: 17-31.
- [14] NIJHOF M B. Fixed film nitrification characteristics in sea-water recirculation fish culture systems [J]. *Aquaculture*, 1990, 87(2): 133-143.
- [15] 胡一珍, 张永明. 用生物膜方法修复受污染河道水 [J]. *上海师范大学学报: 自然科学版*, 2007, 36(6): 91-98.
- [16] 张丽丽, 管运涛, 赵婉婉. 用一体化生物膜反应器处理生活污水 [J]. *清华大学学报: 自然科学版*, 2007, 47(6): 822-825.
- [17] 管运涛, 宁涛, 张丽丽. HRT 和载体对一体化生物膜反应器脱氮除磷效果的影响 [J]. *清华大学学报: 自然科学版*, 2009, 49(3): 359-363.
- [18] 李绍峰, 崔崇威, 黄君礼. DO 和 HRT 对 MBR 同步硝化反硝化影响研究 [J]. *哈尔滨工业大学学报*, 2007, 39(6): 887-890.
- [19] 牛天新, 张永明, 朱奇亮. 利用生物膜去除城市河道水中氨氮的影响因素 [J]. *上海师范大学学报: 自然科学版*, 2003, 21(3): 1-3.
- [20] 国家环保局水和废水监测分析方法编委会. 水和废水监测分析方法 [M]. 4 版. 北京: 中国环境科学出版社, 1989.
- [21] 张绍园, 王菊思, 姜兆春. 膜生物反应器水力停留时间确定及其影响因素分析 [J]. *环境科学*, 1997, 11(18): 35-40.
- [22] 赵斌, 何绍江. 微生物学实验 [M]. 北京: 科学出版社, 2002.
- [23] REED S C, BROWN D. Subsurface flow wetlands-A performance evaluation [J]. *Wat Environ Res*, 1995, 67: 244-248.
- [24] JONES R D, MORITA R Y, KOOPS H P, *et al.* A new marine ammonium-oxidizing bacterium, *Nitrosomonas cryotolerans* sp. nov. [J]. *Can J Microbiol*, 1988, 34: 1122-1128.
- [25] VAN GINKEL, TRAMPER J, GROOTJEN D R, *et al.* Characterization of *Nitrosomonas europaea* immobilized in calcium alginate [J]. *Enzyme Microb Technol*, 1983(8): 297-303.
- [26] CHEVALIER P. Nitrogen and phosphorus removal by high latitude mat-forming cyanobacteria for potential use in tertiary wastewater treatment [J]. *Appl Phycology*, 2000, 12(2): 105-113.
- [27] 姜安玺, 孟雪征, 曹相生, 等. 耐冷菌的分离及在低温污水处理中的应用研究 [J]. *哈尔滨工业大学学报*, 2002, 34(4): 563-569.
- [28] 方秀珍, 郭贤楨, 郁桐炳. 鱼池淤泥中参与氮循环的细菌和淤泥活性 [J]. *水产学报*, 1993, 17(2): 137-145.

Purifying effects of enhanced bioreactor on the wastewater in recirculating aquaculture systems

QIAN Wei¹, LU Kai-hong^{1*}, ZHENG Zhong-ming¹, LV Zhen-mei², XIE Li-feng¹, ZHANG Ke-xin¹

(1. Key Laboratory of Applied Marine Biotechnology, Ministry of Education, Ningbo University, Ningbo 315211, China;

2. College of Life Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China)

Abstract: An enhanced bioreactor was designed according to the highly effective interception principle of biofilm in recirculating aquaculture systems (RAS) by inoculating nitrifying and denitrifying bacteria to the elastic fiber carriers on which biofilms could be observed in situ 6 weeks after inoculating. The impact of hydraulic retention time (HRT) and water temperature (WT) on the purifying effects of enhanced bioreactor on wastewater of RAS was investigated. The result showed that HRT and WT significantly impacted the purifying effect of the bioreactor on wastewater ($P < 0.05$). After analysis of significant differences between HRT and WT within removal rate of COD_{Mn} , TN and $\text{NH}_4^+\text{-N}$, and considering run-time, cost and operational easiness of bioreactor, it was concluded that 18 h of HRT and 30 °C were the best operating conditions. The bioreactor was operated stably for 25 days under these conditions, the average removal rate of COD_{Mn} , TN and $\text{NH}_4^+\text{-N}$ reached 44.18%, 51.31% and 82.08%, respectively. In addition, the cultivable microorganisms in the biofilm of the enhanced bioreactor were detected regularly throughout the 25 days of experimental time. As the biofilm developed, the biomass of all kinds of cultivable microorganisms rose, average levels of nitrifying bacteria grew from 35.91×10^4 CFU/mg to 89.43×10^4 CFU/mg, nitroso-bacteria from 25.75×10^4 CFU/mg to 61.65×10^4 CFU/mg and denitrifying bacteria from 14.23×10^4 CFU/mg to 100.95×10^4 CFU/mg. Nitrifying and nitroso-bacteria dominated among cultivable microorganisms (59.95% – 81.25%). Denitrifying bacteria were constantly adsorbed, colonized and successfully reproduced on the surface of elastic fiber carriers, which made biofilms more mature and stable (the removal rate of TN and $\text{NH}_4^+\text{-N}$ reached respectively 51.31% and 82.08%). The results of present study revealed that the enhanced bioreactor plays an important role in the removal of COD_{Mn} , TN and $\text{NH}_4^+\text{-N}$ in wastewater of RAS.

Key words: bioreactor; microorganism carrier; hydraulic retention time (HRT); water temperature

Corresponding author: LU Kai-hong. E-mail: lukaihong@nbu.edu.cn