

DOI: 10.12264/JFSC2020-0002

## 高效脱氮菌强化挂膜生物滤器对海水养殖尾水净化效果研究

李秋芬<sup>1</sup>, 康传磊<sup>1,2</sup>, 张艳<sup>1</sup>, 陈碧鹃<sup>1</sup>, 陈世波<sup>3</sup>

1. 中国水产科学研究院黄海水产研究所, 农业农村部海洋渔业可持续发展重点实验室, 山东 青岛 266071;

2. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306;

3. 青岛市卓越海洋集团有限公司, 山东 青岛 266408

**摘要:**为了提高海水养殖尾水的净化效率,研究了利用高效脱氮菌强化挂膜后的生物滤器对静止和流动养殖尾水的净化效果。首先利用自主筛选的3株适应海水环境、可有效去除氨氮、亚硝酸氮及有机物的高效脱氮菌[花津滩芽孢杆菌(*Bacillus hwajinpoensis*)SLWX<sub>2</sub>、嗜碱盐单胞菌(*Halomonas alkaliphila*)X<sub>3</sub>和麦氏交替单胞菌(*Alteromonas macleodii*)SLNX<sub>2</sub>]的不同组合强化挂膜,根据成熟后的生物滤器对定量静止养殖尾水中NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N、NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N、总氮(TN)及化学需氧量(COD<sub>Mn</sub>)的去除效果,选出对各无机氮去除效果最佳的菌种组合作为强化菌种再次挂膜,分析不同浓度强化菌种挂膜对流动养殖尾水中NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N、NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N和NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N的持续净化效果,以上实验均以自然挂膜组为对照。静止尾水处理实验结果表明,各实验组中NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N浓度先上升后下降,对养殖尾水各项无机氮及有机物指标的去除效果均优于对照组。其中,SLWX<sub>2</sub>+X<sub>3</sub>+SLNX<sub>2</sub>组合高浓度组对养殖尾水中的各项指标去除效果最佳,在第48小时对NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N、NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N、COD<sub>Mn</sub>和TN的去除率分别达到100%、100%、80.7%和59.5%。而自然挂膜对照组的去除率分别为95.5%、50.52%、38.1%、13.44%,且NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N浓度持续上升。说明脱氮菌强化挂膜可明显提高生物滤器对养殖尾水的净化效率,有效降低养殖尾水中氮素和有机物的浓度。后期连续流动尾水净化实验结果表明,实验组和对照组生物滤器出水的NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N、NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N浓度均低于进水的,强化挂膜组的又均低于自然挂膜组的,其中10<sup>6</sup>CFU/mL实验组对无机氮的去除效果均最佳,NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N、NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N的最大去除率分别为31.6%、11.33%、15.6%;10<sup>5</sup>CFU/mL实验组次之,且出水氮素浓度可长期维持在较低水平。说明脱氮菌强化挂膜对各项无机氮的去除效果持续优于自然挂膜。本实验的结果为脱氮菌在海水养殖尾水净化中的应用提供了理论基础和技术支撑。

**关键词:**海水养殖尾水; 脱氮细菌; 生物滤器; 生物强化; 同时硝化反硝化

中图分类号: S969

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2021)05-0614-10

近年来,水产养殖业规模不断扩大,且从分散养殖模式向高密度集约化精养模式转变。在这种养殖模式下,残饵、粪便的分解会导致水体中的氮浓度迅速升高,严重威胁水生动物<sup>[1]</sup>。同时需要通过大量换水来降低养殖水体中有害氮物质的浓度,这种操作不仅浪费水资源,并且尾水外排会导致周边自然海水遭到污染。因此,海水养殖尾水的净化处理成为一项必不可少的任务,尾水净化后可再次回到养殖系统循环利用或排放。生物滤池作为尾水处理的重要构造,是生物脱氮的

关键环节<sup>[2]</sup>。水中有益微生物以滤料为载体,逐渐形成生物膜,利用并分解养殖尾水中的有机物及有害无机氮,从而达到净化水质的目的<sup>[3]</sup>。生物膜的质量直接影响溶解态氮的去除效果,除水力停留时间(HRT)<sup>[4]</sup>、碳源<sup>[5]</sup>、气水比<sup>[6]</sup>、生物填料<sup>[7-8]</sup>等因素影响挂膜效果外,挂膜菌种也起着至关重要的作用<sup>[9-10]</sup>。实际养殖生产中,通常采用自然挂膜方法,其操作简单,节约成本,但所需时间较长<sup>[11]</sup>,李秋芬等<sup>[12]</sup>研究发现,在自然挂膜的生物过滤器中起主要硝化作用的为自养硝化细菌,自

收稿日期: 2020-11-12; 修订日期: 2021-01-19.

基金项目: 国家重点研发计划项目蓝色粮仓创新专项(2019YFD0901202); 中国水产科学研究院基本科研业务费项目(2020TD12).

作者简介: 李秋芬(1969-), 研究员, 研究方向为海洋渔业环境微生物与生态修复. E-mail: liqf@ysfri.ac.cn

然挂膜法生物膜难以去除养殖尾水中的溶解有机物且容易积累硝酸氮。

异养硝化-好氧反硝化细菌(heterotrophic nitrification-aerobic denitrification, HN-AD)为近年来发现的一类异养脱氮细菌,这类细菌可以水体中的有机物为自身碳源,将氨氮转化为亚硝酸氮和硝酸氮进行硝化作用,同时在好氧环境下进行反硝化将亚硝酸氮或硝酸氮还原成  $N_2O$ 、NO 或  $N_2$  等气态氮产物,从系统中移除,从而起到水体脱氮作用。Robertson 等<sup>[13]</sup>首次分离了 1 株好氧反硝化菌 *Thiosphaera pantotropha* 后,众多学者相继分离筛选出适用于不同脱氮环境的 HN-AD 细菌,并进行生理生化及脱氮特性的研究,因其具有高效的脱氮功能,常被应用于河道治理、城市污水处理、工业尾水、养殖尾水处理等不同场景,生物脱氮法已成为经济高效的脱氮方式。将这些脱氮菌添加到生物滤池,进行强化挂膜可能会缩短挂膜时间并增强处理效果<sup>[9-10]</sup>,但目前尚缺乏可用于高盐度海水养殖尾水处理的高效脱氮菌种,生物强化挂膜技术也有待改进。

本实验室从海水养殖环境分离、筛选并保存了 3 株具有明显消除氨氮和亚硝酸氮效果的异养硝化-好氧反硝化细菌<sup>[14-15]</sup>,并对其生长条件和环境条件适应范围进行了研究<sup>[16-17]</sup>,并证明了 3 株组合对海水鱼类养殖废水净化效果优于双株组合及单株<sup>[18]</sup>。本研究在此基础上,以大菱鲆养殖尾水为实验对象,以 3 株组合为强化菌种,在模拟生物滤器的挂膜期间进行强化挂膜。通过配比不同初始浓度的 3 株组合,研究了强化挂膜生物滤器相对于自然挂膜生物滤器,对静止状态和连续流动养殖尾水中 3 种无机氮  $NH_4^+$ -N、 $NO_2^-$ -N、 $NO_3^-$ -N 和有机物的去除效果,并选出最佳添加量。以期为完善脱氮细菌的应用方法、促进海水养殖尾水处理技术改进、提高养殖尾水净化效率提供理论参考和技术支撑。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与装置

**1.1.1 生物填料** 本实验采用 PU 材质爆炸棉作为生物滤料,密度为  $0.024\text{ g/cm}^3$ ,比表面积为  $266\text{ m}^2/\text{m}^3$ 。

**1.1.2 菌种** 强化挂膜所用的 3 株脱氮菌分别为本实验室分离、保存并证明具有高效脱氮效果的花津滩芽孢杆菌(*Bacillus hwajinpoensis*) SLWX<sub>2</sub>、嗜碱盐单胞菌(*Halomonas alkaliphila*) X<sub>3</sub> 和麦氏交替单胞菌(*Alteromonas macleodii*) SLNX<sub>2</sub>,组合中分别以 W、X、N 代表。

**1.1.3 养殖尾水** 实验用养殖尾水取自青岛市卓越海洋集团有限公司大菱鲆循环水养殖车间的微滤机旁回旋口。养殖车间大菱鲆规格为(150±10) g/尾,养殖密度为(15±0.5) kg/m<sup>2</sup>,水质参数 pH 为 7.65±0.31,盐度为 29.5±0.4。经测定,养殖尾水的氨氮、亚硝酸氮、硝酸氮、总氮、总磷和 COD 的平均浓度分别为 0.29 mg/L、0.095 mg/L、0.67 mg/L、2.86 mg/L、0.03 mg/L 和 1.92 mg/L。取水时间为上午 7:30。

**1.1.4 实验装置** 本实验采用塑料整理箱模拟生物滤池,规格为 54 cm×39 cm×28 cm,有效体积为 55 L。添加生物滤料至 1/3 体积,将 Atman At-305 潜水泵悬挂于整理箱内壁下层,水流速度通过调节潜水泵出水阀门得以控制,底部放置加热棒和曝气气石,控制水温及溶解氧含量。静止养殖尾水净化实验中设置 5 套独立系统,分别编号为 1、2、3、4、5,其中 1 号为对照系统,采用自然挂膜法进行生物挂膜。2~5 号为实验系统,添加 3 株脱氮菌进行强化挂膜,其中 2 号系统接种浓度为  $10^5\text{ CFU/mL}$  的 W+N 组合;3 号系统接种浓度为  $10^5\text{ CFU/mL}$  的 W+N+X 组合,4 号系统接种浓度为  $10^4\text{ CFU/mL}$  的 W+N+X 组合,5 号系统接种浓度为  $10^6\text{ CFU/mL}$  的 W+N+X 组合;流动养殖尾水实验组设置 2 个系统,分别接种  $10^5\text{ CFU/mL}$  与  $10^6\text{ CFU/mL}$  的 W+N+X 组合,对照组采用自然挂膜法。每个系统设 3 个平行。

## 1.2 方法

**1.2.1 菌种扩大培养** 将保存于-80 °C 冰箱的菌种进行活化后,挑取单菌落接种到 200 mL 2216E 液体培养基中,培养 36 h 后,按 2%比例移取菌液接种到 500 mL 液体培养基中继续扩大培养。结束后,进行离心浓缩,用 0.9% 生理盐水重悬后,测定其 OD<sub>600</sub> 值。

**1.2.2 生物膜培养** 生物膜采用预培养法,从微滤机旁回旋口向每个整理箱抽取 50 L 养殖尾水,

开启潜水泵、曝气及加热。按上述浓度设置在各实验系统分别加入混合菌液强化挂膜，同时添加 20 mg/L 的碳源(葡萄糖)和 10 mg/L 的氮源(硫酸铵)<sup>[16-17]</sup>。挂膜期间各系统运行参数 pH 为 7.55±0.31，温度为(26.1±0.7) °C, DO>8 mg/L。期间每 6 天换 1 次水，换水之后重新添加菌液及碳源、氮源。每 3 天早上 8:00 从每套系统中取水样测量 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N、NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N, COD<sub>Mn</sub> 指标。当 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N 浓度降至稳定数值时，认为挂膜成功。

**1.2.3 静止养殖尾水处理效果研究** 挂膜成熟后，排干各系统的水，重新添加 50 L 养殖尾水，每 24 h 测量 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N、NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 和 COD<sub>Mn</sub> 指标，连续测量 5 d。

**1.2.4 流动养殖尾水处理效果研究** 挂膜成熟后，排干各系统的水，养殖尾水从整理箱底部小孔接入，连续经过生物填料进行处理后从整理箱顶端溢出，水力停留时间控制在 300~330 s。每 24 h 分别从进水口及出水口取水样测定 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N、NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N 和 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 的浓度，实验连续进行 21 d。

**1.2.5 水质分析及数据处理方法** 水质指标的检测依照《海洋监测规范》(GB 17378.4-2007); NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N、NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N、COD<sub>Mn</sub> 的测定分别采用次溴酸盐氧化法、盐酸萘乙二胺分光光度法、锌-镉还原法和碱性高锰酸钾法；总磷(TP)和总氮(TN)的测定使用总有机碳(total organic carbon, TOC)分析仪 (TOC-VCPh, TNM-1)。此外，pH、DO、盐度和温度采用 YSI-556 多功能水质分析仪测定。

数据处理采用 Excel 软件进行，实验数据用每个系统 3 个平行的平均数±标准差( $\bar{x} \pm SD$ )表示。采用 SPSS19 统计软件对数据作统计分析，显著水平采用 0.05，极显著水平采用 0.01。

## 2 结果与分析

### 2.1 挂膜期间各系统水质变化

**2.1.1 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 浓度变化** 挂膜初期，各实验组由于添加 20 mg/L 硫酸铵作为菌株氮源，使得 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 浓度均远高于对照组。如图 1 所示，各实验组第 1 次接入菌种之后，NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 浓度均呈下降趋势，说明各系统能有效去除水体中的 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N，但去除效果不同，其中浓度最高的三菌组合 5 号系统对 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 去除速度最快、效果最佳，说明初始接种

浓度和多菌株协同作用对去除效果影响明显。第 1 次换水前，高浓度三菌组合的 5 号系统(W+N+X6 组)对 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 去除率最大，也仅为 27.3%；多次换水后，各实验组对 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 的去除速度逐渐加快；第 4 次换水后 3 d，各实验组即将 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 浓度降至 0.03 mg/L 以下，表明挂膜成功，标志生物膜成熟。这可能是由于初期水体中存在种类较多的土著细菌，与添加菌种存在竞争关系，后期所添加菌种在生物填料上大量生长与繁殖，逐渐占到优势。自然挂膜对照组在挂膜的前 13 d NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 的浓度呈现缓慢下降趋势，对 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 去除效果不佳，第 2 次换水后，对 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 的利用率逐渐升高。说明土著微生物利用氨氮为氮源，在填料上附着生长。第 31 天，对照组 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 浓度降至 0.01 mg/L，表明挂膜才成功，总体上，强化挂膜较自然挂膜成熟时间可缩短 3~5 d。

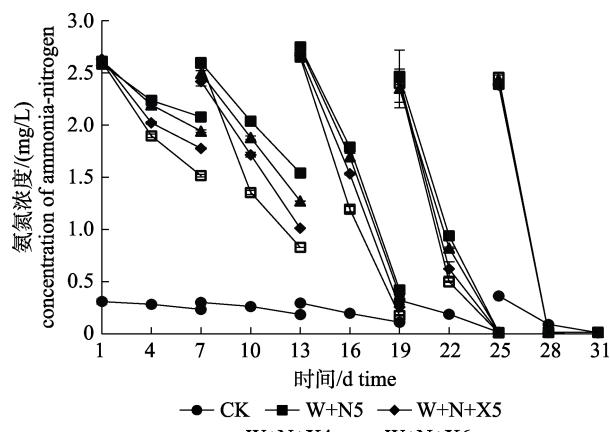


图 1 挂膜期各挂膜处理组水体氨氮浓度的变化

CK：自然挂膜对照组；W：花津滩芽孢杆菌 SLWX<sub>2</sub>；X：嗜碱盐单胞菌 X<sub>3</sub>；N：麦氏交替单胞菌 SLNX<sub>2</sub>。

数字 4 表示菌液浓度为 10<sup>4</sup> CFU/mL；

5 表示 10<sup>5</sup> CFU/mL；6 表示 10<sup>6</sup> CFU/mL。

Fig. 1 Changes of ammonia-nitrogen concentration in water of different biofilter treatments during biofilm formation  
CK: control group (natural biofilm); W: *Bacillus hwajinpoensis* SLWX<sub>2</sub>; X: *Halomonas alkaliphilic* X<sub>3</sub>; N: *Alteromonas macleodii* SLNX<sub>2</sub>. Number 4 denotes bacterium concentration of 10<sup>4</sup> CFU/mL; 5 denotes 10<sup>5</sup> CFU/mL; 6 denotes 10<sup>6</sup> CFU/mL.

**2.1.2 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N 浓度变化** 如图 2 所示，第 1 次接入菌液之后，各实验组 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N 浓度呈小幅上升趋势。第 1 次和第 2 次换水后，NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N 浓度快速增加，第 16 天，5 号系统 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N 积累到最高浓度 1.82 mg/L，其余各实验组均未达到，表明接种高

浓度及多菌株复合可加快挂膜速度, 第3次换水后, 4号系统 $\text{NO}_2^-$ -N达到最高值, 随后呈下降趋势, 其余各实验组 $\text{NO}_2^-$ -N由于提前完成最高浓度积累, 浓度小幅积累之后开始下降, 第28天, 各实验组 $\text{NO}_2^-$ -N浓度下降到最低值, 表明生物膜挂膜成功。自然挂膜对照组, 每次换水后,  $\text{NO}_2^-$ -N浓度都会小幅升高, 直到28 d后才开始下降。

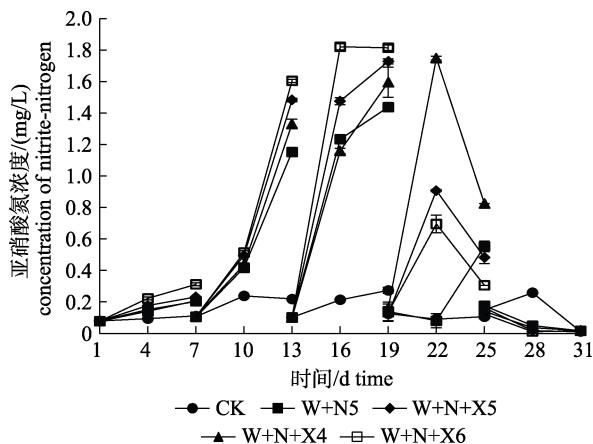


图2 挂膜期各挂膜处理组水体亚硝酸氮浓度的变化

CK: 自然挂膜对照组; W: 花津滩芽孢杆菌 SLWX<sub>2</sub>; X: 嗜碱盐单胞菌 X<sub>3</sub>; N: 麦氏交替单胞菌 SLNX<sub>2</sub>.

数字4表示菌液浓度为 $10^4$  CFU/mL;  
5表示 $10^5$  CFU/mL; 6表示 $10^6$  CFU/mL.

Fig. 2 Changes of nitrite-nitrogen concentration in water of different biofilter treatments during biofilm formation  
CK: control group (natural biofilm); W: *Bacillus hujainpoensis* SLWX<sub>2</sub>; X: *Halomonas alkaliphile* X<sub>3</sub>; N: *Alteromonas macleodii* SLNX<sub>2</sub>. Number 4 denotes bacterium concentration of  $10^4$  CFU/mL; 5 denotes  $10^5$  CFU/mL; 6 denotes  $10^6$  CFU/mL.

**2.1.3  $\text{NO}_3^-$ -N浓度变化** 如图3所示, 第1~16天, 各组 $\text{NO}_3^-$ -N浓度与初始值基本相平, 处于平稳状态, 可能是前期氨氮进行亚硝化作用, 未能进行硝化作用。第16天开始,  $\text{NO}_3^-$ -N浓度迅速增加, 实验组中5号系统的 $\text{NO}_3^-$ -N浓度始终高于其他系统和对照组。这表明3株细菌进行硝化作用, 将 $\text{NO}_2^-$ -N转化为 $\text{NO}_3^-$ -N。第31天, 5号系统与3号系统 $\text{NO}_3^-$ -N浓度有所减小, 可能是添加菌种进行了反硝化作用, 再次说明初始菌量会影响硝化-反硝化速度, 菌量越高速度越高。

## 2.2 静止养殖尾水处理结果

**2.2.1 不同组合对 $\text{NH}_4^+$ -N去除效果** 实验期间, 各组氨氮初始值无显著性差异( $P>0.05$ )。如图4

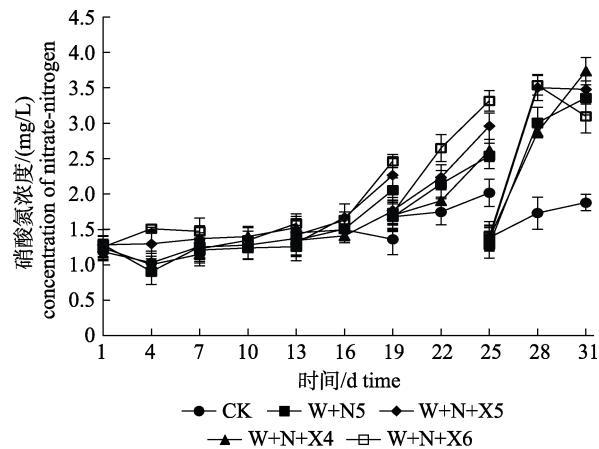


图3 挂膜期各挂膜处理组水体硝酸氮浓度的变化

CK: 自然挂膜对照组; W: 花津滩芽孢杆菌 SLWX<sub>2</sub>; X: 嗜碱盐单胞菌 X<sub>3</sub>; N: 麦氏交替单胞菌 SLNX<sub>2</sub>.

数字4表示菌液浓度为 $10^4$  CFU/mL;

5表示 $10^5$  CFU/mL; 6表示 $10^6$  CFU/mL.

Fig. 3 Changes of nitrate-nitrogen concentration in water of different biofilter treatments during biofilm formation  
CK: control group (natural biofilm); W: *Bacillus hujainpoensis* SLWX<sub>2</sub>; X: *Halomonas alkaliphile* X<sub>3</sub>; N: *Alteromonas macleodii* SLNX<sub>2</sub>. Number 4 denotes bacterium concentration of  $10^4$  CFU/mL; 5 denotes  $10^5$  CFU/mL; 6 denotes  $10^6$  CFU/mL.

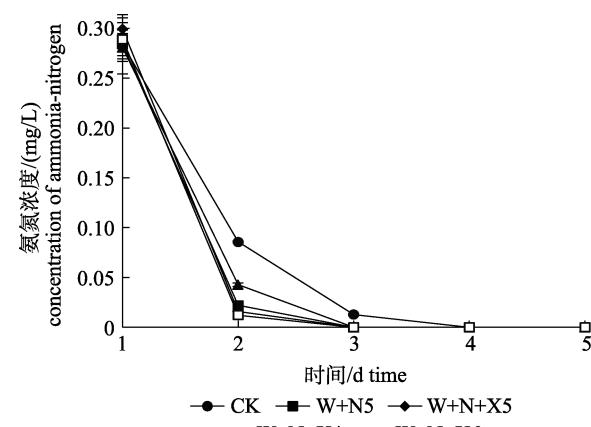


图4 各挂膜系统处理的静止养殖尾水氨氮浓度的变化

CK: 自然挂膜对照组; W: 花津滩芽孢杆菌 SLWX<sub>2</sub>;

X: 嗜碱盐单胞菌 X<sub>3</sub>; N: 麦氏交替单胞菌 SLNX<sub>2</sub>.

数字4表示菌液浓度为 $10^4$  CFU/mL;

5表示 $10^5$  CFU/mL; 6表示 $10^6$  CFU/mL.

Fig. 4 Changes of ammonia-nitrogen concentration in static waste water treated by different biofilter systems  
CK: control group (natural biofilm); W: *Bacillus hujainpoensis* SLWX<sub>2</sub>; X: *Halomonas alkaliphile* X<sub>3</sub>; N: *Alteromonas macleodii* SLNX<sub>2</sub>. Number 4 denotes bacterium concentration of  $10^4$  CFU/mL; 5 denotes  $10^5$  CFU/mL; 6 denotes  $10^6$  CFU/mL.

所示, 实验开始后,  $\text{NH}_4^+$ -N浓度快速下降, 实验组与对照组存在显著性差异( $P>0.05$ ), 24 h时, 2~5

号系统对  $\text{NH}_4^+$ -N 的去除率分别为 92.2%、94.7%、84.8%、95.8%，而 1 号对照组为 69.8%。48 h 时，各实验组对  $\text{NH}_4^+$ -N 的去除率为 99.8%，而对照组为 95.5%，说明添加的 3 株异养硝化-好氧反硝化细菌能迅速、有效地去除水体氨氮，其中第 5 组效果最好。

**2.2.2 不同组合对  $\text{NO}_2^-$ -N 去除效果** 如图 5 所示，24 h 时，对照组  $\text{NO}_2^-$ -N 出现积累现象，积累率达 48.2%，而实验组各组均未出现，说明 3 株细菌对亚硝酸氮有较强的去除作用，24 h 时，2~5 号系统对  $\text{NO}_2^-$ -N 的去除率分别为 14.11%、51.6%、29.1%、82.0%，48 h 时分别为 98.3%、100%、98.0%、100%。其中第 5 组效果最好。而对照系统对  $\text{NO}_2^-$ -N 的去除率仅为 66.7%。

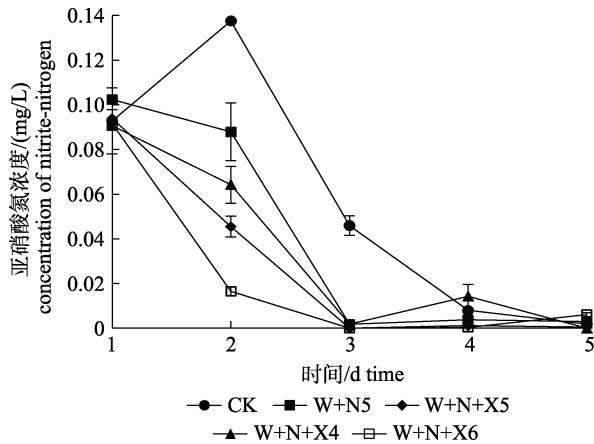


图 5 各挂膜系统处理的静止养殖尾水  
亚硝酸氮浓度的变化

CK：自然挂膜对照组；W：花津滩芽孢杆菌 *SLWX<sub>2</sub>*；  
X：嗜碱盐单胞菌 *X<sub>3</sub>*；N：麦氏交替单胞菌 *SLNX<sub>2</sub>*。  
数字 4 表示菌液浓度为  $10^4$  CFU/mL；  
5 表示  $10^5$  CFU/mL；6 表示  $10^6$  CFU/mL。

Fig. 5 Changes of nitrite-nitrogen concentration in static waste water treated by different biofilter systems  
CK: control group (natural biofilm); W: *Bacillus hwajinpoensis SLWX<sub>2</sub>*; X: *Halomonas alkaliphile X<sub>3</sub>*; N: *Alteromonas macleodii SLNX<sub>2</sub>*. Number 4 denotes bacterium concentration of  $10^4$  CFU/mL; 5 denotes  $10^5$  CFU/mL; 6 denotes  $10^6$  CFU/mL.

**2.2.3 不同组合对  $\text{NO}_3^-$ -N 去除效果** 如图 6 所示，前期各实验组的  $\text{NO}_3^-$ -N 积累较快，72 h 后  $\text{NO}_3^-$ -N 浓度开始降低，而对照组  $\text{NO}_3^-$ -N 浓度一直呈持续上升趋势，各实验组  $\text{NO}_3^-$ -N 与对照组  $\text{NO}_3^-$ -N 存在显著性差异( $P<0.05$ )。实验于第 5 天结束时，对照

组硝酸氮浓度积累到 1.24 mg/L，而实验组 2~5 号系统硝酸氮浓度分别为 0.98 mg/L、0.90 mg/L、0.99 mg/L、0.85 mg/L，分别比对照组低了 20.37%、27.39%、19.61%、30.94%，表明各实验组中添加的好氧反硝化细菌能通过对硝酸氮进行反硝化作用，从而进行脱氮。

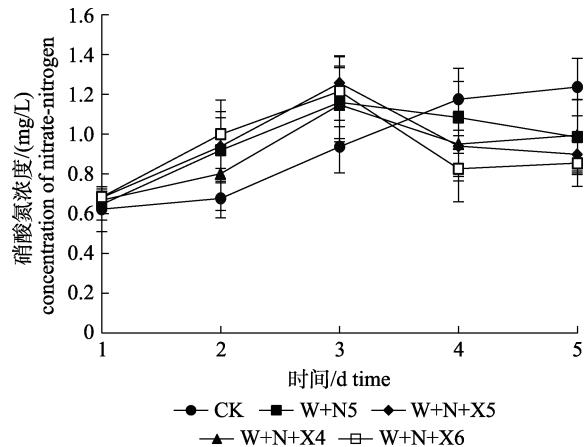


图 6 各挂膜系统处理的静止养殖尾水硝酸氮浓度的变化  
CK：自然挂膜对照组；W：花津滩芽孢杆菌 *SLWX<sub>2</sub>*；  
X：嗜碱盐单胞菌 *X<sub>3</sub>*；N：麦氏交替单胞菌 *SLNX<sub>2</sub>*。  
数字 4 表示菌液浓度为  $10^4$  CFU/mL；  
5 表示  $10^5$  CFU/mL；6 表示  $10^6$  CFU/mL。

Fig. 6 Changes of water nitrate-nitrogen concentration in static waste water treated by different biofilter systems  
CK: control group (natural biofilm); W: *Bacillus hwajinpoensis SLWX<sub>2</sub>*; X: *Halomonas alkaliphile X<sub>3</sub>*; N: *Alteromonas macleodii SLNX<sub>2</sub>*. Number 4 denotes bacterium concentration of  $10^4$  CFU/mL; 5 denotes  $10^5$  CFU/mL; 6 denotes  $10^6$  CFU/mL.

**2.2.4 不同组合对总氮去除效果** 如图 7 所示，第 1~3 天，各实验组对静止养殖尾水总氮去除效果较好，总氮浓度下降较快，48 h 最大去除率为 42.7%，其原因可能为各实验组生物膜刚刚成熟，接种的 3 株异养硝化-好氧反硝化细菌对氮素有着较好的迁移转化；第 4~5 天，各实验组总氮浓度下降速度减缓，可能是因为水中总氮浓度较低所致。第 5 天，2~5 号实验组对总氮去除率达到 54.94%、54.2%、51.55%、59.5%。自然挂膜对照组总氮呈平缓下降状态，相对实验组而言，对总氮去除效果较差，最大去除率仅为 21.54%。表明相对于自然挂膜的生物滤器，经强化挂膜的生物滤器不但能有效降低有害的无机氮存在形式，还能明显减少总氮含量，其中三种菌组合且初始菌量较大的

系统, 效果最佳。

### 2.2.5 不同组合对有机物去除效果

如图8所示, 随着实验时间的推移, 各组静止养殖尾水化学需

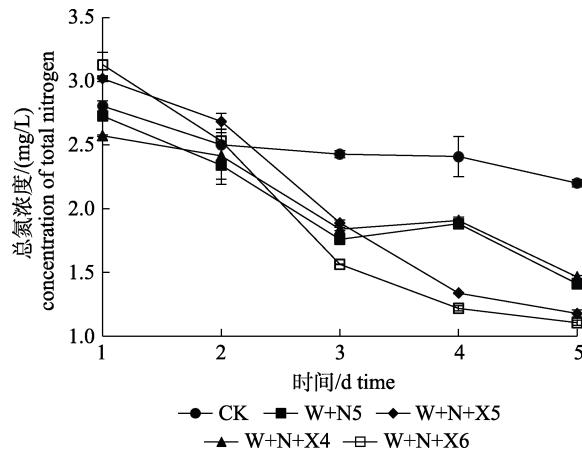


图7 各挂膜系统处理的静止养殖尾水总氮浓度的变化

CK: 自然挂膜对照组; W: 花津滩芽孢杆菌 SLWX<sub>2</sub>;

X: 嗜碱盐单胞菌 X<sub>3</sub>; N: 麦氏交替单胞菌 SLNX<sub>2</sub>.

数字4表示菌液浓度为 10<sup>4</sup> CFU/mL;

5 表示 10<sup>5</sup> CFU/mL; 6 表示 10<sup>6</sup> CFU/mL.

Fig. 7 Changes of total nitrogen concentration in static waste water treated by different biofilter systems  
CK: control group (natural biofilm); W: *Bacillus hwajinpoensis* SLWX<sub>2</sub>; X: *Halomonas alkaliphile* X<sub>3</sub>; N: *Alteromonas macleodii* SLNX<sub>2</sub>. Number 4 denotes bacterium concentration of 10<sup>4</sup> CFU/mL; 5 denotes 10<sup>5</sup> CFU/mL; 6 denotes 10<sup>6</sup> CFU/mL.

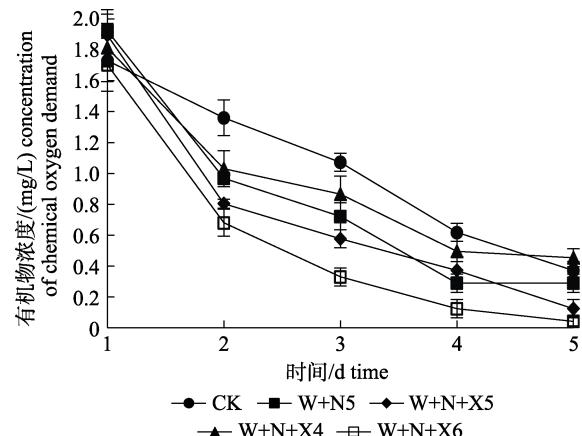


图8 各挂膜系统处理的静止养殖尾水有机物浓度的变化

CK: 自然挂膜对照组; W: 花津滩芽孢杆菌 SLWX<sub>2</sub>;

X: 嗜碱盐单胞菌 X<sub>3</sub>; N: 麦氏交替单胞菌 SLNX<sub>2</sub>.

数字4表示菌液浓度为 10<sup>4</sup> CFU/mL;

5 表示 10<sup>5</sup> CFU/mL; 6 表示 10<sup>6</sup> CFU/mL.

Fig. 8 Changes of chemical oxygen demand concentration in static waste water treated by different biofilter systems  
CK: control group (natural biofilm); W: *Bacillus hwajinpoensis* SLWX<sub>2</sub>; X: *Halomonas alkaliphile* X<sub>3</sub>; N: *Alteromonas macleodii* SLNX<sub>2</sub>. Number 4 denotes bacterium concentration of 10<sup>4</sup> CFU/mL; 5 denotes 10<sup>5</sup> CFU/mL; 6 denotes 10<sup>6</sup> CFU/mL.

氧量(COD)浓度均呈下降趋势。第1~2天, 各实验组 COD 浓度迅速降低, 后趋于平缓, 而对照组对 COD 的降解速度相对稳定。与初始 COD 浓度相比, 实验第5天, 各组分别降低了 78.57%、85%、93.48%、75%、97.58%。其中第5组去除效果最好。说明3株脱氮菌脱氮同时可去除水体中部分有机物。

### 2.3 生物滤器对流动养殖尾水持续净化结果

**2.3.1 对 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 连续去除效果** 如图9所示, 21 d 流水实验期间, 进水氨氮浓度较平稳, 维持在 (0.28±0.02) mg/L。出水氨氮浓度由于进行不同形式的挂膜而呈现不同的结果。如图9所示, 经过脱氮菌强化挂膜系统的出水氨氮浓度低于自然挂膜系统的, 同时, 接种浓度为 10<sup>6</sup> CFU/mL 的复合菌系统出水氨氮浓度低于 10<sup>5</sup> CFU/mL 系统的。实验期间, 其氨氮去除率分别为 19.96%~31.60%、12.77%~18.78% 和 4.09%~10.15%。接种浓度为 10<sup>6</sup> CFU/mL 的复合菌系统对氨氮去除效果最佳, 出水浓度一直低于 0.22 mg/L, 明显优于自然挂膜组。总体而言, 21 d 实验期间, 强化挂膜组对氨氮去除效果较好, 后期可能因为优势细菌老化脱落, 导致去除效果稍有下降。说明添加优势细菌进行强化生物挂膜可起到增强氨氮去除效果的作用, 但需定期补加, 防止生物膜老化。

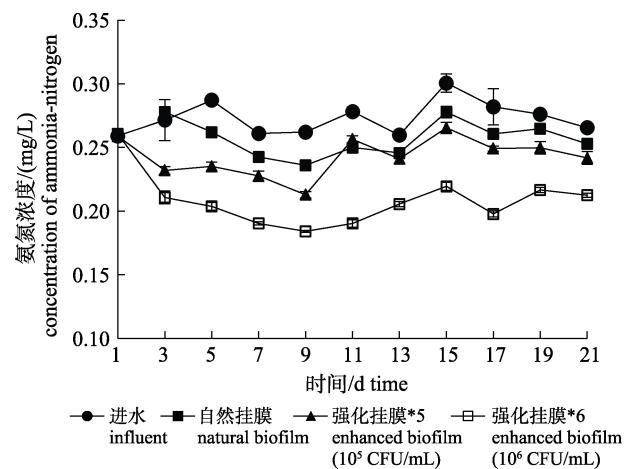


图9 各挂膜系统处理的流动养殖尾水中氨氮浓度的变化

Fig. 9 Changes of ammonia-nitrogen concentration in flowing waste water treated by different biofilter systems

**2.3.2 对 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N 的连续去除效果** 如图10所示, 实验期间实验组和对照组出水中的 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N 浓度均

随进水的  $\text{NO}_2^-$ -N 浓度波动而波动, 但大多低于进水的浓度, 说明生物滤器可去除部分亚硝酸氮, 而且实验组优于对照组, 其中脱氮菌初始浓度为  $10^6 \text{ CFU/mL}$  的挂膜系统的  $\text{NO}_2^-$ -N 浓度始终最低。说明其去除效果最佳。第 7 天达到最大去除率 11.33%。而自然挂膜组最大去除率仅为 4.43%。强化挂膜组在流水环境中对亚硝酸氮的持续去除效果一直优于自然挂膜组, 说明添加的脱氮菌在生物滤器中是有效果的。

**2.3.3 对  $\text{NO}_3^-$ -N 的连续去除效果** 如图 11 所示, 实验期间, 进水  $\text{NO}_3^-$ -N 浓度在  $1.83 \text{ mg/L}$  到

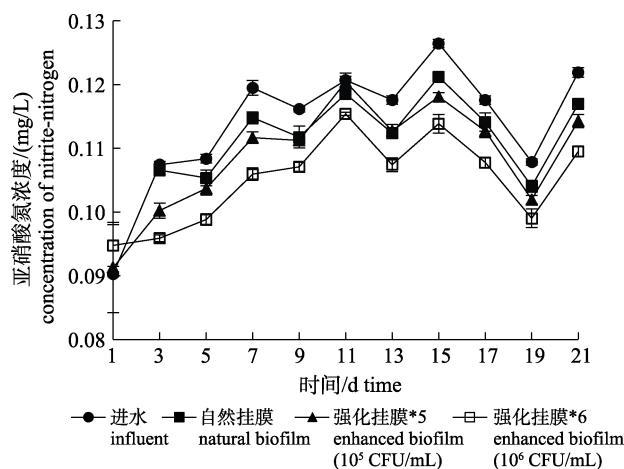


图 10 各挂膜系统处理的流动养殖尾水中亚硝酸氮浓度的变化

Fig. 10 Changes of nitrite-nitrogen concentration in flowing waste water treated by different biofilter systems

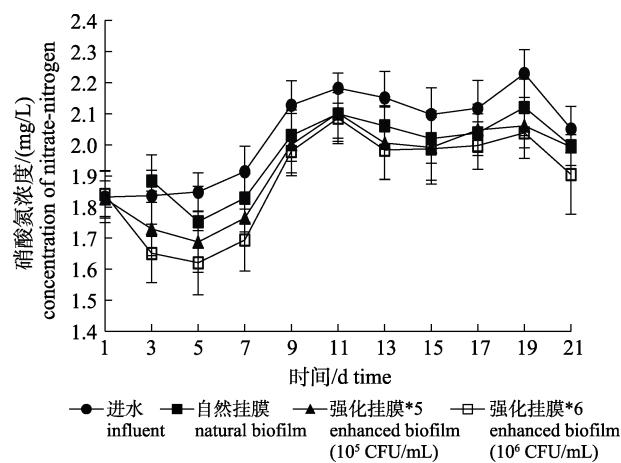


图 11 各挂膜系统处理的流动养殖尾水中硝酸氮浓度的变化

Fig. 11 Changes of nitrate-nitrogen concentration in flowing waste water treated by different biofilter systems

$2.31 \text{ mg/L}$  之间波动。各系统出水  $\text{NO}_3^-$ -N 浓度亦随之波动, 但均低于进水的, 其中  $10^6 \text{ CFU/mL}$  组最低, 自然挂膜组的  $\text{NO}_3^-$ -N 浓度与进水最接近, 说明脱氮菌强化的实验组对  $\text{NO}_3^-$ -N 的去除效果优于自然挂膜组, 且  $10^6 \text{ CFU/mL}$  组优于  $10^5 \text{ CFU/mL}$  组。第 1~7 天,  $10^6 \text{ CFU/mL}$  组对  $\text{NO}_3^-$ -N 去除率为 10.11%~12.32%, 其中第 5 天去除率最高, 为 12.32%。第 9 天开始, 去除率开始有所下降, 可能是由于实验后期生物膜开始老化并脱落, 但到 21 d 时, 仍能达到 8.56%, 较自然挂膜组高 4.4%。

### 3 讨论

#### 3.1 生物膜形成过程与净化效果的关系

生物膜的发展需要经历适应期、增长期、稳定期和脱落期, 所以, 在挂膜前期, 各实验组氨氮值下降较慢, 这是由于实验前期菌株对于水体环境需要适应。到挂膜中后期时, 氨氮值下降速度逐渐加快, 说明投加的脱氮细菌已经适应新的水体环境, 在生物载体上正逐渐繁殖附着固定。研究表明高进水负荷有利于生物膜的形成<sup>[19]</sup>, 各实验组接种时均添加氮源及碳源, 使初始氨氮值明显高于自然挂膜组( $\text{NH}_4^+$ -N 约为  $0.3 \text{ mg/L}$ ), 因而接种脱氮菌进行强化挂膜可使挂膜周期缩短, 而自然挂膜对照组氨氮负荷较低, 前期和中期挂膜过程缓慢。因此, 进行生物强化挂膜在添加脱氮菌的同时, 也应适当添加碳源和氮源浓。每 6 天换水 1 次, 添加 1 次营养盐, 挂膜期间各系统运行参数可维持在  $\text{pH } 7.55 \pm 0.31$ , 温度  $(26.1 \pm 0.7)^\circ\text{C}$ ,  $\text{DO} > 8 \text{ mg/L}$ 。另外挂膜期间, 各组亚硝酸氮浓度变化呈现缓慢上升到快速上升再到快速下降的趋势, 硝酸氮浓度值在挂膜前期无明显变化, 中后期呈上升状态再下降的趋势。这是由于挂膜期间脱氮细菌首先利用氨氮, 然后利用亚硝酸氮和硝酸氮<sup>[16]</sup>, 符合脱氮细菌的脱氮规律, 不影响成熟后最终脱氮效果。

#### 3.2 作用菌种类和数量对生物滤器净化效果的影响

在前期静止养殖尾水处理实验结果表明, 3 种菌组合的不同接种浓度组( $10^6 \text{ CFU/mL}$ 、 $10^5 \text{ CFU/mL}$ 、 $10^4 \text{ CFU/mL}$ )对各种无机氮、总氮的去除率不同,

$10^6$  CFU/mL 组对  $\text{NH}_4^+$ -N、 $\text{NO}_2^-$ -N、 $\text{NO}_3^-$ -N、TN 的去除效果最佳,  $10^5$  CFU/mL 组与  $10^4$  CFU/mL 组次之, 说明相同组合情况下, 初始接种浓度越高, 对氮去除效果越好, 可能初始菌量越大, 越利于其与其他种类竞争, 在生物膜上形成优势菌种。宋协法等<sup>[19]</sup>证明多菌组合较单菌对养殖污水的净化效果好, 本研究中接种浓度同为  $10^6$  CFU/mL 的 3 种菌组合和两种菌组合, 三菌组合对各项指标的去除效果要优于两菌组合, 其原因可能为各菌株之间具有协同作用<sup>[20]</sup>。进行生物强化挂膜的最佳条件是采用三株脱氮菌组合, 初始菌量在  $10^6$  CFU/mL 左右。

后期流动养殖尾水处理实验中, 强化挂膜组中  $10^6$  CFU/mL 组对  $\text{NH}_4^+$ -N、 $\text{NO}_2^-$ -N、 $\text{NO}_3^-$ -N 去除效果最佳, 最大去除率分别为 31.6%、11.33%、15.6%, 可以使水体的无机氮水平一直保持较低的状态,  $10^5$  CFU/mL 组次之。也证实提高初始强化挂膜菌种浓度, 可提高流动养殖尾水的净化效果。但是对 3 种无机氮的去除率低于静止养殖尾水实验, 其原因可能为养殖尾水流经生物膜时水力停留时间较短, 生物膜上的优势菌种未来得及完全利用水中氮素, 适当增加水力停留时间有利于尾水的彻底净化处理<sup>[21]</sup>。同时, 后期实验中未使用加热棒, 养殖尾水的温度低于前期实验。但是, 仍然证明脱氮菌强化挂膜对各种无机氮的长期去除效果明显优于自然挂膜组, 在提高生物滤器净化效率方面中具有一定优势。

### 3.3 强化挂膜对去除有机物的影响

化学需氧量(COD)是指一定水体内可被氧化的还原性物质的量, 代表着水体有机物污染程度<sup>[17]</sup>。本研究所用的 3 种细菌是一类以水体中有机物为碳源进行脱氮作用的异养型细菌。因此去除水体氨氮的同时, 也可以去除水体部分有机物<sup>[22]</sup>, 其中  $\text{SLWX}_2+\text{X}_3+\text{SLNX}_2$  组合中  $10^6$  CFU/mL 组对 COD 去除效果最佳, 养殖尾水 COD 的初始值为 1.70 mg/L。经过 5d 的吸收作用下降至 0.04 mg/L, 去除率为 97.6%。由于工厂化循环水养殖系统实际养殖尾水 COD 初始值较低<sup>[23]</sup>, 此类脱氮菌几乎可完全去除养殖尾水中的有机物, 这也提示, 对低有机物含量的养殖尾水, 为了提高脱氮菌的净

化效率, 应维持水体的适当 C/N。同时对于高浓度 COD 的尾水, 如高浓度松醇油尾水<sup>[24]</sup>, 脱氮菌对其利用效果有待于进一步实验与研究。

## 4 结论

(1)接种脱氮菌强化挂膜可缩短生物滤器挂膜时间 3~5 d。

(2)强化挂膜的成熟生物滤器对静止养殖尾水的净化效果优于自然挂膜的, 在脱氮的同时可去除部分有机物, 5 d 对  $\text{NH}_4^+$ -N、 $\text{NO}_2^-$ -N、 $\text{NO}_3^-$ -N、TN 和  $\text{COD}_{\text{Mn}}$  的去除率分别为 100%、100%、32.06%、59.5%、97.6%, 分别高于自然挂膜组 1.0%、33.3%、30.9%、38.0% 和 19.1%。

(3)脱氮菌强化挂膜生物滤器对流动养殖尾水持续净化效果优于自然挂膜的, 出水的氨氮、亚硝酸氮和硝酸氮始终低于自然挂膜组

## 参考文献:

- [1] Zhang Q Z, Achal V, Xu Y T, et al. Aquaculture wastewater quality improvement by water spinach (*Ipomoea aquatica* Forsskal) floating bed and ecological benefit assessment in ecological agriculture district[J]. Aquacultural Engineering, 2014, 60: 48-55.
- [2] Liu Y, Liu B L. Opportunities and challenges for marine industrialized aquaculture in China[J]. Fishery Modernization, 2012, 39(6): 1-4,9. [刘鹰, 刘宝良. 我国海水工业化养殖面临的机遇和挑战[J]. 渔业现代化, 2012, 39(6): 1-4, 9.]
- [3] Dalsgaard J, Lund I, Thorarinsdottir R, et al. Farming different species in RAS in Nordic countries: Current status and future perspectives[J]. Aquacultural Engineering, 2013, 53: 2-13.
- [4] Zhang T, Luo H Z, Zhou C S, et al. Effect of different hydraulic retention time on biofilm formation and water treatment of biofilter[J]. Journal of Zhejiang Agricultural Sciences, 2015, 56(12): 2051-2054. [张涛, 罗海忠, 周朝生, 等. 不同水力停留时间对生物滤池滤料挂膜及水处理效果的影响[J]. 浙江农业科学, 2015, 56(12): 2051-2054.]
- [5] Cheng H H, Zhu J X, Qu K M, et al. Effect of different organic carbon sources and C/N on the bio-filter purification[J]. Progress in Fishery Sciences, 2016, 37(1): 127-134. [程海华, 朱建新, 曲克明, 等. 不同有机碳源及 C/N 对生物滤池净化效果的影响[J]. 渔业科学进展, 2016, 37(1): 127-134.]
- [6] Huang B, Lei J L, Zhai J M, et al. Effect of the air-to-liquid ratio on treatment efficiency of wastewater in multistage BAF in a recirculating aquaculture system[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2013, 20(6): 1266-1273. [黄滨, 雷霖霖, 翟介明, 等. 封闭循环水系统生物滤池气水比对水质净化效能的影响[J]. 中国水产科学, 2013, 20(6): 1266-1273.]
- [7] Cao W P. Comparison of two materials as biofilm carriers

- for bioremediation of micro-contamination river water[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2014, 8(3): 967-971. [曹文平. 2种填料作为生物膜载体修复微污染河水的比较[J]. 环境工程学报, 2014, 8(3): 967-971.]
- [8] Wang W, Qu K M, Zhu J X, et al. Biofilm cultivation with three stuffings and their effect on the growth of young black sea bream, *Sparus macrocephalus*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2012, 19(5): 833-840. [王威, 曲克明, 朱建新, 等. 3种滤料生物滤器的挂膜与黑鲷幼鱼循环水养殖效果[J]. 中国水产科学, 2012, 19(5): 833-840.]
- [9] Quan X C, Cen Y, Qian Y. Isolation, identification of two aerobic denitrifiers and bioaugmentation for enhancing denitrification of biofilm under oligotrophic conditions[J]. Environmental Science, 2013, 34(7): 2862-2868. [全向春, 岑艳, 钱殷. 2株好氧反硝化菌的筛选及其强化贫营养生物膜脱氮效果[J]. 环境科学, 2013, 34(7): 2862-2868.]
- [10] Zhang T, Zhou C S, Luo H Z, et al. Preliminary study on the effect of denitrifying bacteria on media biofilm formation of biofilter and water treatment[J]. Journal of Zhejiang Agricultural Sciences, 2015, 56(8): 1287-1290. [张涛, 周朝生, 罗海忠, 等. 反硝化细菌对生物滤池滤料挂膜及水处理效果的初步研究[J]. 浙江农业科学, 2015, 56(8): 1287-1290.]
- [11] Feng Z H, Xu J T, Li Y, et al. Study on the biofilm formation process of biofilter in a closed seawater recirculating aquaculture system[J]. Journal of Huaihai Institute of Technology (Natural Science Edition), 2010, 19(4): 79-82. [冯志华, 徐军田, 李玉, 等. 封闭循环海水养殖生物滤池生物膜形成过程研究[J]. 淮海工学院学报(自然科学版), 2010, 19(4): 79-82.]
- [12] Li Q F, Fu X J, Zhang Y, et al. PCR-DGGE analysis of bacterial communities in bio-filters of re-circulating mariculture system[J]. Journal of Fisheries of China, 2011, 35(4): 579-586. [李秋芬, 傅雪军, 张艳, 等. 循环水养殖系统生物滤池细菌群落的PCR-DGGE分析[J]. 水产学报, 2011, 35(4): 579-586.]
- [13] Robertson L A, Vannie W J, Torremans A M, et al. Simultaneous nitrification and denitrification in acetobichemostat cultures of *Thiophaera pantotropha*[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1988, 54(11): 2812-2818.
- [14] Sun X M, Li Q F, Zhang Y, et al. Phylogenetic analysis and nitrogen removal characteristics of a heterotrophic nitrifying-aerobic denitrifying bacteria strain from marine environment[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2012, 52(6): 687-695. [孙雪梅, 李秋芬, 张艳, 等. 一株海水异养硝化-好氧反硝化菌系统发育及脱氮特性[J]. 微生物学报, 2012, 52(6): 687-695.]
- [15] Cheng Y, Li Q F, Fei Y T, et al. Screening and nitrogen removing characteristics of heterotrophic nitrification-aerobic denitrification bacteria SLWX<sub>2</sub> from sea water[J]. Environmental Science, 2016, 37(7): 2681-2688. [成钰, 李秋芬, 费聿涛, 等. 海水异养硝化-好氧反硝化芽孢杆菌 SLWX<sub>2</sub> 的筛选及脱氮特性[J]. 环境科学, 2016, 37(7): 2681-2688.]
- [16] Li Q F, Sun X M, Zhang Y, et al. Environmental adaptability of heterotrophic nitrifying-aerobic denitrifying bacteria strain X3[J]. Progress in Fishery Sciences, 2013, 34(3): 120-125. [李秋芬, 孙雪梅, 张艳, 等. 异养硝化-好氧反硝化菌株 X3 的环境适应性[J]. 渔业科学进展, 2013, 34(3): 120-125.]
- [17] Wang Y, Cheng Y, Li Q F, et al. Effects of different nitrogen sources and environmental factors on the nitrogen removal performance of *Bacillus hwajinpoensis* SLWX<sub>2</sub>[J]. Progress in Fishery Sciences, 2019, 40(1): 133-140. [王越, 成钰, 李秋芬, 等. 不同氮源和环境因子对花津滩芽孢杆菌 SLWX<sub>2</sub> 脱氮性能的影响[J]. 渔业科学进展, 2019, 40(1): 133-140.]
- [18] Kang C L, Li Q F, Zhang Y, et al. Purifying effect of three heterotrophic nitrification-aerobic denitrification bacteria strains on the farming water of *Verasper variegatus*[J]. Progress in Fishery Sciences, 2018, 39(2): 42-48. [康传磊, 李秋芬, 张艳, 等. 三株异养硝化-好氧反硝化细菌对圆斑星鲽养殖水质的净化效果[J]. 渔业科学进展, 2018, 39(2): 42-48.]
- [19] Song X F, Pan Y L, Ma Z, et al. Effects of single bacteria and mixed strains in aquaculture wastewater treatment system[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2015, 9(7): 3281-3287. [宋协法, 潘玉兰, 马真, 等. 单菌种和混合菌处理养殖污水的效果[J]. 环境工程学报, 2015, 9(7): 3281-3287.]
- [20] Zhu X, Zheng X Y, Zhu N W, et al. Effect of reversed AAO/MBR combined processes on improvement of denitrification by prolonging HRT in anoxic zone[J]. Water Purification Technology, 2017, 36(1): 67-72. [朱星, 郑晓英, 朱宁伟, 等. 延长缺氧区水力停留时间提高倒置 AAO/MBR 组合工艺的脱氮效果[J]. 净水技术, 2017, 36(1): 67-72.]
- [21] Wu Q, Zhang R F, Luo W, et al. Design of COD automatic detection device based on the principle of ORP[J]. Electronic Science and Technology, 2017, 30(1): 168-172. [邬奇, 张荣福, 罗伟, 等. 基于 ORP 原理的 COD 自动检测装置的设计[J]. 电子科技, 2017, 30(1): 168-172.]
- [22] Tu W L, Hu Z B, Liang Y C, et al. Experimental study on remediation of sediments in urban black-odorous rivers by denitrifying bacteria[J]. Environmental Engineering, 2015, 33(10): 5-9, 25. [涂伟灵, 胡湛波, 梁益聪, 等. 反硝化细菌修复城市黑臭河道底泥实验研究[J]. 环境工程, 2015, 33(10): 5-9, 25.]
- [23] Liu Q S, Li H, Dong H B, et al. Variation of dissolved oxygen in fish recirculating aquaculture system and its removal performance of pollutants[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2017, 11(1): 244-250. [刘青松, 李华, 董宏标, 等. 鱼类循环水养殖系统 DO 变动及污染物去除[J]. 环境工程学报, 2017, 11(1): 244-250.]
- [24] Du Q P, Lu R B, Zheng Z C, et al. Treatment of pine oil wastewater with joint biofilm of four predominant strains[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2016, 10(7): 3396-3400. [杜青平, 卢仁鉢, 郑志成, 等. 4株优势菌联合挂膜对松醇油废水的治理[J]. 环境工程学报, 2016, 10(7): 3396-3400.]

## Purification effect of a simulated biofilter augmented with efficient nitrogen-removing bacteria on waste water from mariculture

LI Qiufen<sup>1</sup>, KANG Chuanlei<sup>1,2</sup>, ZHANG Yan<sup>1</sup>, CHEN Bijuan<sup>1</sup>, CHEN Shibo<sup>3</sup>

1. Key Laboratory of Sustainable Development of Marine Fisheries, Ministry of Agriculture and Rural Affairs; Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071, China;

2. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

3. Qingdao Excellence Ocean Group Co., Ltd., Qingdao 266408, China

**Abstract:** Purification of discharged aquaculture waste water and nitrogen removal have become essential practices as environment protection policies impose increasingly strict waste water discharge restrictions. To improve the purification efficiency of maricultural waste water, we studied the purification effect of biofilters augmented by different compositions of 3 nitrogen-removing bacteria strains on static and flowing maricultural waste water. Firstly, different compositions of 3 nitrogen-removing bacteria strains, *Bacillus hwajinpoensis* SLWX<sub>2</sub>, *Halomonas alkaliphila* X<sub>3</sub>, and *Alteromonas macleodii* SLNX<sub>2</sub>, which can remove ammonia, nitrite and organic matters in the marine environment were used to strengthen biofilm formation and to purify static waste water, and the best combination was selected according to its removal efficiency of inorganic nitrogen, TN, and COD<sub>Mn</sub>, for the treatment of flowing waste water. The continuous removal of NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N, NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N, and NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N from flowing discharged aquaculture waste water was compared with that of naturally formed biofilters. Static waste water treatment results showed that the concentration of NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N increased then decreased and that the removal efficiency of inorganic nitrogen and organic matter from the waste water in trial groups was better than that in the control group. Among the treatments, the group of highly concentrated SLWX<sub>2</sub>+X<sub>3</sub>+SLNX<sub>2</sub> had the best purification effect on all indexes for waste water, and the removal rates of NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N, NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N, COD<sub>Mn</sub>, and TN were 100%, 100%, 80.7%, and 59.5%, respectively, after 48 h. In the control group, they were 95.5%, 50.52%, 38.1%, and 13.44%, respectively, and the concentrations of NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N kept increasing. The results showed that enhanced biofilm formation by nitrogen-removal bacteria can significantly improve the purification efficiency of biofilters and effectively reduce the concentration of nitrogen and organic matter in waste water from mariculture. The results of the experiment on purification of continuously flowing waste water showed that the concentration of NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N, NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N, and NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N in the effluent of the experimental groups and the control group was lower than that in the influent. Furthermore, these measurements from the bacteria-augmented biofilm group were lower than those from the natural biofilm and the removal efficiency of inorganic nitrogen in the 10<sup>6</sup> CFU/mL experimental group was the highest, with the maximum removal rates of 31.6%, 11.33%, and 15.6%, respectively. This was followed by the 10<sup>5</sup> CFU/mL test group, and the concentration of inorganic nitrogen in the effluent could be maintained at low levels for over 21 days, suggesting that the continuous removal effect of the enhanced biofilm was better than that of the natural biofilm. The results of this study provided a theoretical and technical basis for the application of nitrogen-removing bacteria in the purification of waste water from mariculture.

**Key words:** waste water from mariculture; nitrogen-removal bacteria; biofilter; bioaugmentation; simultaneous nitrification and denitrification

**Corresponding author:** LI Qiufen. E-mail: liqf@ysfri.ac.cn