

新建海水生物滤器接种培养的研究

罗国芝¹, 刘艳红², 谭洪新¹, 朱学宝¹

(1. 上海水产大学渔业学院, 上海 200090; 2. 蒙自师范高等专科学校, 云南 蒙自 661100)

摘要:采用自制循环水族箱,从实际应用的角度对生物滤器的培养方法进行了研究。结果表明,新建海水生物滤器中接种入已稳定生物滤器的滤料及表层土壤可以明显加速系统建立硝化作用。加入三种商业“超级硝化菌”和取自城市污水处理厂的活性污泥则并未加速新建海水生物滤器的稳定。

关键词:海水生物滤器; 接种培养

中图分类号:X703.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1000-0267(2001)06-0442-03

Inoculation and Cultivation in Newly Established Seawater Biofilter

LUO Guo-zhi¹, LIU Yan-hong², TAN Hong-xin¹, ZHU Xue-bao¹

(1. Fisheries College, Shanghai Fisheries University, Shanghai 200090 China; 2. High normal college of Mengzi, Yunnan 661100 China)

Abstract: The conditioning period required to establish nitrification in newly established seawater culture system was reduced substantially or omitted after inoculation with 10% media from pretreated seawater aquariums and garden soil. It has also been demonstrated that the introduction of commercial additives containing nitrifying bacteria and activated sludge did not accelerate the nitrification sequence in the seawater aquarium.

Keywords: seawater biofilter inoculation; cultivation

在整个循环水水处理系统中,生物过滤起着核心作用。最初设立时因缺乏各种微生物尤其是足够数目适应条件的硝化细菌,不具备足够的硝化能力。新建立的采用生物过滤的闭合循环养殖系统无论是海水还是淡水,都应首先进行生物滤器的培养及驯化(使滤料表面微生物大量繁殖生长,形成生物膜;使附着生物膜的微生物群逐渐适应所处理的水质条件),才可放养目标生物。尤其是海水观赏水槽,因其养殖目的、饲养对象自身的苛刻要求等原因,生物滤器的培养驯化更加重要。

生物滤器进行培养、驯化使其达稳定成熟的过程,实际上就是在系统中建立完整的硝化作用,使系统具有充分的硝化能力的过程。因为硝化作用细菌的生长率比较低,所以一个新建海水生物滤器形成良好的硝化能力所需时间要很长。研究者发现,生物滤器氨氮氧化成亚硝酸氮最终氧化成硝酸氮,在 21℃—26℃时需要 28—60 d^[1,2]。

关于影响闭合循环系统生物滤器硝化作用效率的环境因子以及生物滤器设计的有关参数等方面已有很多报道,但这些研究未对减少系统培养时间提供良好的方法及相应的理论依据。而实际应用中往往不希望用太长的时间建立新的生物滤器。本文从实际应用的角度对生物滤器的培养方法加以研究,以期闭合循环水处理系统尤其是为新建海水观赏水槽提供参考和依据。

1 材料与方法

1.1 实验水槽及环境控制

本次实验采用自制 PVC——玻璃循环水族箱,尺寸为(长×宽×高)50 cm×30 cm×40 cm,水体体积 50 L,滤床尺寸为 8.9 cm×27 cm×18.9 cm。选择沸石滤材,粒径 5—10 mm,实验前充分冲洗并煮沸以消除沸石本身携带的细菌的影响。实验水体采用浓缩海水和 INSTEANT OCEAN 海盐及陈化自来水调配成盐度 35 左右的人工海水。实验系统运行 24 h 后人为添加营养负荷,生物膜培养液配方为:葡萄糖:谷氨酸:氯化铵:硫酸镁:氯化钾:磷酸二氢钾:磷酸氢二钠:三氯化铁=150:150:50:7:5:7:11:29:1(mg·L⁻¹)。整个

收稿日期: 2001-10-18

基金项目:上海市支持西部开发科技项目专项基金

作者简介:罗国芝(1974—),湖北襄樊人,上海水产大学渔业学院助教。

实验过程中水温控制在 25 ℃ ± 1 ℃ 的范围。溶氧控制在 6 mg · L⁻¹ 左右。除每日补充陈化自来水或调制相同盐度的人工海水以弥补因蒸发、取样造成的水体体积及盐度的变化外,实验过程中不再换水。

1.2 生物膜菌源

(1) 选用市售三种“超级硝化菌” No. I、No. II、No. III。接种方法及接种量依据其厂家说明。

(2) 分别从表层土壤、城市污水处理厂的活性污泥和本所培养的具有良好硝化能力的生物滤器中取得菌源。接入实验系统中的细菌数量同(1)。

以上各菌源均于系统中加入培养液 24 h 后加入系统。取样时用固定塑料杯,以防相互污染。

1.3 监测指标及方法

本次实验每日监测盐度 (YSI – Model – 33, S – C – T METER)、温度(温度计直接测量)、pH 值(pH – 3D 型,上海三信仪表厂)、氨氮 NH₄ – N(次氯酸钠盐法)、亚硝酸氮 NO₂ – N^[13]、碱度(酸碱滴定),化学耗氧量 COD(碱性高锰酸钾法) 每周测量两次,溶氧 DO

(修正碘量法)、硬度(EDTA 容量法)及硝酸氮 NO₃ – N^[4]每周测一次。

2 结果

2.1 添加三种商业“超级硝化细菌” No. I、No. II、No. III 的系统与对照系统稳定过程中三态氮的变化

与对照系统相比,氨氮值、亚硝酸氮值及硝酸氮值变化式型相同。由实验结果可以看出,加入这 3 种微生物制剂的系统并没有表现出快速的硝化过程。氨氮达高峰值的时间与对照系统相比亦没有明显差别(第 11—12 d)。但添加微生物制剂的系统氨氮氧化过程出现明显的抑制现象,对亚硝酸氮氧化的抑制作用更明显。添加 No. III “超级硝化菌”系统氨氮氧化降至最低值(<0.05 mg · L⁻¹)所需时间比对照系统延迟 1 d,而亚硝酸氮降至最低值(<0.01 mg · L⁻¹)所需时间比对照系统延迟 14 d。添加其它两种“超级硝化菌”系统与对照系统的差异情况与此相似,只是时间长短和浓度高低不同而已(见表 1)。

表 1 对照系统与接种各种菌源的系统中氨氮、亚硝酸氮高峰值及分别氧化至 0.05、0.01 mg · L⁻¹ 所需时间
Table 1 Maxium values for total ammonia – nitrogen and nitrite – nitrogen and time required for their qxidation to 0.05 and 0.01mg · L⁻¹, respectively, in seawater aquariums treated with commercial “super nitro – bacteria”, activated – sludge, Garden – Soil, and filtrant from established seawater aquarium

项目		对照系统	超级硝化菌			活性污泥	土壤系统	10% 成熟涂料
			NO. I	NO. II	NO. III			
稳定过程中浓度高峰值/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	$\text{NH}_4 - \text{N}$	2.99	4.05(35.5)	4.2(40.5)	4.26(42.5)	4.14(38.5)	3.32(11)	1.2(- 62.9)
	$\text{NO}_2 - \text{N}$	6.3	4.97(- 21.1)	5.13(- 18.6)	6.38(1.39)	6.51(3.3)	7.51(19.2)	3.63(- 42.4)
氧化需要时间/d	$\text{NH}_4 - \text{N}$	53	65(22.6)	69(30.2)	54(9.4)	44(- 17)	32(- 39.6)	10(- 81.1)
	$\text{NO}_2 - \text{N}$	77	105(36.4)	98(27.3)	91(18.2)	80(3.9)	44(- 42.9)	24(- 68.6)

注:括号内数字为与对照系统差异的百分数。

从实验开始到第 30 d 对照系统与添加“超级硝化细菌”系统的氨氮值变化基本一致,但后者的氨氮值一直高于对照系统。此外,每次添加菌液均会引起系统中氨氮的明显升高。添加“超级硝化菌”的系统亚硝酸氮至第 35 d 时与对照系统相比开始出现差异,第 45 d 左右差异增大,同时出现亚硝酸氮的起伏波动并明显积累现象。此时对照系统的硝酸氮浓度高于接种系统,而在此之前对照系统的硝酸氮浓度一直低于接种系统。还可以看出,此时对照系统的氨氮开始明显下降,亚硝酸氮开始显著增加。可以认为此时对照系统中亚硝化菌、硝化菌已经形成一定的数量并具有一定的活性,而 No. I、No. II 实验系统中氨氮值仍持续 10—12 d 后开始降低,亚硝酸氮值至第 60 d 开始明显增加。No. III 系统氨氮的降低和亚硝酸氮的升高与对照系统一致,但其亚硝酸氮高峰值持续时间(40 d)远

远长于对照系统(12 d)。各系统从开始出现亚硝酸氮的明显下降到亚硝酸氮降至最低值的时间相近(7—8 d)。

2.2 在接种成熟滤料、表层土壤和活性污泥等菌源的实验系统中其硝化能力表现出明显的促进作用

各实验系统氨氮达高峰值时间一致,但氨氮降低至 0.05 mg · L⁻¹ 所需时间表现出明显的差异(表 1)。尤其是接种了成熟滤料的系统,整个稳定过程中氨氮值一直保持较低水平(<1.0 mg · L⁻¹),第 10 d 时氨氮值已降至 0.1 mg · L⁻¹,此时对照系统氨氮值为 1.35 mg · L⁻¹;系统中加入 10 mg · L⁻¹ 的氯化铵后,3 d 便降至 0.2 mg · L⁻¹,此时对照系统氨氮值为 2.51 mg · L⁻¹。接种表层土壤菌源的实验系统氨氮氧化作用和亚硝酸氮氧化作用均明显快于对照系统。接种活性污泥的系统亚硝酸氮起伏波动明显。虽

然氨氮降至最低值快于对照系统 17%, 但亚硝酸氮降至最低值迟于对照系统, 而且出现亚硝酸氮的明显积累。接种成熟滤料, 表层土壤的菌源系统同时有明显的反硝化作用进行, 接种活性污泥菌源的系统及对照系统反硝化作用则不明显。

3 讨论

海水生物滤器中硝化作用的建立需要较长的启动期^[5]。在某些报告中显示, 氨在海水中因高氯含量的缘故其氧化几乎完全被抑制, 且许多先前的研究亦指出, 亚硝酸氮到最后也无法完全转变成硝酸氮。其实海水中的硝化作用可以完全进行, 只是需要的时间比较长而已, 而且海水中一旦建立起完整的硝化作用, 系统完全可以维持氨氮、亚硝酸氮的适宜范围(施正锋, 梅志平. 闭合循环系统水处理技术的研究. 1993.)。

新建海水系统硝化菌的来源主要有以下几种途径:

(1) 由环境直接提供 系统循环水体及滤料都带有一定数量的硝化菌。这种方法比较常用, 常被认为因缺少足够量的硝化菌而需很长时间系统中才能建立硝化作用^[6], 这种方法可以避免因其它接种源带入系统的致病菌、寄生虫的滋生, 引起系统的不良反应。本次实验对照系统中细菌主要来源于陈化自来水及浓缩海水。

(2) 经选择培养制成的细菌混合物(常作为商品形式出现) 主要是一些活性(菌液)或休眠(干粉)硝化菌。商家称这种所谓的“超级硝化菌”可以加速海、淡水系统硝化作用的建立。尽管生物滤器的功能依赖于滤床表面附着的 *Nitrosomas* 和 *Nitromonas* 的活性和数量, 但是如果系统中有足够量的氨氮, 在系统中加入足够数量、适宜种类的细菌, 从理论上讲, 是可以加速硝化过程的。但关于这方面的研究并没有得出积极的结果^[7-9]。这同本次实验的研究结果相符。出现这种情况的原因可能是:

① 循环水体及生物滤器的温度、盐度等理化因子的制订范围常根据饲养生物的要求, 不能保证满足加入菌液的需要。硝化菌属于那些无适应急速变化能力的细菌。一旦环境发生较大改变其活性迅速降低, 甚至完全消失(Kawai 1965)。目前市场上出现的一些有关产品, 并没有指出该种菌所要求最基本的理化条件, 甚至大多数产品都明确声称可适用于海、淡水系统。

② 关于硝化作用各过程起作用的细菌的确切种

类并没有得出定论。Timothy Hovanec 和 Edward Delong of the Aquaria Inc. in California (1998) 研究了海、淡水水族箱生物滤器中硝化细菌的情况。对 AOB(氨氧化细菌) 和 NOB(亚硝酸氮氧化细菌) 分子分析的结果表明, 具有这两种功能的细菌比以前预料的还要多样和复杂。几乎所有的 AOB 都属于脲细菌(proteobacteria) 的 β 亚分支(subdivision)。NOB 的情况更复杂, 广泛的出现在许多脲细菌的许多亚分支。他们从周期性加入商业“超级硝化菌”的水族箱生物滤器和没有加入任何外来细菌的生物滤器中分别取得微生物聚合物(Microbial Assamblages), 对之进行分子分析(Molecular analysis), 其结果并未有什么不同。他们进一步提出, 水族箱内进行硝化作用的细菌并不是人们以前认为的那些传统的种类, 而是一些无法定性的硝化细菌。这亦可说明为什么硝化菌的商业制剂难以加速新系统的硝化作用的建立。

③ 循环水体中如果有氯胺、氯气以及其它细菌抑制物存在, 也会影响细菌的活性。

④ 一般商业产品的时间即保质期不能确定。

虽然能够证明循环过滤系统中加入选择培养的硝化菌的效果的文章很少^[7], 但仍有越来越多的人使用这种方法。加入菌液或许可以加速系统硝化作用的建立, 但同时也需提供适合所加细菌生长繁殖的理化条件, 这些条件并不能保证饲养对象处于适宜环境。对这种方法持反对意见的文章主要认为因为细菌间竞争的不确定性, 导致这种方法难以取得预料中的积极效果。同时微生态系的控制、创建存在一定难度。开放式水体因水体停留时间比较短, 不宜建立自身优势菌群, 直接加入细菌或许可以取得一定效果^[9]。闭合循环水体及池塘存在与自身环境因子相适合的一定丰度、数量的菌群。系统中出现氨氮、亚硝酸氮、有机物等的积累并不说明系统中缺少足够丰度和数量的相关菌群, 而是水质条件限制了细菌的活性。

(3) 从已经建立硝化作用的滤床中取得滤料, 加入新建系统(前提是两者的环境条件需一致) 这种方法被证明快而有效的方法^[10]。接种成熟滤床的滤料可以在新建系统中引入适宜种类的细菌, 但系统中硝化作用的建立也需 3—4 星期^[6]。接种量以新建系统滤料的 10% 为佳^[7]。如果移取的滤料来自老化的未被清洗的滤床, 滤料上会带有大量的异养细菌, 硝化细菌很少。反之, 若取自一个运行良好、高负载的生物滤器, 则滤料将带有大量的活性硝化细菌。细胞通过细

(下转第 450 页)