



主持人: 郭志强

一种三回路式淡水循环养殖系统的构建及应用

潘国英¹, 文畅¹, 黄薇薇¹, 姚雪梅², 董丽丽¹, 周梅阳¹, 杨飞¹

(1. 海南大学生态与环境学院, 海口 570228; 2. 海南大学海洋学院, 海口 570228)

摘要: 为满足人们对优质鱼类蛋白日益增长的需求和环保要求, 在海南琼海构建了三回路式高密度循环水养殖系统, 以微滤机反冲洗水作为反硝化碳源, 建立了水循环处理、鱼粪污泥厌氧消化对鱼类生长和污染物控制的运行方式。在 121 d 的吉富罗非鱼 (*Oreochromis mossambicus*) 养殖实验中, 养殖密度达到 107.7 kg·m⁻³, 存活率 100%, 饲料转化率(FCR) 1.74; 鱼缸中总氨氮(TAN)、亚硝酸盐氮(NO₂⁻-N)和硝酸盐氮(NO₃⁻-N)的平均浓度分别为 0.95、0.15 和 43.01 mg·L⁻¹。每日外排水量为系统总水量的 2.66%、养殖水量的 6.67%; 试验期间, 厌氧消化单元内仅有少量污泥残留而无外排。微生物群落分析表明, 共 21 个菌属参与了氮代谢, 包括红细菌属(*Rhodobacte*)、黄杆菌属(*Flavobacterium*)和固氮螺旋菌属(*Azospira*)等。结果表明, 该循环水养殖系统为罗非鱼等淡水鱼类养殖提供了一种潜在的生态可持续循环养殖模式。

关键词: 循环水产养殖系统; 三回路式处理; 反硝化; 碳源; 厌氧消化

中图分类号: S964.9 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-7054(2024)01-0122-11

潘国英, 文畅, 黄薇薇, 等. 一种三回路式淡水循环养殖系统的构建及应用 [J]. 热带生物学报, 2024, 15(1): 122-132. doi: 10.15886/j.cnki.rdswwb.20230007

水产品是粮食供应的重要组成部分, 也是人类获取蛋白质和微量元素的重要来源^[1]。中国是世界上最大的水产养殖和水产品出口国, 约占全球市场份额的 60%^[2]。目前, 中国淡水养殖以室外池塘养殖和工厂化流水养殖为主^[3], 养殖密度低, 用水量高, 占地面积大^[4], 且含有鱼类排泄物、残留饵料及药物的养殖尾水直接排放会造成严重的水环境污染^[5]。由于自然选址的限制和节能减排等压力, 水产养殖业的发展已经面临新的瓶颈。养殖规模不可能无序扩张, 建立生态环境可持续的高密度循环水产养殖模式就是一种可行的解决方案^[6]。

循环水养殖系统 (Recirculating Aquaculture Systems, RAS) 通过一系列的物理、生物处理单元将养殖水处理后进行循环利用^[7], 具有水资源利用率高、养殖密度大、占地小、养殖过程可控和生物安全等优势^[8-9]。在 RAS 中, 实现高效的固体和含

氮污染物去除是降低系统对水、化学物质以及能源需求的关键^[10]。精心设计的 RAS 可以实现每日 90%~98% 的水循环利用^[4], 但传统的 RAS 一般为单回路循环, 即通过物理沉淀或机械过滤去除饲料残留和鱼粪等固体物, 再经过硝化作用去除对鱼有毒害作用的氨和亚硝酸盐^[11], 以保证鱼类正常生长。这种单回路 RAS 仅针对水进行处理, 对系统中产生的鱼粪等固体物并未给予重视^[5]。另一方面, 硝化作用产生的硝酸盐积累到一定水平也会影响鱼类生长^[12], 因而需要通过 20%~40% 的换水率来维持安全的硝酸盐浓度水平 (一般不超过 500 mg NO₃⁻-N)^[4, 11, 13]。升级版的二回路式 RAS 增加了微生物反硝化单元, 可将硝酸盐还原为氮气排出而控制硝酸盐的上升。但反硝化过程需要外加碳源, 使运行过程变得复杂, 且对鱼粪仍未进行处理^[6, 10, 14]。有些研究收集 RAS 本身产生的有机废物进行水解发酵, 产生容易被细菌

收稿日期: 2023-01-28

修回日期: 2023-03-12

基金项目: 海南省重点研发项目 (ZDYF2019198, ZDYF2020089)

第一作者: 潘国英 (1997-), 女, 海南大学生态与环境学院 2020 级硕士研究生。E-mail: panpanrugu@126.com

通信作者: 杨飞 (1967-), 男, 博士, 研究员。研究方向: 污水处理与回用技术。E-mail: fei.yang@hainanu.edu.cn

利用的挥发性脂肪酸(VFAs)作为碳源使用,从而节省外加碳源的成本^[14]。但是水解后的上清液中含有高浓度的氨氮(TAN, 铵+氨),会增加硝化单元的负荷。在实际养殖罗非鱼(*Oreochromis mossambicus*)过程中,发现其鱼粪呈细长条且覆有包膜不易散开,因而容易沉积在微滤机的进水区底部,而微滤机反冲洗出来的水则含有大量细小的有机污泥,可以考虑作为碳源使用。为实现更高效的水循环和固体管理、提高RAS的可持续性,本研究拟在传统的单回路RAS基础上增加了反硝化和厌氧消化单元,构建一套由鱼缸、微滤机、好氧硝化、缺氧反硝化和厌氧消化组成的三回路式RAS,并探究以微滤机单元反冲洗的细小有机污泥作为反硝化碳源的可行性及 NO_3^- -N的去除效果和阐明系统各处理单元的性能表现。

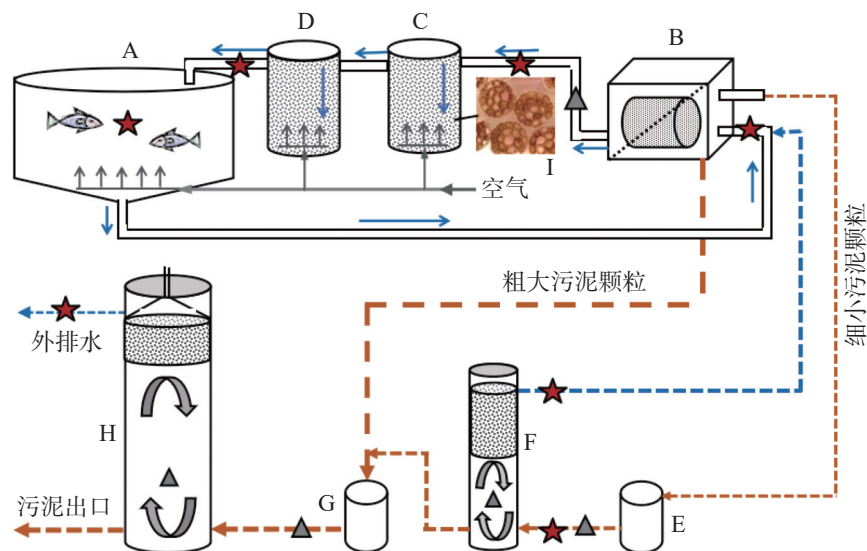
1 材料与方法

1.1 系统组成 该RAS系统安装在海南省文昌春来水产有限公司琼海种苗基地。由1个 1m^3 的鱼缸和3个处理回路构成(图1)。第一回路包括鱼缸(养殖体积 0.9m^3)、 $74\ \mu\text{m}$ 转鼓微滤机、2个流化床生物反应器,通过1个平均流量为 $2.3\text{m}^3\cdot\text{h}^{-1}$ 的水泵(酷鱼,佛山)实现水的循环(表1)。鱼缸底部略呈漏斗状;底部设有微孔曝气管提供不间断曝气;水面设有类似马桶的自动补水装置。微滤机通过定时控制运转,方便调节其他2个回路的

水力停留时间(HRT)。2个流化床反应器组成一级(145 L)和二级(220 L)硝化过程,均填充有60%的K3聚乙烯填料供生物膜附着生长,填料尺寸 $\Phi 25\text{mm}\times 9\text{mm}$,呈蜂窝状(图1),密度约 $0.96\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$,比表面积约 $500\text{m}^2\cdot\text{m}^{-3}$,空隙率约88.6%;底部安装曝气管,驱动填料循环流动并为微生物生长提供氧气,同时可吹脱水中部分 CO_2 。此外,硝化反应器底部放置有石灰石颗粒,可缓慢溶解补充部分碱度。在运行过程中根据pH下降情况外加石灰水补充碱度,以维持pH的稳定。

第二回路主要由1个工作体积为153 L的反硝化单元组成,主要作用是利用微滤机反冲洗水含有的细小有机污泥作为反硝化碳源,去除系统中的硝酸盐。反硝化器上部放置约40 cm厚的悬浮填料,起到截留固体浮渣的作用并可作为微生物载体;填料下部空间配备水泵循环回路,以促进泥水混合。吸附在微滤机滤网上的颗粒通过定时反冲洗排入20 L的暂存池中,由浮球液位开关控制间歇泵入反硝化单元,平均流量约为 $0.03\text{m}^3\cdot\text{h}^{-1}$ (表1);上清液从填料表层溢流重新进入微滤机。底部的剩余污泥则定期泵入第三回路的厌氧消化单元作进一步处理。

第三回路主要由1个工作体积为726 L的厌氧消化单元组成,用于鱼粪污泥等颗粒物的厌氧消化,实现稳定化和减量化,并可回收沼气(本研究未进行监测)。单元上部有一个简易的锥形三相



A: 鱼缸; B: 转鼓微滤机; C: 一级硝化反应器; D: 二级硝化反应器; E: 污泥暂存池; F: 反硝化反应器; G: 密封污泥暂存池; H: 厌氧消化单元; ▲: 水泵; I: 填料挂膜照片; ★: 取样点

图1 三回路式循环水产养殖系统(RAS)示意图

表 1 系统各单元工作参数

组件	工作水体积/m ³	平均流量/(m ³ ·h ⁻¹)	平均水力停留时间/h
鱼缸(A)	0.90	2.30	0.39
转鼓式微滤机(B)	0.16	2.30	0.07
硝化单元(C、D)	0.365/0.334	2.30	0.15
反硝化单元(F)	0.153/0.148	0.03	4.93
厌氧消化单元(H)	0.726/0.713	0.002 5	284.8
RAS总体积	2.304/2.255		

分离器,其下有约 30 cm 厚的悬浮填料层,起到截留固体浮渣作用;填料下部空间也配备水泵循环回路,以促进泥水混合。沉积在微滤机进水区底部的颗粒物通过管道排入 20 L 的密闭暂存池,然后定时泵送进入厌氧消化单元,平均流量约 0.002 5 m³·h⁻¹(表 1);上清液则溢流排出系统。本实验中平均每天尾水排放量约 60 L,占系统总水量的 2.60%,养殖水体的 6.67%。

1.2 鱼类放养与生长 实验用水为当地的地下水。系统通过不断调试和改进,使各处理单元进入稳定工作状态。实验开始时,放养 100 条平均质量为 522 g 的吉富罗非鱼(*O. mossambicus*),以便处理系统快速进入稳定负荷运行。实验过程中(2021-07-26—2021-11-23),每 2 周随机从鱼缸中捞取 10 条鱼称重,检查其生长情况。罗非鱼饲料购自海南省某公司,其蛋白质、脂肪和 P 的含量分别为 29%、6% 和 0.8%。每日喂食量为鱼总生物量的 1%~2%,分 2 次(8:30 am, 17:30 pm)进行人工喂食,记录喂食量。实验持续 121 d。

1.3 数据监测与分析方法 系统通过南京某智能水产养殖监测装置对鱼缸中溶解氧(DO)、温度(T)、pH 以及反硝化单元中的氧化还原电位(ORP)进行实时在线监测。每日对鱼缸中的 TAN 和 NO₂⁻-N 进行现场快速估测(数据未展示)。实验共设置 7 个取样点,包括鱼缸、微滤机进水口、硝化单元进水口和出水口、反硝化单元进水口和出水口、厌氧消化单元出水口(图 1)。每周对各取样点取样分析,测定 TAN、NO₂⁻-N、NO₃⁻-N、PO₄³⁻-P、TN、TP、化学需氧量(COD)、电导率(EC)、碱度(ALK)和浊度(Turbidity)。

EC 通过梅特勒-托利多某电导率仪测定,TP 和 PO₄³⁻-P 采用钒钼酸盐法测定,ALK 采用盐

酸滴定法测定,TN 和 NO₃⁻-N 采用二阶导数紫外光谱法测定,TAN 采用纳氏试剂光度法测定,NO₂⁻-N 采用 N-(1-萘基)-乙二胺光度法测定,COD 采用重铬酸钾法测定^[15]。

1.4 微生物群落分析 在试验结束时,分别采集硝化单元、反硝化单元和厌氧消化单元的微生物样品,委托上海美吉生物医药科技有限公司进行微生物高通量测序。采用 E.Z.N.A.[®] 土壤 DNA 试剂盒(Omega Bio-tek, US)提取微生物样品的总 DNA,利用引物 338F(ACTCCTACGGGAGGCA-GCAG)和 806R(GGACTACHVGGGTWTCTAAT)对提取的 DNA 进行 PCR 扩增和纯化,然后在 Illumina MiSeq 平台进行测序。

2 结果与分析

2.1 系统运行与水质保障 实验前期(第 1~20 天,2021-07-26—2021-08-14),该 RAS 中不存在硝酸盐积累现象,因此未对反硝化单元中的水质指标进行测定,仅检测了反硝化单元内氧化还原电位(ORP)和 DO 的变化情况;从第 21 天开始对反硝化单元的出水指标进行检测。为期 121 d 的实验过程中,系统发生了 2 次意外事件:第 74 天时,由于厌氧消化单元进水的单向阀损坏,导致反应器内富含 TAN 的水大量倒灌进入微滤机,造成微滤机进水中的 TAN 和 NO₂⁻-N 急剧上升,但修复后在 24 h 内系统各水质指标又恢复至正常水平。第 86 天时,反硝化单元内产生大量浮泥,导致出水水质浑浊和微滤机频繁堵塞。为解决此问题,通过对反硝化单元的进水速率、水力停留时间和底部污泥停留时间进行了为期 16 d 的调试,使浮泥问题得到解决。

2.1.1 第一回路-固体颗粒分离和硝化作用 微滤机和硝化单元构成了系统的第一处理回路,鱼类等颗粒物通过微滤机 74 μm 滤网过滤分离,鱼缸中水体浊度维持在 2.30 NTU 以下,平均 1.45 NTU;COD 在 88.7 mg·L⁻¹ 以下,平均 37.10 mg·L⁻¹(图 2-a)。

微滤机出水泵入硝化单元,TAN 在此转化为 NO₂⁻-N 进而转化为 NO₃⁻-N。N 以饲料投加的方式进入系统,随鱼类生长逐渐增加,平均每天有 29.92 g N 进入系统,后期达到 53.59 g·d⁻¹。如图 2-b~d 所示,二级硝化单元出水和鱼缸中的

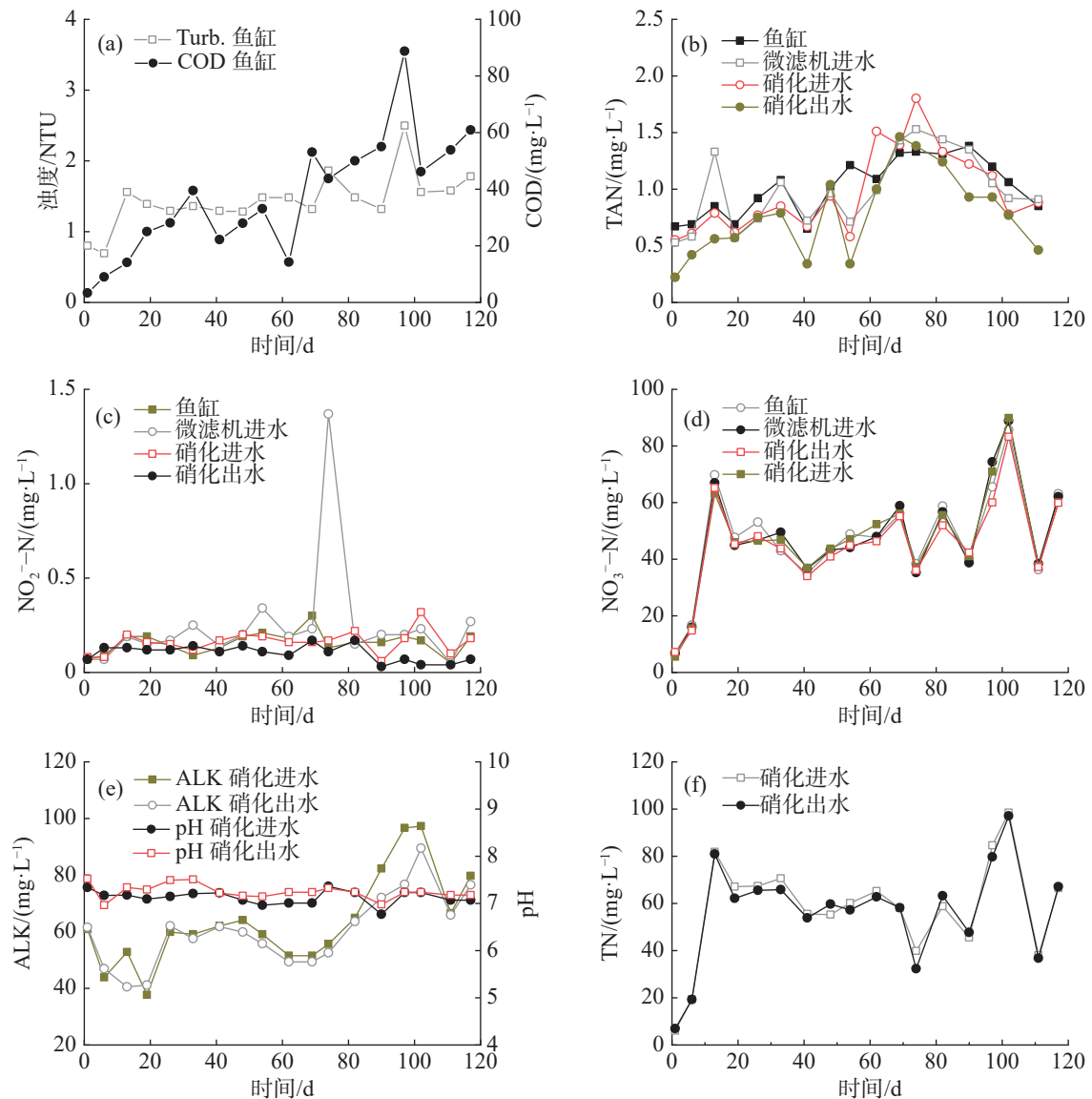


图 2 三回路式 RAS 中浊度与 COD(a)、TAN(b)、 NO_2^- -N(c)、 NO_3^- -N(d)、ALK 与 pH(e) 和 TN(f) 的浓度变化

TAN 和 NO_2^- -N 浓度并没有随着鱼缸的 N 负荷增加而显著升高, 始终维持在较低的水平, 其中 TAN 在 $0.22 \sim 1.38 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 范围内波动, 平均 $0.78 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $1.02 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (图 2-b); NO_2^- -N 浓度在 $0.04 \sim 0.21 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 范围内波动, 平均 $0.10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $0.16 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (图 2-c)。各单元中 NO_3^- -N 浓度变化比较一致, 前 18 d 从 $6.84 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 持续上升到 $69.77 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$; 随后由于反硝化过程的介入, 在 $30 \sim 90 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 间变化(图 2-d), 平均 $50.80 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。此外, 2 个硝化单元的 pH 维持在 $6.96 \sim 7.52$, ALK 在 $40.47 \sim 97.25 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ (图 2-e), 保证了良好的硝化效率。2 个硝化单元的 TAN 平均去除速率为 $20.05 \text{ g}\cdot\text{d}^{-1}$, 最高达 $83.55 \text{ g}\cdot\text{d}^{-1}$ 。即使是在第 74 d 发生厌氧消化单元的进水单向阀损坏, 微滤机

进水 TAN 和 NO_2^- -N 急剧上升至 $1.80 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $1.37 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (图 2-b ~ c), 硝化单元出水和鱼缸水质仍然维持稳定, 且运行很快恢复正常, 表明本循环回路具有较好的抗冲击负荷能力。

2.1.2 第二回路-反硝化作用 反硝化单元是第二处理回路的核心单元, 以微滤机反冲洗产生的细小污泥作为碳源在缺氧条件下把 NO_3^- -N 转化为 N_2O 和 N_2 而除去。实验前期(第 1 ~ 20 天)系统中硝酸盐水平低, 反硝化过程未介入。第 21 ~ 85 天, 反硝化单元的 DO 维持在 $0.27 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 以下, COD 与 NO_3^- -N 的比值平均为 7.9, NO_2^- -N 在 $0.04 \sim 1.76 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 波动, 无明显的亚硝酸盐积累(图 3-a~b)。反硝化单元进、出水的平均 ALK 分别为 66.84 和 $173.7 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (图 3-c)。计算得反

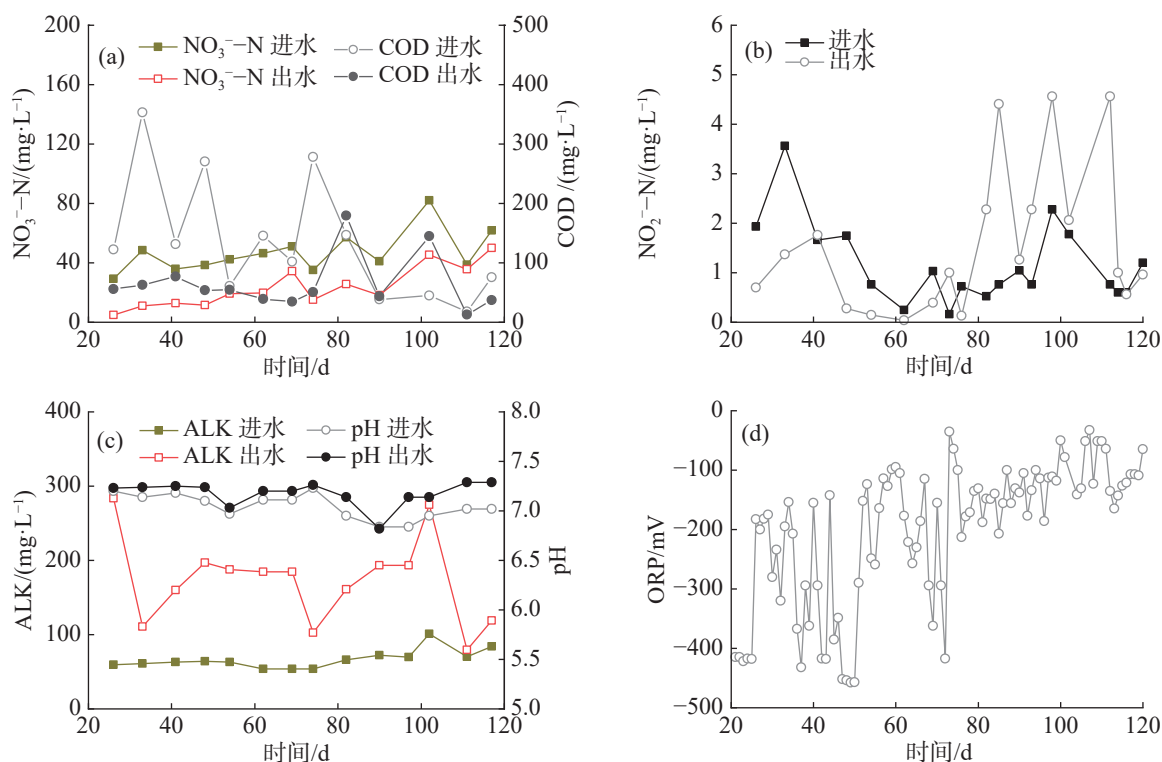


图3 反硝化单元中 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 与 COD(a)、 $\text{NO}_2^- \text{-N}$ (b)、ALK 与 pH(c)、ORP(d) 的浓度变化

硝化过程每天可为 RAS 补充 $49.61 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的碱度。随着鱼长大和喂食量增加,进水中 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 负荷由 $21.02 \text{ g}\cdot\text{d}^{-1}$ 逐渐增加到 $59.13 \text{ g}\cdot\text{d}^{-1}$,平均负荷 $30.76 \text{ g}\cdot\text{d}^{-1}$,平均浓度 $42.72 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$;而出水的 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 仍维持在 $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 以下,平均浓度 $17.13 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (图 3-a)。因此, $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 的平均去除率为 59.9%,平均 N 去除速率为 $88.68 \text{ g}\cdot(\text{m}^3\cdot\text{d})^{-1}$,最高去除速率 $176.38 \text{ g}\cdot(\text{m}^3\cdot\text{d})^{-1}$ 。从 86 d 开始,由于系统调试,进水 COD 值显著降低, $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 浓度则从 $0.13 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 上升到 $4.14 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,且此后一直维持在 $1.26 \sim 4.45 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的高水平,表明亚硝酸盐还原效率降低,反硝化不完全。第 86 天,反硝化单元内产生大量浮泥,导致出水浑浊和微滤机堵塞。浮泥的产生可能是由于混合不够均匀,水力停留时间过长,底部污泥堆积导致反硝化单元内 N_2 带动污泥上浮。为此,做了以下调整:(1)将底部部分污泥排入厌氧消化单元;(2)将进水流量由 $0.27 \text{ m}^3\cdot\text{h}^{-1}$ 降低至 $0.03 \text{ m}^3\cdot\text{h}^{-1}$,延长进水时间,防止进水水流带动污泥上浮;(3)在满足缺氧条件下,增大微滤机的反冲洗频率、提高进水量,使反硝化单元的水力停留时间由 8.76 h 降低至 4.93 h。经过为期 16 d 的运行调整,浮泥问题显著改善。然而,由于微滤机反冲洗频率增加,导致反冲洗水

的污泥浓度降低, COD 与 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 比值低于 3~6,不利于 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 完全转化为 N_2 ^[16]。

ORP 是指示反硝化单元运行情况的重要参数之一,它反映了单元内的氧化物水平(如 O_2 和 NO_3^-),可用于判定反硝化进行的程度。当 ORP 在 $0 \sim -200 \text{ mV}$ 内,表示发生一步反硝化,即 $\text{NO}_3^- \text{-N} \rightarrow \text{NO}_2^- \text{-N}$;当 $\text{ORP} < -200 \text{ mV}$ 时,发生完全反硝化,即 $\text{NO}_2^- \text{-N} \rightarrow \text{N}_2$;当 $\text{ORP} < -400 \text{ mV}$ 时,则容易产生有毒的 H_2S ^[11]。第 21~85 天,ORP 主要在 $-200 \sim -450 \text{ mV}$ 波动(图 3-d),表明反硝化单元内发生完全反硝化,脱氮效果稳定。第 86~121 天,ORP 在 $-50 \sim -200 \text{ mV}$ 波动(图 3-d),表示反硝化单元为一步反硝化,出现亚硝酸盐积累现象,这与碳源供应不足有关。

2.1.3 第三回路-厌氧消化作用 第三回路通过厌氧消化过程实现颗粒物的稳定化和减量化,系统运行期间颗粒物全部进入消化单元,无污泥外排。消化单元每天约 60 L 上清液溢出(占系统总水量的 2.66%),此为系统除蒸发和漏损之外的日水量损失。该上清液中 TAN 的平均浓度为 $7.84 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,最高 $21.62 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,TN 为 $20.99 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,TP 为 $16.34 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,COD 为 $60.02 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (表 2)。试验结束后消化单元内仅有少量污泥残留,稳定

表 2 厌氧消化单元上清液的每月平均水质参数 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$

参数	0~30 d	31~60 d	61~90 d	91~121 d	0~121 d
TAN	3.07	6.75	7.80	15.2	7.84
TN	27.06	16.86	15.06	23.01	20.99
TP	7.13	15.59	19.36	26.52	16.34
COD	34.96	50.96	78.73	88.63	60.02

化和减量化效果较好。

2.2 系统表现

2.2.1 鱼类生长 本三回路式 RAS 主要评估系统的水质保障能力, 故选择成年罗非鱼进行试验, 养殖参数见表 3。所放养的 100 尾罗非鱼初始平均质量 522 g, 每日饲料投喂量由实验初期鱼体质量的 0.5% 逐渐增加至鱼体质量的 1%~2%。经过 121 d 的饲养后, 罗非鱼平均体质量为 970 g, 养殖密度达到 $107.7 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$, 存活率为 100%, 月平均

表 3 本三回路式 RAS 罗非鱼 121 d 的养殖参数

参数名称	结果
初始平均鱼体质量/g	522
结束平均鱼体质量/g	970
最终养殖密度/ $(\text{kg}\cdot\text{m}^{-3})$	107.7
饲料转化率 FCR/%	1.74
存活率/%	100
每日换水率/%	<3
养殖耗水量/ $(\text{L}\cdot\text{kg}^{-1})$	162.1
水体交换速率/ $(\text{L}\cdot\text{kg}^{-1})$	92.9

饲料转化率(FCR)在 1.2~1.99 之间, 平均值 1.74 (表 3)。

2.2.2 养殖耗水量 本三回路式 RAS 的总水量为 2.255 m^3 , 其中鱼缸的养殖水量为 0.9 m^3 。厌氧消化单元每日溢流量约 $60 \text{ L}\cdot\text{d}^{-1}$, 占系统总水量的 2.66%, 养殖水量的 6.67%, 加上蒸发、渗漏和鱼类捕捞等造成的水量损失, 每日换水率约为系统总水量的 3%。该系统的养殖耗水量(以生产 1 kg 鱼所需的耗水量计算)为 $162.1 \text{ L}\cdot\text{kg}^{-1}$ (表 3), 水体交换速率(以投加 1 kg 饲料所需的耗水量计算)为 $92.9 \text{ L}\cdot\text{kg}^{-1}$ (表 3)。

2.2.3 鱼缸水质 实验期间, 鱼缸的水温在 $21.5\sim 31.7\text{ }^{\circ}\text{C}$ 之间波动, pH 维持在 6.92~7.39, DO 在 $4.00 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 以上; TAN 和 $\text{NO}_2^{-}\text{-N}$ 的平均浓度分别为 $1.05 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $0.16 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 最高浓度分别为 $1.60 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $0.30 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (表 4), 满足水产养殖水质要求^[17]。 $\text{NO}_3^{-}\text{-N}$ 浓度在前 20 d 内呈现缓慢上升趋势, 之后稳定在 $55 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 左右(图 2-d), 其浓度远低于淡水鱼类的耐受阈值($96 \text{ h LC}_{50s} > 1000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)和养殖水质控制要求的 $500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ^[14,18]。磷酸盐浓度呈缓慢增加趋势, 由 $1.21 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 到 $17.12 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (表 4)。

2.3 N、P 平衡 N、P 质量平衡计算和分析结果如图 4 所示。饲料是 RAS 中 N 和 P 的唯一来源。试验过程共投入 77.91 kg 饲料, 其中, 含有 3.62 kg N 和 1.40 kg P。

根据文献资料计算得到, 通过饲料进入系统

表 4 鱼缸的水质参数

参数	TAN/ $(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$	$\text{NO}_2^{-}\text{-N}/(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$	$\text{NO}_3^{-}\text{-N}/(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$	pH	T/ $^{\circ}\text{C}$	EC/ $(\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1})$	DO/ $(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$	$\text{PO}_4^{3-}\text{-P}/(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$
最小值	0.65	0.05	6.84	6.92	21.5	0.37	4.00	1.21
最大值	1.60	0.30	85.66	7.39	31.7	1.12	7.08	17.12
平均值	1.05	0.16	47.51	7.17	28.5	0.77	5.32	9.91

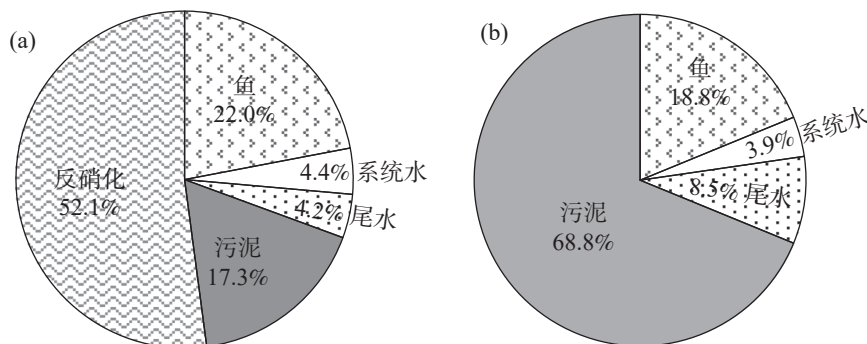


图 4 本三回路式 RAS 中的 N(a)、P(b) 平衡分析

的 3.62 kg N 中, 约 22%(0.80 kg)被鱼同化^[19], 4.4%(0.16 kg)以无机氮的形式(如 NO_3^- -N、TAN)残留在水体中, 4.2%(0.15 kg)主要以 TAN 的形式从厌氧消化单元排出, 17.3%(0.63 kg)保留在污泥中, 剩余 52.1%(1.89 kg)的 N 则通过反硝化以 N_2 形式排出系统外(图 4-a)。进入系统的 P 为 1.40 kg, 约 18.8%(0.26 kg)被鱼转化利用^[19], 3.9%(0.05 kg)以磷酸盐的形式残留在水体中, 68.8%(0.96 kg)的 P 以污泥的形式存在于消化单元中, 剩余 8.5%(0.12 kg)的 P 通过溢流从消化单元排出系统(图 4-b)。

2.4 微生物群落组成及功能细菌分布 通过高通量测序进行微生物群落分析, 在门水平上的细菌

群落结构分布如图 5-a, 其中相对丰度小于 0.5% 的菌群被归为“其他”。变形菌门和拟杆菌门是反硝化的主要门, 包含许多与反硝化过程相关的细菌^[20], 其他门包括绿弯菌门(Chloroflexi)、梭杆菌门(Fusobacteriota)、厚壁菌门(Firmicutes)、放线菌门(Actinobacteriota)、酸杆菌门(Acidobacteriota)等参与了硝化、反硝化和厌氧消化过程。结果表明, 绿弯菌门(Chloroflexi)、变形菌门(Proteobacteria)和拟杆菌门(Bacteroidota)为硝化单元、反硝化单元和厌氧消化单元中的优势门, 相对丰度分别为 5.81%~53.24%、11.72%~37.45% 和 14.10%~30.32%。而硝化螺旋菌门(Nitrospirota)仅在硝化单元出现, 相对丰度为 2.07%。

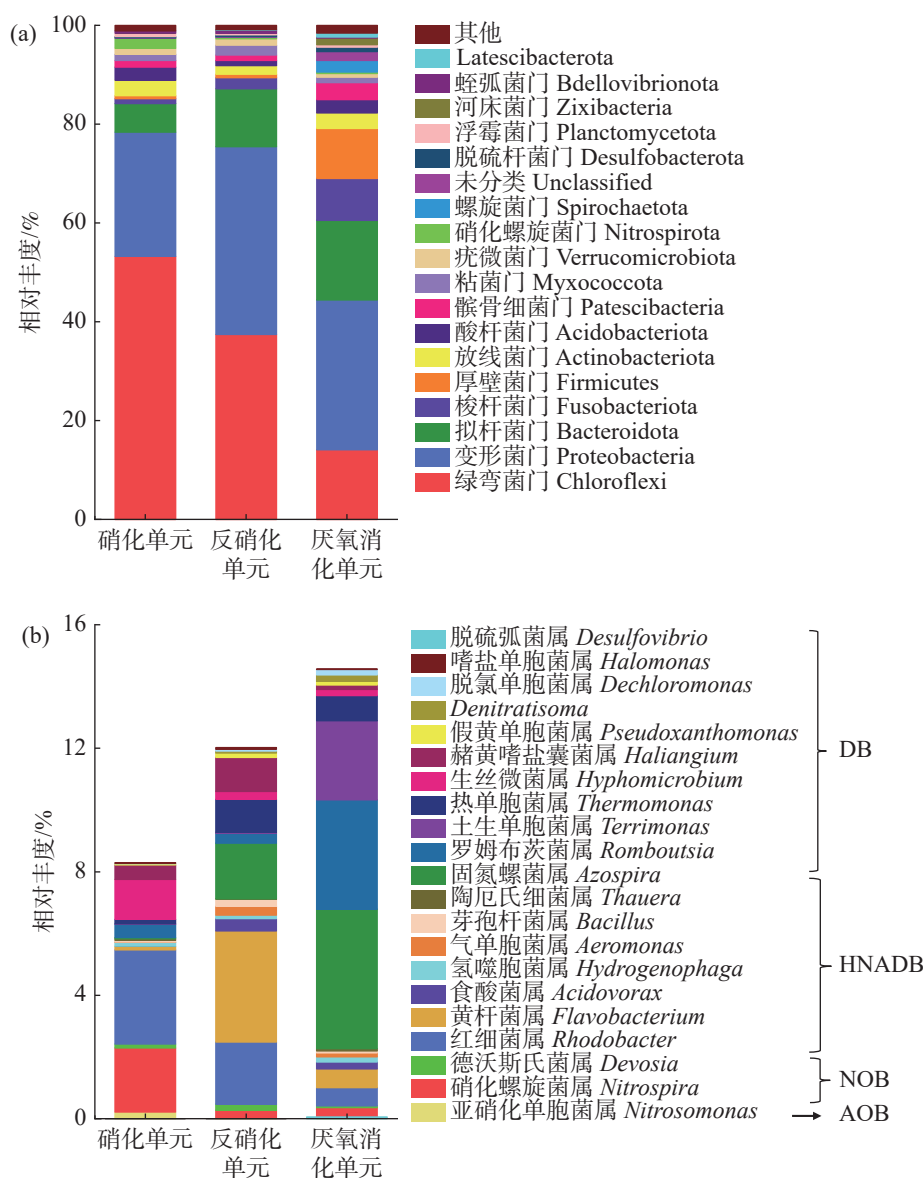


图 5 本三回路式 RAS 中细菌在门水平(a)和属水平(b)的群落组成分析

DB: 反硝化细菌; HNADB: 异养硝化好氧反硝化细菌; NOB: 亚硝酸盐氧化细菌; AOB: 氨氧化细菌。

各处理单元中,与氮代谢相关的功能菌属的结构分布如图 5-b 所示,其中硝化螺旋菌参与硝化作用;红细菌属为异养硝化好氧反硝化菌(HNADB),可参与异养硝化和好氧反硝化作用^[21];黄杆菌属和固氮菌属是经典的反硝化细菌,可促进高效反硝化体系的形成^[22]。在硝化单元、反硝化单元和厌氧消化单元中,分别有 8.29%、12.02% 和 14.62% 的菌属与氮代谢相关。在硝化单元中,与氮代谢相关的菌属有硝化螺旋菌属(*Nitrospira*)、德沃斯氏菌属(*Devosia*)、亚硝化单胞菌属(*Nitrosomonadaceae*)、红细菌属(*Rhodobacte*)、黄杆菌属(*Flavobacterium*)和氢噬胞菌属(*Hydrogenophaga*)等,其中硝化螺旋菌属、红细菌属和生丝微菌属(*Hyphomicrobium*)为优势菌属,相对丰度分别为 2.07%、3.04% 和 1.30%。反硝化单元中与氮代谢相关的优势菌属分别为黄杆菌属、红细菌属和固氮螺菌属(*Azospira*),相对丰度分别为 3.60%、2.01% 和 1.80%。厌氧消化单元中与氮代谢相关的优势菌属分别为固氮螺菌属、罗姆布茨菌属(*Romboutsia*)和土生单胞菌属(*Terrimonas*),相对丰度分别为 4.52%、3.54% 和 2.56%。罗姆布茨菌属和土生单胞菌属同样参与了反硝化过程。此外,罗姆布茨菌属和土生单胞菌属可分别将单糖和淀粉进一步水解为 VFAs,为反硝化微生物提供容易利用的碳源^[22]。

3 讨论

3.1 罗非鱼生长情况 罗非鱼是海南最主要的淡水养殖鱼类(约占 90%),在传统大塘养殖模式下,养殖密度仅约 $4.5 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$,占地面积大,生长过程不可控,尾水排放对周边水环境影响严重,产业发展受到制约。与 Shnel 等^[23]提出的最大养殖密度为 $61.8 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$ 的新型 RAS 相比,本三回路式 RAS 技术实现了 $107.7 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$ 的养殖密度,鱼的存活率为 100%,FCR 为 1.74。试验后期较高的 FCR(1.99)可能与罗非鱼在此体质量时的生长特性有关^[24-25]。Oliveira 等^[25]绘制的罗非鱼生长曲线表明,罗非鱼体质量超过 200~300 g 后,生长呈稳定状态,并不随喂食量的增加而明显增加。同时, Martins 等^[24-25]的研究表明,在低换水速率的 RAS 中,个体较大的罗非鱼(体质量 200~300 g)会出现生长迟缓的趋势,表现出低生长速率和高饲料转化率

(FCR 高达 2.12),而个体较小的罗非鱼 [$(81.4\pm 21.0)\text{g}$] 生长得更好^[25]。本研究中的罗非鱼个体更大,但 FCR 值反而低于其他研究结果,说明系统具有较高的养殖效率。

3.2 系统性能分析 该三回路式 RAS 在传统的单回路 RAS 基础上增加了反硝化和厌氧消化单元,从而实现高效水循环和鱼粪污泥处理。在水产养殖中,鱼粪和悬浮固体(SS)的高效分离是 RAS 中的关键环节,可大大减轻鱼缸和硝化单元中的碳(C)、N 负荷,降低系统的需氧量,还可为养殖生物提供优越的水体环境。根据文献数据,养殖系统中 TAN 和 NO_2^- -N 的浓度宜控制在 5.0(pH<8.0 时)和 $0.3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 以下^[18,26]。传统 RAS 中的硝化单元一般采用一级流化床反应器,填料填充率小于 36%^[17],单位体积 TAN 去除率为 $70\sim 270 \text{ g}\cdot(\text{m}^3\cdot\text{d})^{-1}$ ^[17]。在本 RAS 中,硝化单元中填料的单位体积 TAN 去除率达 $381 \text{ g}\cdot(\text{m}^3\cdot\text{d})^{-1}$,其良好的硝化效率可归因于硝化单元中流化床反应器的二级设计、较高的填料填充率(60%)、充足的曝气($\text{DO}>5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)、合适的 pH 和 ALK 控制。试验过程中,硝化单元进水的 TN 和 NO_3^- -N 总是略高于硝化单元出水,可能是由于硝化单元内发生了脱氮作用,而硝化单元中含有好氧反硝化细菌的微生物群落分析结果证实了这一猜测。

第二处理回路的反硝化过程可减少为维持 NO_3^- -N 水平而需要的水体交换量,产生的 OH⁻还可为系统补充碱度^[16,27]。但反硝化过程需要外加碳源如甲醇、醋酸钠或糖蜜等,导致运行成本增加^[28]。本研究以微滤机反冲洗产生的细小污泥作为碳源取得了成效,通过资源化利用降低系统的 C 排放并节约运行成本^[29-30]。在相似的 COD 与 NO_3^- -N 比值条件下,Suhr 等^[31]利用淡水虹鳟鱼商业 RAS 水解污泥的上清液作为反硝化碳源,其脱氮速率为 $124.8 \text{ g}\cdot(\text{m}^3\cdot\text{d})^{-1}$ 。本研究中污泥未经过水解过程直接使用,而硝酸盐的去除速率与之相当。因此,合理调控污泥进入反硝化单元和排入厌氧消化单元的比例,维持合适的 COD 与 NO_3^- -N 的比值是系统实现高效、稳定反硝化脱氮的关键。反硝化过程产生的 ALK 与石灰石一起有效弥补了硝化作用和鱼呼吸作用所造成的 ALK 损失和 pH 下降,减少了外加碱性化学品的用量和成本,为 RAS 的稳定运行提供了有力保障。

第三处理回路的厌氧消化过程可实现鱼粪污泥的稳定化和减量化,实验结束后消化单元残留的少量污泥具有较高 N、P 含量,且常含磷灰石和鸟粪石等矿物质,大规模生产时有望作为缓释肥被回收利用^[32]。该 RAS 每天仅有约 7% 的尾水从厌氧消化单元溢出,大大减轻了尾水处理的压力和对周边水环境的影响。而溢出的尾水含有植物生长所需的 N、P 等营养物质和多种微量元素,可作为水培蔬菜的营养液被进一步利用。

3.3 N、P 平衡分析 本三回路式 RAS 具有更低的 N 残留,且以水体交换形式产生的 N 排放量 ($1.94 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 饲料)比传统的 RAS 低 21 倍^[13, 26]。反硝化去除 52.1% 的 N 则略低于文献 [10 - 11] 的报道 (60% ~ 70%)。上述结果与反硝化单元可处理的水量有关,而试验后期 (86 ~ 102 d) 反硝化单元发生污泥上浮现象对此有较大影响。如正常运行,则可实现 59.7% 的 N 去除。

据报道,饲料中只有 15% ~ 40% 的 P 被鱼类同化^[19],剩下的则被排到水体中。虽然较高浓度的磷酸盐并不对鱼类造成伤害,但排放到环境中会造成水体富营养化等问题。本研究中,经厌氧消化处理后,约 8.5% 的 P 通过溢流排出系统,低于文献报道的 22.9%^[23]; 剩余 68.8% 的 P 以污泥的形式存在于消化单元中。此外,该三回路式 RAS 的水体交换速率为 $92.9 \text{ L} \cdot \text{kg}^{-1}$,远小于流水式养殖、半封闭养殖的水体交换速率 (v) (流水式养殖 $v > 50 \text{ m}^3 \cdot \text{kg}^{-1}$,半封闭养殖 v 为 $1 \sim 50 \text{ m}^3 \cdot \text{kg}^{-1}$)^[5],也低于常规 RAS ($0.1 \sim 1 \text{ m}^3 \cdot \text{kg}^{-1}$) 和实验室规模 RAS (生产 1 kg 鱼需要数百到数千升水)^[5, 19],显示出优越的水资源利用效率。

3.4 微生物群落分析 在硝化单元、反硝化单元和厌氧消化中,共检测到 21 个与氮代谢相关的菌属 (相对丰度大于 0.05%), 包括自养硝化菌属 (AOB 和 NOB), 异养硝化好氧反硝化菌属和反硝化菌属 (DB); AOB 和 NOB 主要富集在硝化单元中; HNADB 具有异养硝化好氧反硝化的能力^[21], 主要包括红细菌属、黄杆菌属、氢噬胞菌属和食酸菌属 (*Acidovorax*) 等, 该类菌属在硝化单元、反硝化单元和厌氧消化 3 个处理单元中均有富集。表明硝化单元中 TAN 和 NO_2^- -N 的高效去除是 AOB、NOB 和 HNADB 共同作用的结果。同时,各处理单元中的脱氮作用也与 HNADB 密切相

关。在脱氮过程中, DB 也发挥着重要作用, 主要包括罗姆布茨菌属、土生单胞菌属和热单胞菌属 (*Thermomonas*) 等, 该类菌属主要富集在反硝化单元和厌氧消化单元中。值得关注的是, 硝化单元中同样存在着 DB, 相对丰度为 2.43%, 因此, 存在弱脱氮效果。

4 结 论

(1) 本研究通过引入反硝化单元和厌氧消化单元组成三回路式 RAS, 达到养殖水循环利用、鱼粪污泥减量化、稳定化和控制 NO_3^- -N 的目的, 实现每日约 93% 的养殖水体循环率。

(2) 利用微滤机反冲洗的细小污泥作为反硝化碳源可行, 反硝化运行相对稳定, 有效控制 NO_3^- -N 水平, 节约运行成本。

(3) 共 21 个菌属参与了 N 代谢, 包括红细菌属、黄杆菌属和固氮螺旋菌属等。其中红细菌属和黄杆菌属等异养硝化好氧反硝化菌属 HNADB 在硝化单元被发现, 表明硝化单元中存在弱脱氮作用。

(4) 饲料中的 N、P 仅有不到 40% 被鱼同化, 其余作为污染物被去除, 是巨大的资源浪费。因此, C、N、P 资源回收利用途径研究具有重要意义。

参考文献:

- [1] CALONE R, PENNISI G, MORGENSTERN R, et al. Improving water management in European catfish recirculating aquaculture systems through catfish-lettuce aquaponics[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 687: 759 - 767.
- [2] 张文博, 马旭洲. 2000 年来中国水产养殖发展趋势和方向[J]. *上海海洋大学学报*, 2020, 29(5): 661 - 674.
- [3] 刘国锋, 徐跑, 吴霆, 等. 中国水产养殖环境氮磷污染现状及未来发展思路[J]. *江苏农业学报*, 2018, 34(1): 225 - 233.
- [4] HU Z, LEE J W, CHANDRAN K, et al. Nitrous oxide (N_2O) emission from aquaculture: a review[J]. *Environmental Science & Technology*, 2012, 46(12): 6470 - 6480.
- [5] MARTINS C I M, EDING E H, VERDEGEM M C J, et al. New developments in recirculating aquaculture systems in Europe: A perspective on environmental sustainability[J]. *Aquacultural Engineering*, 2010, 43(3): 83 - 93.
- [6] DAUDA A B, AJADI A, TOLA-FABUNMI A S, et al. Waste production in aquaculture: sources, components

- and managements in different culture systems[J]. *Aquaculture and Fisheries*, 2019, 4(3): 81 – 88.
- [7] YOGEV U, ATARI A, GROSS A. Nitrous oxide emissions from near-zero water exchange brackish recirculating aquaculture systems[J]. *Science of the Total Environment*, 2018, 628/629: 603 – 610.
- [8] QI W, ZHU S, SHITU A, et al. Low concentration peroxymonosulfate and UVA-LED combination for *E. coli* inactivation and wastewater disinfection from recirculating aquaculture systems[J]. *Journal of Water Process Engineering*, 2020, 36: 101362.
- [9] SHITU A, LIU G, MUHAMMAD A I, et al. Recent advances in application of moving bed bioreactors for wastewater treatment from recirculating aquaculture systems: a review[J]. *Aquaculture and Fisheries*, 2022, 7(3): 244 – 258.
- [10] TAL Y, SCHREIER H J, SOWERS K R, et al. Environmentally sustainable land-based marine aquaculture[J]. *Aquaculture*, 2009, 286(1/2): 28 – 35.
- [11] YOGEV U, SOWERS K R, MOZES N, et al. Nitrogen and carbon balance in a novel near-zero water exchange saline recirculating aquaculture system[J]. *Aquaculture*, 2017, 467: 118 – 126.
- [12] LUO G, HOU Z, TIAN L, et al. Comparison of nitrate-removal efficiency and bacterial properties using PCL and PHBV polymers as a carbon source to treat aquaculture water[J]. *Aquaculture and Fisheries*, 2020, 5(2): 92 – 98.
- [13] SUZUKI Y, MARUYAMA T, NUMATA H, et al. Performance of a closed recirculating system with foam separation, nitrification and denitrification units for intensive culture of eel: towards zero emission[J]. *Aquacultural Engineering*, 2003, 29(3/4): 165 – 182.
- [14] LETELIER-GORDO C O, LARSEN B K, DALSGAARD J, et al. The composition of readily available carbon sources produced by fermentation of fish faeces is affected by dietary protein: energy ratios[J]. *Aquacultural Engineering*, 2017, 77: 27 – 32.
- [15] APHA. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater[M]. 23ed Washington: American Public Health Association (APHA), American Water Works Association (AWWA) and Water Environment Federation (WEF), 2017.
- [16] VAN RIJN J, TAL Y, SCHREIER H J. Denitrification in recirculating systems: Theory and applications[J]. *Aquacultural Engineering*, 2006, 34(3): 364 – 376.
- [17] SUHR K I, PEDERSEN P B. Nitrification in moving bed and fixed bed biofilters treating effluent water from a large commercial outdoor rainbow trout RAS[J]. *Aquacultural Engineering*, 2010, 42(1): 31 – 37.
- [18] COLT J. Water quality requirements for reuse systems[J]. *Aquacultural Engineering*, 2006, 34(3): 143 – 156.
- [19] PIEDRAHITA R H. Reducing the potential environmental impact of tank aquaculture effluents through intensification and recirculation[J]. *Aquaculture*, 2003, 226(1/2/3/4): 35 – 44.
- [20] XIAO P, ZHOU J, LUO X, et al. Enhanced nitrogen removal from high-strength ammonium wastewater by improving heterotrophic nitrification-aerobic denitrification process: insight into the influence of dissolved oxygen in the outer layer of the biofilm[J]. *Journal Of Cleaner Production*, 2021, 297: 126658.
- [21] LAN M, KANG Y, WANG J, et al. *In-situ* enrichment and application of heterotrophic nitrification-aerobic denitrification bacteria in membrane aerated biofilm reactor[J]. *Chemosphere*, 2022, 309: 136643.
- [22] WU Q, ZOU D, ZHENG X, et al. Effects of antibiotics on anaerobic digestion of sewage sludge: Performance of anaerobic digestion and structure of the microbial community[J]. *The Science of the Total Environment*, 2022, 845: 157384.
- [23] SHNEL N, BARAK Y, EZER T, et al. Design and performance of a zero discharge tilapia recirculating system[J]. *Aquacultural Engineering*, 2002, 26(3): 191 – 203.
- [24] MARTINS C I M, OCHOLA D, ENDE S S W, et al. Is growth retardation present in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* cultured in low water exchange recirculating aquaculture systems[J]. *Aquaculture*, 2009, 298(1/2): 43 – 50.
- [25] OLIVEIRA Z A, DE OLIVEIRA C L, DE OLIVEIRA S N, et al. Growth curves by *Gompertz nonlinear* regression model for male and female Nile tilapias from different genetic groups[J]. *Aquaculture*, 2019, 511: 734243 – 734252.
- [26] VAN RIJN J. Waste treatment in recirculating aquaculture systems[J]. *Aquacultural Engineering*, 2013, 53: 49 – 56.
- [27] XU Z, DAI X, CHAI X. Effect of different carbon sources on denitrification performance, microbial community structure and denitrification genes[J]. *Science of the Total Environment*, 2018, 634: 195 – 204.
- [28] HAMLIN H J, MICHAELS J T, BEAULATON C M, et al. Comparing denitrification rates and carbon sources in commercial scale upflow denitrification biological filters in aquaculture[J]. *Aquacultural Engineering*, 2008, 38(2): 79 – 92.
- [29] LETELIER-GORDO C O, HUANG X, AALTO S L, et al. Activated sludge denitrification in marine recirculating aquaculture system effluent using external and internal carbon sources[J]. *Aquacultural Engineering*, 2020, 90: 102096.
- [30] VON AHNEN M, DALSGAARD J, PEDERSEN P B. Effect of different C/N ratios and hydraulic retention times on denitrification in saline, recirculating aquacul-

- ture system effluents[J]. *Aquacultural Engineering*, 2021, 94: 102170.
- [31] SUHR K I, PEDERSEN P B, ARVIN E. End-of-pipe denitrification using RAS effluent waste streams: Effect of C/N-ratio and hydraulic retention time[J]. *Aquacultural Engineering*, 2013, 53: 57 – 64.
- [32] KATAKI S, WEST H, CLARKE M, et al. Phosphorus recovery as struvite: recent concerns for use of seed, alternative Mg source, nitrogen conservation and fertilizer potential[J]. *Resources, Conservation and Recycling*, 2016, 107: 142 – 156.

Development and application of a three-loop recirculating freshwater aquaculture system

PAN Guoying¹, WEN Chang¹, HUANG Weiwei¹, YAO Xuemei²,
DONG Lili¹, ZHOU Meiyang¹, YANG Fei¹

(1. College of Ecology and Environment, Hainan University, Haikou, Hainan 570228;
2. College of Oceanology, Hainan University, Haikou, Hainan 570228, China)

Abstract: In order to meet the increasing demand for high-quality fish protein and environmental protection requirements, a pilot intensive three-loop recirculating freshwater aquaculture system (RAS) was developed in Qionghai, Hainan province, China. Backwashing water from a microfilter is used as the carbon source for the denitrification process, and an operation mode is established to ensure the treatment of water quality and fish sludge to comply with the requirements for fish growth and pollution control. Tilapia (*Oreochromis mossambicus*) was cultured in the pilot three-loop freshwater RAS for 121 days in an aquaculture experiment, and the fish growth, water quality and microbial communities in the system were observed and analyzed. The results showed that the tilapia had a survival rate of 100%, with the stocking density and the feed conversion ratio (FCR) being 107.7 kg·m⁻³ and 1.74, respectively. The average concentrations of total ammonia (TAN), nitrite (NO₂⁻-N) and nitrate (NO₃⁻-N) were 0.95, 0.15 and 43.01 mg·L⁻¹ respectively. The volume for daily water drainage was 2.66% of the total water volume in the system, and 6.67% of the water volume in the fish tank. No fish sludge was discharged throughout the experiment, and only a small amount of sludge existed in the anaerobic digestion unit by the end of the experiment. Microbial community analysis showed that a total of 21 genera of microorganism were involved in nitrogen metabolism, including *Rhodobacte*, *Flavobacterium* and *Azospira*. These results implicated that the recirculating aquaculture system provides a potentially sustainable and ecological aquaculture mode for freshwater fish such as tilapia.

Keywords: recirculating aquaculture system; three-loop treatment; denitrification; carbon source; anaerobic digestion

(责任编辑:潘学峰)