

doi: 10.3969/j. issn. 2095 - 0780. 2014. 02. 006

6种改性剂对生物膜附着基质亲水性及其虾池挂膜效果的影响

陈亮亮^{1,2}, 董宏标¹, 张家松¹, 段亚飞¹, 李卓佳¹, 冯震华¹, 文国樑¹

(1. 中国水产科学研究院南海水产研究所, 农业部南海渔业资源开发利用重点实验室, 广东 广州 510300;

2. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306)

摘要: 文章旨在研究提高生物膜附着基质亲水性能、缩短挂膜时间的相关改性处理方法, 为该项技术应用于水产养殖废水处理工艺提供相关数据参考。研究选择筛绢网(40目)作为生物膜附着基质, 选取氢氧化钠(NaOH)、氢氧化钙[Ca(OH)₂]、盐酸(HCl)、高锰酸钾(KMnO₄)、重铬酸钾(K₂Cr₂O₇)和无水乙醇(C₂H₅OH)共6种试剂作为试验改性剂。通过基质吸附芽孢杆菌(*Bacillus* spp.)数量和对虾养殖池内挂膜效果来评价6种改性剂的改性效果。结果表明, 10% HCl处理6 h后的基质亲水性更好, 虾池挂膜效果最优, 为该试验条件下生物膜附着基质亲水性改性的最适改性剂。

关键词: 生物膜附着基质; 亲水性; 改性剂; 挂膜效果

中图分类号: S 955.7

文献标志码: A

文章编号: 2095 - 0780 - (2014) 02 - 0042 - 06

Effect of six modifiers on hydrophilicity of biofilm-substrate and membrane-hanging result in prawn pond

CHEN Liangliang^{1,2}, DONG Hongbiao¹, ZHANG Jiasong¹, DUAN Yafei¹,
LI Zhuojia¹, FENG Zhenhua¹, WEN Guoliang¹

(1. Key Lab of South China Sea Fishery Resources Exploitation & Utilization, Ministry of Agriculture; South China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Guangzhou 510300, China;
2. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: We discussed the correlate parameters of modifiers enhancing the hydrophilicity of the biofilm-substrate and promoting the mature of the membrane, which may provide references for their application in aquaculture wastewater treatment process. The silk net (aperture 0.425 mm) was chosen as the biofilm-substrate and six modifiers [NaOH, Ca(OH)₂, HCl, KMnO₄, K₂Cr₂O₇, C₂H₅OH] were tested as surface treatment reagents of substrate. The amount of *Bacillus* spp. adhered to substrate and the membrane-hanging effect in aquaculture wastewater provided some key evaluation indice for the six modifiers. The results show that compared with the other treatments, the substrate treated by 10% HCl for 6 h obtained the best hydrophilic ability and better membrane-hanging effect.

Key words: biofilm-substrate; hydrophilic ability; modifier; membrane-hanging effect

随着中国水产养殖业的迅速发展, 水产养殖总量连续多年位居世界第一。与此同时, 水产养殖业

已经由传统的低密度、粗放式、低投入和低产出模式, 向高密度、集约化、高投入和高产出模式转

收稿日期: 2013-12-07; 修回日期: 2014-01-11

资助项目: 国家科技支撑计划项目(2011BAD13B10); 现代农业(虾)产业技术体系建设专项(CARS-47); 公益性行业(农业)科研专项(201103034); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金(中国水产科学研究院南海水产研究所)资助项目(2012YD02); 广东省海洋渔业科技推广专项(A201101E02, A201208H01)

作者简介: 陈亮亮(1988-), 男, 硕士研究生, 从事对虾集约化养殖技术研究。E-mail: chenliangbj@163.com

通信作者: 张家松(1971-), 男, 博士, 副研究员, 从事水产养殖技术研究。E-mail: jiasongzhang@hotmail.com

变。水产养殖在为人们提供大量优质蛋白来源、创造巨大经济效益的同时,也带来了无法忽视的环境问题,尤其是养殖废水大量排放导致近岸水体赤潮频繁爆发,严重影响近海生态系统的平衡和稳定,也制约着水产养殖业的健康可持续发展^[1-3]。为此,提高养殖系统的水质自调控能力,尽量减少养殖废水的排放就显得尤为迫切。

近年来,生物膜附着基质——生物膜技术以其处理水效果好、提高饲料转换效率以及降低对虾相容密度等优点,在对虾集约化养殖中受到较多关注^[4-6]。为了增加生物膜附着基质表面亲水性、提高挂膜效率,需要对现有生物膜附着基质进行必要的表面改性处理。这其中较为有名的为美国梅瑞地安水生科技公司研制的“阿科蔓生态基”,该生物膜附着基表面经各种复杂的特殊处理,表面呈现微A/O环境,尤其适宜各类细菌及藻类的附着、生长和繁殖^[7]。但阿科蔓生态基价格较为昂贵,极大限制了其在对虾养殖池塘中的广泛应用,但是其对生物膜附着基质进行表面改性处理的做法却值得借鉴。目前对生物膜附着基质的表面改性处理方法通常包括吸附法、包埋法、交联法和共价结合法等^[8],其中,吸附法具有制备简单、反应温和、重复利用性好等优点,可以只对基质本身进行改性处理,能够避免对微生物的组织结构、代谢活性和细胞酶活等产生不可逆的损伤^[9],更重要的是操作使用简便,改性成本低廉,便于在水产养殖尤其是对虾集约化养殖系统中的应用。

文章利用6种改性试剂对筛绢网这种附着基质进行亲水性改性处理,比较其处理前后的亲水性能及对虾养殖池内挂膜效果的改变,最终获得适用于该研究条件下的生物膜附着基质亲水性改性处理工艺,以期为生物膜附着基质在对虾养殖系统中的应用提供必要的参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料

以40目尼龙筛绢网(孔径0.425 mm)作为生物膜附着基质,将其裁剪成A: 2 cm×20 cm和B: 20 cm×30 cm 2种规格。使用前用蒸馏水冲去表面浮尘,晾干备用。化学试剂如氢氧化钠(NaOH)、氢氧化钙[Ca(OH)₂]、盐酸(HCl)、高锰酸钾(KMnO₄)、重铬酸钾(K₂Cr₂O₇)和无水乙醇(C₂H₅OH)等均为国产分析纯。总异养菌的培养选用2216E培养基(青岛

海博生物技术有限公司出品)。

试验所用芽孢杆菌(*Bacillus* spp.)菌剂为市售“利生菌王”(广州市欣海利生生物科技有限公司出品)。试验前称取10 g“利生菌王”,置于含10 L蒸馏水白桶中,室温曝气10 h,平板计数法检测活菌数为(1.33±1.15)×10⁷ cfu·mL⁻¹。

1.2 方法

1.2.1 改性试剂的初步筛选与条件优化 参照马立群^[10]、董高峰^[11]对难粘高分子材料的表面处理技术,试验选取质量分数为4% NaOH、0.1% Ca(OH)₂、体积分数为10% HCl、质量分数为5% KMnO₄、5% K₂Cr₂O₇和体积分数为75%乙醇和蒸馏水(对照组)进行亲水性改性效果比较,每组3个平行,以芽孢杆菌吸附数量作为评判指标。取A网片,紫外照射15 min后置于体积均为200 mL的上述7种溶液中浸泡2 h,然后取出用无菌蒸馏水进行冲洗,置于提前活化好的芽孢杆菌上清液中2 h进行细菌强化吸附;取出用无菌蒸馏水轻轻淋洗,无菌滤纸吸干水分后放入装有10 mL无菌蒸馏水的具塞试管中,超声波震荡解吸附(40 kHz)20 min,取适量试管中菌液,按芽孢杆菌平板培养法计数^[12]。据上述试验结果,取处理效果最佳的3种试剂开展其处理条件优化试验。分别设置试剂浓度为HCl(5%、10%、15%和20%)、K₂Cr₂O₇(1%、3%、5%和7%)、KMnO₄(1%、3%、5%和7%)、无菌蒸馏水(对照组),处理时间为2 h、4 h、6 h和8 h,每组3个平行。从3种试剂中分别选出其最适处理浓度,形成3种不同处理工艺。

1.2.2 基质亲水性改性工艺优选 以常用的膜干物质量、膜异养菌数量和膜表面形态变化等为评价指标检验基质挂膜效果;另外,考虑到对虾精养系统中亚硝酸盐氮易积累难消除的问题,增加对养殖废水中亚硝酸盐氮去除率这一评价指标,对

1.2.1中获得的上述3种处理工艺进一步优选。取B网片45张,分别经上述3种工艺和无菌海水(对照组)处理后,置于同一对虾养殖池中进行自然挂膜,每个处理设置3个平行,以10目网框隔离对虾,每组分别于第1、第3、第6、第10和第15天各取1张网片。分别从同一网片上剪取不同规格的网片,用于以下各种分析。剪取10 cm×10 cm大小,于80℃烘干至恒质量,用于计算基质表面干物质量;剪取1 cm×1 cm大小用于基质表面的显微观察;剪取2 cm×2 cm大小用于基质表面细

菌数量的检测, 方法同 1.2.1; 剪取 $5\text{ cm} \times 15\text{ cm}$ 大小用于基质表面生物膜亚硝酸盐氮去除能力分析, 将网片置于装有 200 mL 养殖废水的三角锥瓶中 2 h, 萘乙二胺分光光度法(GB 12763.4-2007) 检测处理前后亚硝酸盐氮浓度。试验期间所用养殖废水取自养殖车间循环水处理系统进水口养殖废水, 取样时间为当天上午 10:00。

亚硝酸盐氮去除率(%) = $100 \times (\text{初始亚硝酸盐氮浓度} - \text{处理后亚硝酸盐氮浓度}) / \text{初始亚硝酸盐氮浓度}$ 。

1.3 数据分析

使用 Excel 2010 软件进行数据的初步统计处理, 应用统计分析软件 SPSS 17.0 进行方差分析, 以 $P < 0.05$ 作为差异显著水平。

2 结果

2.1 改性试剂对生物膜附着基质吸附细菌数影响

生物膜附着基质经 6 种化学试剂处理后, 其表面吸附芽孢杆菌数量见图 1。分析可知, 经 5% $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 和 10% HCl 处理后的基质表面芽孢杆菌数量相对较多, 其次为 5% KMnO_4 , 而 75% 乙醇和 0.1% NaOH 则相对较少。综合考虑 6 种化学试

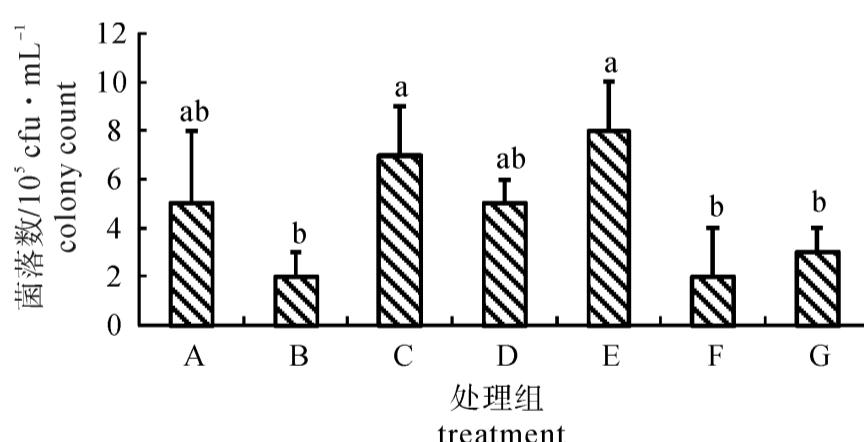


图 1 不同化学试剂处理后生物膜附着基质吸附的芽孢杆菌数量

A, B, C, D, E, F 和 G 分别代表 4% 氢氧化钠, 0.1% 氢氧化钙, 10% 盐酸, 5% 高锰酸钾, 5% 重铬酸钾, 75% 乙醇和蒸馏水; 不同的字母代表不同处理间有显著性差异 ($P < 0.05$), 后图同此

Fig 1 Amount of *Bacillus* spp. attached to substrate with different chemical reagents

A, B, C, D, E, F and G represent 4% sodium hydroxide, 0.1% calcium hydroxide, 10% diluted hydrochloric acid, 5% potassium permanganate, 5% potassium dichromate and 75% ethyl alcohol and distilled water, respectively. Different letters represent significant difference among different treatments ($P < 0.05$). The same case in the following figures.

剂的基质表面改性效果, 选择 $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 、HCl 和 KMnO_4 3 种试剂用于进一步的处理条件优化。

2.2 基质亲水性改性处理条件优化

随着处理时间的延长, 不同浓度的 HCl 处理后基质吸附芽孢杆菌数量大体上呈先升再降的趋势 (图 2-A)。经不同浓度 HCl 处理 6 h, 各处理组基质吸附芽孢杆菌数量显著高于其他时间处理组; 而处理 6 h, 10% HCl 处理组的基质吸附芽孢杆菌量上显著高于其他浓度处理组, 达到 5.7×10^6 cfu

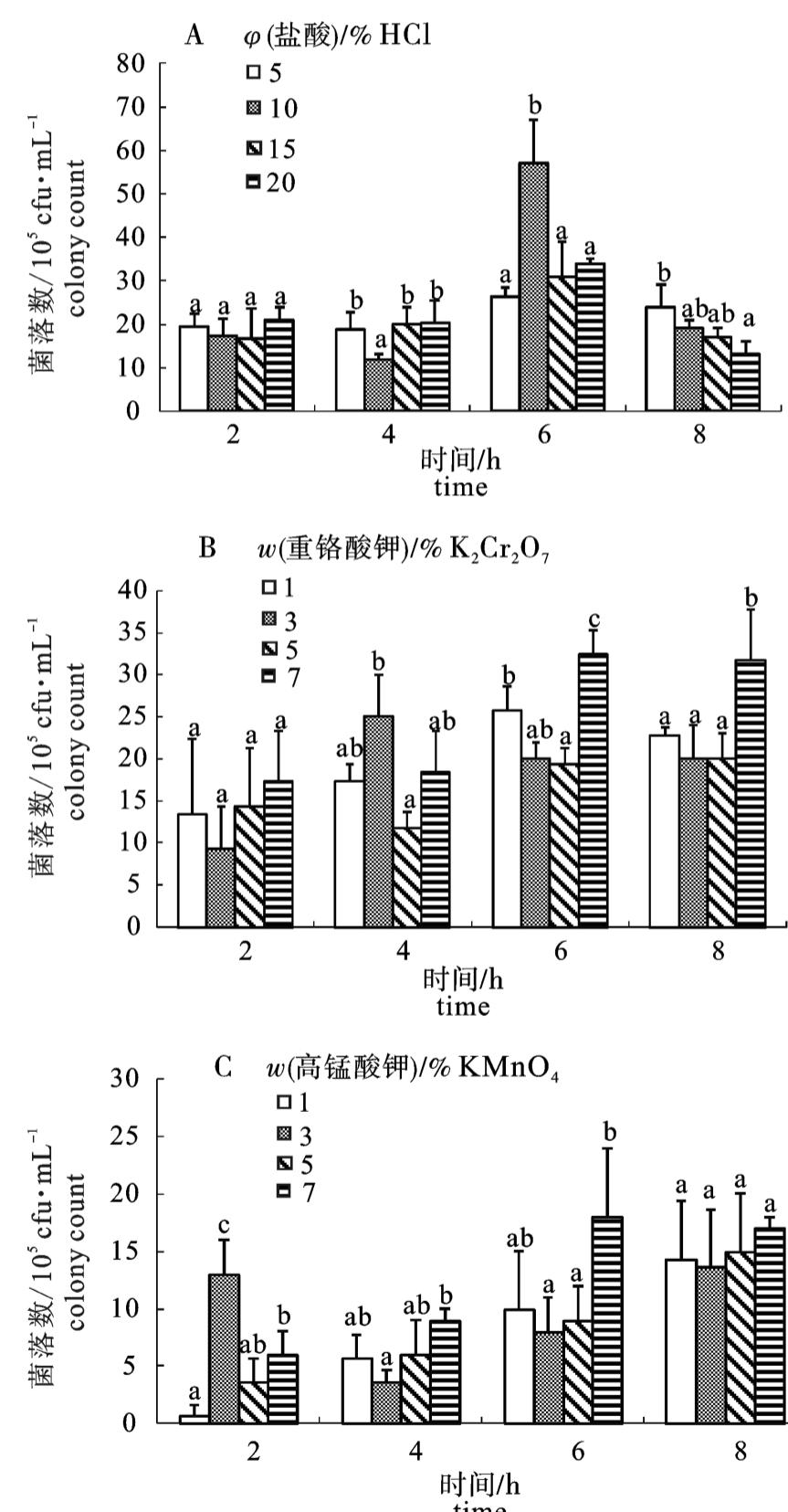


图 2 基质经不同浓度盐酸(A)、重铬酸钾(B)和高锰酸钾(C)处理不同时间后吸附细菌数

Fig 2 Bacterial amount attached to substrate treated with different immerse time and levels of diluted hydrochloric acid(A), potassium dichromate(B) and potassium permanganate(C)

· mL⁻¹ ($P < 0.05$)。

处理时间相同时, 除 7% K₂Cr₂O₇ 组保持相对较高的细菌吸附量外, 其余 3 组之间细菌吸附量并无明显的规律可循; 相同处理浓度随着处理时间延长, 各处理组在处理时间为 6 h 左右就基本保持稳定, 而 3% K₂Cr₂O₇ 处理组细菌吸附量则在 4 h 达到峰值, 处理时间继续延长, 细菌吸附量则出现小幅度的下降现象(图 2-B)。综合比较得出, 7% K₂Cr₂O₇ 处理 6 h 的效果较佳。

除 7% KMnO₄ 处理组外, 其余 3 个处理组细菌吸附量均随着处理时间延长而增加, 处理时间为 8 h 各处理组之间的细菌吸附量已较为接近(图 2-C)。综合比较, 选择 7% KMnO₄ 处理 6 h 作为 KMnO₄ 亲水性改性处理生物膜附着基质的最适工艺参数。

由上述结果得知, 选用 10% HCl、7% K₂Cr₂O₇ 和 7% KMnO₄, 处理时间均为 6 h 基质亲水性改性效果较好。

2.3 基质亲水性改性虾池挂膜效果对比

挂膜期间各处理组基质表面干物质量变化见图 3-A。随着挂膜时间的延长, 各处理组基质表面干物质量呈持续上升趋势, 其中在各取样时间点均以 HCl 处理组最高, 对照组最低。

挂膜期间各处理组基质表面吸附异养细菌数量见图 3-B。随着挂膜时间的推移, 各处理组基质表面总异养细菌 (total heterotrophic bacteria, THB) 数量呈现先增加再下降至平稳波动的过程, 在第 6 天时均达到峰值。各处理组间 THB 吸附量以 HCl 处理组最高, 对照组最低。

挂膜期间各处理组基质生物膜对养殖废水中亚硝酸盐氮去除效果见图 3-C。各处理组基质随挂膜时间延长而对废水亚硝酸盐氮去除率基本呈现稳步增加的趋势。其中 HCl 处理组在第 6 天即呈现显著优于其他处理组的亚硝酸盐氮去除效果, 直至挂膜第 15 天, HCl 组亚硝酸盐氮去除率达到 31.96%, 显著高于其他处理组 ($P < 0.05$), 而 KMnO₄ 组则与对照组之间无差异 ($P > 0.05$)。

3 讨论

3.1 生物膜在水产养殖系统中的生态作用

生物膜附着基质表面的生物膜从形成到稳定是一个缓慢而长期的过程。生物膜的最初形成是一个自发反应过程(主要指水体中的悬浮颗粒物自发向

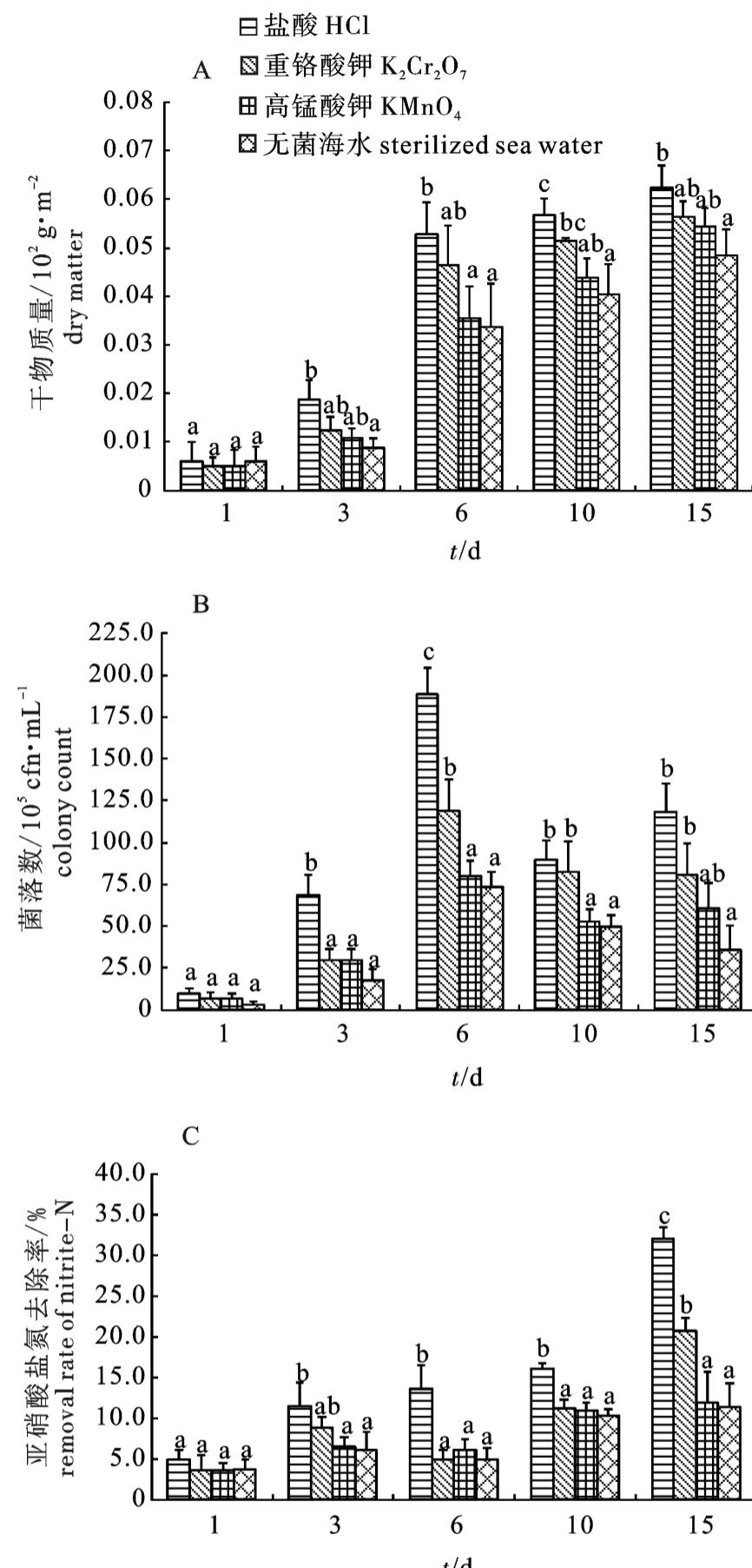


图 3 挂膜阶段各处理组基质表面干物质(A)、吸附异养细菌数(B)和对养殖废水中亚硝酸盐氮去除率(C)的变化

Fig 3 Variation of dry matter (A), total heterotrophic bacteria amount (B) and removal rate of nitrite-N in aquaculture wastewater (C) on substrate in different treatments during membrane formation period

基质表面靠近附着的过程), 这个过程在基质放入养殖水体中的最初几秒到几分钟之内完成。最初的生物膜形成之后, 细菌群落便开始在其上生长和繁殖^[13], 最终在基质表面形成一个包含藻类、细菌、真菌、原生动物、浮游动物和其他无脊椎动物的较为成熟的生物膜结构^[14]。

生物膜附着基质表面的生物膜对养殖水体中的营养盐具有重要的吸收作用, 尤其对养殖池塘中的氮(N)、磷(P)元素, 其吸收转换作用更加明显, 可显著降低氨氮、亚硝酸盐等有害含氮代谢物^[5]。另外, 生物膜附着基质的添加可显著增加水体中各种营附着生活生物的附着空间, 尤其对于代时较长的硝化细菌来说, 生物膜附着基质能为其提供充足的附着面积, 又能为其提供充足的营养来源, 极大地促进了硝化细菌的生长、繁殖, 加速养殖水体中氨氮、亚硝酸盐氮的去除速率^[15-17]。

此外, 这层生物膜也是一个“活”的生物聚集群落, 其中附着有大量的饵料生物如轮虫、线虫等, 可作为养殖生物良好的饵料补充^[18]。ZHANG^[6] 针对人工水草(亦称生物膜附着基质)对凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)空间分布影响的研究发现, 设置有人工水草的试验组中对虾更多的选择栖息于人工水草上而非桶底, 而且这种现象随着养殖周期的延长而增多, 直接降低了桶底部对虾的密度, 降低了因对虾养殖密度过高而引起的对虾频发应急效应。

3.2 生物膜附着基质的亲水性改性机理

亲水性改性主要目的是提高生物膜附着基质作为生物膜载体的亲水性吸附能力, 加速其早期挂膜, 缩短生物膜建成时间, 从而更早发挥其功效。试验中利用生物膜附着基质对芽孢杆菌的吸附数量来评价不同化学试剂对基质的改性处理效果。结果表明, 与对照组相比, 亲水性改性处理可以明显提高基质表面的吸附能力。亲水性改性处理的作用机理主要体现在以下 2 个方面: 1) 提高了基质表面的粗糙程度。细菌与载体表面的有效接触面积随之增加, 其附着固定能力也会得到相应的提高^[19]。2) 改变了基质表面的带电荷性质。微生物的生存环境 pH 通常在 7 左右, 其表面带有负电荷, 因此选择表面带有正电荷或者通过某种处理使得基质表面带上正电荷, 即可增加微生物与生物膜附着基质之间的结合程度^[20]。

3.3 不同处理剂浓度及处理时间对基质表面亲水性和挂膜时间的影响

试验选用处理剂大致可分为酸、碱、强氧化剂及无机试剂乙醇 4 类。根据试验结果可以得知, 所用处理剂浓度的增加与处理时间的延长并不一定显著增加附着基质表面的亲水性能, 而是存在一个阈值, 超过这个值, 基质亲水性能不会继续增加甚至

出现下降的现象。这可能跟不同处理剂的作用机制不同有关, 酸与碱基本依赖其可以电离出较强的氢离子(H⁺)与氢氧根(OH⁻)离子, 改变基质表面带电荷性; 强氧化剂如 K₂Cr₂O₇、KMnO₄ 以及无机试剂乙醇等则依据“相似相溶”原则, 依其强氧化性起到断裂基质材料分子键、改变其表面含氧官能团含量、增加基质分子间极性键结合程度, 达到增加基质亲水性能, 缩短附着基质表面生物膜成熟时间的目的^[21]。丰闽义等^[22] 认为养殖废水中含氮代谢物的去除与生物膜的生长状况及经历“发生-死亡-生长”时间有关。目前的研究表明, 生物膜的成熟周期一般在 20 ~ 40 d 左右^[23-24], 笔者所选取的试验周期为 15 d, 主要是为了比较其早期的挂膜效果。综合比较此研究选用的几种改性处理方法, 作为生物膜附着基质的尼龙筛绢网在 10% HCl 中处理 6 h 后, 其对微生物(芽孢杆菌)的吸附效果和早期原位挂膜效果均明显优于其他处理方式, 推测可能是由于稀盐酸电离出大量的 H⁺, 结合到生物膜附着基质表面使其带上正电荷, 进而增加了菌体与生物膜附着基质间的亲和力。另外, 从原料成本以及环境安全性考虑, HCl 处理亦能体现其优势。

3.4 生物膜附着基质改性处理流程构建

综合试验研究结果, 笔者初步对生物膜附着基质的改性处理流程进行了相关构建(图 4)。

生物膜附着基质——生物膜技术运用于对虾养殖系统, 实现养殖水体原位处理, 必将是今后水产养殖技术研究的一个重要内容, 而生物膜附着基质的改性处理也将是其中不可或缺的环节。在以后的研究工作中, 可以考虑开发和筛选更多针对不同生物膜附着基质的改性处理工艺, 在评价其改性效果的同时, 还要注重生产实际, 在养殖生产中开展实践检验。此外, 包括微生物固定化、功能微生物选择性吸附等亦是今后的重点研究方向。

4 结论

1) 试验中以微生物(芽孢杆菌)吸附能力作为基质亲水性改性处理的初筛指标是可靠且可行的, 这也为以后快速筛选具优良挂膜性能的生物膜附着基质材料提供了参考依据。

2) 在此次试验条件下, 以尼龙筛绢网(孔径 0.425 mm)作为基质生物膜载体, 经 10% HCl 浸泡处理 6 h, 可获得较为良好的亲水性改性效果。

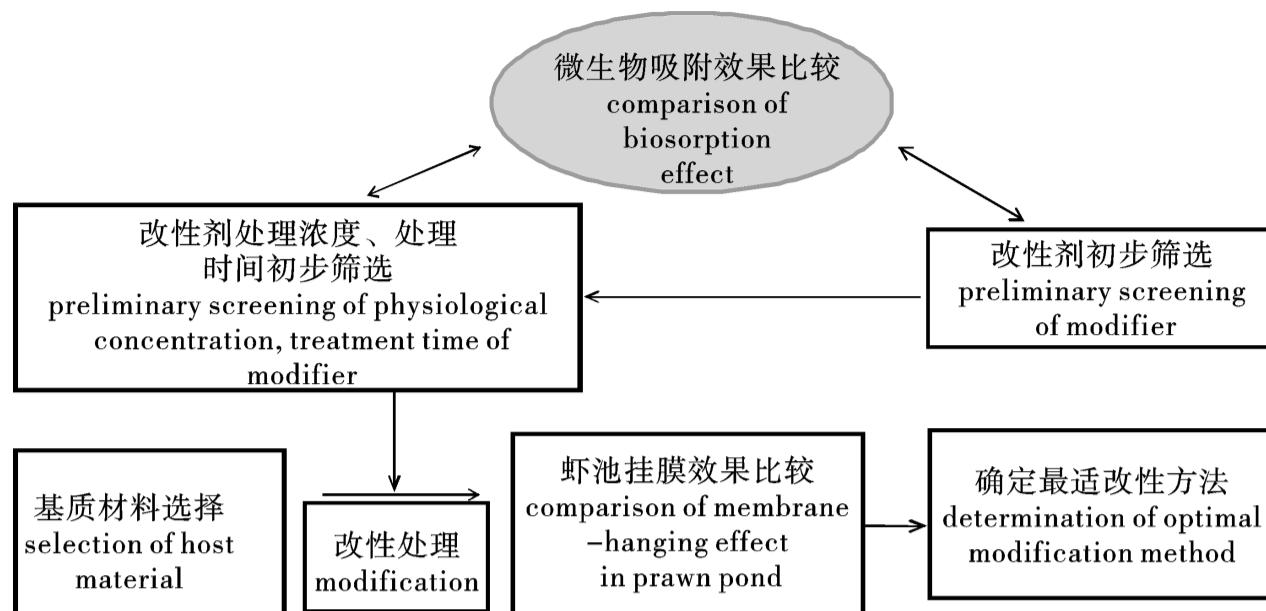


图4 生物膜附着基质改性处理流程示意图

Fig. 4 Flow map of modification process of biofilm-substrate

参考文献:

- [1] 宋志文, 王玮, 赵丙辰, 等. 海水养殖废水的生物处理技术研究进展 [J]. 青岛理工大学学报, 2006, 27(1): 13 - 17.
- [2] 刘朝阳, 孙晓庆. 生物控制法在水产养殖水质净化中的综合应用 [J]. 南方水产, 2007, 3(1): 69 - 74.
- [3] 陈金玲, 赖秋明, 苏树叶, 等. 精养虾池主要生态因子变化特点与相关性分析 [J]. 南方水产科学, 2012, 8(4): 49 - 56.
- [4] 宋玉芝, 秦伯强, 高光. 附着生物对富营养化水体氮磷的去除效果 [J]. 长江流域资源与环境, 2009, 18(2): 180 - 185.
- [5] STEWART N T, BOARDMAN G D, HELFRICH L A. Treatment of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) raceway effluent using baffled sedimentation and artificial substrates [J]. Aquac Eng, 2006, 35(2): 166 - 178.
- [6] ZHANG B. Influence of the artificial substrates on the attachment behavior of *Litopenaeus vannamei* in the intensive culture condition [J]. Int J Anim Vet Adv, 2011, 3(1): 37 - 43.
- [7] 林武, 陈敏, 罗建中, 等. 生态工程技术治理污染水体的研究进展 [J]. 广东化工, 2008, 35(4): 42 - 46.
- [8] 司友斌, 彭军. 固定化微生物技术及其在污染土壤修复中的应用 [J]. 土壤, 2007, 39(5): 673 - 676.
- [9] MA F, GUO J, ZHAO L, et al. Application of bioaugmentation to improve the activated sludge system into the contact oxidation system treating petrochemical wastewater [J]. Bioresour Technol, 2009, 100(2): 597 - 602.
- [10] 马立群. 难粘高分子材料的表面处理技术 [J]. 化学与粘合, 1999(1): 23 - 26.
- [11] 董高峰. 难粘塑料的表面处理 [J]. 有机氟工业, 2005(3): 26 - 28.
- [12] 李卓佳, 林亮, 杨莺莺, 等. 芽孢杆菌制剂对虾池环境微生物群落的影响 [J]. 农业环境科学学报, 2007, 26(3): 1183 - 1189.
- [13] WAHL M. Marine epibiosis. I. Fouling and antifouling: some basic aspects [J]. Mar Ecol Prog Ser, 1989, 58(1): 175 - 189.
- [14] AZIM M E, RAHAMAN M M, WAHAB M A, et al. Periphyton-based pond polyculture system: a bioeconomic comparison of on-farm and on-station trials [J]. Aquaculture, 2004, 242(1): 381 - 396.
- [15] EBELING J M, TIMMONS M B, BISOGNI J J. Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic removal of ammonia-nitrogen in aquaculture systems [J]. Aquaculture, 2006, 257(1): 346 - 358.
- [16] OTOSHI C A, MONTGOMERY A D, MATSUDA E M, et al. Effects of artificial substrate and water source on growth of juvenile pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* [J]. J World Aquac Soc, 2006, 37(2): 210 - 213.
- [17] THOMPSON F L, ABREU P C, WASIELESKY W. Importance of biofilm for water quality and nourishment in intensive shrimp culture [J]. Aquaculture, 2002, 203(3): 263 - 278.
- [18] VIAU V E, OSTERA J M, TOLIVIA A, et al. Contribution of biofilm to water quality, survival and growth of juveniles of the freshwater crayfish *Cherax quadricarinatus* (Decapoda, Parastacidae) [J]. Aquaculture, 2012, 324/325: 70 - 78.
- [19] 范福洲, 康勇. 水处理用纤维素基载体的降解性能研究 [J]. 高分子材料科学与工程, 2006, 22(6): 126 - 129.
- [20] 金冬霞, 田刚, 施汉昌. 悬浮填料的选取及其性能试验研究 [J]. 环境科学学报, 2002, 22(3): 333 - 337.
- [21] 马兆昆, 刘杰. 改性碳纤维及表面含氧官能团对反硝化菌固着化的影响 [J]. 功能材料, 2003, 34(5): 592 - 594.
- [22] 丰民义, 方涛, 吴娟, 等. 不同载体的藻-菌生物膜应用于水体净化 [J]. 水处理技术, 2007, 33(3): 59 - 61.
- [23] 薛松松. 纳米生态基在水产养殖中的应用研究 [D]. 青岛: 中国海洋大学, 2011.
- [24] 刘灿灿, 金吴云, 沈耀良. 上流式曝气生物滤池两种填料启动挂膜的试验研究 [J]. 江苏环境科技, 2008, 21(1): 61 - 64.