

好氧锥形流化床生物膜反应器启动与生物膜形成特征研究

董双石^{1,2}, 周丹丹^{1,2*}, BI Xiao-tao², 高欣³

(1. 吉林大学环境与资源学院, 长春 130012; 2. 英属哥伦比亚大学化学与生物工程学院, 温哥华 V6T 1Z3; 3. 中国市政工程东北设计研究院, 长春 130021)

摘要: 对好氧锥形流化床膜生物反应器(A-TFBBR)的启动特征、生物膜行为、特征和结构进行了详细的探讨, 并与相近启动条件下的传统柱状流化床生物膜反应器(A-CFBBR)的启动行为进行比较. 结果表明, 自然培养生物种源的方法与传统的以活性污泥做种源的方法相比节省了生物驯化和淘汰的时间, 在短时间内就完成了生物反应器的启动(柱状床 11 d, 锥形床 16 d), 而一般以活性污泥为种源则大都需要 100 ~ 300 d 的启动时间. 另外, 采用这种方法在 A-TFBBR 反应器和 A-CFBBR 反应器中获得的生物膜厚度分别仅为 $(32 \pm 1) \mu\text{m}$ 和 $(24 \pm 2) \mu\text{m}$, 低于大部分报道的生物膜厚度. 2 个生物反应器都表现出理想的 COD 去除能力, 其中 A-TFBBR 反应器对 COD 的去除率高达 95% 以上, 比 A-CFBBR 对 COD 的去除率平均高出 15%.

关键词: 锥形流化床; 启动; 生物膜形成; 生物膜厚度; 生物量

中图分类号: X703.1 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2009)03-0827-07

Start-up and Biofilm Formation in an Aerobic Conical Fluidized-bed Biofilm Reactor

DONG Shuang-shi^{1,2}, ZHOU Dan-dan^{1,2}, BI Xiao-tao², GAO Xin³

(1. College of Environment and Resources, Jilin University, Changchun 130012, China; 2. Department of Chemical and Biological Engineering, University of British Columbia, Vancouver, V6T 1Z3, Canada; 3. China Northeast Municipal Engineering Design and Research Institute, Changchun 130021, China)

Abstract Both aerobic tapered (A-TFBBR) and cylindrical fluidized-bed biofilm reactors (A-CFBBR) were set up. The start-up characteristics, performance, characteristics and microstructure of the biofilm were also investigated in both reactors with similar condition of start-up. Compared with the traditional method that using activated sludge as bacteria source (mostly 100-300 d for start-up), cultivating bacteria naturally could save the acclimation time. It took much shorter time (11 d for the cylindrical bed, while 16d for the tapered bed) to start up the reactors. Further more, the biofilm thickness in A-TFBBR and A-CFBBR was only $(32 \pm 1) \mu\text{m}$ and $(24 \pm 2) \mu\text{m}$, respectively. The biofilm was thinner than most of reported bifilm obtained by other researchers. Both A-TFBBR and A-CFBBR showed high COD removal capacity, and COD removal rate of A-TFBBR was more than 95%, 15% higher than that of A-CFBBR.

Key words: conical fluidized-bed; start-up; biofilm formation; biofilm thickness; bacteria amount

自从 20 世纪 60 年代开始, 锥形反应器就已经开始受到关注, 并成功应用到生物化学反应、化学反应、结晶反应和其它领域^[1~3]. 但是关于锥形流化床生物膜反应器(TFBBR)在废水处理方面的研究并不多见. 早期对 TFBBR 反应器处理废水方面的研究^[4~6]主要是集中在处理效果上, 并未能对 TFBBR 自身的特征与生物作用机制进行深入探讨. Wu 等^[7,9,10]和 Huang 等^[8]对比了锥角为 0°(柱状床)、2.5°、5°和 10°锥形流化床生物膜反应器中的生物颗粒特征. 发现在相同的进水 COD 负荷和操作条件下, 厌氧锥形流化床生物膜反应器(AN-TFBBR)对污水处理效率要明显高于厌氧柱状流化床生物膜反应器(AN-CFBBR). 他们建立数学模型计算出 AN-TFBBR 中生物颗粒负载的生物膜厚度、生物比表面

积和生物质的量都要高于 AN-CFBBR. Parthiban 等^[11]的实验研究也证实了 AN-TFBBR 具有低水力停留时间下去除高负荷有机废水的能力, 是发展中国家可行的、经济的污水处理工艺.

综上所述, 对锥形流化床生物膜反应器(TFBBR)的研究表明, 该反应器对废水中有机污染物的去除效率明显优于传统柱状流化床生物膜反应器(CFBBR). 然而, 对 TFBBR 反应器的启动和生物膜特征的研究还鲜见报道. 好氧生物反应器具有停

收稿日期: 2008-04-09; 修订日期: 2008-07-21

基金项目: Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (NSERC); 国家留学基金项目

作者简介: 董双石(1980~), 男, 博士研究生, 主要研究方向为环境生物技术和光催化氧化, E-mail: dongshuangshi@gmail.com

* 通讯联系人, E-mail: zhouddan415@163.com

留时间短、反应效率高等特点,是目前普遍采用的处理低浓度有机废水的生物反应器.但目前国内外对好氧锥形流化床生物膜反应器(A-TFBBR)的研究却还鲜见报道.

本研究采用自然培养菌液,有针对性地培养、驯化生物菌群,以期缩短生物流化床反应器的启动时间、提高反应器的运行效率.另外,在该启动方法下,比较了好氧锥形流化床生物膜反应器(A-TFBBR)和好氧柱状流化床生物膜反应器(A-CFBBR)启动阶段的运行效率和生物膜行为.

1 材料与方法

1.1 试验装置

接种菌液培养驯化装置主要由水浴锅和 3 L 玻璃烧杯组成(如图 1 所示).气体由空气管路经具有流量调节阀的气体流量计,再经过位于烧杯底部的曝气头进入培养液中.

锥形流化床与柱状流化床的组成与结构见图 2.曝气装置安装在生物颗粒的上部,避免气泡对生物膜的扰动,同时通过液体循环过程保证流化区域的好氧条件.

生物载体采用日本 Kureha 球形活性炭颗粒,平均直径为 0.6 mm,干颗粒密度为 0.6 g/mL,湿颗粒密度为 1.32 g/mL,比表面积为1 100~1 300 m²/g.

烧杯中,培养液的温度由水浴控制在 30℃,溶解氧通过调节曝气量控制在 8 mg/L.培养液的颜色由最开始的完全透明逐渐混浊,直至混浊度稳定.此时,细菌的培养和驯化结束.培养液颜色由透明变混浊,是因为来自于烧杯、空气和水中的细菌在培养液中生长、繁殖所致.由于本研究所选择配制的培养液成分与后期生物流化床运行时的进水成分相近,因而微生物能够较快适应,并在该培养液中大量繁殖,缩短其在流化床中的驯化时间.每 24 h 将 10% 的菌液转移到新鲜的培养液中,保证充足的营养供应和有毒物质的排出.细菌的菌量采用比浊法,通过菌浊液的吸光度值(ABS)估测.

当菌浊液的吸光度值稳定后,将菌液注入到图 2 所示的流化床反应器中.为确保细菌充分附着在活性炭载体上,将菌液在流化床反应器中循环 24 h.然后进入启动运行阶段,以 2 L/h 的流量由水箱持续向生物流化床反应器中进入人工配水(组分见表 1).水力停留时间为 45 min,进水 COD 浓度为(220±5) mg/L.溶解氧通过流量调节阀控制在 8 mg/L 左右,反应器的温度通过温度控制棒控制在 37℃.在反应器进水中加适量的氢氧化钠溶液,将 pH 值调节至 8.5.流化床内平均 pH 值在 7 左右,但因生物流化床内糖酵解过程产酸,出水 pH 值降至 6.5.

1.2 培养液和配水组成

采用人工配水,组成见表 1.如前所述,细菌培养液参照人工配水的组成:葡萄糖 5 g/L,硫酸铵 2.5 g/L和磷酸氢二钾 0.5 g/L.

1.3 实验操作运行

在驯化初始,将 2 L 的培养液置于图 1 所示的

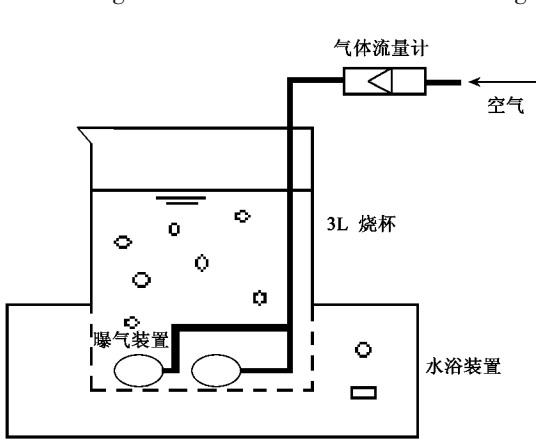
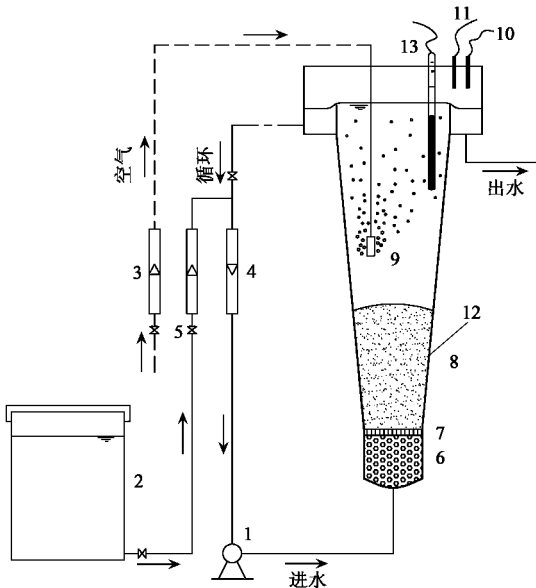


图 1 菌液培养装置
Fig.1 Bacteria solution cultivated equipment



1.离心泵 2.储水箱 3.气体流量计 4.液体流量计
5.阀门 6.液体分布室 7.分布板 8.锥形或柱状床 9.曝气装置 10.DO 探头 11.pH 探头
12.生物颗粒 13.温度控制棒

图 2 锥形或柱状生物流化床反应器装置
Fig.2 Biological conical (or cylindrical) fluidized bed set-up

表 1 生物流化床配水组成成分

Table 1 Composition of feed water for biological fluidized bed

配水组分	浓度/mg•L ⁻¹	配水组分	浓度/mg•L ⁻¹
FeSO ₄ •7H ₂ O	1.69	KH ₂ PO ₄	18.33
MnSO ₄ •H ₂ O	0.22	(NH ₄) ₂ SO ₄	8.07
ZnSO ₄ •7H ₂ O	0.70	NH ₄ Cl	75.17
CuSO ₄ •7H ₂ O	0.015	CaCl ₂ •2H ₂ O	8.95
CoCl ₂ •6H ₂ O	0.15	MgCl ₂ •6H ₂ O	12.43
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ •4H ₂ O	0.011	酵母膏	0.055
Na ₂ B ₄ O ₇ •10H ₂ O	0.066	葡萄糖	400

1.4 生物流化床启动期指示参数选择

生物流化床中生物膜在载体上生长或者累积的过程是微生物及其代谢产物在载体上附着和脱落达到平衡的过程.在生物流化床启动过程中,生物膜的物理特征(生物膜厚度、密度、质量)和物理-化学特征(多聚糖和蛋白质的含量、污染物的去除效率)都是变化的.当这些参数达到稳定值时,则认为生物反应器的启动已经完成.

在生物膜的物理特征参数中,生物膜厚度通常被认为是描述生物流化床反应器行为的最具有代表性的参数^[7].另外,它也可以用来指示生物膜在启动期所处的状态和反应器的稳定性等^[12].本研究选择在生物膜物理特征中具有代表性的参数——生物膜厚度来指示流化床生物膜反应器的启动特征.生物膜的化学特征——COD 去除率也被用来描述流化床生物膜反应器的行为和效率.

1.5 检测方法

出水溶解氧(DO)和 pH 值通过 VWR Model SP80PD 分析仪实时监测.

生物膜的厚度通过配有测量装置的光学显微镜测得.从反应器不同床层高度处分别小心取 30~50 个生物颗粒,通过公式(1)分别计算每个生物颗粒的体积当量直径(d_v):

$$d_v = \sqrt[3]{AB^2} \tag{1}$$

式中, A 为生物颗粒的长轴长度, B 为短轴长度.

将测当量直径的生物颗粒置于装有若干玻璃珠和磁力搅拌子的烧杯中,放在磁力搅拌器上充分搅拌.球形载体活性炭的直径同样通过光学电子显微镜测得.生物膜的厚度即为生物颗粒的平均当量直径与载体的平均直径之差的二分之一.

化学需氧量(COD)的浓度检测:首先将水样用 0.22 μm 滤膜过滤,然后取 2 mL 注入 HACH COD 消解试剂瓶中,混均,置于 COD 消解仪上消解 2 h,最

后通过 HACH DR/2000 型分光光度计内置程序直接读得 COD 浓度.

SEM 样品的制作过程如下:分别在 3%(体积分数)的钙蓝和醋酸溶液中与 1%的四氧化锇溶液中浸泡,然后再用由低到高浓度梯度的酒精/蒸馏水溶液洗涤,直到样品中的水分基本被完全置换.用六甲基二硅烷干燥样品颗粒后,在颗粒表面镀 3 nm 厚的铂金.采用型号为 Hitachi S4700 型电子扫描电镜对样品进行图像分析.

2 结果与分析

2.1 接种菌液的培养与驯化结果

接种菌液的培养和驯化是为了向生物流化床反应器提供高效的微生物种源.如前所述,在接种菌液培养过程中,每隔 24 h 将菌液接种到新鲜的培养液中.这一方面是为了排出前 24 h 微生物菌群产生的有毒代谢产物,另一方面是为了向微生物菌群提供充足营养,确保大部分细菌处于对数生长期.细菌在培养液中的生长随时间变化情况如图 3 所示.在培养初期,菌液几乎完全透明.以蒸馏水作参比,菌浊液在 480 nm 处的吸光度值(ABS)仅为 0.002.此后 ABS 值迅速升高,在第 24 h 升高至 0.056,在第 72 h 到达最高值 0.214,随后吸光度值趋于稳定.吸光度值的变化反应了培养液中菌量的变化情况.菌量在 72 h 后不再明显增加,是因为培养液的有限营养浓度限制了细菌进一步繁殖.微生物数量增加的情况可以通过显微镜直接观测证实.与第 24 h 相比,菌量大幅度增加.很多细菌正处于分裂生殖期,可见细菌此时正处于良好的生长状态.另外,从外形形态上看,绝大部分细菌为杆菌,这与后期生物流化床反应器运行时生物膜中的细菌在形态上是一致的.

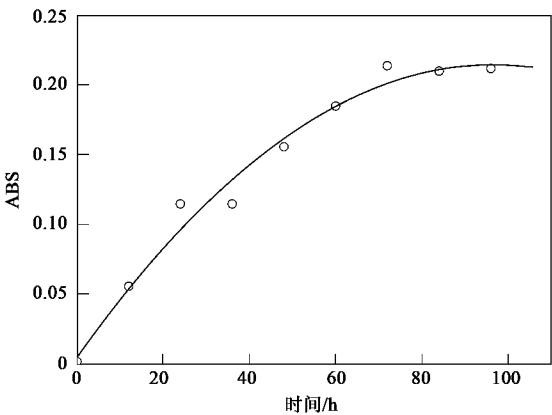


图 3 菌液的吸光度值随培养时间的变化曲线

Fig.3 ABS of bacteria solution changed with culture time

2.2 启动期生物膜的行为

2.2.1 启动期生物膜厚度的变化

从生物反应器中 5 个不同床高位置取出生物颗粒,采用 1.5 的方法确定生物反应器内生物膜的平均厚度.如图 4 所示,无论是好氧锥形流化床生物膜反应器(A-TFBBR)还是好氧柱状流化床生物膜反应器(A-CFBBR),反应器内部的平均生物膜厚度都从 0 逐渐增加并最后趋于稳定.床层膨胀率为 14% 的操作条件下,A-TFBBR 反应器的生物膜厚度从启动的第 16 d 后开始基本稳定,厚度恒定在 $(32 \pm 1) \mu\text{m}$ 的范围内.而 A-CFBBR 反应器在床层膨胀率 20% 时,需要比 A-TFBBR 反应器稍短的时间(11 d)达到稳定的状态,平均生物膜的厚度恒定在 $(24 \pm 2) \mu\text{m}$.生物膜在载体颗粒上的累积,实际上是微生物和胞外聚合物在载体上的附着、生长并同时受外界环境影响而脱落的过程.当生物膜厚度趋于稳定时,代表生物膜在载体颗粒上的生长和脱落达到平衡状态,即反应器启动完成.

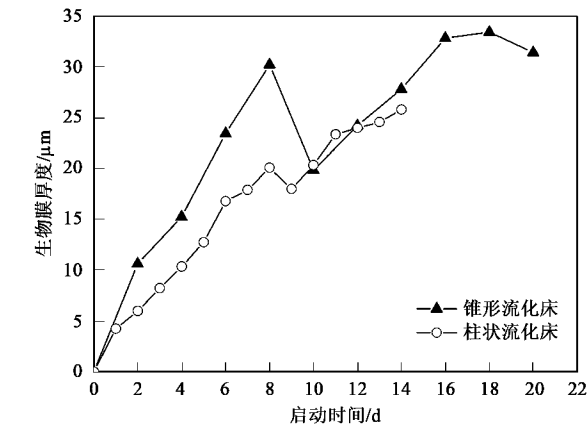


图 4 生物膜平均厚度随启动时间的变化

Fig. 4 Average thickness of biofilm changed with start-up time

2.2.2 启动期污染物去除率的变化

本研究选择 COD 去除率来衡量该反应器对污染物的去除能力.由图 5 可知,在锥形流化床生物膜反应器启动的第 12 d,柱状流化床生物膜反应器启动的第 10 d,2 个反应器对 COD 的去除率达到稳定状态.锥形流化床生物膜反应器对 COD 去除率稳定在 95% 左右,而柱状流化床生物膜反应器对 COD 去除率稳定在 80% 左右.在水力停留时间仅为 45 min,进水 COD 浓度 220 mg/L 左右的条件下,2 个生物反应器都表现出了对污染物较好的去除效率,这体现了生物流化床高传质、高反应效率的优势.相比较而言,锥形流化床生物膜反应器对 COD 的平均去除率

比柱状锥形流化床生物膜反应器高出 15% 左右.

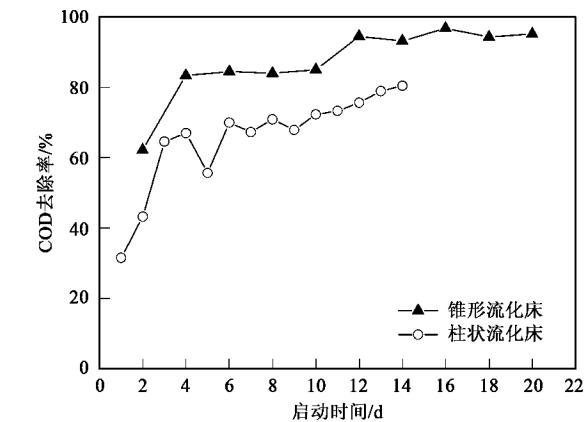


图 5 COD 的去除率随启动时间的变化

Fig. 5 COD removal ratio changed with start-up time

2.3 生物膜电子扫描电镜(SEM)观察

图 6 为生物流化床反应器启动完成后,生物膜的电子扫描电镜(SEM)照片.需要说明的是,为了更清晰地观察菌群的形态,生物膜中的绝大部分聚合物在样品加工的过程中被洗脱.从 SEM 照片上看,载体上附着的细菌大部分为杆菌.正如生物膜在载体上附着不均匀一样,细菌在载体上的分布也是不均匀的(如图 6B 所示).这是因为生物颗粒在流化床内受到的流体剪切力颗粒碰撞等的影响在各个方向上并不均匀,是很随机的.图 6C 所示的是在样品加工过程中没有被完全去除的聚合物.尽管在样品加工过程中聚合物中的水分已经被去除,但仍然可以看出聚合物具有很大的分子量,它附着在细菌之间或表面,保护细菌直接与外界接触而避免被洗刷掉.图 6D 是生物颗粒的 SEM 照片.可以清晰地观察到活性炭载体表面附着了大量的微生物.但也发现有一些区域并没有微生物附着,这可能是由样品加工操作不当导致的,也有可能载体本身生物膜附着不均导致.

3 讨论

3.1 高效启动方法探讨

值得注意的是,本研究中柱状流化床生物膜反应器的启动时间仅为 11 d,锥形流化床生物膜反应器的启动时间仅为 16 d,这与传统的以活性污泥作为生物种源的启动方法^[13, 14](100 ~ 300 d)相比大大缩短了启动时间.这是因为以活性污泥作为生物种源具有下列缺点:①活性污泥中通常含有复杂的生物相,这些复杂的生物相在微生物种源加入到生物

流化床反应器中,需要较长的时间以适应新的环境和营养基质,即需要较长的驯化时间;②活性污泥中含有大量的悬浮固体和过量的代谢物,这些物质很

容易被载体吸附,从而影响微生物在载体上的吸附数量;③活性污泥中的悬浮固体容易堵塞流化床反应器的分布板,影响反应器的长期稳定运行.

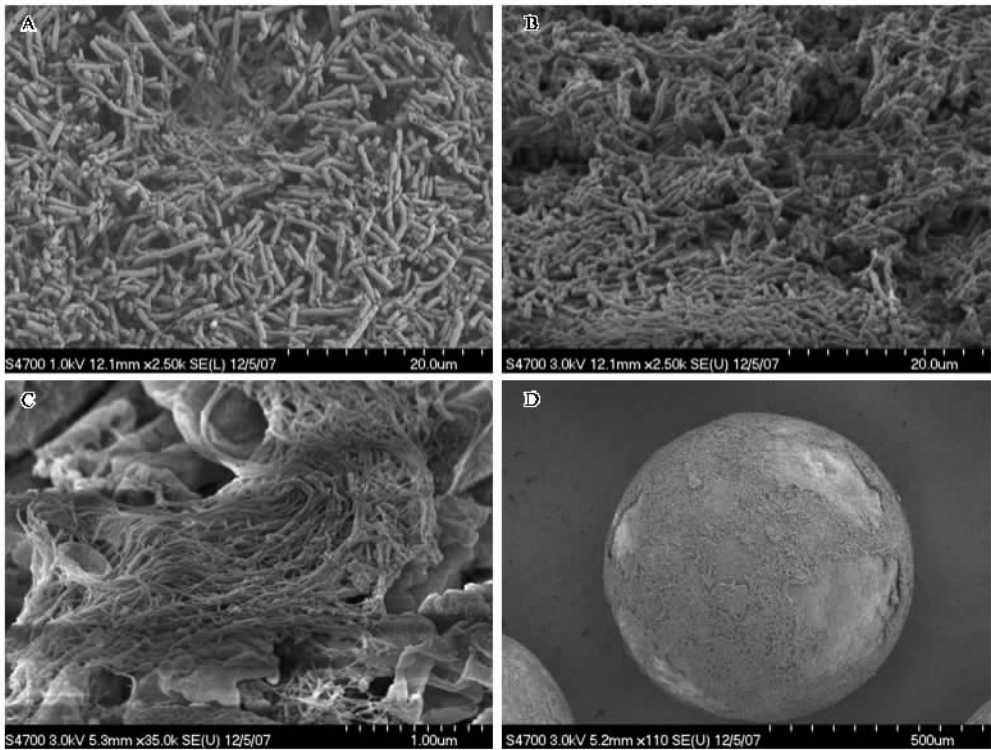


图 6 启动后生物膜的扫描电镜照片
Fig.6 SEM images of biofilm after bioreactor start-up

当以自然培养菌液的方法作为生物种源时,不仅可以克服上述活性污泥种源的缺点,还有针对性地培养了菌源,使得培养和驯化同时发生,缩短了生物反应器的启动时间.来自空气、水体和其它外界环境的生物菌群在与生物流化床反应器的进水水质相似的培养基中培养.按照生物优先选择的原则,这些生物菌群是那些能够适应该水质并以其为基质的菌群.当这些生物菌群加入到流化床反应器中,不需要驯化和淘汰的过程便在载体上生长和繁殖了.

从 SEM 照片中可以清晰观察到生物载体表面上生长的细菌全部为杆菌,这与 2.1 中菌液镜检结果完全吻合.这在一定程度上解释了上述关于采用以培养菌液作为生物种源的缩短微生物在流化床中驯化和淘汰的过程.但是,SEM 和镜检结果仅能证明流化床中载体上的微生物与菌液中的微生物形态上一致,两者是否属于同属或同种仍需要进一步的研究证实.

3.2 高效锥形流化床生物膜反应器

好氧锥形流化床生物膜反应器(A-TFBBR)对

COD 的去除效率比好氧柱状流化床生物膜反应器(A-CFBBR)高出 15%.一方面与 A-TFBBR 内的流体流动特征相关.在锥形流化床内颗粒在床中心呈上向流,而在床四周呈下向流,因而锥形流化床内的流体流动特征也与柱状流化床有很大的差别.Webster 等^[15, 16]研究表明,液体在锥形流化床中的液体分布系数比在柱状流化床中大.这说明液体在锥形流化床中的轴向混合更好,实际液相停留时间更长.另一方面,Wu 等^[7, 9]和 Huang 等^[8]研究也表明,A-TFBBR 生物反应器比 A-CFBBR 生物反应器具有更高的传质效率.理想的液相扩散和高效传质性能都导致锥形流化床生物膜反应器具有更高的污染物去除效率.

3.3 影响生物膜厚度的因素

生物膜的厚度是影响生物膜传质和扩散性质的主要参数,通常研究者都期望在生物反应器中获得较薄的生物膜.然而,在实际研究中生物膜厚度是很难以控制的,它主要受启动方式、反应基质的浓度、载体的性质和反应器的流体力学特征等的影

响^[17~20].因各个研究的实验条件不同,获得生物膜的厚度也存在着较大的差异.比如,在 Brett 等^[21]的生物反应器中,位于上部的生物膜厚度达到 100 μm ,而在生物反应器底部的生物膜厚度仅为 10 μm 左右.他们在研究中发现顶部的生物膜对污染物的去除效率要远远低于位于反应器底部的生物膜.表 2 中给出了以不同颗粒作载体的情况下,关于流化床生物反应器中生物膜厚度的报道^[12,22~25].

表 2 关于生物膜厚度研究的报道
Table 2 Reports on biofilm thickness

载体	生物膜厚度/ μm	文献
砂	10 ~ 100	[21]
细砂	85	[25]
活性炭	60 ~ 170	[12]
岩石颗粒	200	[22]
砂	150 ~ 400	[23]
砂	48 ~ 90	[24]

与前人的研究结果相比较,本研究在低水力剪切力运行条件下(低床层膨胀率)获得的生物膜却很薄(25 ~ 31 μm).一方面与生物流化床的启动方式和活性炭颗粒载体的特征有关.本研究以菌液作为生物种源,与活性污泥法相比,大大减小带入生物流化床反应器中的固体悬浮物和过量的生物代谢产物,因而减小了胞外聚合物在载体表面的累积.本研究采用的球形活性炭载体表面是由无数个小空穴组成的(如图 7 所示).每一个小空穴周围都存在着一些相对光滑的区域.粗糙的小空穴为微生物及聚合物提供了良好的附着场地,能让它们牢固地附着在载体表面.而那些相对平滑的区域却防止聚合物过量累积而影响基质扩散.采用球形颗粒活性炭作为生物流化床的载体还有很多其它的优势,例如低密度颗粒减小了最小流化速度;球形颗粒创造良好的流

化条件等.薄生物膜增加了水中基质(污染物)向生物膜内扩散的能力,提高了生物膜的反应效率.另一方面则与基质的浓度和类型有关.本研究所采用基质浓度与类型与 Seker 等^[12]所采用的相近,但生物膜却更薄,可能是因为第一方面提及的原因占据主导作用.

4 结论

(1)本研究采用自然培养的菌液作为流化床生物膜反应器的生物种源.结果表明,采用这种方法可以大大节省生物反应器的启动时间.锥形流化床生物膜反应器和柱状流化床生物膜反应器分别仅用了 16 d 和 11 d 便完成了启动.

(2)锥形流化床生物膜反应器和柱状流化床生物膜反应器在稳定期对 COD 的去除率分别达到 95% 和 80% 以上.锥形流化床生物膜反应器对污染物具有较高的处理效率是因为锥形流化床与柱状流化床相比具有更好的液体轴向混合能力和传质效率.

(3)锥形流化床生物膜反应器获得的生物膜厚度仅为 25 ~ 31 μm ,比其它报道的生物膜厚度薄很多.

参考文献:

[1] Levey Jr R P, de la Garza A, Jacobs S C, *et al.* Fluid bed conversion of UO3 to UF4 [J]. Chem Eng Prog, 1960, **56**(3): 43-48.

[2] Dighe S V, Blinn M B, Buggy J J, *et al.* Westinghouse fluidized bed coal gasification process for phosphoric acid fuel cell power plant [A]. In: Proceedings of the Intersociety Energy Conversion Engineering Conference [C]. 1981. **2**: 1059-1067.

[3] Ishii T. Multi-particle crystal growth rates in vertical cones [J]. Chem Eng Sci, 1973, **28**(5): 1121-1128.

[4] Scott C D, Hancher C W. Use of a tapered fluidized bed as continuous bioreactor [J]. Biotech Bioeng, 1976, **18**(10): 1393-1403.

[5] Boening P H, Larsen V F. Anaerobic fluidized bed whey treatment [J]. Biotech Bioeng, 1982, **24**(11): 2539-2556.

[6] Denac M, Dunn I J. Packed- and fluidized-bed biofilm reactor performance for anaerobic wastewater treatment [J]. Biotech Bioeng, 1988, **32**(2): 159-173.

[7] Wu C S, Huang J S. Bioparticle characteristics of tapered anaerobic fluidized-bed bioreactors [J]. Wat Res, 1996, **30**(1): 233-241.

[8] Huang J S, Yan J L, Wu C S. Comparative bioparticle and hydrodynamic characteristics of conventional and tapered anaerobic fluidized-bed bioreactors [J]. J Chem Technol Biotechnol, 2000, **75**(4): 269-278.

[9] Wu C S, Huang J S. Expansion Characteristics of Tapered Fluidized-Bed Bioreactors. Advances in Bioprocess Engineering [M].

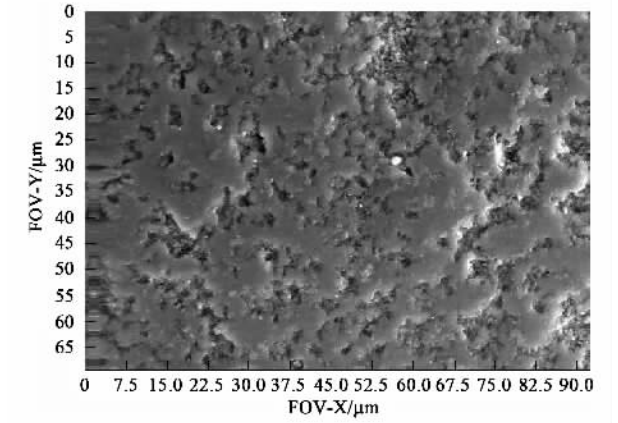


图 7 活性炭载体表面的扫描电镜照片

Fig.7 SEM image of activated carbon surface

- Netherlands: Kluwer Academic, 1998. 355-375.
- [10] Wu C S, Huang J S. Performance enhancement with tapered anaerobic fluidized-bed bioreactors [J]. J Chem Tech Biotechnol, 1995, **63**(4): 353-360.
- [11] Parthiban R, Lyer P, Sekaran G. Anaerobic tapered fluidized bed reactor for starch wastewater treatment and modeling using multilayer perceptron neural network [J]. J Environ Sci, 2007, **19**(12): 1416-1423.
- [12] Seker S, Beyenal H, Tanyolac A. The effects of biofilm thickness on biofilm density and substrate consumption rate in a differential fluidized bed biofilm reactor (DFBBR) [J]. J Biotech, 1995, **41**(1): 39-47.
- [13] Hidalgo M D, García-Encina P A. Biofilm development and bed segregation in a methanogenic fluidized bed reactor [J]. Wat Res, 2002, **36**(12): 3083-3091.
- [14] Lazarova V, Bellahcen D. Population dynamics and biofilm composition in a new three-phase circulation bed reactor [J]. Wat Res, 1998, **37**(4-5): 149-158.
- [15] Webster G H, Perona J J. The Effect of Taper Angle on the Hydrodynamics of a Tapered Liquid-Solid Fluidized Bed [J]. AIChE Symp, 1990, **86**(276): 104-111.
- [16] Webster G H, Perona J J. Liquid mixing in a tapered fluidized bed [J]. AIChE J, 1988, **34**(8): 1398-1402.
- [17] Peytons B M. Effects of shear stress and substrate loading rate on *Pseudomonas aeruginosa* biofilm thickness and density [J]. Wat Res, 1996, **30**(1): 29-36.
- [18] Tavares C R G, Sant'anna G L, Capdeville B. The effect of air superficial velocity on biofilm accumulation in a three-phase fluidized-bed reactor [J]. Wat Res, 1995, **29**(10): 2293-2298.
- [19] Cheng S S, Chen W C. Biofilm formation: the effects of hydrodynamic and substrate feeding patterns in three phase draft-tube fluidized bed for nitrification processes [J]. Wat Sci Tech, 1997, **36**(12): 83-90.
- [20] Nam T K, Timmons M B, Montemagno C D, *et al.* Biofilm characteristics as affected by sand size and location in fluidized bed vessels [J]. Aquacultural Engineering, 2000, **22**(3): 213-224.
- [21] Brett S H, Coughlin R W. Effect of stratification in fluidized bed bioreactor during treatment of metalworking wastewater [J]. Biotech Bioeng, 1999, **63**(2): 129-140.
- [22] Van Benthum W A J, Garrido-Fernandez J M, Tijhuis L, *et al.* Formation and detachment of biofilms and granules in a nitrifying biofilm airlift suspension reactor [J]. Biotechnol Prog, 1996, **12**(6): 764-772.
- [23] Rabah K F J, Dahab M F, Surampalli R Y. Biomass concentration and biofilm characteristics in high-performance fluidized-bed biofilm reactors [J]. Wat Sci Tech, 2005, **52**(10-11): 579-586.
- [24] Forster C F, Boyes A P, Hay B A, *et al.* An aerobic fluidized bed reactor for wastewater treatment [J]. Chem Eng Res Des, 1986, **64**(6): 424-430.
- [25] Sich H, van Rijn J. Scanning electron microscopy of biofilm formation in denitrifying fluidized bed reactors [J]. Wat Res, 1997, **31**(4): 733-742.