مجله علوم و فنون شیلات
دوره ۱۰ شماره ۳، تابستان ۱۴۰۰، صفحات ۳۴۲ تا ۳۵۴

تاثیر سطوح مختلف دما، شوری و نسبت کربن به نیتروژن در تولید توده زیستی (Biofloc)، ترکیب شیمیایی آن و کنترل مواد دفعی نیتروژنی در آبزی‌پروری

حبیب سرسنگی علی‌آباد[۱]، ابوالفضل ناجی[۱*]، سید رضا سید مرتضائی[۲]، ایمان سوری‌نژاد[۱]، آرش اکبرزاده[۱]

۱- گروه شیلات، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان، بندر عباس، ایران.
۲- موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران.

چکـــیده

فناوری بیوفلاک به عنوان ابزاری نوین در توسعه پایدار آبزی‌پروری مطرح و مشکل کمبود آب و خروج پساب آبزی‌پروری به محیط زیست را رفع نموده است. در این سیستم مواد دفعی نیتروژن‌دار (آمونیاک و آمونیوم) بوسیله باکتری‌ها جذب و به پروتئین میکروبی قابل مصرف برای آبزی تبدیل می‌گردد. هدف این طرح بررسی عوامل موثر بر تولید بیوفلاک و ارزیابی آن جهت استفاده در آبزی‌پروری بود. سطوح مختلف دما (۲۴، ۲۸ و ۳۲ درجه سانتی‌گراد)، شوری (صفر، ۴ و ۸ گرم در لیتر) و نسبت کربن به نیتروژن (۱:۱۰، ۱:۱۵ و۱:۲۰)که از فاکتورهای کلیدی در تشکیل بیوفلاک و نحوه عملکرد آن می‌باشد با استفاده از روش سطح پاسخ مورد بررسی و اثر فاکتورهای مورد مطالعه بر میزان نیتروژن آمونیاکی کل(TAN)، نیتریت، نیترات، حجم بیوفلاک، پروتیئن و چربی بیوفلاک‌ها ارزیابی گردید. نتایج نشان داد، دما بطور معنی‌داری بر حجم بیوفلاک و میزان پروتئین آن اثرگذار است ($P < 0.05$) اما بر ترکیبات نیتروژن‌دار و میزان چربی بیوفلاک اثر معنی‌داری ندارد($P > 0.05$). با افزایش شوری میزان پروتئین، چربی و رطوبت کاهش و میزان خاکستر بیوفلاک‌ها افزایش یافت($P < 0.05$). نسبت کربن به نیتروژن اثر معکوس و معنی‌داری بر نیتروژن آمونیاکی کل و نیتریت داشت. بهینه سازی فاکتورها نشان داد فراهم نمودن دمای°C ۲۷، نسبت کربن به نیتروژن ۱۸ به ۱ در آب لب شور و نیز دمای°C ۲۹ و نسبت کربن به نیتروژن ۱۴ به ۱ در آب شیرین منجر به تولید بیوفلاک بسیار مطلوب از نظر محتوای پروتیئن و چربی و کنترل ترکیبات نیتروژن دار در آب می‌گردد.

کـــلید واژه‌ها: دما ، شوری، نسبت کربن به نیتروژن، بیوفلاک

نوع مقـاله

مقاله پژوهشی اصیل

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۳/۱۳
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۲/۱۰
تاریخ چاپ الکترونیکی: ۱۴۰۰/۰۶/۰۶

***نویسنده مسول:**
Abolfazlnaji@gmail.com

مقدمه

کم آبی و مشکلات ناشی از پساب پرورش آبزیان، مدیریت بهداشتی و امنیت زیستی از مهمترین چالش‌های توسعه آبزی‌پروری بحساب می‌آیند[۱]. ورود پساب غنی از مواد آلی به بوم سازگان آبی، از طریق کاهش اکسیژن محلول، تولید گازهای مضر نظیر متان، سولفید هیدروژن و نیز شکوفایی مضر جلبکی تاثیرات نامطلوبی بر موجودات زنده در محیطهای طبیعی می‌گذارد[۲] اخیرا برای جلوگیری از آلودگی محیطزیست و هدر رفتن منابع غذایی یک فناوری جدید برای تصفیه فاضلاب زیستی رایج شده که به آن بیوفلاک می‌گویند. تکنولوژی بیوفلاک اغلب به عنوان راهی برای کاهش هزینه غذا و کاهش مخاطرات زیست محیطی از طریق کاهش ضایعات دفعی سیستم پرورشی مطرح می‌گردد[۳].

اولین گام در برپایی این تکنولوژی، تولید بیوفلاک در سیستم پرورشی است که باید قبل از معرفی آبزی به سیستم صورت پذیرد. به این ترتیب که با افزایش نسبت کربن به نیتروژن جامعه میکروبی توسعه یافته، به تراکمی نزدیک به 10^7واحد کلنی شکل در میلی‌لیتر رسیده و بیوفلاک را تشکیل می‌دهد که شامل باکتریها، پروتوزوآ، پلانکتون‌های جانوری و سایر میکروارگانیسم‌ها است[۴]. در این سیستم از طریق بالا بردن نسبت کربن به نیتروژن و افزایش جذب آمونیوم توسط جوامع میکروبی از تجمع مواد سمی نیتروژنی جلوگیری می‌گردد. محصول جانبی این سیستم رشد جامعه میکروبی و تولید پروتئین میکروبی است. آبزی از بیوفلاک که حاصل بازچرخ پروتئین است به عنوان غذای با کیفیت بالا استفاده می‌کند[۵]. با وجود گذشت بیش از دو دهه از ایجاد سیستم بیوفلاک در دنیا نکات کلیدی آن هنوز هم به خوبی درک نشده است. در زمینه عوامل موثر در تولید بیوفلاک مطالعات بسیار کمی صورت گرفته و نقش دما، شوری، میزان نور، نوع باکتری‌های موثر و نسبت کربن به نیتروژن به خوبی تبیین نگردیده است. از معدود مطالعات انجام شده در این حوزه می‌توان به تحقیق خانجانی و همکاران (۲۰۱۵) [۶] و مینابی و همکاران (۲۰۱۸)[۷] اشاره نمود که با افزودن مواد آلی کربن دار مانند ملاس، آرد گندم، باگاس و بلغور ذرت، خوراک میگو یا کپور، خاک رس الک شده و کود شیمیایی اوره به آب شور۳۲ گرم در لیتر و هوادهی شدید اجتماعات باکتریایی هتروتروف را افزایش داده و بیوفلاک‌های میکروبی را با قابلیت حذف ترکیبات نیتروژنه از آب ایجاد نمودند. در مورد نسبت کربن به نیتروژن در مطالعات مختلف نتایج متفاوتی پیشنهاد شده که از ۱:۵ در سیستم بیوفلاک اتوتروفی تا نسبت‌های ۱:۱۰، ۱:۱۵ و ۱:۲۰ در سیستم‌های هتروتروفی متغیر است[۸].

سرا و همکاران (۲۰۱۵) [۹] تاثیر منابع مختلف کربن (ملاس، دکستروز و سبوس برنج) بر کاهش آمونیاک در سیستم بیوفلاک را بررسی نمودند. آنها استفاده از ملاس را به دلیل کاهش سریع‌تر غلظت آمونیاک و بهبود کیفیت آب پیشنهاد نمودند. همچنین گائو و همکاران (۲۰۱۲) [۱۰] افزودن کربوهیدرات به سیستم بدون تعویض آب را باعث کاهش قابل توجه نیتروژن آمونیاکی کل و نیتریت و در نتیجه کنترل کیفیت آب عنوان نمودند. بررسی اثر سطوح شوری (۱۰، ۲۱ و۳۲ ppt) و منابع کربن(ملاس و آرد گندم) در تولید توده زیستی نشان داد، اکسیژن، آمونیاک و میزان پروتیئن با افزایش شوری کاهش اما میزان نیترات و خاکستر افزایش یافت[۱۱]. دمای آب نقش مهمی در کمیت و کیفیت تشکیل توده زیستی دارد. ضمن اینکه دما بطور غیر مستقیم بر میزان اکسیژن محلول و نیز متابولیسم آبزیان اثرگذار است. تجزیه بیوفلاک در دمای پایین‌تر از ۴ درجه سانتی‌گراد به دلیل کاهش فعالیت باکتری‌های موجود در بیوفلاک رخ می‌دهد[۱۲]. همچنین دماهای بالاتر از ۳۰ تا ۳۵ درجه سانتی‌گراد به علت تولید بیش از حد برخی پلی ساکاریدها باعث افزایش جامدات معلق تا بالای ۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر می‌گردد. در تصفیه فاضلاب آب با دمای ۲۰ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد، تولید بیوفلاک مناسبی را به همراه دارد[۱۳].

تکنولوژی بیوفلاک سابقه عملیاتی زیادی در کشور ندارد و انجام تحقیقات پایه‌ای برای درک بهتر روابط موجود در این سیستم و نیز آشنایی با متغیرهای مهم و تاثیرگذار در روند تشکیل بیوفلاک جهت استفاده در آبزی‌پروری پایدار و اقتصادی ضروری است. لذا در مطالعه حاضر اثر استفاده از سطوح مختلف دما، شوری و نسبت کربن به نیتروژن در مرحله تولید بیوفلاک و اثرات این عوامل بر کیفیت آب و ترکیب شیمیایی بیوفلاک‌های حاصل مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

برای تولید بیوفلاک تانک‌های گرد ۴۰ لیتری پلی اتیلن با شوری (۰، ۴ و ۸ گرم در لیتر) آبگیری و با یک سنگ هوای۱۰ سانتی متری متصل به سیستم هوادهی مرکزی هوادهی گردید. در هر تانک یک بخاری آکواریومی (۲۵۰ وات) دماهای ۲۴تا۲۵ ، ۲۸ تا ۲۹ و ۳۲ تا ۳۳ درجه سانتی‌گراد را تامین نمود. جهت آغاز تولید بیوفلاک از کود اوره (۴۶ درصد)، تریپل فسفات (۴۶ درصد اکسید فسفر)، خاک رس، کربنات کلسیم و غذای کپور استفاده شد. ضمن اینکه در طول آزمایش روزانه ۲ گرم غذای آرد شده کپور (cp:30) به عنوان منبع تولید ترکیبات نیتروژن‌دار به هر تانک اضافه گردید. برای برقراری نسبت کربن به نیتروژن ۱۰ به ۱، ۱۵ به ۱ و ۲۰ به ۱ با محاسبه میزان نیتروژن موجود در هر تیمار ملاس مورد نیاز

بر اساس هر تیمار به روش اونیملچ روزانه محاسبه و پس از رقیق سازی به تانک‌ها اضافه گردید[۵]. فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب شامل اکسیژن، pH، دما و شوری با استفاده از دستگاه پرتابل هچ مدل HQ30d به صورت روزانه اندازه گیری شد. آمونیاک، نیتریت و نیترات به کمک دستگاه اسپکتروفتومتر پرکین المر بصورت هفتگی اندازه گیری شد[۱۴]. حجم بیوفلاک با برداشت یک لیتر از آب تانک، ۱۰ تا ۲۰ دقیقه فرصت ته نشینی و انتقال بیوفلاک‌های رسوب کرده به استوانه مدرج حجم مواد جامد ته نشین شده(میلی لیتر بر لیتر) بصورت هفتگی ارزیابی و ثبت گردید[۳]. برای محاسبه میزان کل جامدات معلقTotal Suspended Solids (TSS) ۵۰۰ میلی لیتر از آب هر تانک را از کاغذ صافی واتمن عبور داده، کاغذ صافی در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت خشک و TSS محاسبه گردید[۱۵].

برای بررسی ترکیب شیمیایی بیوفلاک، پس از سکون و ته نشینی آب تانک، بیوفلاک غلیظ را جدا و در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد خشک نموده آنالیز بیوشیمیایی ترکیبات (پروتئین، چربی، رطوبت، فیبر و خاکستر) مورد سنجش قرار گرفت[۱۶]. برای شمارش باکتری‌ها یک میلی‌لیتر از نمونه رقیق شده در پتری‌دیش پخش و با ۱۵ میلی‌لیتر از محیط کشت پوشش داده‌شد. سپس به مدت ۲۴ ساعت درانکوباتور با دمای ۳۰ درجه قرار گرفته، تعداد کل باکتری‌ها به صورت log 10 واحدهای کلونی شکل نمایش داده شد[۱۷]. این آزمایش با هدف بررسی اثر سه متغیر مستقل دما، شوری و نسبت‌های کربن به نیتروژن از روش سطح پاسخResponse Surface Methodology (RSM) با استفاده از نرم افزار Design Expert طراحی و اثر فاکتورهای مورد مطالعه بر میزان نیتروژن آمونیاکی کل(TAN) ، نیتریت، نیترات، حجم بیوفلاک، پروتیئن و چربی بیوفلاک‌ها ارزیابی گردید(جدول ۱). بهینه سازی متغیرها با استفاده از طرح باکس بنکن Box-Behnken Designs (BBD) انجام شد. تیمار مرکزی با ۵ تکرار لحاظ گردید. به این ترتیب ۱۷= ۵ + ۱۲ تانک مورد استفاده قرار گرفت (شکل ۱).

جدول ۱- متغیرهای مستقل (دما، شوری و کربن به نیتروژن) و متغیرهای وابسته(آمونیوم، نیتریت، نیترات، پروتیئن و چربی) مورد مطالعه در روش سطح پاسخ

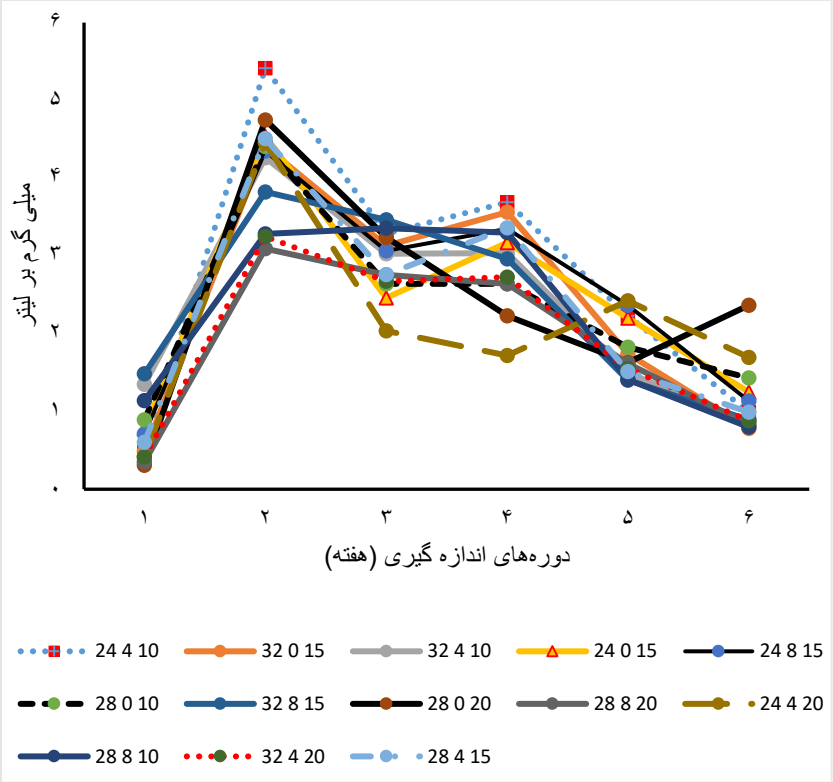
فاکتور	متغیر	واحد	کمینه	بیشینه	کد	Values	میانگین	پاسخ
A	دما	درجه سانتی گراد	۲۴	۳۲	-۱=۲۴	۱=۳۲	۲۸	TAN، No_2
B	شوری	گرم در لیتر	۰	۸	-۱=۰	۱=۸	۴	No_3، FV
C	C/N	-	۱۰	۲۰	-۱=۱۰	۱=۲۰	۱۵	Protein، Lipid

Run	Factor 1 A: Temperature 0 C	Factor 2 B: salinity PPT	Factor 3 C: C:N
1	24	4	10
2	32	0	15
3	28	4	15
4	28	4	15
5	28	4	15
6	32	4	10
7	24	0	15
8	28	4	15
9	24	8	15
10	28	0	10
11	28	4	15
12	32	8	15
13	28	0	20
14	28	8	20
15	24	4	20
16	28	8	10
17	32	4	20

شکل ۱- تیمارهای تعریف شده توسط نرم افزار دیزاین اکسپرت برای سطوح مختلف دما، شوری و نسبت کربن به نیتروژن

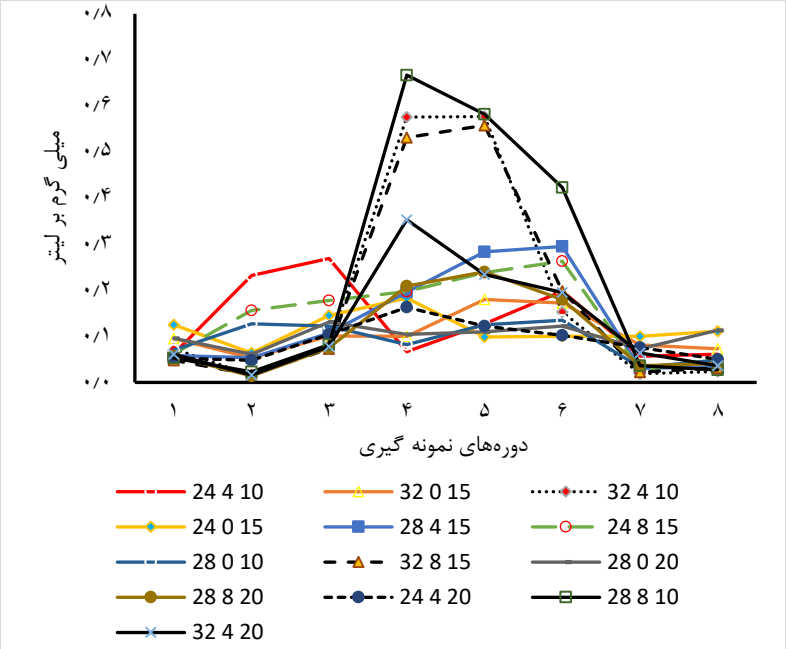
نتایج

تغییرات اکسیژن محلول (۶/۲۲ تا ۷/۹۸ میلی‌گرم بر لیتر) بود و با افزایش دما میزان اکسیژن کاهش یافت. تغییرات pH آب تانک‌ها در محدوده (۸/۳۱ تا ۸/۶۲) ثبت شد. میزان یون آمونیوم در تیمارهای مختلف تحت تاثیر نسبت‌های مختلف کربن به نیتروژن متغیر بود که بالاترین و پایین ترین میانگین آنها به ترتیب ۰/۱۹±۲/۶۸ و ۰/۱۵ ± ۱/۸۸میلی گرم بر لیتر در گروه ۲۴، ۴، ۱۰ و ۲۸، ۸، ۲۰ (به ترتیب دما، شوری و نسبت کربن به نیتروژن) مشاهده شد. میزان یون آمونیوم با افزایش طول دوره ابتدا افزایش و سپس کاهش نشان داد. این روند در همه تیمارهای آزمایشی مشاهده شد و در شکل ۲ قابل ملاحظه می‌باشد.



شکل ۲ - تغییرات نیتروژن آمونیاکی کل(TAN) در تیمارهای مختلف در طول آزمایش (۲۴ ۸ ۱۵) به ترتیب دما(۲۴)، شوری(۸) و نسبت کربن به نیتروژن(۱:۱۵)

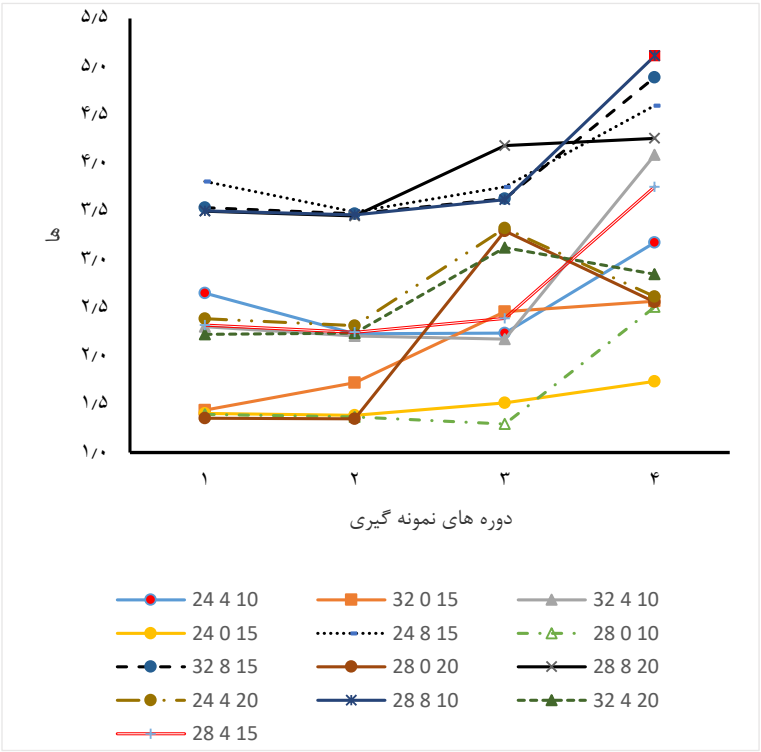
میزان نیتریت با افزایش طول دوره ابتدا افزایش و سپس کاهش نشان داد. این روند در همه تیمارهای آزمایشی مشاهده شد و در شکل ۳ قابل ملاحظه می‌باشد. همچنین میزان نیتریت تحت تاثیر نسبت‌های مختلف کربن به نیتروژن متغیر بود. بالاترین (۰/۶۶۷میلی‌گرم بر لیتر) و پایین‌ترین (۰/۰۱۶ میلی‌گرم بر لیتر) به ترتیب در نسبت کربن به نیتروژن۱۰ و ۲۰ مشاهده شد.



شکل ۳ – تغییرات نیتریت در تیمارهای مختلف در طول آزمایش

(۲۴ ۰ ۱۵) به ترتیب دما(۲۴)، شوری(۰) و نسبت کربن به نیتروژن(۱:۱۵)

میزان نیترات تحت تاثیر شوری‌های مختلف متغیر بود. بالاترین (۵/۱۱ میلی‌گرم بر لیتر) و پایین ترین (۱/۲۹ میلی‌گرم بر لیتر) به ترتیب در شوری ۸ و صفر گرم در لیتر مشاهده شد (شکل۴).



شکل ۴ – تغییرات نیترات در تیمارهای مختلف در طول آزمایش

(۲۴ ۰ ۱۵) به ترتیب دما(۲۴)، شوری(۰) و نسبت کربن به نیتروژن(۱:۱۵)

تغییرات حجم بیوفلاک و کل جامدات معلق در طول دوره آزمایش در همه تیمارها روند صعودی را نشان داد. اما میزان حجم بیوفلاک و کل جامدات معلق با توجه به سه فاکتور مورد مطالعه بیشتر تحت تاثیر دما و نسبت کربن به نیتروژن تغییر نمود. تعداد باکتری‌ها در طول دوره آزمایش ابتدا افزایش و سپس کاهش یافت. میزان پروتئین و چربی بیوفلاک‌ها بیشتر تحت تاثیر شوری آب تغییر نمود و در تیمارهای آب شیرین بالاتر از شوری ۴ و ۸ گرم در لیتر بود. میزان فیبر بیوفلاک‌ها در تیمارهای مختلف با افزایش شوری آب کاهش یافت. میزان خاکستر بیوفلاک‌ها در تیمارهای مختلف با افزایش شوری افزایش یافت. میزان رطوبت در تیمارهای مختلف بین ۹۰ تا ۹۶/۱ درصد متغیر بود تیمارها با دماهای بالاتر میزان رطوبت نسبتا بالاتری را نشان دادند. با توجه به جدول ۲ می‌توان گفت تغییرات دما بطور معنی‌داری بر حجم بیوفلاک و میزان پروتئین آن اثرگذار است ($P < 0.05$) اما بر ترکیبات نیتروژنه و میزان چربی اثر معنی‌داری ندارد ($P > 0.05$). تغییرات شوری بطور معنی‌داری بر میزان نیترات، پروتیئن و چربی بیوفلاک‌های تولید شده اثر داشته، با افزایش شوری میزان پروتئین، چربی و فیبر کاهش و میزان خاکستر بیوفلاک‌ها افزایش یافت ($P < 0.05$). میزان TAN و نیتریت بطور معنی‌داری ($P < 0.05$) تحت تاثیر نسبت‌های کربن به نیتروژن تغییر نمود.

یکی از مزایای نرم‌افزار دیزاین اکسپرت قابلیت بهینه‌سازی فاکتورها با استفاده از مدل ریاضی و امکان پیشگویی حالت‌های ایده آل است. در مطالعه حاضر بهینه سازی در دو حالت انجام شد. سطوح مناسب دما و نسبت کربن به نیتروژن در تولید بیوفلاک برای دستیابی به حالت ایده‌ال از لحاظ محتوای پروتئین و چربی و نیز حذف مواد زاید نیتروژن‌دار در شوری ۸ گرم بر لیتر و نیز در آب شیرین تعیین گردید. با توجه به بهینه سازی انجام شده در شوری ۸ گرم در لیتر اگر دما ۲۷ درجه سانتی‌گراد و نسبت کربن به نیتروژن ۱۸ به ۱ در نظر گرفته شود سیستم بیوفلاکی حاصل خواهد شد که ضمن کنترل مواد زاید نیتروژنی از محتوای پروتیئن و چربی مناسبی نیز برخوردار است. بهینه سازی در آب شیرین نیز نشان داد با تنظیم دمای ۲۹ درجه سانتی‌گراد و نسبت کربن به نیتروژن ۱۴ به ۱ بیوفلاک بسیار مطلوب از نظر محتوای پروتیئن و چربی ایجاد خواهد شد و کنترل ترکیبات نیتروژن دار نیز به خوبی صورت می‌گیرد.

جدول ۲- اثر متغیرهای مستقل بر پاسخ‌های میزان نیتروژن آمونیاکی‌کل، نیتریت، نیترات، حجم بیوفلاک، پروتیئن و چربی بیوفلاک

فاکتور	p- value					
	TAN (mg/l)	No_2 (mg/l)	No_3 (mg/l)	FV (ml/l)	Protein (%)	Lipid (%)
A-temperature	۰/۱۰۹۹	۰/۷۲۴۱	۰/۳۵۷۰	۰/۰۰۴۳	۰/۰۰۶۶	۰/۳۵۰۶
B-Salinity	۰/۲۳۹۲	۰/۴۵۰۵	۰/۰۰۰۱	۰/۷۹۵۲	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۱۱
C-C/N	۰/۰۲۰۲	۰/۰۰۰۵	۰/۲۰۵۰	۰/۱۰۱۳	۰/۰۸۹۸	۰/۳۸۶۹
AB	۰/۷۳۳۶	۰/۳۴۸۴	۰/۱۳۴۸	۰/۰۱۸۹	۰/۰۰۲۷	۰/۰۹۶۸
AC	۰/۶۶۱۵	۰/۶۵۸۴	۰/۴۶۳۵	۰/۸۲۶۸	۰/۹۰۳۳	۰/۹۸۹۹
BC	۰/۱۸۰۳	۰/۳۳۹۳	۰/۲۵۶۱	۰/۶۶۱۳	۰/۷۰۴۴	۰/۶۷۴۰

بحث

با توجه به نتایج بالاترین و پایین‌ترین میزان اکسیژن محلول، به ترتیب در گروه‌های دمایی۲۴ و ۳۲ درجه سانتی‌گراد مشاهده شد. این نتیجه با یافته‌های برخی محققین همخوانی دارد. افزایش دما از ۱۵ تا ۳۳ درجه سانتی‌گراد در سیستم بیوفلاک کاهش معنی‌دار اکسیژن را در پی داشت[۱۸]. همچنین طبق نظر بوید[۱۹] میزان حلالیت گازها با دما ارتباط معکوس دارد و هرچه دما بالاتر باشد میزان حلالیت پایین‌تر خواهد بود. میزان pH در تیمارهای مختلف با افزایش دما و شوری افزایش یافت. این نتایج با یافته‌های خانجانی(۲۰۱۸)[۱۱] و پانک و همکاران(۲۰۱۹) [۲۰] مطابقت دارد. تحقیقات بسیار کمی در زمینه بررسی ارتباط بین دما و شوری با تشکیل بیوفلاک و کارایی آن در هضم زایدات نیتروژنی انجام شده است. تجزیه بیوفلاک در دمای پایین‌تر از ۴ درجه سانتی‌گراد به دلیل کاهش فعالیت باکتری‌های موجود در بیوفلاک رخ می‌دهد. دماهای بالاتر از ۳۰ درجه سانتی‌گراد به علت تولید بیش از حد برخی پلی ساکاریدها باعث افزایش TSS [۱۲، ۱۳]. در تصفیه فاضلاب آب با دمای ۲۰ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد، تولید بیوفلاک مناسبی را به همراه دارد.

در مطالعه حاضر میزان یون آمونیوم و نیتریت با افزایش نسبت کربن به نیتروژن کاهش یافت. بالاتر بودن میزان کربن وارد شده به سیستم بیوفلاک باعث رشد و توسعه سریع‌تر جامعه باکتریایی هتروتروف و تبدیل بیشتر آمونیوم به فلاک گردید[۲۱]. برقرار نمودن نسبت مواد کربنی به مواد نیتروژنی در سیستم بدون تعویض آب تا نزدیک به ۲۰ به ۱ برای تحریک باکتری‌های جذب کننده ترکیبات نیتروژنه کافی است. کاهش آمونیوم و نیتریت در تیمارهای با نسبت کربن به نیتروژن ۲۰ به دلیل انجام فرایندهای هضم و جذبی توسط باکتری‌ها مرتبط است[۵]. همچنین افزایش شوری از ۱۰ تا ۳۰ گرم در لیتر باعث افزایش میزان یون آمونیوم در سیستم بیوفلاک شد[۱۱]. در مطالعه ای دیگر افزایش دما تا ۳۲ درجه سانتی‌گراد و شوری تا ۳۰ گرم در لیتر میزان یون آمونیوم را در سیستم بیوفلاک افزایش داد[۲۰]. میزان نیترات با افزایش سطح شوری افزایش یافت. روند افزایشی نیترات با افزایش سطح شوری توسط برخی محققین تایید شده است[۱۱].

میزان حجم بیوفلاک، کل جامدات معلق و تعداد باکتری‌ها با پیشرفت دوره آزمایش و با افزایش سطوح دما، شوری و نسبت کربن به نیتروژن افزایش یافتند. افزایش معنی‌دار میزان حجم بیوفلاک، جامدات معلق و باکتری‌ها با افزایش شوری تا ۳۲ گرم در لیتر[۱۱]، افزایش جامدات معلق با افزایش نسبت کربن به نیتروژن[۱۴]، افزایش جامدات معلق با افزایش دما تا ۳۳ درجه سانتی‌گراد[۱۸] در تحقیقات پیشین بیان شده که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد. افزایش حضور نمک‌ها، یون‌های کلسیم و آلومینیوم تشکیل توده‌های پایدار را تحریک کرده. باعث تجمع ذرات معلق و افزایش توده‌های زیستی می‌گردد[۲۲] افزایش میزان بیوفلاک‌ها، باکتری‌ها و مواد جامد معلق را می‌توان به حضور بیشتر نمک‌ها و یون‌های بیوفلاک ساز در شوری‌های بالاتر نسبت داد. نتایج اندازه‌گیری پروتئین، چربی و فیبر بیوفلاک‌ها حاکی از کاهش میزان این پارامترها و افزایش میزان خاکستر، با افزایش سطح شوری در تیمارهای مختلف بود. کاهش محتوای پروتئین، چربی و فیبر در بیوفلاک‌ها با بالا رفتن شوری در سایر تحقیقات نیز تایید شده است[۱۱، ۲۳].

ترکیب شیمیایی بیوفلاک‌ها به عوامل متعددی نظیر، نوع و شدت هوادهی[۲۴] شرایط محیطی، نوع منبع کربن[۲۵]، سن بیوفلاک، میزان مواد جامد معلق، نوع منبع و شدت نور، جوامع باکتریایی[۲۶]، فیتوپلانکتون‌ها، زئوپلانکتون‌ها و سایر ارگانیسم‌های وابسته به بیوفلاک[۲۷]، نسبت کربن به نیتروژن مورد استفاده، شوری[۲۸] و دمای آب بستگی دارد[۲۲] لذا بیوفلاک تولید شده حاصل برهمکنش تعداد زیادی از این عوامل بوده و در شرایط مختلف نتایج متفاوتی را در پی دارد.

نتیجه‌گیری

در مجموع با توجه به نتایج حاصله و بهینه‌سازی صورت گرفته همچنین مقایسه شرایط تشکیل بیوفلاک در دماها و شوری‌های مختلف می‌توان گفت در آب شیرین بیوفلاک‌های تولیدی از نظر محتوای پروتیئن و چربی کیفیت بالاتری دارند اما محیط‌های آب لب‌شور نیز قابلیت تولید بیوفلاک را داشته و در این منابع نیز کاهش آمونیاک و ترکیبات نیتروژن‌دار توسط تکنولوژی بیوفلاک بخوبی صورت می‌گیرد. لذا محیط آب لب شور زیر زمینی برای تولید بیوفلاک شرایط مناسبی را از نظر تعداد باکتری‌های هتروتروف، حجم بیوفلاک، فاکتورهای کیفی آب برای استفاده در

تکثیر و پرورش آبزیان و نیز میزان مناسب پروتئین و چربی در ترکیب بیوفلاک‌های تولید شده دارد و می‌توان از این پتانسیل عظیم در مناطق مختلف کشور بهره برداری نموده جایگزین مناسبی برای منابع آب شیرین در آبزی‌پروری گردد تا منابع آب شیرین به سایر مصارف کشاورزی و انسانی برسد.

تشکر و قدردانی: از پرسنل محترم مرکز تحقیقات ملی آبزیان آب‌های شور بویژه دکتر علیزاده و دکتر محمدی ریاست و معاونت محترم مرکز که در فراهم کردن امکانات لازم جهت انجام این تحقیق نهایت همکاری را نمودند صمیمانه سپاسگزاری می‌گردد.

منابع

1- Ekasari J, Maryam S. Evaluation of biofloc technology application on water quality and production performance of red tilapia *Oreochromis sp.* cultured at different stocking densities. Hayati journal of Biosciences. 2012; 19(2):73-80.

2- Ambulkar AR. Nutrient pollution and wastewater treatment systems. InOxford Research Encyclopedia of Environmental Science 2017; 26.

3- Hargreaves JA. Biofloc production systems for aquaculture. Stoneville, MS: Southern Regional Aquaculture Center; 2013 Apr.

4- Avnimelech Y. Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge bio-flocs technology ponds. Aquaculture. 2007; 264(1-4):140-7.

5- Avnimelech Y. Carbon/nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems. Aquaculture. 1999; 176(3-4):227-35.

6- Khanjani MH, Sajadi MM, Alizadeh M, Surinejad I. Production and evaluation of biofloc for usage in zero-exchange water system. Journal of aquaculture development. 2015; 10(1):33-42. [in persian]

7- Minabi Kh, surinejad I, Alizadeh M, Rajabzadeh A. Effect of using different C/N ratio in biofloc system on growth performance, feeding and water quality indices of common corp(*Cyprinus carpio*) culture. Iranian Scientific Fisheries Journal. 2018; 28(6):13-25.[in persian]

8- Becerra-Dorame MJ, Martínez-Porchas M, Martínez-Córdova LR, Rivas-Vega ME, Lopez-Elias JA, Porchas-Cornejo MA. Production response and digestive enzymatic activity of the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) intensively pregrown in microbial heterotrophic and autotrophic-based systems. The Scientific World Journal. 2012 Jan 1;2012.

9- Serra FP, Gaona CA, Furtado PS, Poersch LH, Wasielesky W. Use of different carbon sources for the biofloc system adopted during the nursery and grow-out culture of *Litopenaeus vannamei*. Aquaculture International. 2015 Dec 1;23(6):1325-39.

10- Gao L, Shan HW, Zhang TW, Bao WY, Ma S. Effects of carbohydrate addition on *Litopenaeus vannamei* intensive culture in a zero-water exchange system. Aquaculture. 2012 Apr 15;342:89-96.

11- Khanjani MH. Effect of different salinity level and carbon sources in biofloc production system. Iranian Scientific Fisheries Journal. 2018; 28(4):69-79.[in persian]

12- Wilen BM, Nielsen JL, Keiding K, Nielsen PH. Influence of microbial activity on the stability of activated sludge flocs. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. 2000 Aug 1;18(2):145-56.

13- Luvuyo N, Nwodo UU, Mabinya LV, Okoh AI. Studies on bioflocculant production by a mixed culture of *Methylobacterium sp.* Obi and *Actinobacteriumsp.* Mayor. BMC biotechnology. 2013 Dec 1;13(1):62.

14- Xu WJ, Morris TC, Samocha TM. Effects of C/N ratio on biofloc development, water quality, and performance of *Litopenaeus vannamei* juveniles in a biofloc-based, high-density, zero-exchange, outdoor tank system. Aquaculture. 2016 Feb 20;453:169-75.

15- López-Elías JA, Moreno-Arias A, Miranda-Baeza A, Martínez-Córdova LR, Rivas-Vega ME, Márquez-Ríos E. Proximate composition of bioflocs in culture systems containing hybrid red tilapia fed diets with varying levels of vegetable meal inclusion. North American Journal of Aquaculture. 2015 Jan 2;77(1):102-9.

16- Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis: Association of Official Analytical Chemists; 1990.

17- Arantes R, Schveitzer R, Seiffert WQ, Lapa KR, Vinatea L. Nutrient discharge, sludge quantity and characteristics in biofloc shrimp culture using two methods of carbohydrate fertilization. Aquacultural engineering. 2017 Jan 1;76:1-8.

18- Hostins B, Braga A, Lopes DL, Wasielesky W, Poersch LH. Effect of temperature on nursery and compensatory growth of pink shrimp *Farfantepenaeus brasiliensis* reared in a super-intensive biofloc system. Aquacultural Engineering. 2015 May 1;66:62-7.

19- Boyd CE. Pond water aeration systems. Aquacultural engineering. 1998 Jul 1;18(1):9-40.

20- Ponce-Palafox JT, Pavia ÁA, López DG, Arredondo-Figueroa JL, Lango-Reynoso F, del Refugio Castañeda-Chávez M, Esparza-Leal H, Ruiz-Luna A, Páez-Ozuna F, Castillo-Vargasmachuca SG, Peraza-Gómez V. Response surface analysis of temperature-salinity interaction effects on water quality, growth and survival of shrimp *Penaeus vannamei* postlarvae raised in biofloc intensive nursery production. Aquaculture. 2019 Mar 30;503:312-21.

21- Hargreaves JA. Photosynthetic suspended-growth systems in aquaculture. Aquacultural engineering. 2006 May 1;34(3):344-63.

22- Hakanson L. The relationship between salinity, suspended particulate matter and water clarity in aquatic systems. Ecological Research. 2006 Jan 1;21(1):75-90.

23- Maica PF, de Borba MR, Wasielesky Jr W. Effect of low salinity on microbial floc composition and performance of *Litopenaeus vannamei* (Boone) juveniles reared in a zero-water-exchange super-intensive system. Aquaculture Research. 2012 Feb;43(3):361-70.

24- Lara G, Krummenauer D, Abreu PC, Poersch LH, Wasielesky W. The use of different aerators on *Litopenaeus vannamei* biofloc culture system: effects on water quality, shrimp growth and biofloc composition. Aquaculture International. 2017 Feb 1;25(1):147-62.

25- Crab R, Lambert A, Defoirdt T, Bossier P, Verstraete W. The application of bioflocs technology to protect brine shrimp (*Artemia franciscana*) from pathogenic Vibrio harveyi. Journal of applied microbiology. 2010 Nov;109(5):1643-9.

26- Ray AJ, Drury TH, Cecil A. Comparing clear-water RAS and biofloc systems: Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) production, water quality, and biofloc nutritional contributions estimated using stable isotopes. Aquacultural Engineering. 2017 May 1;77:9-14.

27- Emerenciano M, Gaxiola G, Cuzon G. Biofloc technology (BFT): a review for aquaculture application and animal food industry. Biomass now-cultivation and utilization. 2013 Apr 30:301-28.

28- Ekasari J, Crab R, Verstraete W. Primary nutritional content of bio-flocs cultured with different organic carbon sources and salinity. HAYATI Journal of Biosciences. 2010 Sep 1;17(3):125-30.

Journal of Fisheries Science and Technology
Volume10, Issue 3, Summer 2021
Pages: 342-354

Effect of different temperature, salinity and C/N ratio levels on biofloc production, proximate analyses and control of nitrogenous components in aquaculture

Habib Sarsangi Aliabad[1], Abolfazl Naji[1*], Seyed Reza Seyed Mortezaei[2], Iman Sourinejad[1], Arash Akbarzadeh[1]

1- Department of Fisheries, Faculty of Marine Science and Technology, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran.

2- Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran.

A B S T R A C T

Biofloc technology has mentioned as a new tool for sustainable aquaculture development and has overcome the problems of water scarcity and discharge of aquaculture effluents to the environment. In this system, nitrogenous wastes (Ammonia and Ammonium) are simultaneously recovered by bacteria and converted into microbial proteins that can be consumed by aquatic animals. The purpose of this study was to investigate the factors affecting the production of biofloc and evaluate it for use in aquaculture. The effect of different temperature levels (24, 28, 32 ˚C), salinity (0, 4, 8 g/l), and C/N ratio (10:1, 15:1, 20:1) which are the main key factors to the formation and function of biofloc system was evaluated by using a response surface method designing. Moreover, the influence of those factors on total ammonia nitrogen, nitrite, nitrate, floc volume, protein, and lipid content of biofloc was investigated. The results showed that the temperature had a significant effect on floc volume and protein content of biofloc ($P < 0.05$), but it had no significant effect on other nitrogenous compounds and lipid content ($p > 0.05$). The protein, lipid and moisture of biofloc particles were decreased by increasing salinity significantly ($P < 0.05$). Also, TAN and nitrite concentration influenced by C/N ratio inversely. According to the factors Optimization, providing 27 ˚C and C/N ratio of 18:1 in brackish water and 29 ˚C and C/N ratio of 14:1 in fresh water resulted in high quality biofloc production and control of nitrogenous wastes in water.

KEYWORDS: Temperature, Salinity, C/N ratio, Biofloc.

ARTICLE TYPE

Original Research

ARTICLE HISTORY

Received: 02 June 2020
Accepted: 21 April 2021
ePublished: 23 August 2021

* Corresponding Author:
Email address: Abolfazlnaji@gmail.com
Tel: +(98) 7633711000
© Published by Tarbiat Modares University
eISSN:2476-6887 pISSN:2322-5513