中国水产科学 2020 年 3 月, 27(3): 295−306
Journal of Fishery Sciences of China

研究论文

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2020.19177

不同粒径的生物絮团氨氮处理能力和营养成分组成

张扬[1], 杨逸尊[1], 陈晓庆[1], 谭洪新[1,2,3], 罗国芝[1,2,3]

1. 上海海洋大学, 上海市水产养殖工程技术研究中心, 上海 201306;
2. 上海海洋大学, 农业农村部淡水水产种质资源重点实验室, 上海 201306;
3. 上海海洋大学, 教育部水产科学国际级实验教学示范中心, 上海 201306

摘要: 使用悬浮式生物反应器(suspended growth reactor, SGRs)研究了生物絮团粒径对絮团的硝化氨氮能力和同化氨氮能力的影响。硝化作用条件下, 未分筛组、粒径大于等于 50 μm 的絮团组(≥50 μm 组)和粒径小于 50 μm 的絮团组(<50 μm 组)总氨氮(total ammonia nitrogen, TAN)去除速率分别为(1.33±0.01) mg TAN/(g TSS·h)、(1.62±0.04) mg TAN/(g TSS·h)和(1.64±0.06) mg TAN/(g TSS·h); 同化作用条件下, 三组的 TAN 去除速率分别为(2.83±0.08) mg TAN/(g TSS·h)、(3.34±0.12) mg TAN/(g TSS·h)和(3.52±0.12) mg TAN/(g TSS·h)。≥50 μm 组与<50 μm 组的 TAN 去除速率、亚硝态氮(NO_2^--N)、硝态氮(NO_3^--N)和总氮(total nitrogen, TN)的最终浓度差异均不显著(P>0.05)。检测了溶解性有机碳(dissolved organic carbon, DOC)、粗蛋白(crude protein)、总脂肪(crude fat)、氨基酸(amino acid)、脂肪酸(fatty acids)、粗灰分(crude ash)、碳氮比(carbon to nitrogen ratio, C/N)、挥发性悬浮固体(volatile suspended solids, VSS)和活性污泥比好氧速率(specific oxygen uptake rate, SOUR)等指标, 比较结果表明, 絮团粒径对硝化氨氮、同化氨氮效率没有显著影响, 对絮团的营养价值有显著影响。

关键词: 絮团粒径; 异养同化; 自养硝化过程; 营养成分
中图分类号: S917 **文献标志码:** A **文章编号:** 1005−8737−(2020)03−0295−12

生物絮凝技术是利用优势生长的异养细菌, 通过同化作用, 将氨氮转化成有机氮, 使水体中一些有机颗粒结合起来形成一种可被鱼类摄食的生物絮团。在生物絮凝养殖中, 残饵、粪便中蛋白质的分解和鱼类的排泄造成了氨氮的积累[1]。氨氮的积累会直接影响养殖动物的生长, 降低其存活率[2]。通常情况下, 水体中氮素的去除主要是通过微生物的硝化作用和同化作用[3-5]。生物絮团不但包含浮游生物、细菌、原生动物, 还包含各种颗粒有机体等[6], 同时絮团的颗粒大小通常不固定, 随曝气的强度大小以及液体渗透压的不同而不同[7-8]。通常认为养殖系统中稳定的生物絮团大小为 50~1000 μm[9]。粒径<48 μm 的絮团占絮团总质量的 44.8%, 48~100 μm 和>100 μm 的絮团分别占絮团总质量的 26%和 29.2%, 粒径<48 μm 的絮团占主导地位[10]。

在絮凝养殖中, 生物絮团的粒径与被摄食率、消化率和营养价值有关[11]。研究表明, 絮团粒径的大小可能会影响硝化作用和同化作用[12-14]。但是目前关于硝化作用的絮团尺寸的结果尚存在争议。有些学者通过研究不同的曝气类型对生物絮团处理水质的影响, 提出生物絮团的尺寸较小对硝化过程没有影响[15]; 但是另一些学者指出较小的絮团尺寸甚至对硝化过程有负面影响[16]。目前, 已有研究对活性污泥粒径的研究较多, 粒径不仅影响活性污泥的稳定性[17], 脱氮性能[18], 甚至还影响活性污泥内部微生物的种群分布[19-20]。国内对生物絮团粒径的相关研究还较少, 对于不同粒

收稿日期: 2019-07-16; **修订日期:** 2019-08-28.
基金项目: 国家自然科学基金项目(31202033).
作者简介: 张扬(1995–), 男, 硕士研究生, 从事零交换水养殖系统研究. E-mail: klyzhangyang@163.com
通信作者: 罗国芝, 教授, 从事水产养殖用水重复利用研究. E-mail: gzhluo@shou.edu.cn

径的絮团的营养成分的研究较少，而对于不同粒径的絮团在处理氨氮前后的营养成分变化上也鲜有关注。本实验研究了粒径在50 μm及以上和50 μm以下的絮团的氨氮处理和营养组成方面的差异，旨在为生物絮团养殖的运行工况提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验地点及设施

实验在封闭实验室内进行，反应器为 1 L 的实验室标准锥形瓶。两台电磁式空气泵(功率 80 W，森森集团股份有限公司)进行曝气，在塑料水箱(长 97 cm，宽 75 cm，高 65 cm)内用加热棒(功率 500 W，森森集团股份有限公司)水浴加热，温度(24.5±1.3) ℃。

1.2 实验设计与管理

实验开始前 100 d，使用淡水培育絮团，盐度保持在 2 以内，在 3 个 150 L 养殖桶中培育至成熟。每个桶中投入 150 g 磨碎的罗非鱼饲料，初始总悬浮固体颗粒物(total suspended solids, TSS)为 1000 mg/L。培养期间除了补充因蒸发而散失的水分，不换水。设立未分筛组、≥50 μm 组和<50 μm 组。留在 300 目筛网上的为≥50 μm 絮团，<50 μm 絮团静置沉降撇去上清液以提高 TSS。将三组调整到相同的 TSS 水平。

每组 6 个锥形瓶，只有后 3 个锥形瓶加入碳源。未分筛组加入 1 L 原絮团，为了模拟养殖过程中较高的氨氮浓度，以及保证实验周期，按 10 mg/L 的浓度加入氯化铵晶体(66 mg)(所有组的氯化铵浓度相同)(国药集团化学试剂有限公司，分析纯)，按 C/N 比为 20 加入碳源(416 mg)(所有组的 C/N 相同)(一水葡萄糖，$C_6H_{12}O_6·H_2O$，纯度≥99%，含 C 量 36.0%，西王药业有限公司生产)；≥50 μm 组和<50 μm 组加入 500 mL 实验水体，加入氯化铵晶体(33 mg)，加入碳源(208 mg)。

1.3 样品的采集

实验前测定活性污泥比好氧速率(specific oxygen uptake rate, SOUR)、TSS 等指标。实验开始后，亚硝态氮(NO_2^--N)、硝态氮(NO_3^--N)和总氨氮(total ammonia nitrogen, TAN)隔 1 h 测一次，总氮(total nitrogen, TN)隔 2 h 测一次。检测实验前后的总脂肪、粗灰分、粗蛋白、脂肪酸、溶解性有机碳(dissolved organic carbon, DOC)、水解氨基酸和碳氮比。

1.4 水质指标测试方法

直接取实验水体测 TN(碱性过硫酸钾消解紫外分光光度法)，0.22 μm 针头滤器(Collins MCE，上海)过滤后测 TAN(水杨酸钠法)、NO_2^--N(萘乙二胺分光光度法)和 NO_3^--N(硫酸肼还原法)，测定方法按照《水和废水监测分析方法》(第 4 版)(2002 年)[21]进行，TN 使用紫外可见分光光度计(上海尤尼柯仪器有限公司，UV-2600 型)测定，TAN、NO_2^--N 和 NO_3^--N 使用全自动间断化学分析仪(DeChem-Tech，德国，Cleverchem 380 型)检测。

1.5 絮团指标测试方法

TSS 测量方法为称重法[21]，VSS 的测定参考张晓娜[22]，SOUR 参考郝晓地等[23]。粗灰分采用现行国家标准 GB/T 6438-2007，等同国际标准 ISO 5984:2002 [24-26]。粗蛋白和 C/N 比采用元素分析仪(Elmenter Vario Max，德国)测定其氮元素含量[27]，氮换算成蛋白质的平均系数为 6.25[28]。DOC 使用多功能 C/N 分析仪(Multi N/C 2100，德国)测定。总脂肪的测定采用氯仿–甲醇法[29]。参照 Griffiths 等[30]的方法，脂肪酸组成测定采用直接甲酯化法。水解氨基酸测定参照 GB/T 5009.124–2003[31]，上机测定(日立，L-8800，氨基酸分析仪)。

1.6 氨氮去除效率和氨氮去除速率计算公式

NH_4^+-N 去除效率计算公式：

$$R=100\%\times(C_i-C_e)/C_i$$

式中：R—NH_4^+-N 的去除效率，%；C_i—初始的 NH_4^+-N 质量浓度，mg/L；C_e—终末的 NH_4^+-N 质量浓度，mg/L。

NH_4^+-N 去除速率计算公式：

$$S=(C_i-C_e)/(T\times t)$$

式中：S—NH_4^+-N 的去除速率，mg TAN/g TSS·h；C_i—初始的 NH_4^+-N 质量浓度，mg/L；C_e—终末的 NH_4^+-N 质量浓度，mg/L；T—絮团的 TSS 浓度，mg/L；t—氨氮变化的时间，h。

1.7 数据统计分析

实验数据采用 Excel 软件进行结果统计，由 Origin、Adobe Illustrator 软件进行相关图表的绘

制。实验数值用平均值±标准差($\bar{x}$±SD)形式表示, 采用 SPSS 17.0 统计软件对数据进行 ANOVA 单因素方差分析, P<0.05 为差异性显著。

2　结果与分析

2.1　实验期间的水质变化

不同组间的水质指标没有显著差异(表 1)。未分筛组、≥50 μm 组和<50 μm 组的 SOUR 分别为(5.798±0.56) mg(O_2)/(g MLSS·h)、(3.721±0.42) mg(O_2)/(g MLSS·h) 和 (7.597±0.75) mg(O_2)/(g MLSS·h), 三组间差异显著(P<0.05)。

TAN 变化趋势如图 1a 所示。硝化作用条件下, 三组的氨氮去除效率分别达到 93.08%、96.78%和 98.53%; 同化条件下达到 96.38%、93.58%和 98.30%。硝化作用条件下, 三组的 TAN 去除速率分别为(1.332±0.013) mg TAN/(g TSS·h), (1.615±0.044) mg TAN/(g TSS·h) 和 (1.640±0.059) mg TAN/(g TSS·h); 同化条件下, TAN 去除速率分别为(2.827±0.081) mg TAN/(g TSS·h), (3.339±0.121) mg TAN/(g TSS·h)和(3.519±0.120) mg TAN/(g TSS·h)。两种条件下, >50 μm 组和<50 μm 组的 TAN 去除速率均没有显著差异(P>0.05), 未分筛组与另外两组有显著差异(P<0.05)。

硝化作用条件下, >50 μm 组和<50 μm 组 NO_2^--N 顶峰浓度为(3.240±0.517) mg/L 和(2.540±1.101) mg/L; 同化作用条件下, 三组的顶峰的浓度分别为(2.383±0.102) mg/L、(1.903±0.293) mg/L 和(2.000±0.329) mg/L, 三组间差异不显著(P>0.05)(图 1b)。

硝化作用条件下, >50 μm 组和<50 μm 组在实

表 1　实验开始前 6 个处理组中各水质指标的平均值、最小值和最大值

Tab. 1　The average, minimum and maximum of each water quality index in the six treatment groups before the beginning of the experiment

n=3; $\bar{x}$±SD

水质指标 water quality index	处理组 treatment group					
	未分筛絮团硝化条件下 nitrification of flocs without screening	未分筛絮团同化条件下 assimilation of flocs without screening	>50 μm 絮团硝化条件下 nitrification of >50 μm flocs	>50 μm 絮团同化条件下 assimilation of >50 μm flocs	<50 μm 絮团硝化条件下 nitrification of <50 μm flocs	<50 μm 絮团同化条件下 assimilation of <50 μm flocs
DO/(mg/L)	8.21±0.23 [a]	8.18±0.21 [a]	8.38±0.24 [a]	8.32±0.14 [a]	8.11±0.18 [a]	8.33±0.15 [a]
	7.98, 8.44	7.97, 8.39	8.14, 8.63	8.18, 8.46	7.93, 8.29	8.18, 8.48
T 温度/℃	25.0±0.50 [a]	25.0±0.50 [a]	23.9±0.30 [a]	24.0±0.30 [a]	25.1±0.20 [a]	23.8±0.33 [a]
	24.5, 25.5	24.5, 25.5	23.6, 24.2	23.7, 24.3	24.9, 25.3	23.2, 24.6
TAN/(mg/L)	8.38±0.16 [a]	8.29±0.23 [a]	8.70±0.17 [a]	7.90±0.31 [a]	8.48±0.31 [a]	8.08±0.28 [a]
	8.17, 8.57	8.00, 8.57	8.48, 8.89	7.48, 8.19	8.06, 8.79	7.69, 8.29
NO_2^--N/(mg/L)	0.56±0.03 [a]	0.56±0.01 [a]	0.76±0.08 [a]	0.84±0.01 [a]	0.35±0.02 [a]	0.50±0.05 [a]
	0.52, 0.59	0.03, 1.07	0.65, 0.83	0.73, 0.92	0.32, 0.38	0.57, 0.44
NO_3^--N/(mg/L)	5.16±0.28 [a]	5.61±0.65 [a]	6.42±0.59 [a]	6.24±0.46 [a]	4.57±0.18 [a]	6.54±1.16 [a]
	4.84, 5.52	4.99, 6.50	5.88, 7.23	5.67, 6.80	4.43, 4.82	5.03, 7.84
TN/(mg/L)	488.75±11.15 [a]	501.33±18.48 [a]	507.58±28.37 [a]	522.42±12.26 [a]	485.00±10.99 [a]	500.67±14.06 [a]
	480.25, 504.50	476.25, 520.25	467.50, 529.00	513.25, 539.75	474.75, 500.25	487.00, 520.00
DOC/(mg/L)	72.6±0.5 [a]	72.4±0.4 [a]	72.2±0.5 [a]	72.5±0.3 [a]	72.8±0.6 [a]	72.9±0.7 [a]
	72.0, 73.9	72.9, 72.6	71.1, 72.7	72.5, 72.8	72.2, 73.7	72.5, 73.0
TSS/(mg/L)	586±23 [a]	578±26 [a]	590±32 [a]	585±37 [a]	574±35 [a]	580±31 [a]
	560, 609	550, 604	558, 612	546, 622	537, 608	559, 601
VSS/(mg/L)	416.45±21.35 [a]	410.76±23.55 [a]	422.33±35.66 [a]	418.76±41.85 [a]	397.51±24.41 [a]	401.67±24.67 [a]
	396.10, 430.81	387.21, 430.31	396.72, 452.11	476.77, 446.90	375.67, 425.71	390.24, 421.66

注: 同行数据上标不同表示组间存在显著差异(P<0.05).

Note: Different superscripts of the same row indicate significant differences between groups (P<0.05).

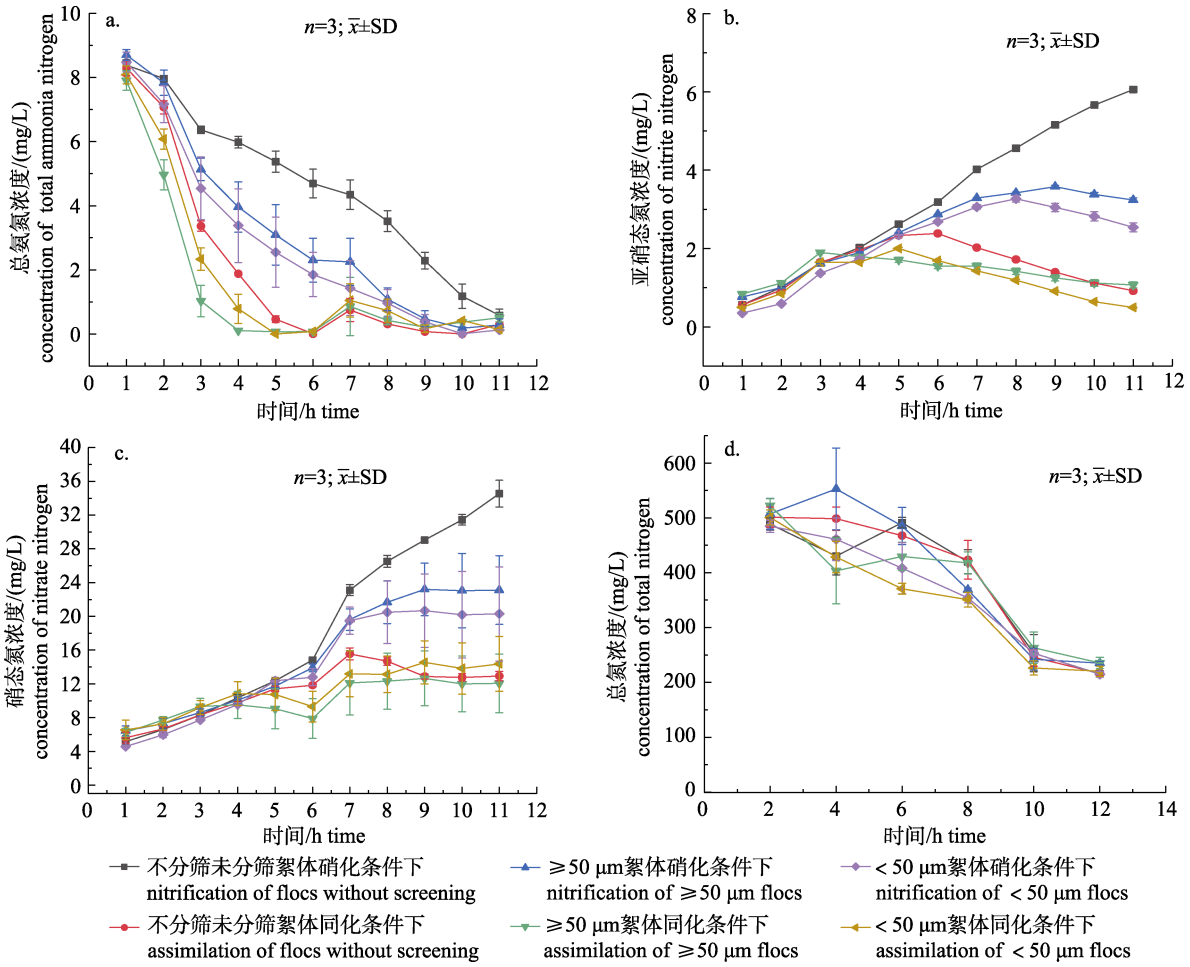

图 1 三组 TAN、NO_2^--N、NO_3^--N 和 TN 连续变化动态图

Fig. 1 Dynamic diagram of continuous changes of total ammonia nitrogen (TAN), nitrite nitrogen (NO_2^--N), nitrate nitrogen (NO_3^--N) and total nitrogen (TN) of the 3 different groups

验结束时的 NO_3^--N 浓度为(23.110±4.074) mg/L 和(20.290±5.582) mg/L; 同化作用条件下, 三组在实验结束时的 NO_3^--N 浓度分别为(12.930±0.560) mg/L、(12.063±3.472) mg/L、(14.370±3.264) mg/L, 三组间差异不显著(P>0.05)(图 1c)。

实验结束后, 所有组的 TN 浓度均没有显著差异(P>0.05)(图 1d)。

2.2 絮团组分指标

>50 μm 组的 C/N 分别与另外两组有显著差异(P<0.05), 未分筛组和<50 μm 组没有显著差异(P>0.05); <50 μm 组粗蛋白含量显著多于另外两组(P<0.05)(表 2)。实验后的 C/N 和粗蛋白含量如表 3 所示。>50 μm 组 DOC 显著高于另外两组(P<0.05)(表 4)。硝化作用条件下的粗灰分含量显著高于同化作用条件下(P<0.05)(表 5)。

2.3 絮团的水解氨基酸含量

实验前 17 种氨基酸含量如表 6 所示。未分筛组中, Asp、Thr、Ser、Glu、Gly、Cys、Val、Ile、Leu、Phe、His、Lys、Arg、Pro 和 Try 含量差异显著(P<0.05), Ala 和 Met 含量差异不显著(P>0.05)(表 7)。>50 μm 组与未分筛组相似, 只有 Met 含量差异不显著(P>0.05)。硝化作用条件下, <50 μm 组中大部分水解氨基酸浓度均要高于同化作用条件下的处理组, 只有 Met 和 Try 含量差异不显著(P>0.05)。

2.4 絮团的脂肪酸与总脂肪含量

实验前所有实验组的总脂肪含量均没有显著差异(P>0.05)(表 8); 实验结束后, 未分筛组内没有显著差异(P>0.05), > 50 μm 组和<50 μm 组内和组间均没有显著差异(P>0.05)(表 9)。脂肪酸含量的测定结果如表 10 和表 11 所示。

表 2　实验开始前絮团的碳氮比和粗蛋白含量

Tab. 2　The C/N ratio and crude protein content of flocs before the experiment

n=3; $\bar{x}$ ±SD

处理组 treatment group	絮团指标 flocs index	
	C/N	粗蛋白/% crude protein
未分筛硝化作用条件下 nitrification of flocs without screening	5.15±0.11[a]	34.04±4.33[b]
未分筛同化作用条件下 assimilation of flocs without screening	5.29±0.15[a]	35.12±3.96[b]
>50 μm 硝化作用条件下 nitrification of >50 μm flocs	5.39±0.16[b]	32.99±4.12[b]
>50 μm 同化作用条件下 assimilation of >50 μm flocs	5.45±0.12[b]	33.21±3.30[b]
<50 μm 硝化作用条件下 nitrification of <50 μm flocs	4.99±0.17[a]	38.23±4.45[a]
<50 μm 同化作用条件下 assimilation of <50 μm flocs	5.08±0.16[a]	37.02±4.17[a]

注: 同列数据上标不同表示组间存在显著差异(P<0.05).

Note: Different superscripts of the same column indicate significant differences between groups (P<0.05).

表 3　实验结束后絮团的碳氮比和粗蛋白含量

Tab. 3　The C/N ratio and crude protein content of flocs at the end of the experiment

n=3; $\bar{x}$ ±SD

处理组 treatment group	絮团指标 flocs index	
	C/N	粗蛋白/% crude protein
未分筛硝化作用条件下 nitrification of flocs without screening	4.68±0.15[c]	40.98±2.33[a]
未分筛同化作用条件下 assimilation of flocs without screening	4.95±0.11[b]	41.28±4.13[a]
>50 μm 硝化作用条件下 nitrification of >50 μm flocs	4.96±0.12[b]	40.81±2.05[a]
>50 μm 同化作用条件下 assimilation of >50 μm flocs	5.12±0.14[a]	41.56±3.45[a]
<50 μm 硝化作用条件下 nitrification of <50 μm flocs	4.57±0.09[c]	41.87±3.66[a]
<50 μm 同化作用条件下 assimilation of <50 μm flocs	5.01±0.08[a]	42.76±3.47[a]

注: 同列数据上标不同表示组间存在显著差异(P<0.05).

Note: Different superscripts of the same column indicate significant differences between groups (P<0.05).

表 4　实验结束后絮团的 DOC 浓度

Tab. 4　The DOC concentration of flocs at the end of the experiment

n=3; $\bar{x}$ ±SD

处理组 treatment group	DOC/(mg/L)
未分筛硝化作用条件下 nitrification of flocs without screening	147.60±14.17[b]
未分筛同化作用条件下 assimilation of flocs without screening	146.43±4.34[b]
>50 μm 硝化作用条件下 nitrification of >50 μm flocs	198.40±28.10[a]
>50 μm 同化作用条件下 assimilation of >50 μm flocs	227.43±23.83[a]
<50 μm 硝化作用条件下 nitrification of <50 μm flocs	156.73±26.27[b]
<50 μm 同化作用条件下 assimilation of <50 μm flocs	131.00±13.81[b]

注: 同列数据上标不同表示组间存在显著差异(P<0.05).

Note: Different superscripts of the same column indicate significant differences between groups (P<0.05).

表 5　实验开始前后粗灰分含量

Tab. 5　The crude ash content before the experiment and at the end of the experiment

%; n=3; $\bar{x}$ ±SD

处理组 treatment group	实验开始前 before the experiment	实验结束后 the end of the experiment
	粗灰分 crude ash	粗灰分 crude ash
未分筛硝化作用条件下 nitrification of flocs without screening	34.15±4.77[a]	31.00±2.33[a]
未分筛同化作用条件下 assimilation of flocs without screening	30.12±.5.12[a]	26.72±5.13[b]
>50 μm 硝化作用条件下 nitrification of >50 μm flocs	28.30±4.75[a]	27.65±3.89[b]
>50 μm 同化作用条件下 assimilation of >50 μm flocs	30.21±2.30[a]	24.60±4.45[b]
<50 μm 硝化作用条件下 nitrification of <50 μm flocs	30.60±4.45[a]	30.55±3.16[a]
<50 μm 同化作用条件下 assimilation of <50 μm flocs	31.02±4.17[a]	24.20±4.11[b]

注: 同列数据上标不同表示组间存在显著差异(P<0.05).

Note: Different superscripts of the same column indicate significant differences between groups (P<0.05).

表 6 实验前 17 种氨基酸含量

Tab. 6 The contents of 17 kinds of amino acids before the experiment

mg; n=3; $\bar{x}$ ±SD

氨基酸 amino acid	处理组 treatment group					
	未分筛硝化作用条件下 nitrification of flocs without screening	未分筛同化作用条件下 assimilation of flocs without screening	>50 μm 硝化作用条件下 nitrification of >50 μm flocs	>50 μm 同化作用条件下 assimilation of >50 μm flocs	<50 μm 硝化作用条件下 nitrification of <50 μm flocs	<50 μm 同化作用条件下 assimilation of <50 μm flocs
Asp	1.45±0.11^{b}	1.43±0.15^{b}	1.48±0.11^{b}	1.46±0.14^{b}	1.95±0.22^{a}	1.90±0.27^{a}
Thr	0.70±0.12^{b}	0.68±0.11^{b}	0.72±0.15^{b}	0.70±0.16^{b}	0.91±0.19^{a}	0.95±0.21^{a}
Ser	0.54±0.09^{b}	0.55±0.08^{b}	0.54±0.09^{b}	0.53±0.11^{b}	0.68±0.10^{a}	0.71±0.12^{a}
Glu	1.49±0.08^{c}	1.45±0.10^{c}	1.63±0.11^{b}	1.60±0.15^{b}	2.09±0.25^{a}	2.13±0.20^{a}
Gly	0.95±0.07^{b}	0.92±0.06^{b}	0.89±0.06^{c}	0.85±0.13^{c}	1.14±0.12^{a}	1.10±0.16^{a}
Ala	1.05±0.15^{c}	1.07±0.14^{c}	1.11±0.16^{b}	1.15±0.12^{b}	1.30±0.15^{a}	1.33±0.12^{a}
Cys	0.09±0.02^{a}	0.07±0.03^{a}	0.06±0.01^{b}	0.05±0.01^{b}	0.04±0.02^{b}	0.05±0.01^{b}
Val	0.77±0.11^{c}	0.75±0.10^{c}	0.84±0.10^{b}	0.82±0.16^{b}	1.02±0.08^{a}	1.05±0.06^{a}
Met	0.02±0.01^{c}	0.01±0.01^{c}	0.13±0.02^{b}	0.15±0.01^{b}	0.16±0.02^{a}	0.17±0.01^{a}
Ile	0.47±0.07^{c}	0.49±0.08^{c}	0.50±0.09^{b}	0.52±0.13^{b}	0.65±0.12^{a}	0.60±0.23^{a}
Leu	0.87±0.13^{b}	0.85±0.14^{b}	0.91±0.18^{b}	0.88±0.21^{b}	1.15±0.19^{a}	1.19±0.21^{a}
Tyr	0.36±0.09^{b}	0.35±0.08^{b}	0.36±0.09^{b}	0.34±0.11^{b}	0.52±0.11^{a}	0.50±0.13^{a}
Phe	0.58±0.11^{c}	0.55±0.09^{c}	0.61±0.07^{b}	0.65±0.12^{b}	0.85±0.12^{a}	0.89±0.15^{a}
His	0.85±0.17^{b}	0.87±0.14^{b}	0.89±0.11^{b}	0.91±0.10^{b}	1.27±0.18^{a}	1.22±0.20^{a}
Lys	0.49±0.07^{c}	0.51±0.12^{c}	0.57±0.10^{b}	0.59±0.11^{b}	0.71±0.17^{a}	0.75±0.16^{a}
Arg	0.53±0.12^{c}	0.50±0.15^{c}	0.62±0.11^{b}	0.59±0.15^{b}	0.77±0.23^{a}	0.79±0.21^{a}
Pro	0.56±0.15^{b}	0.59±0.17^{b}	0.57±0.12^{b}	0.59±0.14^{b}	0.70±0.17^{a}	0.74±0.13^{a}

注: 同行数据上标不同表示组间存在显著差异(P<0.05).

Note: Different superscripts of the same row indicate significant differences between groups (P<0.05).

表 7 实验后 17 种氨基酸含量

Tab. 7 The contents of 17 kinds of amino acids after the experiment

mg; n=3; $\bar{x}$ ±SD

氨基酸 amino acid	处理组 treatment group					
	未分筛硝化作用条件下 nitrification of flocs without screening	未分筛同化作用条件下 assimilation of flocs without screening	>50 μm 硝化作用条件下 nitrification of >50 μm flocs	>50 μm 同化作用条件下 assimilation of >50 μm flocs	<50 μm 硝化作用条件下 nitrification of <50 μm flocs	<50 μm 同化作用条件下 assimilation of <50 μm flocs
Asp	2.05±0.24^{a}	1.51±0.21^{b}	0.63±0.16^{c}	0.46±0.21^{aa}	0.32±0.12^{bb}	0.07±0.02^{cc}
Thr	0.99±0.15^{a}	0.79±0.14^{b}	0.37±0.04^{c}	0.27±0.05^{aa}	0.21±0.06^{bb}	0.13±0.03^{cc}
Ser	0.76±0.12^{a}	0.59±0.11^{b}	0.28±0.09^{c}	0.20±0.07^{aa}	0.16±0.03^{bb}	0.10±0.02^{cc}
Glu	2.11±0.27^{a}	1.80±0.22^{b}	0.92±0.15^{c}	0.77±0.14^{aa}	0.43±0.08^{bb}	0.24±0.07^{cc}
Gly	1.26±0.21^{a}	1.00±0.25^{b}	0.46±0.11^{c}	0.33±0.04^{aa}	0.25±0.07^{bb}	0.16±0.07^{cc}
Ala	1.57±0.17^{a}	1.58±0.21^{a}	0.62±0.08^{b}	0.51±0.15^{c}	0.30±0.13^{aa}	0.23±0.11^{bb}
Cys	0.17±0.02^{a}	0.09±0.04^{b}	0.09±0.01^{b}	0.03±0.01^{c}	0.03±0.02^{c}	0.16±0.06^{a}
Val	1.19±0.17^{a}	0.95±0.19^{b}	0.44±0.12^{c}	0.34±0.06^{aa}	0.23±0.10^{bb}	0.14±0.03^{cc}
Met	0.10±0.03^{a}	0.10±0.03^{a}	0.05±0.02^{b}	0.04±0.01^{b}	0.01±0.01^{c}	0.01±0.01^{c}
Ile	0.75±0.11^{a}	0.55±0.12^{b}	0.27±0.04^{c}	0.22±0.03^{aa}	0.14±0.04^{bb}	0.11±0.02^{cc}
Leu	1.33±0.23^{a}	1.03±0.20^{b}	0.50±0.12^{c}	0.37±0.07^{aa}	0.25±0.06^{bb}	0.15±0.04^{cc}
Tyr	0.50±0.14^{a}	0.44±0.13^{b}	0.22±0.02^{c}	0.15±0.04^{aa}	0.12±0.07^{bb}	0.10±0.03^{bb}
Phe	0.95±0.16^{a}	0.71±0.16^{b}	0.36±0.07^{c}	0.26±0.07^{aa}	0.21±0.05^{bb}	0.15±0.08^{cc}
His	1.22±0.09^{a}	0.41±0.04^{b}	0.23±0.04^{c}	0.09±0.01^{aa}	0.15±0.03^{bb}	0.03±0.01^{cc}
Lys	0.72±0.12^{a}	0.51±0.09^{b}	0.25±0.10^{c}	0.17±0.04^{aa}	0.13±0.02^{bb}	0.07±0.02^{cc}
Arg	0.81±0.21^{a}	0.65±0.08^{b}	0.29±0.03^{c}	0.23±0.05^{aa}	0.12±0.01^{bb}	0.09±0.01^{cc}
Pro	0.84±0.15^{a}	0.61±0.14^{b}	0.26±0.05^{c}	0.20±0.03^{aa}	0.01±0.01^{cc}	0.04±0.01^{bb}

注: 同行数据上标不同表示组间存在显著差异(P<0.05).

Note: Different superscripts of the same row indicate significant differences between groups (P<0.05).

表 8　实验开始前絮团总脂肪含量

Tab. 8　The total fat content of flocs before the experiment

%; n=3; $\bar{x}$ ±SD

处理组 treatment group	总脂肪 total crude fat
未分筛硝化作用条件下 nitrification of flocs without screening	2.92±0.17[a]
未分筛同化作用条件下 assimilation of flocs without screening	2.91±0.23[a]
>50 μm 硝化作用条件下 nitrification of >50 μm flocs	2.94±0.27[a]
>50 μm 同化作用条件下 assimilation of >50 μm flocs	2.89±0.17[a]
<50 μm 硝化作用条件下 nitrification of <50 μm flocs	2.44±0.23[b]
<50 μm 同化作用条件下 assimilation of <50 μm flocs	2.50±0.20[b]

注: 同列数据上标不同表示组间存在显著差异(P<0.05).

Note: Different superscripts of the same row indicate significant differences between groups (P<0.05).

表 9　实验结束后絮团总脂肪含量

Tab. 9　The total fat content of flocs after the experiment

%; n=3; $\bar{x}$ ±SD

处理组 treatment group	总脂肪 total crude fat
未分筛硝化作用条件下 nitrification of flocs without screening	2.21±0.13[a]
未分筛同化作用条件下 assimilation of flocs without screening	1.68±0.10[b]
>50 μm 硝化作用条件下 nitrification of >50 μm flocs	1.23±0.25[b]
>50 μm 同化作用条件下 assimilation of >50 μm flocs	1.47±0.25[b]
<50 μm 硝化作用条件下 nitrification of <50 μm flocs	1.34±0.21[b]
<50 μm 同化作用条件下 assimilation of <50 μm flocs	0.99±0.25[c]

注: 同列数据上标不同表示组间存在显著差异(P<0.05).

Note: Different superscripts of the same row indicate significant differences between groups (P<0.05).

表 10　实验前絮团脂肪酸含量

Tab. 10　The contents of flocs fatty acids before the experiment

%; n=3; $\bar{x}$ ±SD

脂肪酸 fatty acid	处理组 treatment group					
	未分筛硝化作用条件下 nitrification of flocs without screening	未分筛同化作用条件下 assimilation of flocs without screening	>50 μm 硝化作用条件下 nitrification of >50 μm flocs	>50 μm 同化作用条件下 assimilation of >50 μm flocs	<50 μm 硝化作用条件下 nitrification of <50 μm flocs	<50 μm 同化作用条件下 assimilation of <50 μm flocs
C14:0	–	–	2.45±0.51[a]	2.58±0.44[a]	2.13±0.32[b]	1.98±0.37[b]
C15:0	–	–	5.04±1.15[b]	4.85±1.26[b]	8.57±2.19[a]	8.94±1.21[a]
C16:0	33.38±3.12[a]	32.09±4.11[a]	23.43±2.09[b]	21.81±2.11[b]	22.50±3.10[b]	21.70±2.44[b]
C16:1n7	–	–	6.57±1.11[a]	7.90±2.15[a]	7.76±1.25[a]	8.06±2.36[a]
C17:0	–	–	–	–	5.82±2.12[a]	6.64±1.77[a]
C18:0	16.80±3.17[a]	18.56±4.21[a]	10.86±1.16[b]	11.22±2.12[b]	11.90±1.15[b]	10.31±2.12[b]
C18:1n9t	16.28±3.02[a]	17.91±3.41[a]	13.51±2.10[b]	14.06±3.16[b]	10.83±2.48[c]	11.12±2.36[c]
C18:1n9c	22.75±2.17[b]	21.70±3.19[b]	23.55±4.12[ab]	25.38±4.71[a]	24.42±4.02[a]	25.19±3.11[a]
C18:2n6c	10.78±1.11[a]	9.75±1.24[a]	8.22±1.09[b]	7.45±1.13[b]	6.07±1.12[c]	6.01±1.23[c]
C20:4n6	–	–	6.36±0.18[a]	4.74±0.21[a]	–	–

注: 同行数据上标不同表示组间存在显著差异(P<0.05).

Note: Different superscripts of the same row indicate significant differences between groups (P<0.05).

3　讨论

3.1　不同絮团粒径对氮素转化的影响

硝化作用条件下, >50 μm 组和<50 μm 组在氮素转化上差异不显著。此结果与 Carvalho 等[32]和 Vlaeminck 等[14]不同, 由于氨氧化细菌(AOB)和亚硝酸盐氧化细菌(NOB)分布不均匀, 较小的絮团粒径会阻碍硝化反应。Lara 等[15]的研究表明, 随着絮团粒径的减小, 硝化反应会被抑制甚至停止, 造成氨氮的积累, 认为较小的粒径不利于硝化细菌菌落的形成, 进而影响硝化作用, 但是 Lara 等[15]结论的准确性有待进一步证实, 因为该研究中使用的絮团可能并未完全成熟, 而本研究的絮团是经过长期培养的, 没有出现氨氮的积累, 而且硝化反应也没有被抑制。硝化作用又与硝化细菌在絮团中的分布有关, 硝化细菌在絮团中按

表 11 实验后絮团脂肪酸含量

Tab. 11 The contents of flocs fatty acids after the experiment

%; n=3; $\bar{x}$ ±SD

脂肪酸 fatty acid	处理组 treatment group					
	未分筛硝化作用条件下 nitrification of flocs without screening	未分筛同化作用条件下 assimilation of flocs without screening	>50 μm 硝化作用条件下 nitrification of >50 μm flocs	>50 μm 同化作用条件下 assimilation of >50 μm flocs	<50 μm 硝化作用条件下 nitrification of <50 μm flocs	<50 μm 同化作用条件下 assimilation of <50 μm flocs
C14:0	–	–	2.94±0.51^{a}	3.50±1.21^{a}	–	–
C15:0	–	–	6.30±1.10^{a}	4.30±1.26^{b}	–	–
C16:0	32.54±2.01^{b}	32.88±3.22^{b}	26.57±4.12^{c}	29.94±5.23^{c}	34.06±3.02^{a}	35.98±4.41^{a}
C16:1n7	–	–	4.91±0.79^{a}	5.74±1.13^{a}	–	–
C17:0	–	–	–	–	–	–
C18:0	21.02±3.19^{a}	16.42±2.78^{c}	13.28±1.09^{aa}	13.67±1.31^{aa}	18.24±2.17^{b}	20.76±2.12^{a}
C18:1n9t	16.25±2.11^{a}a	14.14±2.09^{c}	13.09±1.67^{aa}	15.18±2.29^{b}	14.96±2.42^{b}	12.80±1.35^{aa}
C18:1n9c	21.24±3.17^{a}	10.80±1.24^{c}	18.79±3.11^{b}	22.20±4.22^{a}	19.93±2.38^{a}c	22.82±4.34^{a}
C18:2n6c	8.95±1.32^{c}	25.75±4.65^{a}	11.99±2.11^{b}	0.72±0.15^{aa}	12.81±2.43^{b}	7.64±1.27^{c}
C20:4n6	–	–	2.12±0.52^{b}	4.75±1.44^{a}	–	–

注: 同行数据上标不同表示组间存在显著差异(P<0.05).

Note: Different superscripts of the same row indicate significant differences between groups (P<0.05).

照溶解氧的梯度分布的。本研究结果可以解释为不同粒径的絮团可能在硝化细菌分布上没有显著差异，硝化细菌与环境或者其他微生物群落相互作用的方式上可能也没有差异。

同化作用条件下，≥50 μm 组和<50 μm 组在氮素转化上差异不显著，与 Carvalho 等[32]和 Hong 等[33]得出的结论相同，此现象可解释为碳源的加入使异养细菌快速生长，弥补了不同粒径絮团在细菌分布上的不均匀。经对比，本实验同化作用条件下没出现明显的 NO_2^--N 积累，可能是因为添加的氮源较少。

在本研究中，絮团粒径对硝化反应和同化反应没有显著影响。但是未分筛组的氮素转化能力与另外两组有较明显区别，猜测分筛可能对絮团产生了影响，魏燕杰[34]指出分筛增强了生物絮团中的微生物活性，并提高了絮团的沉降性。

3.2 不同粒径对絮团营养指标的影响

絮团的粗蛋白含量一般在 38.5%~57.4%，粗脂肪在 20%~35%，灰分<20%，能量在 20~25 kJ/g[14]。本研究结果表明，<50 μm 组的粗蛋白含量显著高于≥50 μm 组。此结果与 Ekasari 等[10, 35]两次实验的研究结论不同，≥50 μm 组的粗蛋白含量显著高于<50 μm 组的粗蛋白含量。对比本研究，胞外聚合物(EPS)的分解可能是造成粗蛋白显著差异的原因[36]，且粗蛋白含量与培养絮团所用的原料有关[37-38]。<50 μm 组的所有氨基酸含量均显著高于≥50 μm 组，此结果与 Ekasari 等[10]的研究结果类似，都缺乏蛋氨酸，但是本实验富含的氨基酸种类相对更多一些，推测原因很可能是用来培育絮团的原料不同，也可能是优势微生物群落存在差异。粗灰分含量在 28.30%~34.15%，这与 Tacon 等[39]使用不同底物培养絮团投喂南美白对虾(*Litopenaeus vannamei*)的结果，Azim 等[40]的结果和 Ju 等[41]的结果基本一致。Crab 等[42]通过接种几种不同的细菌培养絮团，对比其他的细菌，接种枯草芽孢杆菌的絮团粗灰分显著高于未接种。Tacon 等[39]指出，生物絮团中较高的粗灰分含量与不溶性氧化物和混合硅酸盐的存在有关。

结果表明，<50 μm 组的总脂肪含量显著少于≥50 μm 组，与 Ekasari 等[10, 35]两次实验的研究结果相同，Wilén 等[36]指出 EPS 的分解也会影响总脂肪的含量。对比粗蛋白的结果，可以发现 EPS 并不是唯一影响粗蛋白和总脂肪含量的因素，还应该与优势菌属有关。Azim 等[43]指出絮团粗脂肪含量为 3.23%，n-3 PUFA 含量只占脂肪总量的 1.38%，n-6 PUFA 为 25.81%。本研究结果表明，不

同粒径的絮团在部分脂肪酸含量上存在显著差异, Kaneda[44]将此现象解释为絮团的脂肪酸含量受细菌生长阶段、底物供应(短链脂肪酸)和去饱和酶的影响。Moi 等[45]的研究表明细菌中不饱和脂肪酸的比例与温度有关, 低温会刺激更高的不饱和脂肪酸的产生。粒径不同可能影响了絮团内微生物群落的组成, Abd Elrazak 等[46]、Kurihara 等[47]和 Petrie 等[48]的研究表明生物絮团中脂肪酸含量和种类受絮团中微生物的组成和生长状态的影响。

Burford 等[49]和 Kuhn 等[50]指出生物絮团的营养成分的种类和含量与其微生物种类和胞外聚合酶有关。絮团粒径会影响生物絮团的营养价值, 可能对微生物群落组成影响较大, Ju 等[51]的研究表明生物絮团中的优势微生物群落(如叶绿素、硅藻或细菌)的不同会导致生物絮团的粗蛋白、粗脂肪和粗灰分等含量的差异。

3.3　硝化作用条件下和同化作用条件下对不同粒径的絮团的营养指标的影响

不同条件对不同粒径的絮团的粗蛋白含量没有显著影响, 这个结果与程丽妹等[52]的研究结果较为相似, 可能因为絮团的培养过程较为相近。Yan 等[53]指出生物絮团中的 EPS 可以吸附水中较多的无机氮, 由于采用元素分析仪来测定氮素含量, 不排除可能将 EPS 吸附的无机氮也换算成了粗蛋白含量。

两种处理条件下, 不同粒径的絮团氨基酸含量都出现了下降, 此结果与 Schneider 等[54]和李莉等[55]得出的在养殖废水中异养细菌生物量的增加能提高蛋白保留量和减少营养物质流失的结论并不相符。推测原因可能是本实验结束后游离细菌的含量增加, 带走了絮团中的氨基酸。硝化作用条件下的粗灰分含量均显著高于同化作用条件下, 此结果与 Schneider 等[54]和李莉等[55]的结果相同, 此结果可解释为同化作用条件下的絮团生长更迅速, 但并没有补充不溶性氧化物和混合硅酸盐等物质, 粗灰分含量出现下降。在本实验中, 不同条件下可能对≥50 μm 组和<50 μm 组的优势菌属产生了影响, Abd Elrazak 等[46]、Kurihara 等[47]和 Petrie 等[48]的研究表明不同优势菌群会影响脂肪酸的种类和含量。Burford 等[49]和 Kuhn 等[50]的研究结果表明, 絮团的营养成分与其微生物种类和胞外聚合酶有关, Xu 等[56]指出不同碳氮比也会影响生物絮团的营养价值。

4　结论

粒径大小对氨氮的硝化和同化效率没有显著影响, 对生物絮团的营养组成有显著影响。粒径较大的絮团总脂肪含量可能更高, 而粒径较小的絮团粗蛋白含量可能更高。应该进一步探究絮团粒径对微生物组成的影响, 从而了解它们对氮素转化和营养组成的影响, 以明确通过调节絮团的粒径大小来改变絮团的营养组分的可行性。

参考文献:

[1] Crab R, Avnimelech Y, Defoirdt T, et al. Nitrogen removal techniques in aquaculture for a sustainable production[J]. Aquaculture, 2007, 270(1-4): 1-14.

[2] Hargreaves J A, Tucker C S. Managing ammonia in fish ponds[R]. Southern Regional Aquaculture Center, 2004. Publication No. 4603.

[3] de Schryver P, Crab R, Defoirdt T, et al. The basics of bio-flocs technology: The added value for aquaculture[J]. Aquaculture, 2008, 277(3-4): 125-137.

[4] Zhang X Y. Ammonia nitrogen removal from wastewater using an aerobic cathode microbial fuel cell and scale-up of the down-flow microbial fuel cell[D]. Suzhou: Soochow University, 2013. [张小燕. 微生物燃料电池去除废水中的氨氮及下流式微生物燃料电池的扩大化研究[D]. 苏州: 苏州大学, 2013.]

[5] Hargreaves J A. Photosynthetic suspended-growth systems in aquaculture[J]. Aquacultural Engineering, 2006, 34(3): 344-363.

[6] Avnimelech Y. Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge bio-flocs technology ponds[J]. Aquaculture, 2007, 264(1-4): 140-147.

[7] Luo G Z, Zhu Z W, Pan Y F, et al. Application of biological flocculation in aquaculture[J]. China Fisheries, 2010(2): 62-63. [罗国芝, 朱泽闻, 潘云峰, 等. 生物絮凝技术在水产养殖中的应用[J]. 中国水产, 2010(2): 62-63.]

[8] Wilén B M, Jin B, Lant P. The influence of key chemical constituents in activated sludge on surface and flocculating properties[J]. Water Research, 2003, 37(9): 2127-2139.

[9] Zhao P. The study and application of bioflocs technology in seawater aquaculture[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2011. [赵培. 生物絮团技术在海水养殖中的研究与应用[D]. 上海: 上海海洋大学, 2011.]

[10] Ekasari J, Angela D, Waluyo S H, et al. The size of biofloc determines the nutritional composition and the nitrogen re-

covery by aquaculture animals[J]. Aquaculture, 2014, 426-427: 105-111.

[11] de Schryver P, Crab R, Defoirdt T, et al. The basics of bio-flocs technology: The added value for aquaculture[J]. Aquaculture, 2008, 277(3-4): 125-137.

[12] Carvalho G, Meyer R L, Yuan Z G, et al. Differential distribution of ammonia- and nitrite-oxidising bacteria in flocs and granules from a nitrifying/denitrifying sequencing batch reactor[J]. Enzyme and Microbial Technology, 2006, 39(7): 1392-1398.

[13] Delatolla R, Tufenkji N, Comeau Y, et al. In situ characterization of nitrifying biofilm: Minimizing biomass loss and preserving perspective[J]. Water Research, 2009, 43(6): 1775-1787.

[14] Vlaeminck S E, Terada A, Smets B F, et al. Aggregate size and architecture determine microbial activity balance for one-stage partial nitritation and anammox[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2010, 76(3): 900-909.

[15] Lara G, Krummenauer D, Abreu P C, et al. The use of different aerators on Litopenaeus vannamei biofloc culture system: effects on water quality, shrimp growth and biofloc composition[J]. Aquaculture International, 2017, 25(1): 147-162.

[16] Souza J, Cardozo A, Wasielesky W Jr, et al. Does the biofloc size matter to the nitrification process in Biofloc Technology (BFT) systems?[J]. Aquaculture, 2019, 500: 443-450.

[17] Verawaty M, Tait S, Pijuan M T, et al. Breakage and growth towards a stable aerobic granule size during the treatment of wastewater [J]. Water Research, 2013, 47(14): 5338-5349.

[18] di Bella G, Torregrossa M. Simultaneous nitrogen and organic carbon removal in aerobic granular sludge reactors operated with high dissolved oxygen concentration[J]. Bioresource Technology, 2013, 142: 706-713.

[19] Hou A Y, Li J, Wang C W, et al. Characteristics of microbial community structure in different aerobic granular sludge[J]. China Environmental Science, 2016, 36(4): 1136-1144. [侯爱月, 李军, 王昌稳, 等. 不同好氧颗粒污泥中微生物群落结构特点[J]. 中国环境科学, 2016, 36(4): 1136-1144.]

[20] Pei H Y, Hu W R, Li J, et al. Dewaterability and particle size distribution of activated and digestion sludge[J]. Environmental Science, 2007, 28(10): 2236-2242. [裴海燕, 胡文容, 李晶, 等. 活性污泥与消化污泥的脱水特性及粒径分布[J]. 环境科学, 2007, 28(10): 2236-2242.]

[21] Editorial Board of the Water and Wastewater Monitoring Analysis Method, The State Environmental Protection Administration. Water and Wastewater Monitoring Analysis Method[M]. 4th Edition. Beijing: China Environmental Science Press, 2002: 38-47. [国家环保局《水和废水监测分析方法》编委会. 水和废水监测分析方法[M]. 第 4 版. 北京: 中国环境科学出版社, 2002: 38-47.]

[22] Zhang X N. The effects of organic matter in rand sludge reduction in anaerobic digestion treated by combination of ultrasound and thermal hydrolysis[D]. Shanghai: East China Normal University, 2016. [张晓娜. 超声–热水解破解污泥厌氧消化有机物释放及减量化研究[D]. 上海: 华东师范大学, 2016.]

[23] Hao X D, Zhang Z J. The measurement of oxygen absorption rate and the testing analyses of its affecting factors[J]. Environmental Science and Technology, 1991, 14(3): 37-41. [郝晓地, 张自杰. 活性污泥耗氧速率的测定及其影响因素试验分析[J]. 环境科学与技术, 1991, 14(3): 37-41.]

[24] General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China, Standardization Administration of the People's Republic of China. Animal feeding stuffs—Determination of crude ash: GB/T 6438-2007[S]. Beijing: Standards Press of China, 2007: 1-7. [中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. 中华人民共和国国家标准饲料中粗灰分的测定: GB/T 6438-2007[S]. 北京: 中国标准出版社, 2007: 1-7.]

[25] Zhang L Y. Feed Analysis and Feed Quality Testing Technology[M]. 3rd Edition. Beijing: China Agricultural University Press, 2007: 78-80. [张丽英. 饲料分析及饲料质量检测技术[M]. 第 3 版. 北京: 中国农业大学出版社, 2007: 78-80.]

[26] International Standards Organization (ISO). Animal feeding stuffs-determination of crude ash: ISO 5984: 2002, IDT[S]. Geneva: ISO Interational Standards, 2007.

[27] Chen Y W, Zhao B Y, Liu M Q, et al. Study on alkalinity as indicator for simultaneous nitrification and denitrification in MBR[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2010, 4(2): 273-277. [陈英文, 赵冰怡, 刘明庆, 等. 碱度指示 MBR 中同步硝化反硝化的研究[J]. 环境工程学报, 2010, 4(2): 273-277.]

[28] Zhong G C, Chen W, Wu J H, et al. The elemental analyzer method for determination of crude protein content in rice[J]. The Food Industry, 2014, 35(2): 158-160. [钟国才, 陈威, 吴军辉, 等. 利用元素分析仪测定大米粗蛋白含量的方法探讨[J]. 食品工业, 2014, 35(2): 158-160.]

[29] Folch J, Lees M, Sloane S G H. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues[J]. Journal of America Chemistry Society, 1957, 226(1): 497-509.

[30] Griffiths M J, van Hille R P, Harrison S T L. Selection of direct transesterification as the preferred method for assay of fatty acid content of microalgae[J]. Lipids, 2010, 45(11): 1053-1060.

[31] Ministry of Health of the People's Republic of China, Standardization Administration of the People's Republic of China. Determination of amino acids in foods: GB/T 5009.124-2003[S]. Beijing: Standards Press of China, 2003: 115-119. [中华人民共和国卫生部, 中国国家标准化管理委员会. 食品中氨

基酸的测定: GB/T 5009.124-2003[S]. 北京: 中国标准出版社, 2003: 115-119.]

[32] Carvalho G, Meyer R L, Yuan Z G, et al. Differential distribution of ammonia and nitrite-oxidising bacteria in flocs and granules from a nitrifying/denitrifying sequencing batch reactor[J]. Enzyme and Microbial Technology, 2006, 39(7): 1392-1398.

[33] Hong H, Williams J C, Hsieh J, et al. Monitoring microbial shifts during activated sludge floc and aerobic granule development[J]. Proceedings of the Water Environment Federation, 2008, 2008(11): 4672-4678.

[34] Wei Y J. Formation, stability and biodiversity of aerobic granules in sequencing batch reactors treating landfill leachate[D]. Tianjin: Tianjin University, 2010. [魏燕杰. SBR 处理垃圾渗滤液的污泥颗粒化和稳定性及生物多样性研究[D]. 天津: 天津大学, 2010.]

[35] Ekasari J, Crab R, Verstraete W. Primary nutritional content of bio-flocs cultured with different organic carbon sources and salinity[J]. HAYATI Journal of Biosciences, 2010, 17(3): 125-130.

[36] Wilén B M, Onuki M, Hermansson M, et al. Microbial community structure in activated sludge floc analysed by fluorescence in situ hybridization and its relation to floc stability[J]. Water Research, 2008, 42(8-9): 2300-2308.

[37] Yao M L, Luo G Z, Tan H X, et al. Effect of processing fish droppings in two different ways on biofloc components[J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2018, 27(4): 494-501. [姚妙兰, 罗国芝, 谭洪新, 等. 两种不同方法处理粪便对生物絮团组分的影响[J]. 上海海洋大学学报, 2018, 27(4): 494-501.]

[38] Chen J J. A study of feces to bioflocs process in aquaculture[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2015. [陈家捷. 水产养殖微生物絮团形成过程的初步研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2015.]

[39] Tacon A G J, Cody J J, Conquest L D, et al. Effect of culture system on the nutrition and growth performance of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) fed different diets[J]. Aquaculture Nutrition, 2002, 8(2): 121-137.

[40] Azim M E, Little D C, Bron J E. Microbial protein production in activated suspension tanks manipulating C∶N ratio in feed and the implications for fish culture[J]. Bioresource Technology, 2008, 99(9): 3590-3599.

[41] Ju Z Y, Forster I, Conquest L, et al. Determination of microbial community structures of shrimp floc cultures by biomarkers and analysis of floc amino acid profiles[J]. Aquaculture Research, 2008, 39(2): 118-133.

[42] Crab R, Chielens B, Wille M, et al. The effect of different carbon sources on the nutritional value of bioflocs, a feed for *Macrobrachium rosenbergii* postlarvae[J]. Aquaculture Research, 2010, 41(4): 559-567.

[43] Azim M E, Little D C. The Biofloc technology (BFT) in indoor tanks: Water quality, biofloc composition, and growth and welfare of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)[J]. Aquaculture, 2008, 283(1-4): 29-35.

[44] Kaneda T. Fatty acids of the genus bacillus: An example of branched chain preference[J]. Bacteriological Reviews, 1977, 41(2): 391-418.

[45] Moi I M, Leow A T C, Ali M S M, et al. Polyunsaturated fatty acids in marine bacteria and strategies to enhance their production[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2018, 102(14): 5811-5826.

[46] Abd Elrazak A, Ward A C, Glassey J. Polyunsaturated fatty acid production by marine bacteria[J]. Bioprocess and Biosystems Engineering, 2013, 36(11): 1641-1652.

[47] Kurihara T, Kawamoto J, Esaki N. Biosynthesis and function of long-chain polyunsaturated fatty acids in cold-adapted bacteria[J]. Protein, Nucleic Acid, Enzyme, 2010, 55(1): 94-99.

[48] Petrie J R, Shrestha P, Mansour M P, et al. Metabolic engineering of omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids in plants using an acyl-CoA Δ6-desaturase with ω3-preference from the marine microalga *Micromonas pusilla*[J]. Metabolic Engineering, 2010, 12(3): 233-240.

[49] Burford M A, Thompson P J, McIntosh R P, et al. The contribution of flocculated material to shrimp (*Litopenaeus vannamei*) nutrition in a high-intensity, zero-exchange system[J]. Aquaculture, 2004, 232(1-4): 525-537.

[50] Kuhn D D, Boardman G D, Craig S R, et al. Use of microbial flocs generated from tilapia effluent as a nutritional supplement for shrimp, *Litopenaeus vannamei*, in recirculating aquaculture systems[J]. Journal of the World Aquaculture Society, 2008, 39(1): 72-82.

[51] Ju Z Y, Forster I, Conquest L, et al. Enhanced growth effects on shrimp (*Litopenaeus vannamei*) from inclusion of whole shrimp floc or floc fractions to a formulated diet[J]. Aquaculture Nutrition, 2008, 14(6): 533-543.

[52] Cheng L M, Chen J J, Gao J F, et al. Changes of EPS, protein and amino acids in bioflocs during the start-up period of a biofloc system for tilapia cultivation[J]. Freshwater Fisheries, 2018, 48(1): 69-74. [程丽妹, 陈家捷, 高锦芳, 等. 生物絮凝-罗非鱼养殖系统启动阶段絮团胞外聚合物、粗蛋白和总氨基酸变化[J]. 淡水渔业, 2018, 48(1): 69-74.]

[53] Yan L L, Zhang S L, Hao G X, et al. Simultaneous nitrification and denitrification by EPSs in aerobic granular sludge enhanced nitrogen removal of ammonium-nitrogen-rich wastewater[J]. Bioresource Technology, 2016, 202: 101-106.

[54] Schneider O, Sereti V, MacHiels M A M, et al. The potential of producing heterotrophic bacteria biomass on aquaculture waste[J]. Water Research, 2006, 40(14): 2684-2694.

[55] Li L, Tan H X, Zhang N, et al. Effects of aeration on the activity and nutritional component of bio-flocs in sequencing batch reactor[J]. Guangdong Agricultural Sciences, 2014,

41(12): 95-99. [李莉, 谭洪新, 张楠, 等. 曝气方式对序批式反应器培养生物絮凝体的活性与营养组分的影响[J]. 广东农业科学, 2014, 41(12): 95-99.]

[56] Xu W J, Pan L Q. Dietary protein level and C/N ratio manipulation in zero-exchange culture of *Litopenaeus vannamei*: Evaluation of inorganic nitrogen control, biofloc composition and shrimp performance[J]. Aquaculture Research, 2014, 45(11): 1842-1851.

Ammonia nitrogen treatment capacity and nutrient composition of bioflocs with different particle sizes

ZHANG Yang[1], YANG Yizun[1], CHEN Xiaoqing[1], TAN Hongxin[1, 2, 3], LUO Guozhi[1, 2, 3]

1. Shanghai Aquaculture Engineering Technology Research Center, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;
2. Key Laboratory of Freshwater Aquatic Germplasm Resources, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;
3. International Experimental Teaching Demonstration Center for Aquatic Science, Ministry of Education, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China

Abstract: In this study, suspended growth reactors (SGRs) were used to evaluate the effect of floc particle size on nitrification and assimilation capacity. In bioflocculation, there are flocs of various sizes; the size of the bioflocculation is affected by the aeration intensity and the osmotic pressure and the size of the floc is adjusted to achieve the strongest water treatment capacity. Therefore, the differences between flocs of different sizes and their role in water treatment are worth exploring. The purpose of this study was to investigate the effect of floc particle size on assimilation, nitrification, and nutrient values. Three treatment groups were set up; the <50 μm particle size group, the >50 μm particle size group, and the unscreened group. Under nitrification conditions, the total ammonia nitrogen (TAN) removal rates of the unscreened group, >50 μm group, and <50 μm group were (1.33±0.01) mg TAN/(g TSS·h), (1.62±0.04) mg TAN/(g TSS·h), and (1.64±0.06) mg TAN/(g TSS·h), respectively; under assimilation conditions, the TAN removal rates of the three groups were (2.83±0.08) mg TAN/(g TSS·h), (3.34±0.12) mg TAN/(g TSS·h), and (3.52±0.12) mg TAN/(g TSS·h), respectively. There were no significant differences in the TAN removal rates, nitrite nitrogen (NO_2^--N), nitrate nitrogen (NO_3^--N), and total nitrogen (TN) between the >50 μm and the <50 μm group (P>0.05). We also measured the dissolved organic carbon (DOC), crude protein, crude fat, amino acids, fatty acids, crude ash, carbon to nitrogen ratio (C/N), volatile suspended solids (VSS), specific oxygen uptake rate (SOUR), and other indicators. The total fat content was higher in the >50 μm group and the crude protein content was higher in the <50 μm group. Our results showed that the floc particle size had no significant effect on the nitrification and assimilation reactions; under different reaction conditions, the floc particle size affected the nutritional value of bioflocculation and it also affected greatly the microbial community composition. Our results also showed that sieving might have had some effect on the flocs. This effect was greater than the influence of the different floc particle sizes. Sieving may have enhanced the microbial activity in or changed the morphology of bioflocculation. However, structural changes in bioflocculation require further verification. We conclude that the particle size had no significant effect on the nitrification and assimilation reactions and had a significant effect on the nutritional value of bioflocculation. This study has the potential to effect changes on the management of biological flocculation systems. The effects of floc size on microbial composition, nitrogen conversion, and nutrient composition should be studied further.

Key words: floc size; assimilation; nitrification; nutritional value

Corresponding author: LUO Guozhi. E-mail: gzhluo@shou.edu.cn