

NGHIÊN CỨU KHẢ NĂNG LOẠI BỎ MUỐI DINH DƯỠNG NITƠ TRONG NƯỚC THẢI AO NUÔI TÔM THƯỜNG PHẨM CỦA MỘT SỐ CHỦNG VI TẢO Ở QUI MÔ PHÒNG THÍ NGHIỆM

STUDY ON INORGANIC NITROGEN REMOVAL ABILITIES OF SOME MICROALGAL STRAINS FROM WASTEWATER OF SHRIMP POND AT LABORATORY SCALE

Trần Vĩ Hích¹, Mai Đức Thao^{1*},
Nguyễn Đình Huy¹, Đặng Lê Phương Vy¹, Trang Sỹ Trung¹

¹Trường Đại học Nha Trang

Tác giả liên hệ: Mai Đức Thao (Email: thaomd@ntu.edu.vn)

Ngày nhận bài: 14/08/2022; Ngày phản biện thông qua: 27/09/2022; Ngày duyệt đăng: 28/09/2022

TÓM TẮT

Nghiên cứu nhằm khảo sát khả năng loại bỏ các muối dinh dưỡng nitrogen trong nước thải ao nuôi tôm thẻ chân trắng của một số chủng vi tảo. Trong nghiên cứu này, có 3 nghiệm thức thí nghiệm tương ứng với 3 chủng vi tảo phổ biến nhất trong nuôi trồng thủy sản ở Việt Nam gồm *Chlorella sp.* NTU-201, *Tetraselmis chuii* NTU-202, và *Oscillatoria sp.* NTU-301. Trong mỗi nghiệm thức, các chủng vi tảo được nuôi cấy trong môi trường nước thải đã được hiệu chỉnh để nâng cao khả năng loại bỏ các muối dinh dưỡng. Các thông số đặc tính nguồn nước thải, sinh trưởng quần thể vi tảo, và hiệu quả loại bỏ các muối dinh dưỡng được thu thập. Kết quả nghiên cứu đã chỉ ra rằng, nguồn nước thải có đặc điểm độ mặn cao (28,6-32,3 mg.L⁻¹), pH (7,7-8,0) cũng như độ kiềm (69,3-145,6 mgCaCO₃.L⁻¹) ở mức trung bình và phù hợp cho sinh trưởng vi tảo, nồng độ muối dinh dưỡng nitrogen và phosphate tương đối thấp. Vi tảo lục *Chlorella sp.* nước mặn biểu hiện sự thích nghi và sinh trưởng tốt nhất ở mật độ cực đại đạt 5,6±1,1×10⁶ tb.mL⁻¹ tốc độ sinh trưởng ở pha logarithm 0,57±0,08, và thời gian tăng sinh gấp đôi 1,24±0,16 (ngày). Tảo lam *Oscillatoria sp.* biểu hiện khả năng loại bỏ muối dinh dưỡng nitrogen là tốt nhất, 100% lượng muối nitrate được loại bỏ khỏi môi trường nước chỉ sau 2 ngày nuôi cấy.

Từ khóa: Ao nuôi thủy sản, muối dinh dưỡng, nitrate, nước thải, vi tảo.

ABSTRACT

The study was to evaluate the inorganic nitrogen removal capacity of some microalgal strain in wastewater from whiteleg shrimp ponds. In this study, there were three separated treatments searching on three popular microalgal strains in aquaculture in Vietnam including *Chlorella sp.* NTU-201, *Tetraselmis chuii* NTU-202, and *Oscillatoria sp.* NTU-301. The wastewater characteristics, microalgal population growth, and removal efficiency of inorganic nitrogen were tested. The research results showed a high salinity (28.6-32.3 mg.L⁻¹), mediated-potential of pH (7.7-8.0) and alkalinity (69.3-145.6 mgCaCO₃.L⁻¹) for microalgal growth, inorganic nitrogen and phosphate concentration were little low. The green microalgal *Chlorella sp.* appeared the highest acclimated and growth at maximum cell density of 5.6±1.1×10⁶ (cells.mL⁻¹) exponential growth rate of 0.57±0.08, and doubling time of 1.24±0.16 (days). The blue-green microalgal, *Oscillatoria sp.* showed the best inorganic nitrogen removal capacity, in which 100% nitrate concentration was removed from water after 2 days incubation.

Keywords: Aquaculture pond, microalgal, nitrate, nutrient, wastewater.

1. LỜI MỞ ĐẦU

Với đặc điểm có hệ thống sông ngòi dày đặc, đường bờ biển dài hơn 3260 km và khu đặc quyền kinh tế với diện tích 1 triệu km² Việt Nam được xem như một quốc gia có các điều kiện lý tưởng về địa lý cho ngành nuôi trồng thủy sản. Bên cạnh đó, Việt Nam nằm

trong khu vực khí hậu nhiệt đới, với điều kiện trung bình năm trên cả nước về nhiệt độ (khoảng 25°C) và số giờ chiếu sáng (khoảng 2500 giờ/năm) cao hơn nhiều so với mức bình quân chung trên toàn cầu (khoảng 15°C, và 2300 giờ chiếu sáng), đây được xem như những tiền đề thuận lợi cho nuôi trồng thủy

sản nước nhà. Thêm vào đó, cơ cấu nền kinh tế tập trung chủ yếu ở sản xuất nông nghiệp, truyền thống canh tác lâu đời, và nhiều chủ trương quan trọng trong chiến lược phát triển nuôi trồng thủy sản đã được Chính phủ thông qua. Định hướng phát triển nuôi trồng thủy sản bền vững, thân thiện với môi trường là một trong những mục tiêu đặc biệt quan trọng [1, 2].

Nuôi trồng thủy sản Việt Nam cũng như ở nhiều nước trên thế giới đang phải đối diện với thách thức lớn liên quan tới nguồn nước thải từ các hoạt động sản xuất này. Nhiều giải pháp được tập trung nghiên cứu và đưa vào ứng dụng. Đặc biệt, nhóm giải pháp cải tiến công nghệ nuôi dựa trên nền tảng là sự hoạt động của các vi sinh vật có lợi được xem là tiềm năng nhất và nhận được nhiều sự quan tâm của các nhà nuôi trồng thủy sản, điển hình là công nghệ biofloc. Tuy nhiên, giải pháp này dường như chưa giải quyết triệt để được vấn đề phú dưỡng nguồn nước. Về mặt khoa học, hoạt động tích cực của các vi sinh vật có lợi sẽ phân giải nguồn chất vật chất hữu cơ trong môi trường ao nuôi thủy sản tạo thành các sản phẩm cuối cùng là các muối dinh dưỡng nitrate (NO_3^-) hay ammonium (NH_4^+). Các muối dinh dưỡng này có ảnh hưởng tới sức khỏe vật nuôi thủy sản hay không cơ bản phụ thuộc vào nồng độ của chúng có trong môi trường nước. Ở một số mô hình nuôi như bán thâm canh hoặc thâm canh, lượng vật chất hữu cơ dư thừa trong nước không quá cao, kết quả là hàm lượng các muối dinh dưỡng (nitrate/ammonium) không quá lớn tới mức gây chết vật nuôi thủy sản, đặc biệt là tôm thương phẩm. Ở chiều hướng ngược lại, khi nồng độ các muối dinh dưỡng này ở mức quá cao, sẽ trở nên gây độc đối với vật nuôi thủy sản. Sự xuất hiện của thuật ngữ khoa học mới “độc tính nitrate/ammonium” trong mô hình nuôi tôm siêu thâm canh ứng dụng công nghệ cao trong vài năm trở lại đây đã chứng minh cho luận điểm khoa học này. Nhiều học giả cho rằng, việc ứng dụng công nghệ biofloc trong nuôi tôm thương phẩm chưa đạt được thành công như

mong đợi, rất có thể nằm ở vấn đề độc tính của nitrate/ammonium này. Việc tìm ra giải pháp loại bỏ các muối dinh dưỡng này trở nên rất cấp thiết. Có nhiều hướng tiếp cận được tính tới, trong đó sử dụng nhóm sinh vật sản xuất hấp thu các muối dinh dưỡng này được coi là hướng đi có cơ sở khoa học vững vàng và đầy triển vọng [3-6].

Vi tảo (microalgae) được biết đến là sinh vật sản xuất có kích thước nhỏ bé nắm giữ nhiều vai trò quan trọng trong nhiều lĩnh vực. Vi tảo sản xuất ra nguồn chất hữu cơ và giữ cân bằng các hệ sinh thái thủy vực trên trái đất, giảm thiểu ô nhiễm môi trường nước và không khí. Bên cạnh đó, nhiều ứng dụng rộng rãi của nhóm sinh vật này trong các lĩnh vực sinh học phân tử, công nghệ sinh học và y dược đã được khẳng định một cách rõ ràng [7, 8]. Ngoài ra, vi tảo còn đóng góp lớn trong công nghiệp thực phẩm, mỹ phẩm, nông nghiệp - thủy sản, và nguồn nhiên liệu sạch. Với đặc điểm là hấp thu mạnh các chất dinh dưỡng, tăng sinh khối nhanh chóng trong một khoảng thời gian ngắn, vi tảo đã và đang trở thành đối tượng tiềm năng nhất cho các hướng nghiên cứu ứng dụng xử lý nguồn nước thải từ nhiều lĩnh vực, trong đó có nuôi trồng thủy sản. Nghiên cứu ứng dụng vi tảo trong xử lý nước thải đã xuất hiện từ rất lâu trên thế giới. Palmer (1974) là một trong những người đặt nền móng cho hướng nghiên cứu này. Các nghiên cứu của ông tập trung vào các loài tảo thuộc chi *Chlorella*, *Ankistrodemus*, *Sceedesmus*, *Eulena*, *Chlamydomonas*, *Osillatoria*, *Micractinium*... Trong những năm trở lại đây, hướng nghiên cứu ứng dụng này đã rất lớn mạnh và phong phú, thu hút nhiều sự quan tâm của nhiều nhà khoa học và tổ chức nghiên cứu trên toàn thế giới [8, 9]. Ở Việt Nam, các công trình nghiên cứu sử dụng vi tảo xử lý nguồn nước thải ao nuôi thủy sản là không nhiều. Ứng dụng vi tảo trong nuôi trồng thủy sản ở Việt Nam phần lớn ở khía cạnh làm nguồn thức ăn tươi sống. *Chlorella* sp. nước mặn và *Tetraselmis chuii* được ứng dụng rộng rãi nhất trong sản xuất giống cá biển với vai

trò làm thức ăn cho luân trùng và công nghệ nước xanh. Bên cạnh đó, nhiều cơ sở sản xuất giống cá biển khu vực Khánh Hòa đang ứng dụng loài tảo lam *Oscillatoria* sp. thay thế cho *Chlorella* sp. để duy trì màu nước xanh trong các bể ương cho hiệu quả rất rõ rệt. Đặc điểm chung của 3 loài vi tảo này là khả năng hấp thu mạnh mẽ nồng độ các chất hữu cơ có trong môi trường nước, thêm vào đó là khả năng hấp thu các chất dinh dưỡng ở dạng hữu cơ của *Chlorella* và *Oscillatoria* đã được khẳng định trong nhiều tài liệu khoa học.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Nguồn nước

Nguồn nước sử dụng trong nghiên cứu bao gồm cả nước biển tự nhiên và nguồn nước thải ao nuôi tôm thương phẩm thu tại Trung tâm Nghiên cứu thực nghiệm Nuôi trồng thủy sản Cam Ranh, Trường Đại học Nha Trang. Ở các nghiệm thức thí nghiệm, nguồn nước thải ao nuôi tôm thương phẩm nửa cuối vụ nuôi được thu thập làm vật liệu nghiên cứu. Nước được lọc qua túi lọc 0,5 μm và xử lý chlorine 10 ppm trong 24 giờ ở điều kiện bóng tối để loại bỏ cạnh vẩn và tác nhân sinh học. Nguồn nước thải sau khi xử lý được phân tích các thành phần lý hóa học môi trường, và hiệu chỉnh. Hàm lượng phosphate (NaH_2PO_4) được bổ sung để đạt được tỉ lệ muối dinh dưỡng N:P ở 11:1 (tương đồng với môi tỷ lệ N:P có trong môi trường dinh dưỡng F/2 bổ sung), đồng thời bổ sung thêm khoáng vi lượng và vitamin theo công thức môi trường dinh dưỡng F/2 (Guillard và Ryther, 1975) [10].

2. Nuôi cấy vi tảo

Các chủng vi tảo sử dụng trong nghiên cứu bao gồm *Chlorella* sp NTU-201, nước mặn, *Tetraselmis chuii* NTU-202, và *Oscillatoria* sp. NTU-301, có nguồn gốc từ bộ sưu tập giống vi tảo, Phòng Thí nghiệm Vi tảo, Viện Nuôi trồng thủy sản, Trường Đại học Nha Trang. Để có những đánh giá chính xác hơn khả năng loại bỏ các muối dinh dưỡng trong nước thải ao nuôi tôm thương phẩm của các chủng vi tảo nghiên cứu, công tác

tiền thí nghiệm được tiến hành. Trong đó, các chủng vi tảo thuần chủng được thuần hóa trong môi trường điều kiện nước thải ao nuôi tôm thương phẩm ở tối thiểu 50 thế hệ trước khi tiến hành các thí nghiệm. Hình thức nuôi bán liên tục và đơn loài được sử dụng trong kỹ thuật thuần hóa các chủng vi tảo. Trong quá trình thuần hóa này, 30% - 50% thể tích dung dịch nuôi được thay thế hằng ngày tùy thuộc vào tốc độ thích nghi và sinh trưởng của từng chủng loài vi tảo.

Các chủng vi tảo được nuôi cấy trong các bình carboy 20 lít, chứa 18 lít dung dịch nuôi cấy. Mật độ ban đầu tế bào tảo được tính toán để quần thể vi tảo trong thí nghiệm ở thời điểm đầu của pha logarithm thông qua công tác tiền thí nghiệm khảo sát sinh trưởng quần thể. Các thí nghiệm sử dụng các chủng loài vi tảo khác nhau được bố trí với các mật độ ban đầu khác nhau, cụ thể *Chlorella* sp. là 1×10^6 tb.mL⁻¹, tảo lam *Tetraselmis chuii* là $0,3 \times 10^6$ tb.mL⁻¹ và *Oscillatoria* sp. là 1×10^4 tb.mL⁻¹. Nhiệt độ duy trì ổn định ở 25°C trong suốt quá trình nuôi cấy bằng máy điều hòa. Nguồn ánh sáng trắng được sử dụng trong nghiên cứu thông qua hệ thống đèn huỳnh quang. Cường độ ánh sáng được duy trì ổn định ở 3500 lux với chu kỳ quang ở 12 giờ sáng : 12 giờ tối. Chế độ sục khí liên tục 24/24 để đảm bảo sự xáo trộn và tiếp xúc của tế bào vi tảo với các điều kiện môi trường sống.

Nghiên cứu được bố trí với 3 nghiệm thức thí nghiệm (NT-1, NT-2, và NT-3) tương ứng với 3 chủng vi tảo sử dụng trong nghiên cứu *Chlorella* sp, *Tetraselmis chuii*, và *Oscillatoria* sp. Mỗi nghiệm thức được lặp lại 3 lần tạo thành 9 đơn vị thí nghiệm. Có 3 nghiệm thức đối chứng (ĐC-1, ĐC-2, và ĐC-3) tương ứng với 3 nghiệm thức thí nghiệm. Trong các nghiệm thức đối chứng này, nguồn nước sử dụng là nước biển tự nhiên lọc sạch có môi trường dinh dưỡng bổ sung F/2 (Guillard và Ryther, 1975).

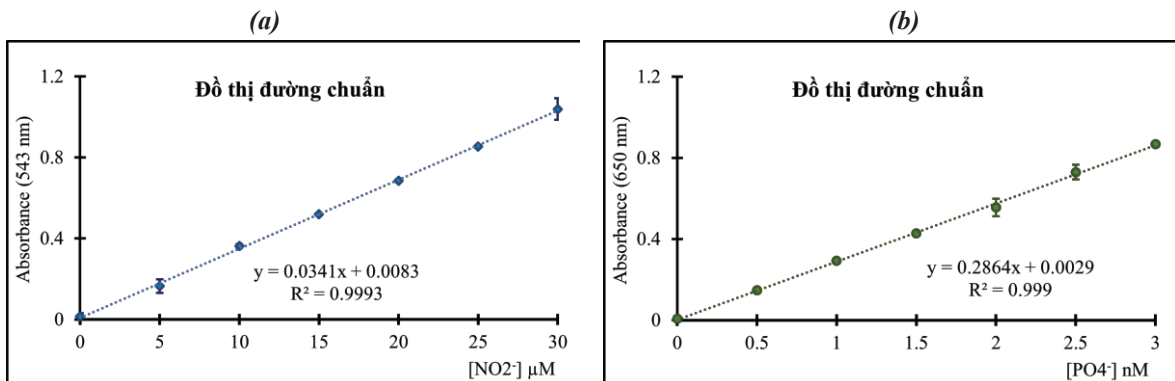
3. Phương pháp thu thập số liệu

3.1 Xác định thông số chất lượng môi trường nước

Độ đục được phân tích bởi máy quang phổ

Sper Scientific Turbidity Meter (860040), phổ đo từ 0 – 50 NTU, độ chính xác ±0,5 NTU [11]. pH được xác định bởi máy đo điện cực Hanna Bench-Top Meter (68031), khoảng xác định 0-14 và độ chính xác 0,01 [12]. Độ mặn được xác định bằng khúc xạ kế Master Refractometer, khoảng xác định là 0-10 g.L⁻¹, độ chính xác là 0,1 g.L⁻¹ (tương ứng với khoảng xác định là 0 – 100 mg.L⁻¹, và độ chính xác là 1 mg.L⁻¹). Độ kiềm tổng được xác định bằng phương pháp chuẩn độ sử dụng axit H₂SO₄, với chỉ thị màu là methyl da cam [13]. Nồng độ muối dinh dưỡng nitrite [NO₂⁻] được xác định bằng phương pháp diazot hóa (sử dụng sulfamilamide) và N- N-(1-naphthyl)-ethylenediamine là chất liên kết tạo màu. Máy đo quang phổ UV-vis spectrophotometer với bước sóng

543 nm được sử dụng để đo độ hấp thụ quang của các mẫu nước. Hàm lượng muối dinh dưỡng nitrate [NO₃⁻] được xác định bằng phương pháp so màu sử dụng cột khử cadmium. Trong phương pháp này, toàn bộ NO₃⁻ được khử thành NO₂⁻ sau khi qua cột khử cadmium, phản ứng với sulfamilamide và N-(1-naphthyl)-ethylenediamine tạo màu hồng đậm. Hàm lượng muối dinh dưỡng [NO₃⁻] trong mẫu sẽ được tính bằng hàm lượng muối [NO₂⁻] sau khi qua cột khử cadmium trừ đi hàm lượng [NO₂⁻] muối trước khi qua cột khử [14]. Hàm lượng muối dinh dưỡng phosphate được xác định bằng phương pháp ascorbic acid với chất chỉ thị màu phenolphthalein. Sử dụng máy đo quang phổ UV-vis spectrophotometer ở bước sóng 650 nm để đo độ hấp thụ quang [15].



Hình 2.1. Đường chuẩn xác định mối tương quan giữa nồng độ nitrite (a) và phosphate (b) với độ hấp thụ quang.

3.2 Xác định thông số sinh trưởng quần thể vi tảo

Mẫu vi tảo trong các bình nuôi cấy hàng ngày được thu thập, cố định bằng dung dịch lugol's trung tính đậm đặc trong các ống Eppendorf 1 mL. Buồng đếm tế bào máu Neubauer Improved có độ sâu 0,1 mm và kính hiển vi quang học Olympus, BX 41TF (Japan) được sử dụng để xác định mật độ tảo các chủng *Chlorella* sp. và *Tetraselmis chuii*. Với chủng vi tảo có cấu trúc tế bào dạng chuỗi, *Oscillatoria* sp. buồng đếm thực vật phù du Sedwick Rafter 1000 ô đếm trong 1 mL (Germany) được sử dụng.

Mật độ tế bào vi tảo được tính theo công thức $D (tb.mL^{-1}) = n \times d \times 10^4$ (Eq. 1)

Tốc độ sinh trưởng ở pha logarithm được tính theo công thức: $\mu = \frac{\ln(N_t) - \ln(N_0)}{t}$ (Eq. 2)

Thời gian tăng sinh gấp đôi

$$d_t = \frac{\ln(2)}{\mu} \text{ (Eq. 3)}$$

Trong đó: D là mật độ tế bào ($tb.mL^{-1}$), n là số lượng tế bào đếm được ở một ô vuông góc lớn (tb), d là số lần pha loãng, 10^4 là đơn vị chuyển đổi từ mm³ sang mL. μ là tốc độ sinh trưởng ở pha logarithm, N_t là mật độ tế bào ở thời điểm t bất kì trong pha logarithm ($tb.mL^{-1}$), N_0 là mật độ tế bào ở thời điểm bắt đầu pha logarithm ($tb.mL^{-1}$). d_t là thời gian tăng sinh khối lên gấp hai lần (ngày) [10].

3.3 Xác định tỷ lệ loại bỏ muối dinh dưỡng

nitrate [NO_3^-] và nitrite [NO_2^-]

100 mL dung dịch nuôi được thu thập hằng ngày để phân tích hàm lượng muối dinh dưỡng nitrogen. Tế bào vi tảo được loại bỏ khỏi mẫu nước phân tích hàm lượng muối dinh dưỡng bằng phương pháp lọc chân không. Màng lọc cellulose kích thước lỗ lọc 0,22 μm (cellulose filter membrane pore size 0,22 μm , diameter 47 mm, Sigma-Aldrich Germany). Mẫu nước được bảo quản đông ở 0°C trong tủ lạnh đến thời điểm phân tích.

Tỷ lệ phần trăm các muối dinh dưỡng nitrogen loại bỏ khỏi môi trường nước được tính theo công thức

$$RE = \frac{(C_t - C_0)}{C_t} \times 100\% \quad (\text{Eq. 4})$$

Trong đó, RE (Removal Efficiency) là hiệu quả loại bỏ muối dinh dưỡng của các chủng vi tảo (%), C_t là hàm lượng muối dinh dưỡng đo được ở thời điểm t (μM), C_0 là nồng độ muối dinh dưỡng đo được ở thời điểm trước khi cấy tảo (μM) [16].

3.4 Phân tích thống kê

Các phép phân tích giá trị trung bình (mean), độ lệch chuẩn (SD) và các phép phân tích thống kê được thực hiện trên phần mềm Microsoft Excel.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

1. Kết quả phân tích đặc trưng lý hóa học môi trường nước thải ao nuôi tôm thương phẩm

Trong nghiên cứu này, hai đợt thu mẫu

nước thải ao nuôi tôm thẻ chân trắng thương phẩm tại Trung tâm thực nghiệm Nuôi trồng thủy sản Cam Ranh, Trường Đại học Nha Trang đều được thực hiện vào nửa cuối vụ nuôi. Cụ thể, đợt 1 được thu vào ngày thứ 41 và đợt thứ 2 thu vào ngày thứ 65 của vụ nuôi. Kết quả phân tích đặc trưng lý hóa học môi trường nước thải ao nuôi tôm thương phẩm được thể hiện chi tiết qua Bảng 3.1. Kết quả nghiên cứu đã chỉ ra rằng độ mặn môi trường nước ao nuôi tôm dao động trong khoảng từ $28,6 \pm 0,6$ đến $32,3 \pm 0,6$ $mg.L^{-1}$. Khoảng độ mặn này nằm trong giới hạn cho phép theo QCVN02-19:2014/BNNPTNT về Quy chuẩn kỹ thuật Quốc gia về cơ sở nuôi tôm nước lợ. Kết quả công bố trong nhiều nghiên cứu trước đã chỉ ra rằng, khoảng độ mặn tối ưu cho sinh trưởng, phát triển và chống chịu với các tác nhân gây bệnh của tôm thẻ chân trắng (*Penaeus vannamei*) ở khoảng 25 $mg.L^{-1}$ [17-19]. Ở khía cạnh sinh trưởng và phát triển độ mặn ảnh hưởng trực tiếp đến vi tảo thông qua một số tác động như (1) điều hòa áp suất thẩm thấu, (2) quá trình quang hợp, và (3) quá trình sinh tổng hợp lipid của vi tảo. Độ mặn còn có những tác động gián tiếp thông qua làm thay đổi hàm lượng khí CO_2 hòa tan, độ tính của khí độc và kim loại nặng. Khoảng độ mặn tối ưu cho sinh trưởng và phát triển của hầu hết các loài vi tảo trong nuôi trồng thủy sản là khoảng 25 $mg.L^{-1}$, cho thấy độ mặn môi trường nước thải trong nghiên cứu này là tương đối cao [13, 14, 20, 21].

Bảng 3.1. Thông số lý hóa học môi trường nước thải ao nuôi tôm thương phẩm

		Độ mặn ($mg.L^{-1}$)	pH	Độ đục (NTU)	Độ kiềm ($mgCO_3.L^{-1}$)	[NO_2^-] (μM)	[NO_3^-] (μM)	[PO_4^{3-}] (μM)
Mẫu 1	TB \pm SD	$28,6 \pm 0,6$	$7,7 \pm 0,2$	$13,3 \pm 1,1$	$145,6 \pm 18,0$	$21,1 \pm 0,1$	$134,6 \pm 8,8$	$2,5 \pm 0,2$
	Min-Max	28-29	7,5-7,8	12-14	124,8-156	20,9-21,2	124,4-139,6	2,3-2,6
Mẫu 2	TB \pm SD	$32,3 \pm 0,6$	$8,0 \pm 0,3$	$32,3 \pm 3,2$	$69,3 \pm 15,9$	$64,2 \pm 1,9$	$424,0 \pm 9,8$	$7,0 \pm 1,2$
	Min-Max	32-33	7,6-8,2	30-36	52,0-83,2	62,0-65,5	412,8-431,1	5,7-8,1

Ngược lại, kết quả phân tích pH, độ đục và độ kiềm ở cả hai đợt thu mẫu nước thải đều cho thấy đây là giá trị rất phù hợp không chỉ đối với hoạt động nuôi thương phẩm tôm thẻ chân trắng mà còn đối với nuôi cấy phần lớn các loài vi tảo. Cụ thể, pH dao động

từ $7,7 \pm 0,2$ đến $8,0 \pm 0,3$, độ đục giao động trong khoảng $13,3 \pm 1,1$ đến $32,3 \pm 3,2$ NTU, và độ kiềm là từ $69,3 \pm 15,9$ đến $145,6 \pm 18,0$ $mgCO_3.L^{-1}$. Kết quả phân tích ở Bảng 3.1. cũng chỉ ra rằng pH và độ đục môi trường nước ở cuối vụ nuôi (đợt thu mẫu thứ 2) cao

hơn so với đợt nuôi thứ nhất. Điều này có thể được giải thích bởi càng về cuối vụ nuôi, chất lượng môi trường nước càng trở nên kém đi do thức ăn thừa và sản phẩm bài tiết từ tôm tăng lên, phùêu sinh thực vật phát triển mạnh. Quá trình quang hợp diễn ra mạnh mẽ vào thời điểm buổi trưa (cũng là thời điểm thu mẫu nước) làm cho pH tăng cao và độ đục lớn. Tác nhân thay đổi pH này đồng thời cũng làm giảm đáng kể lượng ion kiềm (HCO_3^- , và CO_3^{2-}) có trong môi trường nước [10, 13, 22, 23].

Hàm lượng muối dinh dưỡng [NO_2^-], [NO_3^-] và [NO_3^{3-}] có trong các mẫu nước thải ao nuôi tôm lần lượt là 21.1-64.2, 134-424, và 2.5-7.0 μM . Hàm lượng muối dinh dưỡng này tương đối thấp cho thấy việc quản lý nguồn thức ăn và chất lượng nước ở cơ sở tương đối tốt. Nồng độ các muối dinh dưỡng này tăng lên ở cuối vụ nuôi là điều rất phù hợp như đã trình bày ở nội dung phía trên. Mặc dù vậy, ở khía cạnh vi tảo, hàm lượng muối dinh dưỡng này là rất thấp so với điều kiện tối ưu cho quá trình nuôi cấy. Cụ thể, môi trường F/2 (Guillard và Ryther, 1975) được xem như môi trường dinh dưỡng bổ sung phổ biến nhất trong quá trình nuôi cấy các loài vi tảo trong nuôi trồng thủy sản, đặc biệt là nhóm vi tảo lục và tảo lam. Khi sử dụng môi trường dinh dưỡng này, nồng độ các muối dinh dưỡng nitrate và phosphate trong dung dịch nuôi cấy vi tảo đạt được theo thứ tự là 882 và 36.2 μM . Bên cạnh đó, tỷ lệ giữa N:P trong môi trường nước thải dao động trong khoảng 27.6-37.7 (số liệu không thể hiện), là cao hơn rất nhiều so với điều kiện tối ưu cho nuôi cấy vi tảo (N:P là 11:1). Điều này có thể giải thích bởi hàm lượng phosphate trong môi trường nước thải là rất thấp [10, 24-26]. Để tăng cường hiệu quả loại bỏ muối dinh dưỡng nitrogen trong nước thải, việc bổ sung muối dinh dưỡng phosphate vào mẫu nước thải 1 và mẫu nước 2 được tiến hành với hàm lượng lần lượt là 3.9 và 13.0 μM .

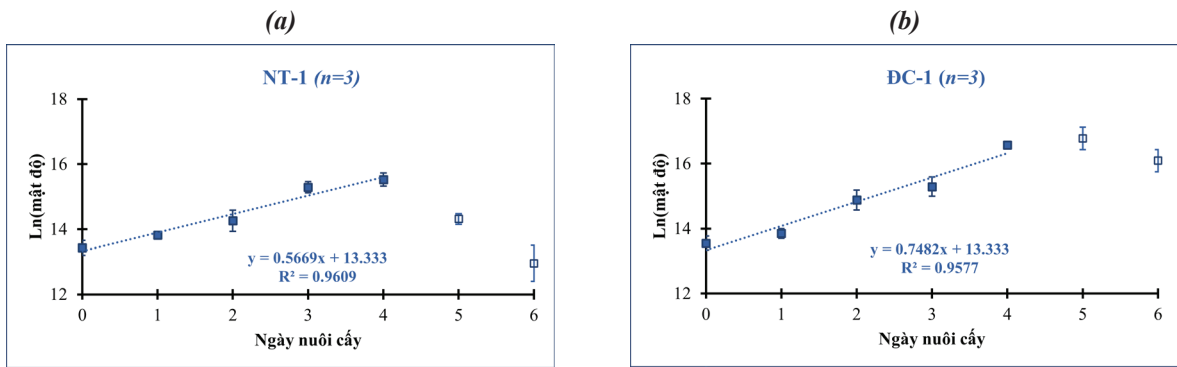
2. Sinh trưởng quần thể vi tảo trong điều kiện nước thải ao nuôi tôm thương phẩm

Kết quả nghiên cứu từ Hình 3.1. cho thấy

vi tảo lục *Chlorella* sp. nước mặn thích nghi tốt với điều kiện môi trường nước thải. Sinh khối quần thể tăng nhanh ngay sau khi nuôi cấy và đạt đến giá trị cực đại vào ngày nuôi thứ 4 ở $5,6 \pm 1,1 \times 10^6$ tb.mL⁻¹, mật độ cực đại này thấp hơn khá nhiều so với mật độ cực đại thu được ở nghiệm thức đối chứng sử dụng nước biển tự nhiên, đạt $19,3 \pm 1,1 \times 10^6$ tb.mL⁻¹, ở ngày nuôi thứ 5. Pha logarithm trong chu kỳ sinh trưởng quần thể vi tảo ở các nghiệm thức thí nghiệm này bắt đầu ở ngày nuôi đầu tiên (ngày 0) và kéo dài đến hết ngày nuôi thứ 4. Trong khi đó, độ dài của pha này là dài hơn ở các nghiệm thức đối chứng, từ ngày 0 đến ngày thứ 5 trong chu kỳ sinh trưởng. Tốc độ sinh trưởng (theo ngày) ở pha logarithm trong các nghiệm thức thí nghiệm trung bình đạt khoảng $0,57 \pm 0,08$, thấp hơn so với ở nghiệm thức đối chứng là $0,75 \pm 0,05$. Ở các thí nghiệm nuôi cấy *Chlorella* sp. bằng nước thải ao nuôi tôm, thời gian nhân đôi sinh khối (doubling time) là $1,24 \pm 0,16$ (ngày), cao hơn so với ở các nghiệm thức đối chứng ($0,91 \pm 0,05$) sử dụng nước biển tự nhiên, sử dụng F/2 làm môi trường dinh dưỡng bổ sung (Bảng 3.2). Kết quả phân tích thống kê về tốc độ sinh trưởng quần thể, mật độ cực đại, và thời gian tăng sinh gấp đôi cho đã chỉ ra sự sai khác có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức thí nghiệm và nghiệm thức đối chứng ($p < 0,05$).

So sánh với kết quả của một số nghiên cứu khác đã được công bố, cho thấy một sự tương đồng về sinh trưởng quần thể của chủng tảo này với một số chủng/loài *Chlorella* khác [27, 28]. Ở chiều hướng ngược lại, sinh trưởng của vi tảo lục *Chlorella* sp. trong nghiên cứu này cao hơn so với một số nghiên cứu trước đây. Một trong số đó là nghiên cứu được thực hiện bởi Man Kee Lam (2017) khi sử dụng loài *Chlorella vulgaris* để xử lý môi trường nước thải sinh hoạt. Theo đó, tốc độ sinh trưởng (trong pha logarithm) của *Chlorella vulgaris* cao nhất đạt được vào khoảng 0,3, thấp hơn gần 2 lần so với kết quả thu được từ nghiên cứu này [29].

Có xu hướng biến thiên tương tự trong



Hình 3.1. Sinh trưởng quần thể *Chlorella* sp. trong môi trường nước thải ao nuôi tôm (a) và nghiệm thức đối chứng (b).

Các kí tự đậm chỉ sinh trưởng quần thể ở pha logarithms cùng với phương trình tương quan $y = ax + b$ với a là tốc độ tăng trưởng ở pha logarithm theo ngày. Các kí tự mờ chỉ sinh khối quần thể không nằm trong pha logarithms.

nghiệm thức 2 này, khi sử dụng chủng vi tảo *Tetraselmis chuii* làm vật liệu nghiên cứu (Hình 3.2a và Hình 3.2b). Mật độ cực đại thu được trong chu kì sinh trưởng quần thể vi tảo *T. chuii* ở nghiệm thức thí nghiệm và nghiệm thức đối chứng lần lượt là $1.1 \pm 0.11 \times 10^6$ và $1,6 \pm 0,10 \times 10^6$ tb.mL⁻¹. Bên cạnh đó, tốc độ sinh trưởng quần thể (theo ngày) ở pha logarithm trong hai nghiệm thức này lần lượt là $0,49 \pm 0,03$ và $0,58 \pm 0,02$. Độ dài của pha

logarithm ở cả hai nghiệm thức là 3 ngày, thấp hơn ở các nghiệm thức sử dụng vi tảo lục *Chlorella* sp. (4 ngày). Thời gian tăng sinh gấp đôi của quần thể là $1,41 \pm 0,09$ ngày ở các nghiệm thức thí nghiệm NT-2. Trong khi đó, khoảng thời gian này là $1,19 \pm 0,07$ ngày ở nghiệm thức đối chứng, cho thấy sinh trưởng quần thể là tốt hơn ở điều kiện nước biển tự nhiên, có bổ sung đầy đủ muối dinh dưỡng và khoáng chất.

Bảng 3.2. Kết quả sinh trưởng quần thể vi tảo trong các nghiệm thức

	Tốc độ sinh trưởng μ		Mật độ cực đại (tb.mL ⁻¹)		Thời gian tăng sinh gấp đôi (ngày)	
<i>Chlorella</i> sp.	0.57±0.08*	0.75±0.05*	5.6±1.1×10 ⁶ *	19.3±1.1×10 ⁶ *	1.24±0.16*	0.91±0.05*
<i>Tetraselmis chuii</i>	0.49±0.03*	0.58±0.02*	1.1±0.11×10 ⁶ *	1.6±0.10×10 ⁶ *	1.41±0.09*	1.19±0.07*
<i>Oscillatoria</i> sp.	0.17±0.03*	0.44±0.04*	1.5±0.2×10 ⁴ *	6.1±1.2×10 ⁴ *	4.24±0.9*	1.59±0.14*

* Biểu thị kết quả sự sai khác có ý nghĩa về mặt thống kê giữa 3 chủng vi tảo

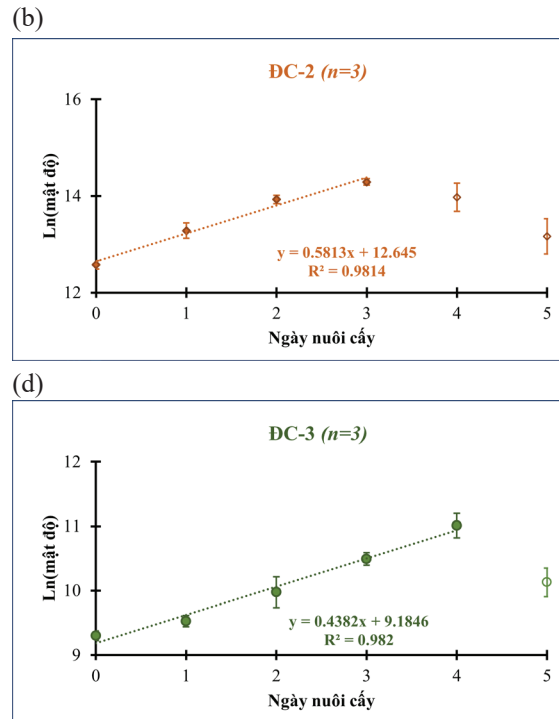
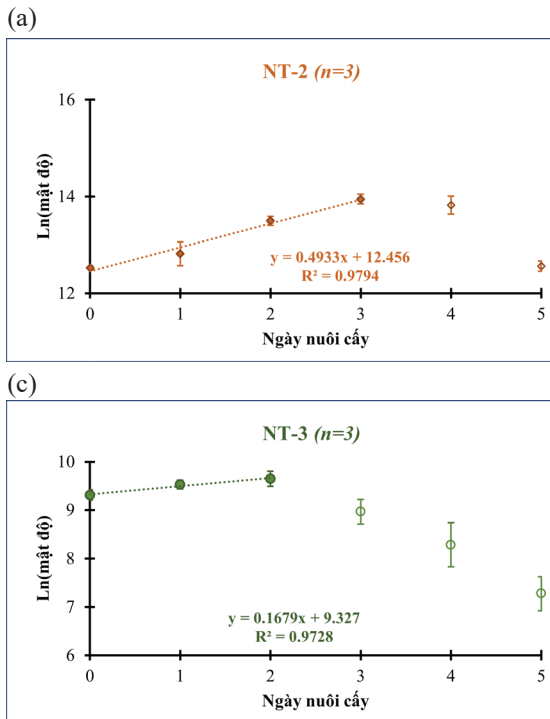
Kết quả nghiên cứu từ Hình 3.2c và Hình 3.2d cho thấy sự khác biệt rất lớn về sinh trưởng quần thể tảo *Oscillatoria* sp. ở các nghiệm thức thí nghiệm và nghiệm thức đối chứng. Cụ thể, ở nghiệm thức thí nghiệm, sinh khối quần thể tăng chậm sau ngày nuôi cấy đầu tiên, đạt mật độ cực đại ở $1,5 \pm 0,2 \times 10^4$ chuỗi.mL⁻¹ vào ngày nuôi thứ 2. Trong khi đó, ở nghiệm thức đối chứng, mật độ cực đại đạt $6,1 \pm 1,2 \times 10^4$ chuỗi.mL⁻¹ vào ngày nuôi thứ 4 trong chu kì sinh trưởng. Tốc độ sinh trưởng và độ dài của pha logarithm cũng có khác biệt rất lớn giữa hai nghiệm thức này. Sinh trưởng quần thể ở pha logarithm trong các

nghiệm thức NT-3 thấp hơn khoảng 3 lần so với các nghiệm thức đối chứng (ĐC-3). Thời gian tăng sinh khối lên hai lần ở các nghiệm thức thí nghiệm là $4,24 \pm 0,9$ ngày, trong khi con số này ở nghiệm thức đối chứng chỉ ở $1,59 \pm 0,14$.

Tóm lại, kết quả nghiên cứu từ Hình 3.2 và Bảng 3.1 đã chỉ ra rằng vi tảo lục *Chlorella* sp. có khả năng sinh trưởng trong môi trường nước thải ao nuôi tôm tốt hơn 2 chủng tảo còn lại. Ngược lại, tảo lam *Oscillatoria* sp. biểu hiện khả năng thích nghi và sinh trưởng kém nhất. Sự khác biệt này có thể được giải thích bởi đặc trưng khác nhau của từng

chủng/loài vi tảo. Mỗi loài vi tảo có những đặc điểm khác nhau về đặc điểm hình thái cấu tạo, kích thước thể bào, tổng năng lượng vật chất, cũng như đặc trưng về sinh trưởng. Nhu cầu về các điều kiện môi trường sống

cũng khác nhau của từng chủng, loài vi tảo. Trong nghiên cứu này, việc sử dụng chung một nguồn nước để nuôi cấy các chủng vi tảo khác nhau đưa đến sự khác nhau về kết quả sinh trưởng quần thể là điều tất yếu [30-32].

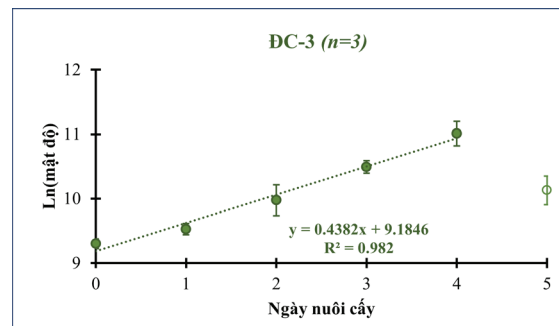
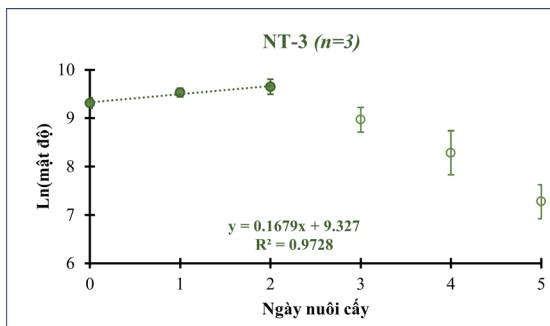


Hình 3.2. Sinh trưởng quần thể vi tảo *Tetraselmis chuii* (a, b) và *Oscillatoria* sp. (c, d) trong môi trường nước thải ao nuôi tôm.

3. Khả năng loại bỏ các muối dinh dưỡng nitrogen trong nước thải của các chủng vi tảo

Kết quả phân tích các muối dinh dưỡng có trong dung dịch nuôi cấy cho thấy hàm lượng nitrite bằng 0 sau một ngày nuôi cấy ở các nghiệm thức thí nghiệm. Điều này có thể giải thích bởi sự khử mạnh trong quá trình

nuôi cấy vi tảo nên oxy hóa các muối nitrite thành nitrate [13, 33]. Hiệu quả loại bỏ các muối dinh dưỡng nitrogen từ đây tập trung trên muối dinh dưỡng nitrate. Kết quả nghiên cứu ở Hình 3.2. đã chỉ ra khả năng loại bỏ muối dinh dưỡng của vi tảo lam *Oscillatoria* sp. là tốt hơn hai chủng vi tảo còn lại. Ở các nghiệm thức thí nghiệm, hiệu quả loại bỏ các



Hình 3.3. Hiệu quả loại bỏ các muối dinh dưỡng của các chủng vi tảo trong nghiên cứu.

muối dinh dưỡng (RE) tăng nhanh sau ngày đầu tiên nuôi cấy, đạt khoảng $69,6 \pm 4,8$ % ngày nuôi cấy thứ nhất và hoàn thành việc loại bỏ nitrate (100 %) vào ngày nuôi cấy thứ hai. Kết quả nghiên cứu ở các nghiệm thức đối chứng cũng cho ra kết quả tương tự như vậy, *Oscillatoria* sp. hoàn thành việc loại bỏ các muối nitrate chỉ sau 2 ngày nuôi cấy.

Có một sự khác biệt nhỏ về khả năng loại bỏ muối dinh dưỡng của hai chủng tảo còn lại là *Chlorella* sp. và *Tetraselmis chuii*. Ở các nghiệm thức thí nghiệm, hai chủng vi tảo này đều loại bỏ được 100% các muối nitrate khỏi môi trường nước ở ngày nuôi thứ 3. Tuy nhiên, ở các nghiệm thức đối chứng *Chlorella* sp. có khả năng loại bỏ hoàn toàn muối dinh dưỡng nitrate sau 4 ngày nuôi cấy, trong khi đó, con số này ở loài vi tảo *Tetraselmis chuii* là 5 ngày. Một điểm nổi bật trong kết quả nghiên cứu là hàm lượng các muối dinh dưỡng trong môi trường nước nuôi cấy thường tiệm cận tới giá trị 0, ngay trước thời điểm sinh khối quần thể vi tảo đạt đến giá trị cực đại. Kết quả nghiên cứu này cũng tương đồng với kết quả trong một số công bố khoa học trước đây [34-36].

IV. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

Môi trường nước thải ao nuôi tôm thẻ chân trắng thương phẩm có độ mặn tương

đối cao, ngược lại các thông số pH, độ kiềm độ đục phù hợp với nuôi nhân sinh khối vi tảo. Hàm lượng muối dinh dưỡng tương đối thấp và tỷ lệ N:P là cao hơn so với mức yêu cầu. Các chủng vi tảo dùng trong nghiên cứu thích nghi và sinh trưởng tốt trong điều kiện nước thải này. Sinh trưởng quần thể vi tảo lục *Chlorella* sp. đạt được cao nhất. Ngược lại, *Oscillatoria* sp. cho thấy kết quả sinh trưởng là thấp nhất. Tuy nhiên, về hiệu quả loại bỏ muối dinh dưỡng nitrate thì vi tảo lam *Oscillatoria* sp. lại cho ra kết quả tốt nhất. Kế tiếp đến là *Chlorella* sp. và *Tetraselmis chuii*.

Việc đánh giá khả năng loại bỏ muối dinh dưỡng nitrogen ra khỏi môi trường nước thường đòi hỏi nhiều thời gian, lặp lại các thí nghiệm cũng như ở nhiều qui mô khác nhau. Bên cạnh đó, công tác đánh giá chất lượng môi trường nước một cách kĩ càng và đầy đủ nguồn dữ liệu khoa học. Do đó, thông qua kết quả nghiên cứu này, chúng tôi đề xuất thực hiện việc thu mẫu và đánh giá đặc trưng môi trường nước thải ao nuôi tôm ở nhiều vùng trên cả nước, phân tích nhiều hơn nữa các thông số lý hóa học môi trường. Bên cạnh đó, tiến hành đánh giá khả năng loại bỏ muối dinh dưỡng ở nhiều chủng vi tảo ở nhiều qui mô khác nữa.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ngoc, Q.T.K., et al., *Willingness to adopt improved shrimp aquaculture practices in Vietnam*. Aquaculture Economics & Management, 2021. **25**(4): p. 430-449.
2. Raschke, E., et al., *Bulletin of the American Meteorological Society*. 2001.
3. Li, Y. and C.E. Boyd, *Laboratory tests of bacterial amendments for accelerating oxidation rates of ammonia, nitrite and organic matter in aquaculture pond water*. Aquaculture, 2016. **460**: p. 45-58.
4. Mook, W., et al., *Removal of total ammonia nitrogen (TAN), nitrate and total organic carbon (TOC) from aquaculture wastewater using electrochemical technology: a review*. Desalination, 2012. **285**: p. 1-13.
5. Avnimelech, Y., *Biofloc technology. A practical guide book*. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, 2009. **182**.
6. Armstrong, D.A. *Nitrogen toxicity to crustacea and aspects of its dynamics in culture systems*. in *Proceedings of the Second Biennial Crustacean Health Workshop. Texas A & M University Sea Grant Report TAMU-SC-79-114*. 1979.
7. Hallegraeff, G.M., *Ocean climate change, phytoplankton community responses, and harmful algal*

blooms: a formidable predictive challenge I. Journal of phycology, 2010. **46**(2): p. 220-235.

8. Arrigo, K.R., *Marine microorganisms and global nutrient cycles*. Nature, 2005. **437**(7057): p. 349-355.

9. Hays, G.C., A.J. Richardson, and C. Robinson, *Climate change and marine plankton*. Trends in ecology & evolution, 2005. **20**(6): p. 337-344.

10. Andersen, R.A., *Algal culturing techniques*. 2005: Elsevier.

11. Fein, K., D.W. Bousfield, and W.M. Gramlich, *Thiol-norbornene reactions to improve natural rubber dispersion in cellulose nanofiber coatings*. Carbohydrate polymers, 2020. **250**: p. 117001.

12. Liu, Y., et al., *Biophysical characterization of hyper-branched polyethylenimine-graft-polycaprolactone-block-mono-methoxyl-poly (ethylene glycol) copolymers (hy-PEI-PCL-mPEG) for siRNA delivery*. Journal of controlled release, 2011. **153**(3): p. 262-268.

13. Boyd, C.E. and C.S. Tucker, *Pond aquaculture water quality management*. 2012: Springer Science & Business Media.

14. Boyd, C.E. and C.S. Tucker, *Water quality and pond soil analyses for aquaculture*. Water quality and pond soil analyses for aquaculture., 1992.

15. Motomizu, S., T. Wakimoto, and K. Tōei, *Spectrophotometric determination of phosphate in river waters with molybdate and malachite green*. Analyst, 1983. **108**(1284): p. 361-367.

16. Gonçalves, A., M. Simões, and J. Pires, *The effect of light supply on microalgal growth, CO₂ uptake and nutrient removal from wastewater*. Energy Conversion and Management, 2014. **85**: p. 530-536.

17. Bray, W., A. Lawrence, and J. Leung-Trujillo, *The effect of salinity on growth and survival of Penaeus vannamei, with observations on the interaction of IHVN virus and salinity*. Aquaculture, 1994. **122**(2-3): p. 133-146.

18. Chen, K., et al., *Growth and lipid metabolism of the pacific white shrimp Litopenaeus vannamei at different salinities*. Journal of Shellfish Research, 2014. **33**(3): p. 825-832.

19. Ponce-Palafox, J., C.A. Martinez-Palacios, and L.G. Ross, *The effects of salinity and temperature on the growth and survival rates of juvenile white shrimp, Penaeus vannamei, Boone, 1931*. Aquaculture, 1997. **157**(1-2): p. 107-115.

20. Fakhri, M., et al., *Effect of Salinity and Photoperiod on Growth of Microalgae Nannochloropsis sp. and Tetraselmis sp.* Nature Environment and Pollution Technology, 2015. **14**(3): p. 563.

21. Gatamaneni, B.L., V. Orsat, and M. Lefsrud, *Factors affecting growth of various microalgal species*. Environmental Engineering Science, 2018. **35**(10): p. 1037-1048.

22. Qiu, R., et al., *Effects of pH on cell growth, lipid production and CO₂ addition of microalgae Chlorella sorokiniana*. Algal Research, 2017. **28**: p. 192-199.

23. Yun, Y.S., et al., *Carbon dioxide fixation by algal cultivation using wastewater nutrients*. Journal of Chemical Technology & Biotechnology: International Research in Process, Environmental and Clean Technology, 1997. **69**(4): p. 451-455.

24. Cabanelas, I.T.D., et al., *Comparing the use of different domestic wastewaters for coupling microalgal production and nutrient removal*. Bioresource technology, 2013. **131**: p. 429-436.

25. Choi, H.J. and S.M. Lee, *Effect of the N/P ratio on biomass productivity and nutrient removal from municipal wastewater*. Bioprocess and biosystems engineering, 2015. **38**(4): p. 761-766.

26. Lee, S.-H., et al., *Increased microalgae growth and nutrient removal using balanced N: P ratio in wastewater*. Journal of microbiology and biotechnology, 2013. **23**(1): p. 92-98.

27. Liu, X., et al., *Growth of Chlorella vulgaris and nutrient removal in the wastewater in response to intermittent carbon dioxide*. Chemosphere, 2017. **186**: p. 977-985.
28. Wang, L., et al., *Cultivation of green algae Chlorella sp. in different wastewaters from municipal wastewater treatment plant*. Applied biochemistry and biotechnology, 2010. **162**(4): p. 1174-1186.
29. Lam, M.K., et al., *Cultivation of Chlorella vulgaris using nutrients source from domestic wastewater for biodiesel production: Growth condition and kinetic studies*. Renewable Energy, 2017. **103**: p. 197-207.
30. Larsdotter, K., *Wastewater treatment with microalgae-a literature review*. Vatten, 2006. **62**(1): p. 31.
31. Markou, G., D. Vandamme, and K. Muylaert, *Microalgal and cyanobacterial cultivation: The supply of nutrients*. Water research, 2014. **65**: p. 186-202.
32. Pires, J., et al., *Wastewater treatment to enhance the economic viability of microalgae culture*. Environmental Science and Pollution Research, 2013. **20**(8): p. 5096-5105.
33. Moriarty, D.J., *The role of microorganisms in aquaculture ponds*. Aquaculture, 1997. **151**(1-4): p. 333-349.
34. Singh, R., R. Birru, and G. Sibi, *Nutrient removal efficiencies of Chlorella vulgaris from urban wastewater for reduced eutrophication*. Journal of Environmental Protection, 2017. **8**(01): p. 1.
35. Tam, N. and Y. Wong, *Wastewater nutrient removal by Chlorella pyrenoidosa and Scenedesmus sp.* Environmental Pollution, 1989. **58**(1): p. 19-34.
36. Znad, H., et al., *Bioremediation and nutrient removal from wastewater by Chlorella vulgaris*. Ecological Engineering, 2018. **110**: p. 1-7.