

NGHIÊN CỨU TĂNG SINH KHỐI VI TẢO BIỂN *Tetraselmis* sp. ĐỂ XỬ LÝ NITƠ VÀ PHOTPHO TRONG NƯỚC LỢ - MẶN GIÀU CHẤT DINH DƯỠNG

Đặng Thị Thanh Lộc¹, Lê Văn Tuấn^{1*}, Nguyễn Thị Thu Liên², Trương Quý Tùng¹,
Nguyễn Công Phúc Lộc¹, Tạ Ngọc Trí¹, Dương Thành Chung¹, Phan Hải Phong³

¹ Khoa Môi trường, Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế

² Viện nghiên cứu và ứng dụng Khoa học Công nghệ, Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế

³ Khoa Điện tử viễn thông và Công nghệ vật liệu, Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế

* Tác giả liên hệ Lê Văn Tuấn <levantuan@hueuni.edu.vn>

(Ngày nhận bài: 13-01-2024; Hoàn thành phản biện: 07-03-2024; Ngày chấp nhận đăng: 08-04-2024)

Tóm tắt. Trong nghiên cứu này, vi tảo biển *Tetraselmis* sp. được nuôi trong nước biển với nồng độ cao các muối dinh dưỡng (N, P). Nghiên cứu đã khảo sát các điều kiện thích hợp cho sự phát triển của tảo, bao gồm: môi trường dinh dưỡng, pH, mật độ tiếp giống, và tỷ lệ TN:TP ban đầu khác nhau. Kết quả cho thấy, *Tetraselmis* sp. phát triển tốt trong môi trường F/2 nước biển có độ muối 30 ‰ và pH 8, với mật độ tiếp giống ban đầu dao động từ 5% đến 10%. *Tetraselmis* sp. đã thể hiện khả năng phát triển mạnh mẽ trong môi trường có nồng độ cao của các muối dinh dưỡng (N, P). Cụ thể, khi nồng độ T-N tăng từ 9,7 lên 56,3 mg/L và nồng độ T-P tăng từ 0,1 lên 3,7 mg/L, mật độ tế bào tảo cũng tăng tương ứng từ $6,98 \times 10^5$ (TB/mL) lên $1,34 \times 10^6$ (TB/mL) sau 15 ngày nuôi cấy. Hiệu suất xử lý T-P đạt từ 82% đến 100%. Hiệu suất xử lý T-N đạt từ 97 đến 83% đối với nồng độ T-N ban đầu trong khoảng từ 10 đến 25 mg/L. Tuy nhiên, với T-N cao hơn (~56 mg/L), hiệu suất chỉ đạt 58% sau 15 ngày nuôi cấy. Kết quả này cho thấy tiềm năng lớn của việc nuôi cấy vi tảo biển *Tetraselmis* sp. trong xử lý loại N và P trong môi trường nước lợ-mặn giàu chất dinh dưỡng ở Việt Nam.

Từ khóa: Vi tảo biển, *Tetraselmis* sp., xử lý loại nitơ và photpho

Research on enhancing marine microalgae biomass *Tetraselmis* sp. for nitrogen and phosphorus removal from brackish-salt water rich in nutrients

Dang Thi Thanh Loc¹, Le Van Tuan^{1*}, Nguyen Thi Thu Lien², Trương Quý Tùng¹,
Nguyen Cong Phuc Loc¹, Ta Ngọc Trí¹, Duong Thanh Chung¹, Phan Hai Phong³

¹ Department of Environment, University of Sciences, Hue University

² Institute of Research and Application of Science and Technology, University of Sciences, Hue University

³ Department of Electronics, Telecommunications, and Materials Technology, University of Sciences, Hue University

* Correspondence to Le Van Tuan <levantuan@hueuni.edu.vn>

(Received: 13 January 2023; Revised: 07 March 2024; Accepted: 08 April 2024)

Abstract. This study investigates the cultivation of *Tetraselmis* sp., a marine microalgae species, in seawater enriched with elevated levels of nutrient salts (N, P). The primary objective was to determine

the suitable growth conditions for *Tetraselmis* sp., considering variations in nutrient composition, pH levels, initial inoculum density, and differing initial TN:TP ratios. Results indicate robust growth of *Tetraselmis* sp. in F/2 seawater medium with a salinity of 30 ‰ and pH 8, with initial inoculum densities ranging from 5% to 10%. *Tetraselmis* sp. exhibited strong growth potential in environments with elevated nutrient salt concentrations (N, P). Specifically, as TN concentration increased from 9.7 to 56.3 mg/L and TP concentration rose from 0.1 to 3.7 mg/L, cell density increased from 6.98×10^5 (cells/mL) to 1.34×10^6 (cells/mL) after a 15-day cultivation period. Total phosphorus treatment efficiency ranged from 82% to 100%. Total nitrogen treatment efficiency ranged from 97% to 83% for initial T-N concentrations of 10 to 25 mg/L. However, with higher T-N concentrations (~56 mg/L), the treatment efficiency reached only 58% after 15 days of cultivation. These findings highlight the significant potential of cultivating *Tetraselmis* sp. for N and P removal from brackish-salt water rich in nutrients in Vietnam.

Keywords: Marine microalgae, *Tetraselmis* sp., nitrogen and phosphorus removal

1 Mở đầu

Việt Nam đã chú trọng phát triển ngành nuôi trồng và chế biến thủy hải sản trong nhiều năm qua, do có lợi thế về bờ biển dài và hệ thống sông ngòi phong phú. Hiện nay, Việt Nam là một trong 10 quốc gia hàng đầu thế giới về sản lượng xuất khẩu thủy sản, với giá trị xuất khẩu chiếm khoảng 4% GDP cả nước [1]. Thừa Thiên Huế là tỉnh có thế mạnh về tài nguyên biển và đầm phá, bên cạnh việc phát triển du lịch thì các hoạt động nuôi trồng, khai thác và chế biến thủy hải sản cũng là điểm mạnh của tỉnh. Theo thống kê năm 2023, toàn tỉnh Thừa Thiên Huế có diện tích nuôi trồng thủy sản ước đạt 7.800 ha, trong đó có 2.100 ha nuôi thủy sản nước ngọt và 5.700 ha nuôi thủy sản nước lợ-mặn [2]. Tuy nhiên, tình trạng nước thải chứa nhiều hợp chất hữu cơ, dinh dưỡng và có độ nhiễm mặn cao đang gây ra lo ngại cho ngành nuôi trồng và chế biến thủy hải sản, cũng như gây tác động đáng kể đến môi trường tự nhiên [3-4].

Quá trình xử lý nước thải trong ngành nuôi trồng và chế biến thủy hải sản thường kết hợp các phương pháp hóa lý và sinh học, đặc biệt là khi nước thải chứa nhiều chất hữu cơ và dinh dưỡng [5]. Các công nghệ sinh học như quá trình sinh học hiếu khí, tháp lọc sinh học, hoặc màng oxy hóa đã chứng tỏ hiệu quả trong việc xử lý nước thải này [6]. Tuy nhiên, các hệ thống xử lý truyền

thống thường gặp các vấn đề như sốc tải, khối tích công trình lớn, chi phí đầu tư và vận hành cao [7]. Đồng thời, chúng thường không đạt hiệu quả tối ưu trong việc loại bỏ các chất dinh dưỡng (N, P) cũng như không tận dụng được các thành phần dinh dưỡng trong nước thải. Vì vậy, việc phát triển các công nghệ xử lý nước thải sạch hơn, hướng đến xả thải an toàn hơn, ưu tiên giải pháp kinh tế tuần hoàn vật chất như sử dụng các chất dinh dưỡng là rất cần thiết và cấp bách.

Tận dụng các chất dinh dưỡng trong nước thải cho mục đích sản xuất sinh khối vi tảo là một cách tiếp cận bền vững về kinh tế và môi trường [8–12]. Vi tảo phát triển nhanh chóng, mang lại năng suất sinh khối cao. Chúng cũng dễ dàng nuôi trồng, không cạnh tranh với đất nông nghiệp và không yêu cầu nguồn nước sạch, thân thiện với môi trường. Hơn nữa, vi tảo có khả năng hấp thụ CO₂ từ khí thải công nghiệp và nước thải, giảm đáng kể chi phí sản xuất. Nhiều nghiên cứu gần đây đã chỉ ra rằng nhiều loại vi tảo có thể sử dụng các chất dinh dưỡng từ nước thải đô thị, nước thải công nghiệp, và nước thải chăn nuôi để sản xuất sinh khối làm nguyên liệu cho sản xuất nhiên liệu sinh học, thức ăn chăn nuôi, phân bón hữu cơ, phụ gia thực phẩm và hoạt tính sinh học trong ngành công nghiệp mỹ phẩm và dược phẩm [9–10]. Tuy nhiên, nghiên cứu về xử lý nước thải giàu dinh dưỡng và có độ mặn cao ở Việt Nam vẫn còn hạn chế.

Trong số các loài vi tảo, *Tetraselmis* sp. là một chủng mạnh có khả năng xử lý nước thải nhờ tốc độ tăng trưởng nhanh và khả năng hấp thu hiệu quả N, P từ nước thải [9, 11-12]. Tại Việt Nam, vi tảo này đang được sử dụng phổ biến làm thức ăn bổ sung trong nuôi trồng thủy sản, tuy nhiên, việc nâng cao chất lượng và năng suất sinh khối của vi tảo tại các trại giống thủy sản hiện vẫn gặp nhiều hạn chế.

Bài báo này trình bày các kết quả nghiên cứu về việc tăng sinh khối của vi tảo biển *Tetraselmis* sp. (Chlorophyta) để xử lý loại N và P trong môi trường nước lợ-mặn chứa nhiều chất dinh dưỡng, chẳng hạn, ao chứa nước thải nuôi trồng thủy sản, vùng cửa sông, biển ven bờ tiếp nhận nhiều nước thải nuôi trồng thủy sản.

2 Phương pháp nghiên cứu

2.1 Nguồn vi tảo biển

Vi tảo biển *Tetraselmis* sp. là sản phẩm thu được từ quá trình thu thập, phân lập, tạo dòng thuần và định danh từ kết quả nghiên cứu của đề tài: “Nghiên cứu nuôi sinh khối vi tảo *Tetraselmis* sp. trong môi trường nước mặn giàu bọt khí CO₂ và làm thức ăn bổ sung cho chăn nuôi”, mã số B2023-DHH-20. Cụ thể, vi tảo *Tetraselmis* sp. được phân lập từ nước biển tự nhiên tại vị trí cửa biển Thuận An (với tọa độ 16°55'71.5"N 107°64'59.1"E) vào ngày 22/5/2023 [13]. Tảo được nuôi trong nước biển Thuận An có độ mặn 30 ‰, pH 7,8 và được bổ sung môi trường dinh dưỡng F/2 [14-15] đã hấp vô trùng. Trước khi tiến hành các thí nghiệm, vi tảo này đã được thuần hóa qua 50 thế hệ trong phòng thí nghiệm. Quá trình nuôi tảo trong giai đoạn thuần hóa được thực hiện trong các ống nghiệm dung tích 25 mL có nắp vặn và chứa 10 mL dung dịch nuôi. Sau 8 ngày nuôi, khoảng 20% dịch tảo được chuyển sang các ống nghiệm mới.

2.2 Phương pháp xác định sinh trưởng của tảo

Xác định sinh trưởng thông qua đếm số lượng tế bào

Xác định sinh trưởng của tảo thông qua đếm số lượng tế bào bằng buồng đếm Sedgewick Rafter (Đức) (1mm², 1000 ô lưới, tương ứng thể tích 1 mL), lamên, kính hiển vi Olympus (CX33, Nhật Bản) [13].

Nhẹ nhàng đảo chai mẫu để đảm bảo các tế bào phân bố đồng đều. Sau đó, dùng micropipette tự động hút 1 mL dung dịch mẫu đã được lắc đều đưa vào một góc của buồng đếm đồng thời đập từ từ tấm kính đập phía trên của buồng đếm, nhẹ nhàng, tránh có bọt khí. Đối với mẫu có khả năng chuyển động, trước khi đếm mẫu đã được cố định bằng dung dịch Lugol iode.

Chọn 50 ô lưới phân bố theo đường chữ Z để đếm. Mỗi ô lưới được đếm tất cả các tế bào nằm bên trong và các cạnh bên trên và bên phải, không đếm các tế bào ở cạnh bên dưới và bên trái. Ghi lại số tế bào đếm được tại mỗi ô lưới. Để đảm bảo độ chính xác, số tảo đếm trên mỗi ô lưới không nên vượt quá 100 tế bào. Nếu nhiều hơn thì nên thực hiện mẫu pha loãng (thông qua dây pha loãng 10⁰ đến 10⁻¹ và 10⁻²).

Số lượng tế bào đếm được trong 50 ô lưới được dùng để tính mật độ tế bào theo công thức (1):

$$C = (DF) * (NC) * 1000/S \quad (1)$$

trong đó: C là số lượng tế bào/mL; DF là hệ số pha loãng; NC là số tế bào đếm được; S là số ô vuông được đếm.

Xác định sinh trưởng thông qua khối lượng khô

Phương pháp xác định khối lượng khô (sau khi sấy ở 105°C cho đến khi trọng lượng không đổi) theo SMEWW-2540-TSS-D [16]. Lọc mẫu qua giấy lọc tiêu chuẩn (GF/F, Whatman, Anh) có kích cỡ lỗ 0,45 μm đã cân trước và sấy khô phần nằm

lại trên giấy lọc ở 103 - 105°C. Phần gia tăng khối lượng so với giấy lọc là sinh khối tảo (g/L).

2.3 Phương pháp khảo sát ảnh hưởng của môi trường dinh dưỡng

Thí nghiệm được tiến hành với 02 môi trường dinh dưỡng nuôi tảo biển, bao gồm F/2 cải tiến (không bổ sung Silic) [14-15] và Walne [17] trong nước biển Thuận An có độ muối 30 ‰, cường độ chiếu sáng 30 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$, thời gian chiếu sáng 24 giờ, pH nước biển 7,8, và nhiệt độ 25°C. Thí nghiệm kéo dài 15 ngày, mỗi nghiệm thức được tiến hành lặp lại 03 lần trong bình 100 mL có 50 mL dịch tảo với mật độ tế bào *Tetraselmis* sp. là 10^4 – 10^5 (TB/mL), tương ứng với tỷ lệ tiếp giống ban đầu 20% thể tích giống/thể tích môi trường nuôi ($V_{\text{giống}}/V_{\text{mt}}$).

2.4 Phương pháp khảo sát ảnh hưởng của các tỷ lệ tiếp giống ban đầu

Thí nghiệm được tiến hành với các tỷ lệ tiếp giống ban đầu khác nhau (3%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30% $V_{\text{giống}}/V_{\text{mt}}$), với môi trường dinh dưỡng thích hợp (đã khảo sát trước đó) trong nước biển có độ muối 30 ‰, cường độ chiếu sáng 30 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$, thời gian chiếu sáng 24 giờ, pH nước biển = 7,8 và nhiệt độ 25 °C. Thí nghiệm kéo dài 15 ngày, mỗi nghiệm thức được tiến hành lặp lại 03 lần trong bình 100 mL có 50 mL dịch tảo. Dịch tảo giống *Tetraselmis* sp. có mật độ tế bào là 10^6 (TB/mL).

2.5 Phương pháp khảo sát ảnh hưởng của pH

Thí nghiệm được tiến hành với dải pH 6,0–9,5 được điều chỉnh bởi dung dịch NaOH 0,05N và HCl 1N, đối chứng là pH nước biển tự nhiên. Môi trường dinh dưỡng và mật độ tiếp giống thích hợp (đã khảo sát ở các thí nghiệm trước đó), độ muối 30 ‰, cường độ chiếu sáng 30 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$, thời gian chiếu sáng 24 giờ, và nhiệt độ 25 °C. Thí nghiệm kéo dài 15 ngày, mỗi nghiệm thức được

tiến hành lặp lại 03 lần trong bình 100 mL có 50 mL dịch tảo.

50 mL dịch tảo *Tetraselmis* sp. có mật độ tế bào là $2,1 \times 10^4$ (TB/mL) được ly tâm 6000 vòng/10 phút để loại bỏ môi trường nuôi. Cặn tế bào được chuyển ngay vào 50 mL môi trường dinh dưỡng với dải pH 6,0 – 9,5 đã được chuẩn bị trước đó. Sau mỗi 24 h, lấy 1 mL dịch tảo để đếm tế bào.

2.6 Phương pháp khảo sát ảnh hưởng của các tỷ lệ TN:TP đến sinh trưởng phát triển của tảo

Phương pháp lấy mẫu nước thải

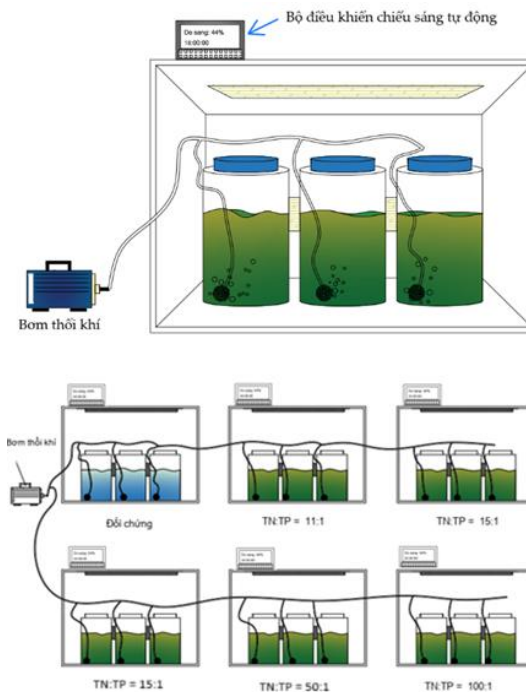
Mẫu nước được lấy tại trang trại nuôi tôm của công ty Thiên An Phú, đặt tại thôn Trung Đồng, xã Hương Điền, huyện Phong Điền, tỉnh Thừa Thiên Huế. Nước được lấy từ các ống lọc được đặt dưới lớp cát của giếng biển. Vị trí lấy nước của công ty Thiên An Phú nằm sát bên cạnh điểm xả của công ty nuôi trồng thủy sản CP. Quá trình lấy mẫu được thực hiện định kỳ trong năm 2023. Mẫu được chứa trong các bình nhựa 20 L và được vận chuyển về ngay phòng thí nghiệm để thực hiện cho thí nghiệm xác định khả năng xử lý của vi tảo *Tetraselmis* sp. Mẫu nước thải là từ hoạt động nuôi trồng thủy sản đã qua lắng, lọc cát sơ bộ. Quy cách lấy mẫu và bảo quản mẫu tuân theo các quy định trong tiêu chuẩn Việt Nam (TCVN 5996 - 1995). Đo đặc tại hiện trường các thông số nhiệt độ (t°), oxy hòa tan (DO), pH, độ đục, độ muối (Sal) của nước tại các vị trí thu mẫu bằng máy đo đa chỉ tiêu Horiba U5000 (Nhật Bản).

Phương pháp bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm được tiến hành trong các bình PET dung tích 5 L ($\varnothing 15,5 \times 26$ cm) có nắp đậy, trong đó có 3,5 L nước thải (Hình 1). Các hóa chất vô cơ NaNO_3 và $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Sigma-Aldrich, Nhật Bản) được sử dụng để điều chỉnh nồng độ N và P ban đầu. Lấy 200 mL dịch tảo giống đã nuôi trước đó, ly tâm 6000 vòng/10 phút để loại bỏ môi

trường nuôi, cặn tế bào được chuyển vào nước thải sao cho mật độ ban đầu của tảo trong nước đạt $2 - 3 \times 10^4$ (TB/mL). Sự phát triển của *Tetraselmis* sp. được khảo sát ở các tỷ lệ nồng độ TN:TP khác nhau (Bảng 1), hiệu quả xử lý N và P của tảo còn được so sánh với đối chứng (nước thải có tỷ lệ TN:TP = 11:1 và không cấy tảo).

Các thí nghiệm được tiến hành cùng một điều kiện nhiệt độ 25°C, sục khí liên tục với máy sục khí có lưu lượng 0,9 L/h, bình nuôi tảo được chiếu sáng bằng đèn Led trắng, cường độ chiếu sáng 101 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ và thời gian chiếu sáng 18h sáng /06h tối. Cường độ ánh sáng được đo bằng máy đo lượng tử quang phổ dưới nước (MQ-210, Apogee, Mỹ). Các thí nghiệm được tiến hành trong vòng 15 ngày, với 03 lần lặp lại (Hình 1).



Hình 1. Sơ đồ bố trí thí nghiệm

Bảng 1. Nồng độ TN và TP ban đầu trong nước thải

Thành phần	Các tỷ lệ nồng độ của TN:TP					
	100:1	50:1	11:1	15:1 (I)	15:1 (II)	15:1 (III)
T-N, mg/L	9,7± 0,3	10,1±0,3	9,8± 0,2	10,3±0,4	25,1 ±0,5	56,3±0,8
T-P, mg/L	0,10± 0,05	0,2± 0,1	0,90± 0,05	0,7± 0,2	1,6± 0,1	3,7± 0,4

± Độ lệch chuẩn (với n = 3)

Lấy mẫu để xác định sinh khối, mật độ tảo và phân tích N, P được tiến hành vào 8h sáng mỗi ngày. Mẫu được ly tâm và lọc để tách tảo, sau đó xác định nồng độ T-N và T-P trong dịch lọc để xác định hiệu suất xử lý N, P của tảo trong nước lợ-mặn chứa nhiều chất dinh dưỡng.

Nồng độ T-N và T-P được xác định bằng các phương pháp tiêu chuẩn phân tích nước và nước thải (SMEWW4500-N.C và SMEWW4500-P.B) của APHA [16] và được đo trắc quang bằng máy quang phổ (UV1800, Shizuma, Nhật Bản).

2.7 Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu thực nghiệm được nhập, xử lý và biểu diễn trong phần mềm Microsoft Excel.

Xác định tốc độ sinh trưởng tế bào: Mật độ tế bào ở hai thời điểm khác nhau trong quá trình tăng trưởng tế bào được dùng để tính tốc độ tăng trưởng đặc hiệu μ theo công thức (2) [18]:

$$\mu = \ln(N_t/N_0)/(t-t_0) \quad (2)$$

trong đó: μ là tốc độ tăng trưởng đặc hiệu (tế bào/mL/ngày); N_0 là mật độ tế bào tảo trong mẫu nước ban đầu (TB/mL); N_t là mật độ tế bào tảo trong mẫu nước sau thời gian t (TB/mL); t_0 và t_t lần lượt là thời gian bắt đầu 0 và thời gian khảo sát t (ngày).

Xác định thời gian tăng sinh gấp đôi d_t theo công thức (3) [19]:

$$d_t = \ln(2)/\mu \quad (3)$$

trong đó: d_t là thời gian tăng sinh khối lên gấp hai lần (ngày).

Xác định hiệu suất xử lý T-N và T-P theo công thức (4):

$$\text{Hiệu suất xử lý (\%)} = \frac{(C_0 - C_t)}{C_0} \times 100 \quad (4)$$

Xác định tốc độ chuyển hóa T-N và T-P theo công thức (5):

$$\text{Tốc độ chuyển hóa (mg/L/ngày)} = \frac{C_0 - C_t}{t} \quad (5)$$

Trong đó: C_0 là nồng độ T-N hoặc T-P thời điểm bắt đầu 0 (mg/L); C_t là nồng độ T-N hoặc T-P đo được ở thời gian khảo sát t (mg/L); t là thời gian khảo sát (ngày).

3 Kết quả nghiên cứu

3.1 Ảnh hưởng của môi trường nuôi đến sinh trưởng phát triển tảo

Ảnh hưởng của hai môi trường dinh dưỡng khác nhau, F/2 và Walne, đến sự sinh trưởng và phát triển của tảo *Tetraselmis* sp. đã được khảo sát và kết quả được thể hiện trên đường cong sinh trưởng trong Hình 2. Sau 14 ngày nuôi cấy, tảo *Tetraselmis* sp. thể hiện sự sinh trưởng tốt hơn trên môi trường F/2 so với môi trường Walne. Mật độ tế bào cao nhất lần lượt là $7,46 \pm 0,75 \times 10^5$ (TB/mL) và $5,61 \pm 0,60 \times 10^5$ (TB/mL) vào ngày thứ 12. Do đó, môi trường F/2 nước biển có độ mặn 30 ‰ đã được chọn để sử dụng trong các thí nghiệm tiếp theo.

3.2 Ảnh hưởng của các tỷ lệ tiếp giống ban đầu đến sinh trưởng phát triển tảo

Ảnh hưởng của các tỷ lệ tiếp giống ban đầu khác nhau (3%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 27%) đối với sự sinh trưởng phát triển tảo *Tetraselmis* sp. trong môi trường F/2 được trình bày trong Hình 3, tương ứng với các mật độ tế bào ban đầu lần lượt là $1,74 \times 10^4$ (TB/mL), $2,90 \times 10^4$ (TB/mL), $5,99 \times 10^4$ (TB/mL), $8,69 \times 10^4$ (TB/mL), $1,15 \times 10^5$ (TB/mL), $1,47 \times 10^5$ (TB/mL), và $1,59 \times 10^5$ (TB/mL).

Kết quả cho thấy, trong khoảng thời gian từ ngày thứ 5 đến ngày thứ 8, tỷ lệ 10% tiếp giống đạt tỷ lệ sinh trưởng cao nhất với mật độ tế bào

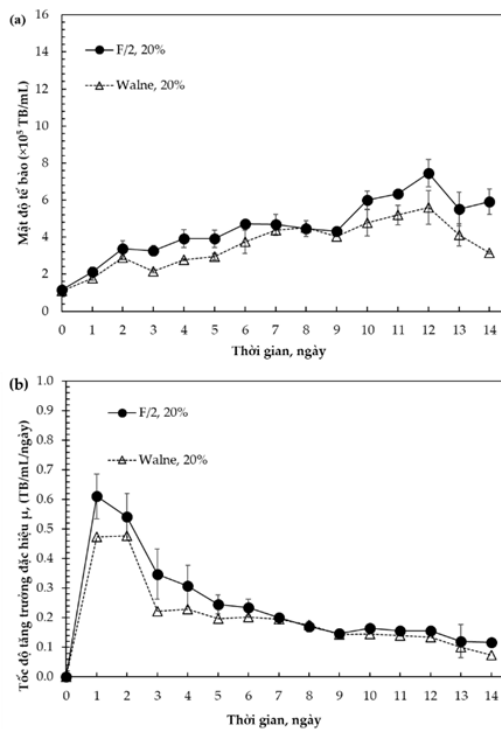
đạt $7,80 \times 10^5$ (TB/mL). Tuy nhiên, ở giai đoạn tiếp theo (từ ngày thứ 10 đến ngày thứ 14), lô thí nghiệm với tỷ lệ 5% tiếp giống cho thấy sự phát triển của *Tetraselmis* sp. tăng đáng kể với mật độ tế bào đạt $1,12 \times 10^6$ (TB/mL), tốc độ tăng trưởng đặc hiệu μ đạt giá trị cao nhất là 1,5 (TB/mL/ngày).

Mật độ tảo ban đầu có ảnh hưởng đáng kể đến quá trình sinh trưởng của tảo. Mật độ thấp có thể kéo dài thời gian nuôi trồng, trong khi mật độ cao có thể dẫn đến lãng phí nguồn tảo giống. Vì vậy, mật độ tiếp giống trong khoảng từ 5% đến 10% được lựa chọn là điều kiện thích hợp cho các thí nghiệm tiếp theo.

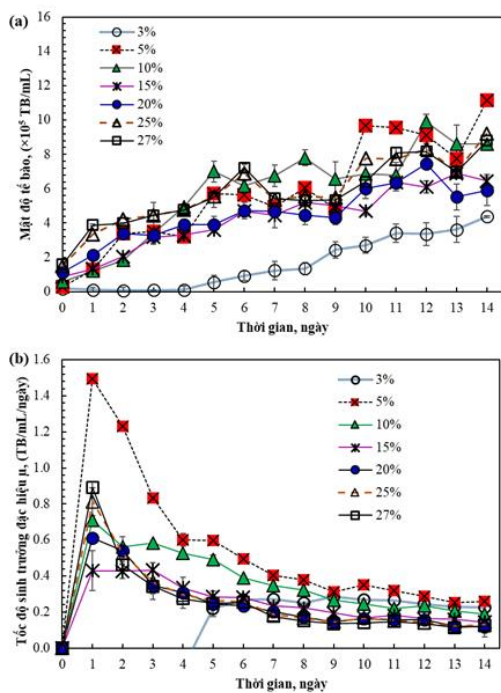
3.3 Ảnh hưởng của pH ban đầu của môi trường đến sinh trưởng phát triển tảo

Ảnh hưởng của pH đến quá trình sinh trưởng của vi tảo biển *Tetraselmis* sp. được trình bày ở Hình 4. *Tetraselmis* sp. có khả năng phát triển tốt trong khoảng pH từ 6,0 đến 9,5. Giá trị pH thích hợp cho sinh trưởng của *Tetraselmis* sp. là 8, ở giá trị pH này, mật độ tế bào đạt $7,88 \times 10^5$ (TB/mL) sau 13 ngày nuôi cấy. Đáng chú ý, dù khởi điểm pH ban đầu khác nhau, sau 20 ngày nuôi cấy, giá trị pH trong các mẫu đều đã điều chỉnh trở lại trong khoảng từ 8,1 đến 8,5.

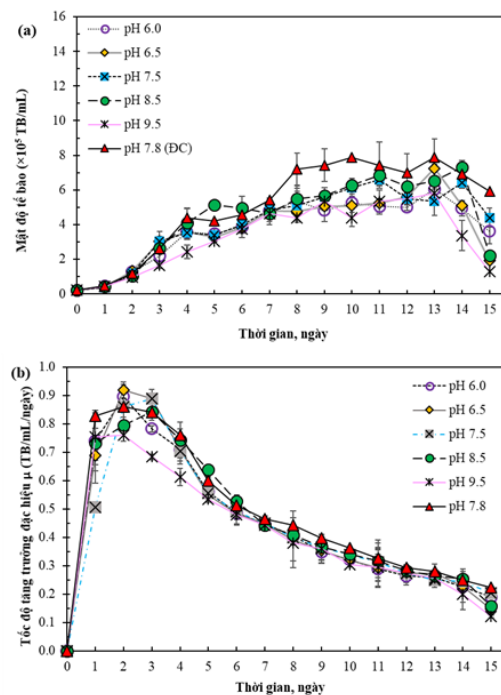
Thực tế, nước biển tự nhiên thường có pH ổn định khoảng $8,1 \pm 0,2$ nhờ vào hệ đệm carbonate, giúp duy trì sự ổn định của pH [20]. Do đó, sau một thời gian, hệ đệm trong môi trường nghiên cứu có thể đã tự điều chỉnh pH đến giá trị đặc trưng của nước biển. Ngoài ra, khi vi tảo *Tetraselmis* sp. tăng sinh khối, quá trình quang hợp của chúng sẽ làm tăng pH (do hấp thụ CO_2 trong nước và không khí), từ đó góp phần làm tăng pH đến giá trị đặc trưng của nước biển. Do đó, môi trường với pH 8 được xác định là giá trị phù hợp cho các thí nghiệm tiếp theo.



Hình 2. Ảnh hưởng của môi trường dinh dưỡng khác nhau (F/2 và Walne) đến sinh trưởng phát triển tảo *Tetraselmis* sp. (a) Mật độ tế bào (b) Tốc độ sinh trưởng đặc hiệu



Hình 3. Ảnh hưởng của tỷ lệ tiếp giống ban đầu (3%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 27%) đến sinh trưởng phát triển tảo *Tetraselmis* sp. (a) Mật độ tế bào (b) Tốc độ sinh trưởng đặc hiệu



Hình 4. Ảnh hưởng của pH ban đầu (6,0, 6,5, 7,5, 8,5, 9,5) đến sinh trưởng phát triển tảo *Tetraselmis* sp. (a) Mật độ tế bào (b) Tốc độ sinh trưởng đặc hiệu

3.4 Ảnh hưởng của các tỷ lệ TN:TP đến sinh trưởng của tảo và hiệu quả xử lý N, P

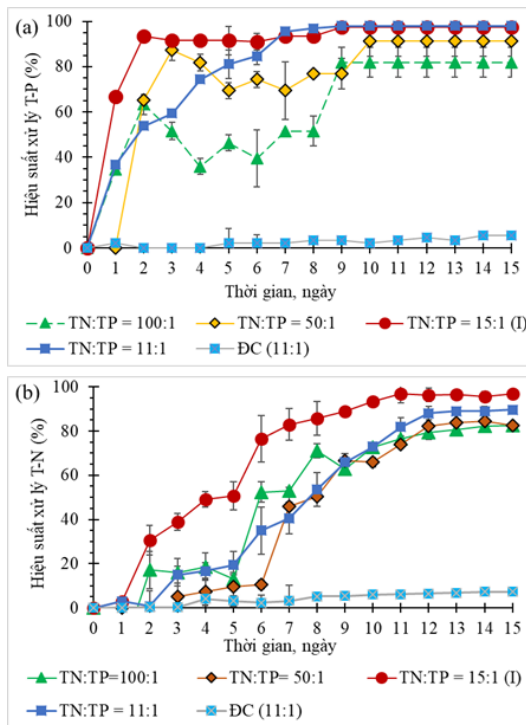
Tảo được nuôi trong môi trường nước thải nuôi trồng thủy sản (xem Hình 1) đã được xử lý sơ bộ bằng lọc cát và có độ muối 27 ‰, pH 7,4, thế oxy hóa- khử (ORP) 210 mV, TDS 22,3 g/L, oxy hòa tan (DO) 5,9 mg/L, độ kiềm 109,3 mg CaCO₃/L, tổng sắt tan (Fe) 0,15 mg/L, độ đục 2,2 NTU, nồng độ T-N (từ 9,68 mg/L đến 56,25 mg/L) và T-P (từ 0,10 mg/L đến 3,70 mg/L). Hiệu suất xử lý T-N và T-P của *Tetraselmis* sp. đã được trình bày trong Hình 5 và Hình 6. Kết quả cho thấy *Tetraselmis* sp. có khả năng phát triển mạnh mẽ trong môi trường có chứa nồng độ cao các muối dinh dưỡng N và P (Hình 7, Bảng 2). Tảo phát triển nhanh chóng từ khi được cấy vào môi trường và đạt đỉnh sau 12 – 13 ngày (Hình 7). Sau đó, sự phát triển có xu hướng giảm dần trong khoảng thời gian tiếp theo.

Với cùng nồng độ T-N ban đầu 10 mgN/L, khi thay đổi nồng độ T-P từ 0,1 đến 0,9 mgP/L, các

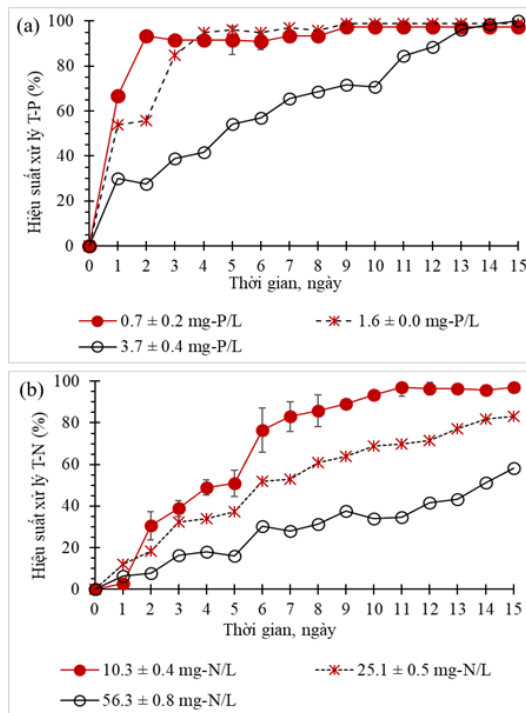
tỷ lệ TN:TP tương ứng là 100:1, 50:1, 15:1 và 11:1 (Bảng 1, Hình 5). Kết quả cho thấy rằng tỷ lệ 15:1 đã đạt hiệu quả xử lý T-N lên đến khoảng 97% vào ngày thứ 11 (Hình 5(b)), vượt trội hơn so với các tỷ lệ TN/TP là 50:1 (khoảng 82%), 100:1 (khoảng 76%), và 11:1 (khoảng 82%). Trong khi đó, hiệu suất xử lý T-P của tỷ lệ TN/TP lần lượt là 11:1; 15:1; 50:1, và 100:1 đã đạt 98%, 98%, 91% và 82% vào ngày thứ 9 của quá trình nuôi cấy (Hình 5(a)). Điều này hoàn toàn phù hợp với nghiên cứu của Hee Jong Choi (2014), trong đó chỉ ra rằng với tỷ lệ TN/TP > ~ 15, photpho trở thành yếu tố giới hạn cho sự phát triển của tảo [21].

Khi thay đổi nồng độ T-N ở ba mức (10, 25, và 56 mg/L), và nồng độ T-P (0,7, 1,6, và 3,7 mg/L) để cùng đạt tỷ lệ TN:TP = 15:1 (Bảng 1), kết quả cho thấy sinh khối tảo tăng theo sự gia tăng nồng độ N và P tương ứng (Hình 7, Bảng 2). Với sinh khối tảo ban đầu là $0,13 \pm 0,01$ (g/L), sinh khối tảo lần lượt tăng 0,61 (g/L), 0,72 (g/L) và 1,02 (g/L) sau 15 ngày nuôi cấy. Đáng chú ý, mật độ tế bào đạt cao nhất là $1,34 \times 10^6$ (TB/mL) đối với nước thải có nồng độ TN và TP cao (56,3 mgN/L và 3,7 mgP/L). Hiệu quả xử lý T-P đạt từ 98% đến 100% tương ứng sau 15 ngày nuôi cấy (Hình 6(a)). Đối với nồng độ T-N trong khoảng từ 10 đến 25 mg/L, hiệu suất xử lý đạt từ 91% đến 83% sau 15 ngày nuôi cấy; trong khi với T-N cao hơn (~56 mg/L), hiệu suất xử lý N chỉ đạt 58% (Hình 6(b)). Tuy nhiên, về khả năng chuyển đổi, lượng T-N đã đi vào sinh khối của tảo là khá lớn, với tốc độ chuyển hóa T-N cực đại đạt 2,18 mg/L/ngày. Kết quả này tương đồng với nghiên cứu của NLM Trí và cs. (2022) cũng như nghiên cứu của PTH Ngân & PK Liệu (2012) về đặc điểm nước thải nuôi tôm canh có nồng độ T-N $52,75 \pm 23,01$ mg/L và T-P $5,63 \pm 2,34$ mg/L [22], hoặc nước thải nuôi tôm sú giống với độ muối dao động từ 14,6 đến 16,5‰ và nồng độ T-N từ 8 đến 28 mg/L [6], cần xem xét điều chỉnh tỷ lệ giữa N và P theo tỷ lệ TN:TP ~

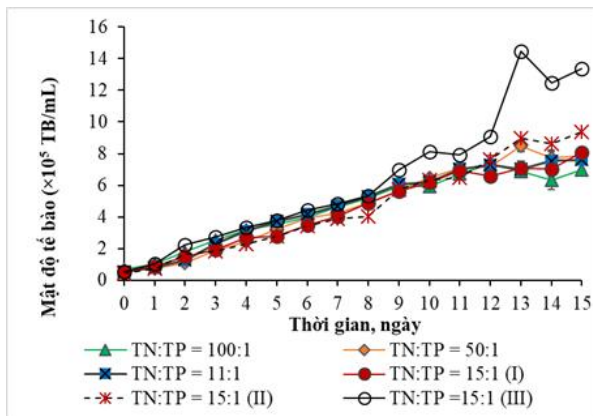
15:1 để tối ưu hóa hiệu suất sinh khối của tảo trong thời gian ngắn.



Hình 5. Hiệu suất xử lý T-P (a) và T-N (b) của *Tetraselmis* sp. ở các tỷ lệ TN/TP khác nhau



Hình 6. Hiệu suất xử lý T-P (a) và T-N (b) của *Tetraselmis* sp. ở các nồng độ N, P ban đầu khác nhau và tỷ lệ TN/TP = 15:1



Hình 7. Sự phát triển tảo *Tetraselmis* sp. trong môi trường có các tỷ lệ TN:TP khác nhau

Bảng 2. Sinh trưởng của tảo *Tetraselmis* sp. trong môi trường nước với các tỷ lệ TN:TP khác nhau

Đại lượng	Các tỷ lệ N:P					
	100:1	50:1	11:1	15:1 (I)	15:1 (II)	15:1 (III)
μ_{max} (ngày ⁻¹)	0,47	0,40	0,53	0,52	0,68	0,70
d_t (ngày)	1,5	1,8	1,3	1,3	1,0	1,0
Sinh khối (g/L)	0,58	0,58	0,60	0,61	0,72	1,02

4 Kết luận

Vi tảo biển *Tetraselmis* sp. phát triển mạnh mẽ trong môi trường nước lợ-mặn có nồng độ chất dinh dưỡng cao (với tỷ lệ TN/TP = 15:1), độ muối 30 ‰, pH 8, và mật độ tiếp giống ban đầu từ 5% đến 10%. Với sinh khối tảo ban đầu là $0,13 \pm 0,01$ (g/L), sự gia tăng nồng độ của TN (10–56 mg/L) và TP (0,7–3,7 mg/L) đã thúc đẩy sinh khối tảo tăng và đạt từ 0,61 đến 1,02 g/L sau 15 ngày nuôi cấy. Kết quả này là minh chứng cho tiềm năng lớn của việc nuôi cấy vi tảo biển *Tetraselmis* sp. kết hợp với xử lý chất dinh dưỡng trong ao chứa nước thải nuôi trồng thủy sản hoặc xử lý trong hệ mở tự nhiên như vùng cửa sông, vùng biển ven bờ tiếp nhận nhiều nước thải nuôi trồng thủy sản. Điều này thể hiện vai trò quan trọng của *Tetraselmis* sp. trong việc thu hồi chất dinh dưỡng và xử lý nước thải, đồng thời mở ra cơ hội phát triển bền vững cho ngành nuôi trồng thủy sản tại Việt Nam.

Lời cảm ơn: Nghiên cứu này được hỗ trợ bởi Bộ Giáo dục và Đào tạo Việt Nam [mã số B2023-DHH-20].

Mâu thuẫn lợi ích: Không có mâu thuẫn nào liên quan đến việc xuất bản bài báo này.

Tài liệu tham khảo

- Cục Thủy sản. Việt Nam thuộc nhóm nước tăng trưởng cao nhất khu vực và thế giới. <https://tongcucthuysan.gov.vn/vi-vn/tin-t%E1%BB%A9c/-tin-v%E1%BA%AFn/doc-tin/020187/2024-01-10/viet-nam-thuoc-nhom-nuoc-tang-truong-cao-nhat-khu-vuc-va-the-gioi> (truy cập lúc 15h ngày 02/02/2024)
- Báo cáo số 650/BC-UBND ngày 29/12/2023 của UBND tỉnh. Tình hình kinh tế - xã hội tháng 12 và năm 2023. <https://thuathienhue.gov.vn/Thong-tin-kinh-te-xa-hoi/tid/Tinh-hinh-kinh-te-xa-hoi-thang-12-va-nam-2023/newsid/8C956E8B-DE0D-49EF-85D0-B0ED00BA305E/cid/8CD56FAC-BF73-4224-8646-AFA20098F8E5> (truy cập lúc 14h ngày 02/02/2024).

3. Phạm Đình Đôn. Ô nhiễm môi trường trong nuôi trồng và chế biến thủy sản ở đồng bằng sông Cửu Long. Tạp chí Môi trường. 2014;6.
4. Cục Thủy sản. Diễn biến chất lượng môi trường nước vùng nuôi tôm nước lợ, cá tra trong tháng 3 năm 2022 tại 29 tỉnh đại diện cho 63 tỉnh, thành phố trên cả nước. <https://tongcucthuysan.gov.vn/vi-vn/nu%C3%B4i-tr%E1%BB%93ng-th%E1%BB%A7y-s%E1%BA%A3n/qu%E1%BA%A3n-l%C3%BD-m%C3%B4i-tr%E1%BB%9Dng/doc-tin/017279/2022-04-29> (truy cập lúc 14h30 ngày 02/02/2024).
5. Trần Thị Thanh Nga, Võ Thị Thu Em. Hệ thống tuần hoàn (RAS) – xu hướng nuôi trồng thủy sản bền vững. Tạp chí Khoa học – Đại học Phú Yên. 2022;29:49-58.
6. Phan Thị Hồng Ngân, Phạm Khắc Liệu. Đánh giá khả năng xử lý nước thải nuôi trồng thủy sản nước lợ của bể lọc sinh học hiếu khí có lớp đệm ngập nước. Tạp chí khoa học Đại học Huế. 2012; 74B (5):113-122.
7. Hà Văn Thái, Phí Thị Hằng, Phan Thị Ngọc Diệp, Trần Trung Dũng. Tổng quan các mô hình có thể áp dụng để xử lý nước thải cho nuôi tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*) của vùng Bắc Trung Bộ. Tạp chí Khoa học và Công nghệ Thủy lợi. 2017;38:1-9.
8. Oswald W, Gotaas H, Golueke C, Kellen W, Gloyna E, Hermann E. Algae in waste treatment [with discussion]. Sewage Ind. Wastes 1957;29:437–457.
9. Schulze PSC, Carolina FM, Carvalho HP, Katkam NG, Lisa MS, Tamára FS, João CSV, Luísa B. Urban wastewater treatment by *Tetraselmis* sp. CTP4 (Chlorophyta). Bioresource Technology. 2017;223:175–183. doi: 10.1016/j.biortech.2016.10.027
10. Kong W, Shen B, Lyu H, Kong J, Ma J, Wang Z, Feng S. Review on carbon dioxide fixation coupled with nutrients removal from wastewater by microalgae. Journal of Cleaner Production. 2021;292:125975. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.125975>
11. Khatoon H, Abdu RN, Banerjee S, Harun N, Suleiman SS, Zakaria NH, Lananan F, Abdul HSH, Endut A. Effects of different salinities and pH on the growth and proximate composition of *Nannochloropsis* sp. and *Tetraselmis* sp. isolated from South China Sea cultured under control and natural condition. Int. Biodeter. Biodegr. 2014;95:11–18. doi:10.1016/j.ibiod.2014.06.022
12. Khatoon H, Penz KP, Banerjee S, Rahman MR, Minhaz TM, Islam Z, Mukta FA, Nayma Z, Sultana R, Amira KI. Immobilized *Tetraselmis* sp. for reducing nitrogenous and phosphorous compounds from aquaculture wastewater. Bioresource Technology. 2021;338:125529. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.125529>
13. Nguyễn Thị Thu Liên. Giáo trình nuôi cấy vi tảo. NXB Đại học Huế. 2013.
14. Guillard RR, Ryther JH. Studies of marine planktonic diatoms. I. *Cyclotella nana* Hustedt, and *Detonula confervacea* (Cleve) Gran. Can J Microbiol. 1962;8:229–239. <https://doi.org/10.1139/m62-029>
15. Guillard RRL. Culture of Phytoplankton for Feeding Marine Invertebrates, in: Smith WL, Chanley MH (Eds.), Culture of Marine Invertebrate Animals: Proceedings – 1st Conference on Culture of Marine Invertebrate Animals Greenport. Springer US, Boston, MA. 1975;29–60.
16. APHA. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. American Public Health Association (APHA), American Water Works Association (AWWA) and Water Pollution Control Federation (WPCF), Washington DC, 18th. 1992.
17. Walne PR. Studies on the food value of nineteen genera of algae to juvenile bivalves of the genera *Ostrea*, *Crassostrea*, *Mercenaria*, and *Mytilus*. Fish. Invest. 1970;26:162.
18. Levasseur M, Thompson PA, Harrison PJ. Physiological acclimation of marine phytoplankton to different nitrogen sources. J. Phycol. 1993; 29: 587 – 595. <https://doi.org/10.1111/j.0022-3646.1993.00587.x>
19. Andersen RA. Algal culturing techniques: Academic Press. Elsevier. 2005.
20. Zeebe RE, Wolf-Gladrow D. CO₂ in seawater: equilibrium, kinetics, isotopes. Elsevier Oceanography Series 65, Amsterdam. 2001.
21. Choi HJ & Lee SM. Effect of the N/P ratio on biomass productivity and nutrient removal from municipal wastewater. Bioprocess and Biosystems Engineering. 2014;38:761-766. doi: 10.1007/s00449-014-1317-z
22. Nguyễn Lê Minh Trí, Trần Thị Hiệu, Trần Trung Kiên, Nguyễn Việt Thắng, Nguyễn Thị Phương Thảo, Nguyễn Văn Súng. Đánh giá hiện trạng và đề xuất một số giải pháp xử lý nước thải và bùn thải từ ao nuôi tôm thâm canh, siêu thâm canh trên

địa bàn tỉnh Bạc Liêu. Tạp chí Môi trường.
<https://tapchimoitruong.vn/nguyen-cuu-23/danh-gia-hien-trang-va-de-xuat-mot-so-giai-phap-xu-ly->

[nuoc-thai-va-bun-thai-tu-ao-nuoi-tom-tham-canh-sieu-tham-canh-tren-dia-ban-tinh-bac-lieu-27102](https://tapchimoitruong.vn/nguyen-cuu-23/danh-gia-hien-trang-va-de-xuat-mot-so-giai-phap-xu-ly-)
(truy cập lúc 15h30 ngày 22/12/2023).