

DOI:10.22144/ctu.jvn.2021.099

SỬ DỤNG PHÂN BÓN VÔ CƠ TRONG NUÔI SINH KHỐI TẢO *Scenedesmus* sp.

Huỳnh Thị Ngọc Hiền, Huỳnh Thanh Tới và Huỳnh Trường Giang*

Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ

*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Huỳnh Trường Giang (email: htgiang@ctu.edu.vn)

Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 17/12/2020

Ngày nhận bài sửa: 25/02/2021

Ngày duyệt đăng: 25/06/2021

Title:

Using inorganic fertilizer NPK for *Scenedesmus* sp. biomass culture

Từ khóa:

NPK, Nuôi sinh khối, *Scenedesmus* sp.

Keywords:

Biomass culture, NPK, *Scenedesmus* sp.

ABSTRACT

This study is aimed to determine the effect of medium sources (NPK, Walne and BG11) and appropriate concentration of NPK fertilizer (16:16:8) on population growth of *Scenedesmus* sp. The growth of microalgae population was studied in two experiments: first with different nutrient sources (NPK, BG11 and Walne) and second with different NPK concentrations. Microalgae were cultured in 8 L glass bottles with initial density of 2×10^6 cells/mL. Light was provided from LEDs, illumination of 3000 Lux for 24/24, continuous aeration was supported during the experiment. The experiment was conducted under a room condition with controlled temperature ($24.4 \pm 0.4^\circ\text{C}$). The results showed that *Scenedesmus* sp. cultured with NPK reached a maximum density of $35.1 \pm 1.1 \times 10^6$ cells/mL on day 13, a dry weight of 13.0 ± 1.2 pg/tb, which is higher than that obtained with the remaining treatments. The protein and lipid content were 42.9% and 5.0% by dry weight, respectively. *Scenedesmus* sp. reached the highest algae density ($33.2 \pm 0.2 \times 10^6$ cells/mL) when cultured with NPK 50 mg/L after 13 days of culture. Therefore, NPK can be used in *Scenedesmus* sp. biomass culture at a dosage of 50 mg/L to obtain the highest growth of microalgae populations.

TÓM TẮT

Nghiên cứu nhằm xác định ảnh hưởng của nguồn dinh dưỡng (NPK, Walne và BG11) và liều lượng phân bón NPK (16:16:8) đến tăng trưởng sinh khối tảo *Scenedesmus* sp. Nghiên cứu được thực hiện với hai thí nghiệm gồm so sánh tăng trưởng quần thể tảo nuôi bằng các nguồn sinh dinh dưỡng khác nhau (NPK, BG11 và Walne), và so sánh tăng trưởng quần thể tảo được nuôi ở nồng độ NPK khác nhau. Tảo được bố trí nuôi trong bình thủy tinh 8 L với mật độ ban đầu là 2×10^6 tb/mL. Ánh sáng được cung cấp từ đèn LED, cường độ chiếu sáng 3000 Lux, thời gian chiếu sáng 24/24, sục khí liên tục trong suốt thời gian thí nghiệm, trong phòng có điều chỉnh nhiệt độ ($24,4 \pm 0,4^\circ\text{C}$). Kết quả cho thấy tảo *Scenedesmus* sp. nuôi bằng NPK đạt mật độ cực đại là $35,1 \pm 1,1 \times 10^6$ tb/mL vào ngày 13 và khối lượng khô là $13,0 \pm 1,2$ pg/tb, cao hơn so với các thí nghiệm thức còn lại, hàm lượng protein và lipid lần lượt là 42,9% và 5,0% khối lượng khô. Tảo *Scenedesmus* sp. đạt mật độ tảo cao nhất ($33,2 \pm 0,2 \times 10^6$ tb/mL) khi nuôi với liều lượng NPK 50 mg/L sau 13 ngày nuôi. Do đó, phân NPK có thể sử dụng trong nuôi sinh khối tảo *Scenedesmus* sp. với liều lượng 50 mg/L để đạt mật độ cao nhất.

1. GIỚI THIỆU

Vi tảo là nguồn thức ăn quan trọng đối với động vật phù du, động vật không xương sống như ấu trùng

của các loài thân mềm, ấu trùng của giáp xác,... do chúng có kích thước nhỏ, dinh dưỡng cao, dễ tiêu hóa và có tốc độ tăng trưởng nhanh (Trần Thương

Ngọc và ctv., 2017b). Trong đó, tảo *Scenedesmus* sp. thuộc ngành tảo lục, có kích thước nhỏ, dinh dưỡng cao với hàm lượng protein chiếm 57% và lipid là 26% (Apandi et al., 2018), có khả năng thích ứng cao trong môi trường nuôi sinh khối, làm giảm 23% nitrogen và 82% photpho trong nước thải (Lee, 2008). Từ các nghiên cứu trên thế giới đã công bố và thực tiễn sản xuất đã cho thấy tảo *Scenedesmus* sp. có khả năng cung cấp thức ăn cho các nhóm thức ăn tự nhiên trong môi trường nước, đặc biệt là chúng được sử dụng làm thức ăn trong ương cá mè, cũng như trong ương nuôi luân trùng nước ngọt, nước mặn và nuôi *Artemia* (Vũ Ngọc Út & Dương Thị Hoàng Oanh, 2013).

Trước đây, trong sản xuất giống cá nước ngọt bằng phương pháp truyền thống chỉ gây màu nước trong ao, việc phân lập vi tảo nước ngọt và nuôi sinh khối vi tảo thuần làm thức ăn cho động vật phù du (luân trùng nước ngọt), trứng nước (*Moina*) chưa được quan tâm nhiều. Hiện nay, trong sản xuất giống một số đối tượng thủy đặc sản và ương cá cảnh theo hình thức thâm canh trong bể sử dụng vi tảo làm thức ăn cho các đối tượng này đang được áp dụng nhiều. Mặt khác, nghiên cứu và ứng dụng tảo *Scenedesmus* sp. làm thức ăn ban đầu cho ấu trùng các đối tượng nuôi thủy sản ở nước ta còn hạn chế, kỹ thuật nuôi cấy tảo chưa ổn định, làm giảm năng suất và chất lượng tảo giống, dẫn đến không cung cấp tảo kịp thời cả về lượng và chất cho động vật phù du và gián tiếp làm giảm tỉ lệ sống của cá ở giai đoạn ương. Các nghiên cứu trước đây đã cho thấy có nhiều yếu tố ảnh hưởng đến chất lượng và năng suất sinh khối tảo làm thức ăn cho các đối tượng nuôi thủy sản ở trại sản xuất giống, phương pháp pha chế các loại môi trường nuôi cấy tảo khá phức tạp vì cần nhiều loại hóa chất, chi phí cao, trong khi đó phân bón NPK là loại dễ tan, chi phí thấp, phương pháp pha chế đơn giản và có thể ứng dụng trong nuôi cấy tảo. Gần đây, có nhiều nghiên cứu sử dụng nguồn đạm từ phân bón nông nghiệp (NPK) nuôi cấy tảo *Chlorella variabilis* (Altin et al., 2018), *Dunaliella primolecta*, *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus dimorphus* (Andersen, 2005), *Desmodesmus subspicatus* MB.23 (Abdulsamad et al., 2019),... tuy nhiên thông tin về tảo *Scenedesmus* sp. chưa được đề cập nhiều. Vì vậy, việc tiến hành nghiên cứu ảnh hưởng của các môi trường dinh dưỡng trong đó có sử dụng phân bón nông nghiệp NPK nhằm đơn giản hóa phương pháp pha môi trường và tìm ra liều lượng sử dụng thích hợp, giảm chi phí sản xuất và giảm tác hại của hóa chất để tăng khả năng nuôi sinh khối *Scenedesmus* sp. là rất cần thiết.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Bố trí thí nghiệm

Nghiên cứu này được thực hiện từ tháng 6-9 năm 2020 tại phòng thí nghiệm thức ăn tự nhiên, Bộ môn Thủy sinh học ứng dụng, Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ.

Nghiên cứu được thực hiện với hai thí nghiệm trong điều kiện phòng thí nghiệm ở nhiệt độ từ 24-26°C. Nguồn nước được sử dụng là nước máy thành phố và tiến hành khử trùng bằng Javel (13% chlorine) với liều lượng 1 mL/L, sau 60 phút tiến hành trung hòa chlorine bằng dung dịch $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ đã tiệt trùng, sau đó nước nuôi được kiểm tra độ tồn dư chlorine bằng KI (Kali Iodua). Khi nước nuôi không còn chlorine thì tiến hành cấy tảo. Tảo *Scenedesmus* sp. được nuôi trong bình thủy tinh 8 lít với mật độ ban đầu 2×10^6 tb/mL. Ánh sáng được cung cấp liên tục ở cường độ chiếu sáng 3000 Lux bằng đèn LED.

Thí nghiệm 1: Ảnh hưởng của dinh dưỡng lên sự phát triển của tảo *Scenedesmus* sp. Ở TN này ba loại môi trường dinh dưỡng gồm: phân vô cơ NPK (16:16:8), môi trường dinh dưỡng BG11 và Walne được sử dụng để nuôi sinh khối tảo *Scenedesmus* sp. với liều lượng lần lượt là 1 mL, 10 mL (Stanier et al., 1971) và 2 mL/L (Laing, 1991) nước cấy tảo tương ứng 3 nghiệm thức (NT), được bố trí ngẫu nhiên và mỗi nghiệm thức lặp lại 3 lần.

Thí nghiệm 2: Ảnh hưởng của NPK với liều lượng NPK khác nhau lên sự phát triển của tảo *Scenedesmus* sp. Dựa trên kết quả tốt nhất của thí nghiệm 1, sử dụng NPK để nuôi sinh khối tảo *Scenedesmus* sp. với liều lượng NPK lần lượt là 50, 75, 100 mg/L tương ứng với ba nghiệm thức. Thí nghiệm 2 được bố trí với điều kiện tương tự như ở thí nghiệm 1.

Cách pha môi trường: phân NPK được pha với liều lượng 50 g trong 1 L nước cất sau đó đem hấp tiệt trùng. Sau khi tiệt trùng, dung dịch NPK được sử dụng nuôi cấy tảo với liều lượng 1 mL/L (~ 0,05 g NPK/L). Trong suốt quá trình thí nghiệm, nước cất được bổ sung hằng ngày bù lại lượng nước mất đi do quá trình bốc hơi. Thí nghiệm kết thúc khi mật độ tảo ở các nghiệm thức sau giai đoạn tăng cực đại và giảm liên tục trong 2 ngày.

2.2. Các chỉ tiêu theo dõi

Nhiệt độ, pH: được đo 1 lần/ngày bằng bút đo pH và nhiệt độ (nhãn hiệu Hanna, Romani) vào lúc 8 giờ sáng và mẫu nước xác định hàm lượng TAN, NO_3^- và PO_4^{3-} , được thu mẫu 3 ngày/lần và phân tích dựa theo phương pháp của Rice et al. (2017).

Mật độ tảo được xác định mỗi ngày bằng cách thu 1 mL và sau đó mẫu tảo được cố định bằng formol 20 µL/mL. Mật độ tảo được xác định bằng buồng đếm Bürker và tính theo công thức của Coutteau (1996).

Kích thước tảo được xác định bằng cách đo ngẫu nhiên (ít nhất 30 tế bào) bằng thước vi thị kính dưới kính hiển vi với độ phóng đại 40 X vào lúc bắt đầu thí nghiệm và khi tảo đạt cuối giai đoạn tăng trưởng nhanh (ngày thứ 7).

Hàm lượng carotenoid được thu vào ngày thứ 7 với 10 mL tảo trong ống Falcon 50 mL, sau đó tảo được ly trích trong dung môi aceton, xác định bằng phương pháp so màu quang phổ theo Strickland & Parsons (1972).

Khối lượng khô của tảo được xác định vào ngày nuôi thứ 7 bằng cách thu 5 mL tảo và tương ứng với mật độ được xác định được lọc qua giấy lọc Whatman 1,2 µm (giấy đã được xác định trọng lượng sau khi đã được sấy khô ở nhiệt độ 60°C trong thời gian 2 giờ), sau đó mẫu tảo (gồm tảo và giấy lọc) được sấy trong tủ sấy ở nhiệt độ 60°C thời gian 24 giờ, cuối cùng khối lượng khô của mẫu được cân bằng cân phân tích (4 số lẻ, nhãn hiệu Sartorius).

Các chỉ tiêu dinh dưỡng (protein và lipid) được xác định vào cuối giai đoạn của pha tăng trưởng nhanh (ngày 7), chỉ tiêu protein, lipid theo phương pháp của Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 1984).

2.3. Phương pháp xử lý số liệu

Các số liệu thu thập được tính toán giá trị trung bình và độ lệch chuẩn bằng Microsoft Excel (2013). Kiểm định khác biệt giữa các nghiệm thức (ở mức ý nghĩa α=0,05) thông qua phân tích ANOVA một

nhân tố và phép thử Tukey bằng phần mềm Statistica (8.0).

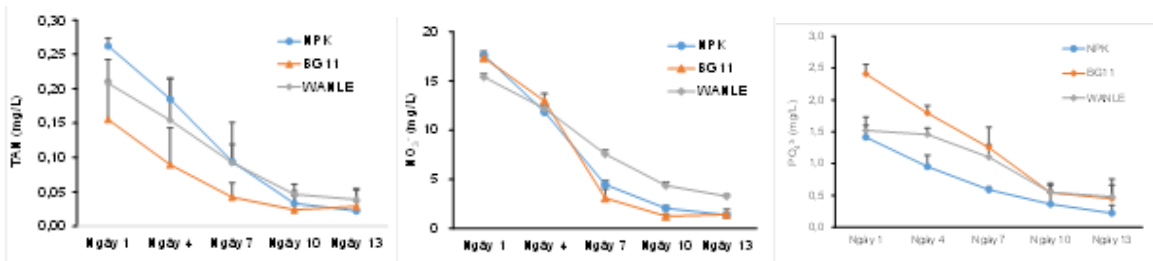
3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của nguồn dinh dưỡng lên sự phát triển tảo *Scenedesmus* sp.

Nhiệt độ thí nghiệm không có sự biến động lớn do được tiến hành trong phòng có điều chỉnh nhiệt độ. Nhiệt độ trung bình giữa các nghiệm thức dao động 24,18-24,72°C, khác biệt không có ý nghĩa (p>0,05), ở khoảng nhiệt độ này thích hợp cho sự phát triển của tảo *Scenedesmus* sp. bởi vì theo Soeder et al. (1985), tảo *Scenedesmus* phát triển tốt ở khoảng nhiệt độ khá rộng (10-32°C), nhưng ở nhiệt độ lên đến 36°C tảo vẫn phát triển.

pH là một trong những yếu tố môi trường có ảnh hưởng đến sự phát triển của tảo. pH ở các nghiệm thức dao động từ 8,8-9,3. Theo Coutteau (1996), pH thích hợp cho sự phát triển của các loài tảo là 7-9, tối ưu là 8,2-8,7. Điều này cho thấy pH ở thí nghiệm hiện tại nằm trong khoảng thích hợp cho tảo phát triển. Kết quả nghiên cứu này tương tự với kết quả của Gardner et al. (2011) khi nuôi tảo *Scenedesmus* sp. bằng môi trường cơ bản Boyd trong điều kiện giảm nitrat thì mật độ tảo đạt cực đại với giá trị pH nước đạt 9,3.

Hàm lượng TAN, NO₃⁻ và PO₄³⁻ của môi trường nước nuôi tảo ban đầu dao động lần lượt là: 0,16-0,26 mg/L, 15,40-17,62 mg/L và 1,41-2,41 mg/L (Hình 2). Các hàm lượng này đều có khuynh hướng giảm trong quá trình thí nghiệm do tảo hấp thu để phát triển và tăng nhẹ trở lại ở cuối thí nghiệm do lúc này mật độ tảo giảm sự phân hủy xác tảo làm cho các chỉ tiêu này tăng trở lại.

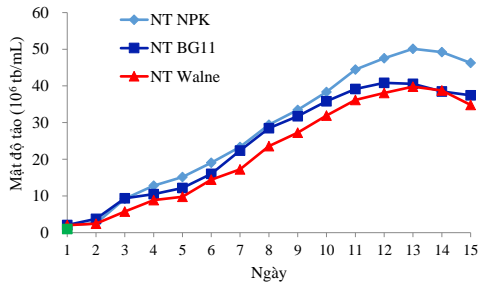


Hình 2. Hàm lượng TAN, NO₃⁻ và PO₄³⁻ ở các nghiệm thức qua các ngày thí nghiệm

Tăng trưởng của sinh khối tảo khi nuôi với 3 nguồn dinh dưỡng khác nhau ở Hình 3 cho thấy mật độ tảo *Scenedesmus* sp. đạt cao nhất ở nghiệm thức NPK vào ngày 13 (35,1±1,1×10⁶ tb/mL) và cao hơn có ý nghĩa so với các nghiệm thức BG11 và Wanle (p<0,05), mật độ tảo đạt cực đại ở các nghiệm thức

với dao động từ 27,9-35,1×10⁶ tb/mL (Hình 3). Toyub et al. (2008) cho rằng ở các môi trường dinh dưỡng khác nhau tăng trưởng của tảo cũng khác nhau. Lourenco et al. (2002) cho rằng tảo pH của nước nuôi cũng ảnh hưởng khá lớn vào nguồn nitrogen, khi giá trị pH của môi trường nuôi tảo tăng

cao có thể ảnh hưởng đến tăng trưởng mật độ tảo (Huỳnh Thị Ngọc Hiền & Nguyễn Văn Hòa, 2020). Giá trị pH ở môi trường nuôi tảo khi sử dụng phân NPK luôn thấp hơn sử dụng Walne và BG11 trong thí nghiệm hiện tại, do vậy đây cũng có thể là nguyên nhân dẫn đến tăng trưởng mật độ tảo khi sử dụng phân NPK tốt hơn.



Hình 3. Mật độ tảo *Scenedesmus* sp. ở các môi trường dinh dưỡng khác nhau

Kích thước (chiều dài × chiều rộng) của tảo *Scenedesmus* sp. ban đầu là 14,62 μm × 3,32 μm. Sau 7 ngày nuôi, kích thước ở các nghiệm thức NPK, BG11, Walne lần lượt là 14,85×3,86 μm, 14,63×3,38 μm và 15,27×3,49 μm. So với kích cỡ tế bào ban đầu thì tảo nuôi bằng NPK có chiều dài tăng 1,6%, chiều rộng tăng 16,3%; kể đến là tảo nuôi bằng dung dịch Walne thì chiều dài tăng 4,4%, chiều rộng tăng 5,1%, kích cỡ tế bào tăng thấp nhất ở môi trường BG11 với chiều dài tăng 0,1%, chiều rộng tăng 1,8%.

Bảng 1. Kích thước tảo *Scenedesmus* sp. ở ngày nuôi thứ 7

Nghiệm thức	Chiều dài (μm)	Chiều rộng (μm)
Kích thước ban đầu	14,62±3,00 ^a	3,32±1,04 ^a
NPK	14,85±2,01 ^a	3,86±0,84 ^b
BG11	14,63±1,91 ^a	3,38±0,87 ^a
Walne	15,27±1,54 ^a	3,49±0,73 ^{ab}

Các giá trị trong cùng một cột mang chữ cái giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$)

Tảo *Scenedesmus* sp. nuôi bằng NPK có sự tích lũy tinh bột, lipid, protein và vitamin trong tế bào đạt cao nhất (16,3 %), kích thước tảo phù hợp kết quả của Guiry (2020), kích thước tế bào tảo *Scenedesmus* có chiều dài 3-78 μm và chiều rộng là 2-10 μm.

Khối lượng khô của tảo dao động từ 0,19-0,33 g/L. Khi sử dụng môi trường NPK, khối lượng khô của tảo thu được cao nhất (0,33±0,01 g/L) cao hơn có ý nghĩa thống kê so với khối lượng khô của tảo

nuôi bằng môi trường Walne ($p < 0,05$), nhưng cao hơn không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$) so với môi trường BG11 (Bảng 2). Lượng sinh khối tảo nuôi với môi trường Walne thu được thấp nhất (0,19±0,01 g/L) và có ý nghĩa thống kê so với các môi trường dinh dưỡng khác. Kết quả cũng cho thấy mật độ tảo tỉ lệ thuận với khối lượng khô (khi mật độ cao thì khối lượng khô thu được cao và ngược lại) và tỉ lệ nghịch với kích thước (kích thước càng lớn khối lượng khô thu được càng thấp).

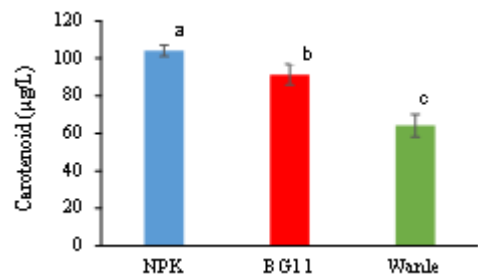
Bảng 2. Khối lượng khô tảo *Scenedesmus* sp.

Nghiệm thức	Khối lượng khô (pg/tb)	Khối lượng khô (g/L)
NPK	14,39±1,3 ^a	0,33±0,01 ^a
BG11	13,03±1,2 ^a	0,31±0,02 ^a
Walne	9,94±1,0 ^b	0,19±0,01 ^b

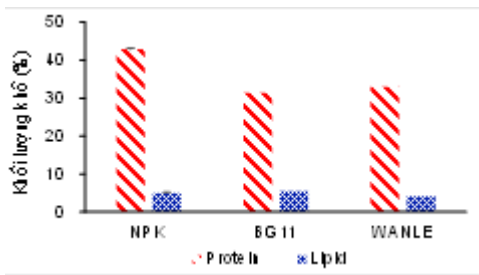
Các giá trị trong cùng một cột mang chữ cái giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$)

Hàm lượng carotenoid trong vi tảo là một chất chống oxy hóa quan trọng tạo ra từ quá trình quang hợp (Jahnke, 1999; Takaichi, 2011). Hàm lượng carotenoid cao nhất của tảo *Scenedesmus* sp. khi nuôi bằng NPK (104±3,0 μg/L). Hàm lượng protein và lipid tảo *Scenedesmus* sp. dao động từ 31,42-42,9% khối lượng khô, trong đó cao nhất khi nuôi bằng NPK (42,9±0,2%) và khác biệt có ý nghĩa ($p < 0,05$) so với hai nghiệm thức còn lại, hàm lượng lipid ở các nghiệm thức dao động từ 4,1-5,5% khối lượng khô, cao nhất ở nghiệm thức BG11 (5,5±0,1%) và khác biệt có ý nghĩa ($p < 0,05$) giữa các nghiệm thức.

Nhìn chung, hàm lượng protein và lipid của tảo *Scenedesmus* sp. ở các nghiệm thức có sự chênh lệch là do sử dụng các môi trường nuôi khác nhau, thành phần môi trường nuôi khác nhau thì dinh dưỡng của vi tảo cũng khác nhau (Brown & Miller, 1992). Kết quả ở thí nghiệm này thấp hơn nhưng không đáng kể so với kết quả của Becker (1984), tảo *Scenedesmus obliquus* có hàm lượng protein 52% và lipid 9% khối lượng khô.



Hình 4. Hàm lượng carotenoid ở các nghiệm thức



Hình 5. Hàm lượng protein và lipid ở các nghiệm thức

Kết quả của thí nghiệm cho thấy NPK có thể sử dụng trong nuôi tảo *Scenedesmus* sp. với mật độ tối đa đạt được là 35×10^6 tb/mL sau 13 ngày nuôi, hàm lượng carotenoid ($104 \pm 3,0$ μ g/L), protein và lipid lần lượt là 42,9% và 5% khối lượng khô với liều lượng là 50 mg/L.

Theo Lourenco et al. (2002), nguồn nitrogen ảnh hưởng khá lớn đến sự tăng trưởng của quần thể tảo, khi sử dụng 3 nguồn dinh dưỡng nitrogen từ nitrate, ammonium và ure để nuôi cấy 10 loài tảo khác nhau, kết quả cho thấy nguồn nitrogen từ ammonium có sinh khối tảo thu được thấp hơn so với các nguồn nitrogen khác, ngược lại khi sử dụng nguồn nitrogen là phân ure cho kết quả tối ưu nhất. Phân NPK là dạng phân urea, nhưng chứa hàm lượng nitrogen thấp và có thêm phosphorus và kali, nitrogen và phosphorus là hai nguồn dinh dưỡng chính được sử dụng trong sản xuất tảo. Theo Xin et al. (2010), tỉ lệ N:P thích hợp cho tảo *Scenedesmus* sp. phát triển là 5:1 - 12:1, nhưng đối với thí nghiệm hiện tại thì tỉ lệ

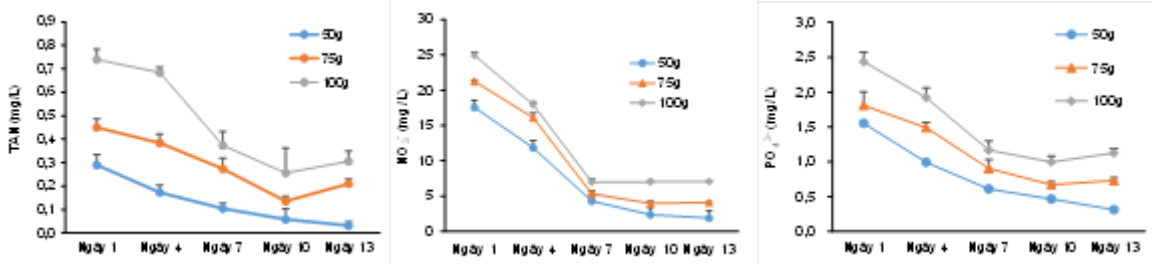
N:P trong phân NPK vẫn còn thấp so với khuyến cáo. Từ kết quả nghiên cứu hiện tại cho thấy NPK là môi trường dinh dưỡng thích hợp cho sự phát triển của tảo *Scenedesmus* sp. so với môi trường Walne và BG11.

3.2. Ảnh hưởng của liều lượng NPK khác nhau lên sự phát triển tảo *Scenedesmus* sp.

Nhiệt độ trung bình ở các nghiệm thức là 25,5°C và khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$) qua các đợt và thích hợp cho tảo *Scenedesmus* sp. phát triển.

pH trung bình ở các nghiệm thức dao động từ 9,1-9,3. Kết quả này cũng tương tự với kết quả nghiên cứu ở thí nghiệm 1. Theo Swift & Taylor (1966), khi tảo phát triển nhanh về số lượng thì lượng CO₂ được hấp thụ và thải O₂ mạnh khi quang hợp, kết quả làm pH có xu hướng tăng cao trong nước, pH tăng cao sẽ ức chế quá trình điều hòa áp suất thẩm thấu, quang hợp và trao đổi chất của tảo *Scenedesmus* sp. Điều này cho thấy pH môi trường nuôi ở thí nghiệm hiện tại vẫn nằm trong khoảng thích hợp cho tảo phát triển.

Nồng độ TAN, NO₃⁻ và PO₄³⁻ ở ngày đầu các nghiệm thức dao động lần lượt là 0,29-0,74 mg/L, 17,57-24,93 mg/L, 1,55-2,44 mg/L và giảm dần theo sự phát triển của tảo. Nghiệm thức sử dụng NPK ở liều lượng 75 g/m³ và 100 g/m³ có khuynh hướng tăng trở lại vào cuối thí nghiệm do lúc này mật độ tảo giảm, sự phân hủy xác tảo làm cho hàm lượng TAN, NO₃⁻ và PO₄³⁻ tăng lên.



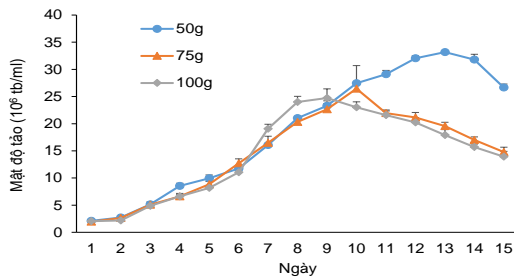
Hình 6. Biến động hàm lượng TAN, NO₃⁻ và PO₄³⁻ ở các nghiệm thức trong Thí nghiệm 2

Hình 7 cho thấy nghiệm thức sử dụng NPK ở liều lượng 100 mg/L có mật độ tảo đạt cực đại vào ngày 9 ($24,7 \pm 0,7 \times 10^6$ tb/mL), mật độ này thấp hơn nghiệm thức sử dụng NPK ở mức 75 mg/L ($26,4 \pm 0,9 \times 10^6$ tb/mL) và NPK ở 50 mg/L ($33,2 \pm 0,2 \times 10^6$ tb/mL). Theo Rofidi (2017), phân bón vô cơ thương mại có thể thay thế cho các môi trường dinh dưỡng khác để nuôi cấy tảo *Chlorella* sp. nhưng không ảnh hưởng đến tốc độ tăng trưởng của tảo, nhưng hàm lượng nitrogen càng cao thì gây ức chế tăng trưởng của tảo (Zhuang et al., 2018),

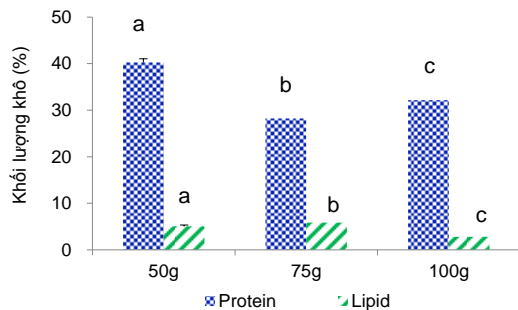
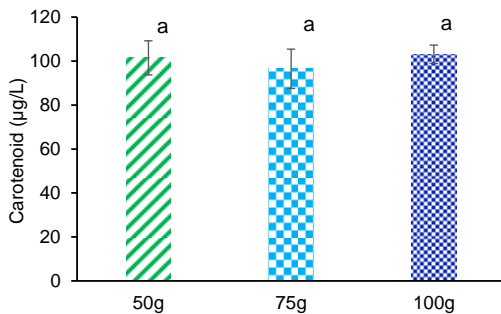
điều này cũng phù hợp ở kết quả của thí nghiệm hiện tại, tốc độ tăng trưởng của tảo chậm khi hàm lượng NPK trên 75 mg/L.

Ngày đầu thí nghiệm tảo *Scenedesmus* sp. có chiều dài 12,93 μ m và chiều rộng 3,52 μ m. Sau 7 ngày nuôi, kích thước trung bình ở liều lượng NPK 50 mg/L là 12,95 μ m \times 3,95 μ m (chiều dài tăng 0,15% và chiều rộng tăng 12,2% so với kích thước ban đầu) và NPK 75 mg/L có kích thước là 13,17 μ m \times 3,85 μ m (tăng chiều dài 1,86% và chiều rộng 9,4% so với kích thước ban đầu) và NPK 100 mg/L

12,95 $\mu\text{m} \times 3,95 \mu\text{m}$ (tăng chiều dài 2,4% và chiều rộng 3,13% so với kích thước ban đầu). Kết quả cũng cho thấy khi hàm lượng NPK cao thì sự tích lũy vật chất trong tế bào tảo *Scenedesmus sp.* cũng tăng và chủ yếu tăng về chiều dài, nhưng chiều rộng lại giảm khi hàm lượng NPK tăng. Khối lượng khô của tảo ở nghiệm thức 75 mg/L và 100 mg/L thấp hơn so với ở nghiệm thức 50 mg/L do mật độ tảo ở nghiệm thức 50 mg/L đạt cực đại và cao hơn so với hai nghiệm thức còn lại. Điều này cho thấy mật độ cao và chiều rộng tảo lớn sẽ cho khối lượng khô cao, mật độ tảo đạt cực đại càng cao thì khối lượng khô cũng tăng theo và kích thước tảo *Scenedesmus sp.* trong nghiên cứu này cũng phù hợp với nhận định của Guiry (2020) là kích thước tế bào của tảo *Scenedesmus sp.* có chiều dài từ 3-78 μm , chiều rộng 2-10 μm .



Hình 7. Mật độ tảo Scenedesmus sp. ở các nghiệm thức trong thí nghiệm 2



Hình 8. Hàm lượng carotenoid, protein và lipid của tảo Scenedesmus sp.

Hàm lượng carotenoid của *Scenedesmus sp.* ở các nghiệm thức dao động từ 96,5-103,1 $\mu\text{g/L}$ cao nhất ở nghiệm thức 100 mg/L (103,1 \pm 4,2 $\mu\text{g/L}$) và khác biệt không có ý nghĩa ($p>0,05$) so với hai nghiệm thức còn lại. Protein được xem như thành phần quan trọng xác định giá trị dinh dưỡng của các loài vi tảo (Trần Thương Ngọc và ctv., 2017a). Hàm lượng protein ở các nghiệm thức dao động từ 28,22-40,25% khối lượng khô và khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức ($p<0,05$), cao nhất là ở nghiệm thức 50 mg/L (40,2 \pm 0,8% khối lượng

Bảng 3. Kích thước của tảo Scenedesmus sp. ở thí nghiệm 2 (ngày 7)

Kích thước tảo	Chiều dài (μm)	Chiều rộng (μm)
Kích thước ban đầu	12,93 \pm 3,21 ^a	3,52 \pm 0,90 ^a
50 mg/L	12,95 \pm 1,35 ^a	3,95 \pm 0,62 ^b
75 mg/L	13,17 \pm 1,37 ^a	3,85 \pm 0,70 ^{ab}
100 mg/L	13,24 \pm 0,96 ^a	3,63 \pm 0,62 ^{ab}

Các giá trị trong cùng một cột mang chữ cái giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p>0,05$)

Khối lượng khô của tảo dao động từ 0,23-0,27 g/L và khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p<0,05$) giữa các nghiệm thức và cao nhất ở nghiệm thức 50 mg/L (0,27 g/L) tại thời điểm thu mẫu.

Bảng 5. Khối lượng khô của Scenedesmus sp. ở thí nghiệm 2

Nghiệm thức	Khối lượng khô (pg/tb)	Khối lượng khô (g/L)
50 mg/L	13,00 \pm 0,9 ^b	0,27 \pm 0,02 ^b
75 mg/L	11,48 \pm 0,5 ^{ab}	0,23 \pm 0,02 ^a
100 mg/L	10,85 \pm 0,8 ^a	0,26 \pm 0,01 ^{ab}

Các giá trị trong cùng một cột mang chữ cái giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p>0,05$)

khô). Hàm lượng lipid ở các nghiệm thức lần lượt là 5,0 \pm 0,3%, 5,8 \pm 0,2%, 2,8 \pm 0,1% khối lượng khô và khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p<0,05$). Kết quả hàm lượng protein, lipid ở thí nghiệm thấp hơn so với nhận định của Becker (1984): tảo *Scenedesmus obliquus* có hàm lượng protein 52% và lipid 9% khối lượng khô.

Kết quả thí nghiệm 2 cho thấy khi nuôi tảo *Scenedesmus sp.* ở hàm lượng NPK 50 mg/L cho kết quả tối ưu về mật độ tảo (33,2 \pm 0,2 $\times 10^6$ tb/mL), thời

gian duy trì tăng trưởng (13 ngày) và thành phần dinh dưỡng của tảo. Ở hàm lượng NPK cao (75 mg/L và 100 mg/L) mật độ có khuynh hướng giảm vào ngày nuôi thứ 10, mặc dù kích thước lớn hơn nhưng mật độ tảo và hàm lượng lipid thấp.

Tảo *Scenedesmus* sp. là loài tảo nước ngọt, có khả năng hấp thụ dinh dưỡng từ môi trường sống khá tốt, dinh dưỡng chính cho tảo phát triển bao gồm NH_4 và PO_4^{3-} , khả năng hấp thụ hai loại dinh dưỡng này có trong nước thải từ chợ với mối tương quan lần lượt là $R^2=0,86$ và $0,80$ (Al-Gheethi et al., 2017). Hơn nữa, tảo *Scenedesmus* sp. cũng có thể gây nuôi bằng phân bón nông nghiệp rẻ tiền như Urea và NPK (Nayak et al., 2016). Kết quả nghiên cứu thăm dò ở nhiều nồng độ NPK khác nhau cho thấy tảo *Scenedesmus* sp. phát triển tối ưu ở hàm lượng là 50 mg/L (~0,05 g/L) và kết quả này tương tự với kết quả nghiên cứu của Võ Hồng Trung & Nguyễn Thị Hồng Phúc (2019) khi nuôi *Picochlorum* sp. trong môi trường MD4 có bổ sung NPK (hàm lượng 0,05 g/L, 0,1 g/L, 0,15 g/L, 0,3 g/L, 0,5 g/L và 1 g/L) cho thấy ở nghiệm thức bổ sung 0,05 g/L (~50 g/m³) mật độ tương đối ổn định trong quá trình nuôi so với nghiệm thức bổ sung 0,1 g/L (~100 g/m³) thì thời gian tảo đạt mật độ cực đại sớm hơn (ngày 9) và mật độ tăng giảm đột ngột.

4. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT

4.1. Kết luận

Khi sử dụng ba môi trường NPK (16-16-8), Walne và BG11 cho thấy NPK là môi trường dinh dưỡng thích hợp cho sự phát triển của tảo *Scenedesmus* sp và sử dụng NPK với hàm lượng 50 mg/L trong nuôi sinh khối tảo *Scenedesmus* sp. cho kết quả cao nhất.

4.2. Đề xuất

Tiếp tục nghiên cứu nuôi sinh khối tảo *Scenedesmus* sp. với tỉ lệ N:P khác nhau khi sử dụng NPK là nguồn dinh dưỡng. Cần nghiên cứu nuôi sinh khối tảo *Scenedesmus* sp. ở qui mô lớn hơn để đánh giá khả năng phục vụ sản xuất giống thủy sản.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi nguồn ngân sách nghiên cứu khoa học và chuyên giao công nghệ năm 2020 của Trường Đại học Cần Thơ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Abdulsamad, J.K., Varghese, S., & Thajudeen, J. (2019). Cost effective cultivation and biomass production of green microalga *Desmodesmus subspicatus* MB 23 in NPK fertilizer medium. *J. Microbiol. Biotech. Food Sci.* 9(3), 599-604.

Al-Gheethi, A. A., Mohamed, R. M., Jais, N. M., Efaq, A. N., Abd Halid, A., Wurochekke, A. A., & Amir-Hashim, M. K. (2017). Influence of pathogenic bacterial activity on growth of *Scenedesmus* sp. and removal of nutrients from public market wastewater. *Journal of Water and Health*, 15(5), 741-756.

Altın, N., Kutluk, T., Uyar, B., & Kapucu, N. (2019). Effect of Different Nitrogen Sources on the Growth and Lipid Accumulation of *Chlorella variabilis*. *Journal of Applied Biological Sciences*, 12(2), 38-40.

Andersen, R. (2005). *Algal culturing techniques*. Elsevier/Academic Press, Burlington, Massachusetts.

AOAC. (1984). *Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists*. (14th ed.). AOAC, Arlington.

Apandi, N., Mohamed, R. M. S. R., Al-Gheethi, A., Gani, P., Ibrahim, A., & Kassim, A. H. M. (2018). *Scenedesmus* Biomass Productivity and Nutrient Removal from Wet Market Wastewater, A Bio-kinetic Study. *Waste and Biomass Valorization*, 10, 2783-2800.

Becker, E. W. (1984). Biotechnology and exploitation of the green alga *Scenedesmus obliquus* in India. *Biomass*, 4, 1-19.

Brown, M. R., & Miller, K. A. (1992). The ascorbic acid content of eleven species of microalgae used in mariculture. *Journal of Applied Phycology*, 4, 205-215.

Coutteau, P. (1996). *Micro-algae. In: Manual on the production and use of live food for Aquaculture*. Patrick Lavens and Patrick Sorgeloos (Eds). FAO Fisheries Technical Paper.

Gardner, R., Peters, P., Peyton, B., & Cooksey, E. K. (2011). Medium pH and nitrate concentration effects on accumulation of triacylglycerol in two members of the chlorophyta. *Journal of Applied Phycology*, 23, 1005-1016.

Guiry, M. D. (2020). *AlgaeBase. World-wide Electronic Publication*, National University of Ireland, Galway. Retrieved from <http://www.algaebase.org>; Searched on 3rd July 2020.

Huỳnh Thị Ngọc Hiền & Nguyễn Văn Hòa. (2020). Ảnh hưởng của hàm lượng CO₂ lên sự phát triển của tảo *Chaetoceros calcitrans*. *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*, 2(111): 90-93.

Jahnke, L. (1999). Massive carotenoid accumulation in *Dunaliella bardawil* in duced by ultraviolet-A radiation. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 48, 68-74.

Laing, I. (1991). *Cultivation of marine unicellular algae*. MAFF Laboratory Leaflet Number 67. Directorate of Fisheries Research Lowestoft, UK.

- Lee, R. E. (2008). *Phycology*. USA: 4th Edition, Cambridge University Press, New York.
- Lourenco, S. O., Barbarinoi, E., Filho, J. M., Schinke, K. P., & Aaloar, E. (2002). Effects of different nitrogen sources on the growth and biochemical profile of 10 marine microalgae in batch culture: an evaluation for aquaculture. *Phycologia*, 41(2), 158-168.
- Nayak, M., Thirunavoukkarasu, M., & Mohanty, R. C. (2016). Cultivation of freshwater microalga *Scenedesmus* sp. using a low-cost inorganic fertilizer for enhanced biomass and lipid yield. *The Journal of General and Applied Microbiology*, 62(1): 7-13.
- Rice, E. W., Baird, R. B., & Eaton, A. D. (2017). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (23rd ed.)*. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation. Retrieved from <https://doi.org/10.2105/SMWW.2882.002>.
- Rofidi, M. I. B. M. (2017). *Commercial fertilizer as cheaper alternative culture medium for microalgal growth (Chlorella sp.)*. Bachelor thesis. School of Marine and Environmental Sciences. University Malaysia Terengganu.
- Soeder, C. J., Hegewald, E., & Fiolitaki, E. (1985). Temperature dependence of population growth in a green microalga: Thermodynamic characteristics of growth intensity and the influence of cell concentration. *Institute for Environmental Sciences, University of the Orange Free State, Republic of South Africa*, 227-223. <https://doi.org/10.1515/znc-1985-3-416>.
- Stanier, R. Y., Kunisawa, R., Mandel, M., & Cohen-Bazire, G. (1971). Purification and properties of unicellular blue-green algae (order Chroococcales). *Bacteriology Reviews*, 35(2), 171-205.
- Strickland, J. D., & Parsons, T. R. (1972). *A practical handbook of seawater analysis*. Fisheries research board of Canada Ottawa, 127-137.
- Swift, E., & Taylor, W. R. (1966). The effect of pH on the division of the coccolithophorid *cricosphaera elongata*. *Journal of Phyology*, 2(3), 121-125.
- Takaichi, S. (2011). Carotenoid in algae: distributions, biosyntheses and functions. *Marine Drugs*, 9, 1101-1118.
- Toyub, M. A., Míah, M. I., Habbib, M. A. B., & Rahman, M. M. (2008). Growth performance and nutritional value of *Scenedesmus obliquus* cultured in different concentrations of sweetmeat factory waste media. *Bangladesh Journal of Animal Science*, 37(1), 86-93.
- Trần Sương Ngọc, Huỳnh Thị Ngọc Hiền, & Phạm Thị Tuyết Ngân. (2017a). Khả năng phát triển của tảo *Chlorella* sp. trong điều kiện dị dưỡng. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 50B, 127-132.
- Trần Sương Ngọc, Nguyễn Văn Hòa, Vũ Ngọc Út, Trần Ngọc Hải, & Trần Thị Thanh Hiền. (2017b). *Giáo trình kỹ thuật nuôi thức ăn tự nhiên*. Nhà xuất bản Đại học Cần Thơ. Thành phố Cần Thơ.
- Võ Hồng Trung & Nguyễn Thị Hồng Phúc. (2019). Tăng trưởng và tích lũy lipid của vi tảo *Picochlorum* sp. dưới ảnh hưởng của nguồn Nitơ và phosphor, và điều kiện ức chế khác nhau. *Tạp chí khoa học trường Đại học Sư phạm TP.HCM*, 16(9), 335-350.
- Vũ Ngọc Út & Dương Thị Hoàng Oanh. (2013). *Giáo trình thực vật và động vật thủy sản*. Nhà xuất bản Đại học Cần Thơ.
- Xin, L., Hong-ying, H., Ke, G., & Ying-xue, S. (2010). Effects of different nitrogen and phosphorus concentrations on the growth, nutrient uptake, and lipid accumulation of a freshwater microalga *Scenedesmus* sp. *Bioresource Technology*, 101(14), 5494-5500.
- Zhuang, L. L., Azimi, Y., Yu, D., Wu, Y. H., & Hu, H. Y. (2018). Effects of nitrogen and phosphorus concentrations on the growth of microalgae *Scenedesmus*. LX1 in suspended-solid phase photobioreactors (ssPBR). *Biomass and Bioenergy*, 109, 47-53.