



ĐÁNH GIÁ SỰ PHÁT TRIỂN VÀ GIÁ TRỊ DINH DƯỠNG CỦA BIO-FLOC Ở CÁC ĐỘ MẶN KHÁC NHAU TRONG ĐIỀU KIỆN THÍ NGHIỆM

Nguyễn Văn Hòa¹, Nguyễn Thị Ngọc Anh¹ và Đinh Kim Diệu

¹ Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ

Thông tin chung:

Ngày nhận: 10/6/2014

Ngày chấp nhận: 04/8/2014

Title:

Study on development and nutritional value of bio-floc at different salinities under laboratory conditions

Từ khóa:

Bio-floc, total bacteria, độ mặn, thành phần sinh hóa

Keywords:

Bio-floc, salinity, total bacteria, proximate composition

ABSTRACT

This study was conducted to evaluate the development of bio-flocs at different salinities in laboratory conditions for 21 days. Four salinity treatments consisted of 35, 60, 80 and 100 ppt were set up in a 10-L glass bottles with continuous aeration. Tapioca powder combined with chicken manure were used as a carbon source (C:N of 10:1) to stimulate formation of bio-floc. Results showed that concentrations of nitrogen compounds (NH_4 , NO_2 , NO_3 and TN) increased after 7 days of experiment, and then tended to gradually decline until termination of experiment at day 21. The contents of TSS and VSS increased with increasing in salinity and those in all the treatments had enhancement with time. Similarly, the bio-floc volume and densities of total bacteria increased during experimental period, total bacteria in the 35 and 60 ppt treatments were 5 to 10 times higher than two other treatments. The proximate composition of bio-floc was not different among salinity treatments and reached the highest values at day 14. It is suggested from this study that bio-floc can be developed in high salinity for aquaculture, especially high saline species.

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện nhằm đánh giá sự phát triển của bio-floc ở các độ mặn khác nhau ở điều kiện phòng thí nghiệm trong 21 ngày. Bốn nghiệm thức độ mặn gồm 35, 60, 80 và 100 ppt được bố trí trong keo thủy tinh 10-L được sục khí liên tục. Bột khoai mì và phân gà được sử dụng kết hợp làm nguồn carbon (C:N là 10:1) để kích thích sự hình thành bio-floc. Kết quả cho thấy hàm lượng các hợp chất đạm (NH_4 , NO_2 , NO_3 và TN) tăng cao sau 7 ngày thí nghiệm sau đó có xu hướng giảm dần đến khi kết thúc thí nghiệm vào ngày 21. Hàm lượng TSS và VSS tăng theo sự tăng độ mặn và tất cả có xu hướng tăng theo thời gian thí nghiệm. Thể tích bio-floc và mật độ tổng vi khuẩn tăng theo thời gian thí nghiệm trong đó tổng vi khuẩn ở độ mặn 35 và 60 ppt cao gấp 5-10 lần so với độ mặn 80 và 100 ppt. Thành phần sinh hóa của bio-flocs không khác nhau giữa các nghiệm thức độ mặn, trong đó hàm lượng protein đạt giá trị cao nhất vào ngày 14. Kết quả nghiên cứu này cho thấy bio-flocs có thể gây tạo ở độ mặn cao để phục vụ nuôi các loài thủy sản chịu mặn cao.

1 GIỚI THIỆU

Công nghệ bio-floc được xem là hệ thống nuôi trồng thủy sản thân thiện với môi trường và có hiệu quả cao vì các chất dinh dưỡng có thể được tái tuần hoàn và tái sử dụng liên tục. Phương pháp vượt trội của hệ thống này là dựa vào sự phát triển của vi sinh vật trong môi trường nuôi, lợi dụng sự thay nước ít nhất hoặc không thay nước. Các vi sinh vật (bio-floc) có hai vai trò chính: (i) duy trì chất lượng nước, bởi sự đồng hóa các hợp chất nitơ và tạo ra protein vi khuẩn “tại chỗ” (2) gia tăng tính khả thi nuôi trồng thủy sản bởi sự giảm hệ số tiêu tốn thức ăn và giảm chi phí thức ăn (Ray, 2012). Bên cạnh đó, trong công nghệ bio-floc, vi sinh vật đóng vai trò quan trọng trong dinh dưỡng của động vật nuôi. Các hạt biofloc là nguồn giàu protein-lipid tự nhiên sẵn có “tại chỗ” 24 giờ trong ngày (Avnimelech, 2007). Bio-flocs là phức hợp giữa chất hữu cơ và nhiều loại vi sinh vật gồm tảo, vi khuẩn tự do, vi khuẩn bám và sinh vật ăn lọc như luân trùng, động vật nguyên sinh, và copepod (Ray, *et al.*, 2010). Sản phẩm tự nhiên này đóng vai trò quan trọng trong việc tái tuần hoàn chất dinh dưỡng, duy trì chất lượng nước và được ứng dụng phổ biến, có hiệu quả trong nuôi thâm canh các loài thủy sản nước ngọt, lợ như tôm thẻ chân trắng, cá rô phi... (De Schryver, *et al.*, 2008; Emerenciano, *et al.*, 2013).

Nghiên cứu gần đây cho thấy, vi khuẩn có thể được sử dụng như nguồn thức ăn bổ sung thích hợp cho *Artemia* khi việc cung cấp tảo không đáp ứng đủ thức ăn cho quần thể *Artemia* (Huynh Thanh Toi, *et al.*, 2013). Tuy nhiên, sự phát triển và hình thành bio-floc ở độ mặn cao chưa được quan tâm. Vì thế, mục tiêu của nghiên cứu đánh giá sự hình thành và phát triển của bio-floc ở độ mặn khác nhau nhằm cung cấp cơ sở khoa học cho các nghiên cứu ứng dụng công nghệ bio-floc trong nuôi *Artemia*, góp phần cải thiện môi trường nuôi và nâng cao hiệu quả kinh tế.

2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm đánh giá sự hình thành và phát triển của bio-floc ở 4 nghiệm thức độ mặn khác nhau (35, 60, 80 và 100 ppt) được bố trí trong keo thủy tinh có thể tích 10 L với thể tích nước là 7 L. Mỗi nghiệm thức được lặp lại 3 lần. Hệ thống thí nghiệm được bố trí trong nhà có mái che trong và sạch khí liên tục.

- Nghiệm thức 1: độ mặn 35 ppt (BF_35)
- Nghiệm thức 2: độ mặn 60 ppt (BF_60)

- Nghiệm thức 3: độ mặn 80 ppt (BF_80)
- Nghiệm thức 4: độ mặn 100 ppt (BF_100)

2.2 Điều kiện thí nghiệm

Các nghiệm thức bio-floc ở 4 độ mặn khác nhau được bổ sung bột khoai mì và phân gà nhằm cung cấp nguồn carbohydrate cho bio-floc phát triển với tỉ lệ C:N là 10:1. Liều lượng bột khoai mì và phân gà được tính toán dựa trên hàm lượng carbon (C) và hàm lượng Nitơ (N) đã được phân tích. Lượng bột khoai mì là 125 g/m³/3 ngày và phân gà là 1250 g/m³/tuần (bột khoai mì hòa tan trong nước trước khi bón, phân gà cho vào túi treo) (Trần Nguyễn Hải Nam, 2012). Thời gian thí nghiệm được thực hiện trong 3 tuần.

2.3 Thu thập số liệu

2.3.1 Các yếu tố môi trường

Nhiệt độ-pH được đo mỗi ngày vào lúc 7 giờ và 14 giờ bằng máy đo. Độ mặn và oxy hòa tan được đo mỗi 3 ngày vào lúc 7 giờ và 14 giờ bằng khúc xạ kế và máy đo oxy. Cường độ ánh sáng được xác định 1 lần/3 ngày vào lúc 7:00, 10:00, 13:00 và 16:00 giờ bằng máy đo cường độ ánh sáng.

Hàm lượng NH₄⁺, NO₂⁻, NO₃⁻, TN, PO₄³⁻, TP, TSS và VSS được xác định 1 lần/tuần, mẫu nước được thu vào lúc 8 giờ, được bảo quản lạnh ở 4°C và được phân tích theo phương pháp APHA (1998).

2.3.2 Các chỉ tiêu bio-floc và vi khuẩn

Thể tích bio-floc và kích thước của hạt bio-floc được xác định 1 lần/tuần. Mẫu thể tích bio-floc được thu trong điều kiện sạch khí liên tục, thu 1 lít sau đó cho vào ống Imhoff để lắng 20 phút và ghi nhận thể tích bio-floc (Avnimelech, 2012).

Mật độ tổng vi khuẩn trong nước và trong hạt bio-floc được xác định 1 lần/tuần, bằng phương pháp nuôi cấy và đếm khuẩn lạc trên môi trường thạch Marine Broth Agar (Baumann *et al.*, 1980).

Thành phần sinh hóa của bio-floc (protein, lipid, tro, C, N) được xác định 1 lần/tuần, theo phương pháp AOAC (1995).

2.3.3 Thành phần và mật độ tảo trong nước

Mẫu định tính và định lượng tảo được xác định 1 lần/tuần vào lúc 8 giờ sáng. Thành phần tảo được quan sát dưới kính hiển vi (vật kính 40x) và định danh dựa vào tài liệu của Shirota (1966). Mật độ tảo được đếm bằng buồng đếm Bürker và được tính theo công thức sau (Lavens and Sorgeloos, 1996):

$$\text{Mật tảo (tb/ml)} = (n_1 + n_2) / (2 \times 20) \times 250 \times 10^3 \times d = (n_1 + n_2) / 160 \times 10^6 \times d$$

n_1 = Số lượng tế bào tảo đếm được ở phần trên
 n_2 = Số lượng tế bào tảo ở phần dưới
 d = Hệ số pha loãng

2.4 Xử lý số liệu

Các số liệu được tính giá trị trung bình và độ lệch chuẩn bằng phần mềm Exel. Sự khác biệt giữa các nghiệm thức được phân tích thống kê bằng phương pháp ANOVA với phép thử TUKEY sử dụng chương trình SPSS 14,0 ở mức ý nghĩa $p < 0,05$.

Bảng 1: Biến động các yếu tố môi trường trong thời gian thí nghiệm

| Nghiệm thức | Nhiệt độ (°C) | | pH | | Oxy (mg/L) | | Độ kiềm (mg CaCO ₃ /L) |
|-------------|---------------|----------|---------|---------|------------|---------|-----------------------------------|
| | Sáng | Chiều | Sáng | Chiều | Sáng | Chiều | |
| BF_35 | 27,9±0,5 | 30,8±1,2 | 8,2±0,3 | 8,3±0,3 | 4,8±0,2 | 5,7±0,3 | 189,0±49,5 |
| BF_60 | 27,9±0,5 | 30,8±1,2 | 8,1±0,3 | 8,2±0,3 | 4,9±0,2 | 5,8±0,2 | 216,0±40,1 |
| BF_80 | 27,9±0,5 | 30,8±1,1 | 8,1±0,3 | 8,2±0,3 | 5,0±0,2 | 5,8±0,2 | 220,5±53,9 |
| BF_100 | 27,9±0,5 | 30,8±1,2 | 8,1±0,3 | 8,2±0,2 | 5,0±0,2 | 6,0±0,2 | 207,0±60,5 |

Các giá trị thể hiện trên bảng là giá trị trung bình và độ lệch chuẩn.

Bảng 2: Cường độ ánh sáng (Lux) trung bình trong thời gian thí nghiệm

| Ngày | 7 giờ | 10 giờ | 14 giờ | 17 giờ |
|------|-------|--------|--------|--------|
| 0 | 730 | 1540 | 3530 | 1700 |
| 3 | 755 | 1950 | 4050 | 1750 |
| 6 | 830 | 2100 | 4350 | 1940 |
| 9 | 680 | 1870 | 4420 | 1870 |
| 12 | 620 | 1500 | 3100 | 1250 |
| 15 | 580 | 1200 | 2100 | 1000 |
| 18 | 620 | 1750 | 3500 | 1380 |
| 21 | 650 | 1850 | 3850 | 1450 |

Hargreaves (2013) đã tìm thấy khoảng nhiệt độ 28-30°C là khoảng tối ưu cho sự phát triển của bio-floc và vi khuẩn dị dưỡng. De Schryver *et al.* (2008) cho rằng pH là một trong những yếu tố ảnh hưởng đến sự hình thành, sự bền vững của bio-floc và có liên quan đến độ kiềm. Ngoài ra, tác giả nhận thấy hàm lượng oxy hòa tan ảnh hưởng đến kích thước, thể tích của bio-floc và thành phần vi khuẩn. Vi khuẩn dị dưỡng là vi khuẩn hiếu khí do đó hàm lượng oxy hòa tan thích hợp cho sự hình thành bio-floc và phát triển của vi khuẩn trong môi trường cần được duy trì từ 2 mg/L trở lên. Theo các nghiên cứu trên, yếu tố môi trường (nhiệt độ, pH, oxy và độ kiềm) trong thí nghiệm này được duy trì

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Các yếu tố môi trường

3.1.1 Các yếu tố thủy lý, hóa

Kết quả cho thấy nhiệt độ và pH và hàm lượng oxy hòa tan trung bình giữa các nghiệm thức tương tự nhau và ít biến động trong ngày do thí nghiệm được bố trí trong phòng. Các thông số này dao động lần lượt là 27,9-30,8°C, 8,2-8,3 và 4,8 – 6,0 mg/L. Độ kiềm dao động trong khoảng 180 – 220 mg/L, thấp nhất là nghiệm thức 35 ppt, các nghiệm thức còn lại có độ kiềm cao hơn và tương đương nhau (Bảng 1).

trong khoảng thích hợp cho sự hình thành và phát triển của bio-floc.

Bảng 2 biểu thị cường độ ánh sáng biến động trong ngày khá lớn, trong đó đạt cao nhất vào 14 giờ và thấp nhất vào 7 giờ sáng. Cường độ ánh sáng có ảnh hưởng rất lớn đến sự phát triển của tảo (Lavens and Sorgeloos, 1996) và bio-floc (Avinemec, 2012).

3.1.2 Sự biến động của các hợp chất nitơ

Hàm lượng NH₄⁺ và TN có xu hướng tăng cao ở ngày thứ 7 và giảm về cuối thí nghiệm. Hàm lượng NH₄⁺ ở các nghiệm thức 35 ppt cao hơn các nghiệm thức khác và khác biệt có ý nghĩa ($p < 0,05$) và thấp nhất là ở nghiệm thức BF_60 (0,7±0,02 mg/L). Hàm lượng NO₂⁻ vào ngày thứ 7 tăng cao, giảm vào ngày 14 và ổn định đến khi kết thúc thí nghiệm. Vào cuối thí nghiệm, hàm lượng NO₂⁻ ở nghiệm thức BF_35 là thấp nhất và khác biệt có ý nghĩa so với các nghiệm thức còn lại ($p < 0,05$). Hàm lượng NO₃⁻ ở các nghiệm thức BF_80, BF_60, BF_35 tăng cao vào ngày 7 và giảm dần đến ngày 14 thì không còn hiện diện trong môi trường nuôi. Riêng nghiệm thức BF_100 ppt có hàm lượng NO₃⁻ vào ngày đầu là 0,14 mg/L và có giá trị bằng 0 từ ngày 7 trở đi (Bảng 3).

Bảng 3: Hàm lượng các hợp chất đạm trong thời gian thí nghiệm

| Ngày thu mẫu | 0 | 7 | 14 | 21 |
|-----------------------------------|--------------------------|--------------------------|---------------------------|--------------------------|
| NH₄⁺ | | | | |
| BF_35 ppt | 0,138±0,025 ^a | 1,856±0,034 ^b | 1,630±0,135 ^b | 0,950±0,040 ^a |
| BF_60 ppt | 0,115±0,011 ^a | 1,628±0,067 ^b | 1,032±0,019 ^a | 0,701±0,019 ^b |
| BF_80 ppt | 0,179±0,032 ^a | 1,650±0,147 ^b | 1,137±0,005 ^{ab} | 0,782±0,005 ^b |
| BF_100 ppt | 0,276±0,031 ^a | 1,162±0,115 ^a | 1,062±0,032 ^a | 0,803±0,032 ^b |
| NO₂⁻ | | | | |
| BF_35 ppt | 0,065±0,021 ^a | 0,320±0,013 ^b | 0,290±0,035 ^b | 0,055±0,014 ^a |
| BF_60 ppt | 0,070±0,014 ^a | 0,155±0,004 ^a | 0,205±0,028 ^a | 0,120±0,021 ^b |
| BF_80 ppt | 0,085±0,007 ^a | 0,389±0,061 ^b | 0,179±0,019 ^a | 0,195±0,014 ^c |
| BF_100 ppt | 0,108±0,018 ^a | 0,435±0,042 ^b | 0,142±0,005 ^a | 0,130±0,007 ^b |
| NO₃⁻ | | | | |
| BF_35 ppt | 0,0700±0,00 ^a | 1,202±0,032 ^b | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 |
| BF_60 ppt | 0,075±0,021 ^a | 1,659±0,274 ^b | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 |
| BF_80 ppt | 0,120±0,028 ^a | 1,634±0,095 ^b | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 |
| BF_100 ppt | 0,135±0,007 ^a | 0,00±0,00 ^a | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 |
| TN | | | | |
| BF_35 ppt | 4,95±0,99 ^a | 7,33±0,30 ^a | 4,49±0,29 ^a | 3,10±0,11 ^a |
| BF_60 ppt | 5,39±0,092 ^a | 8,28±0,10 ^b | 6,20±0,02 ^b | 4,11±0,12 ^b |
| BF_80 ppt | 5,44±0,141 ^a | 8,69±0,30 ^b | 6,18±0,23 ^b | 4,18±0,09 ^b |
| BF_100 ppt | 5,29±0,255 ^a | 7,97±0,10 ^{ab} | 7,78±0,15 ^c | 6,95±0,10 ^c |

Các giá trị trung bình trong cùng một cột có ký tự khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa ($p < 0,05$)

Nhìn chung, các hợp chất nitơ và TN có cùng khuynh hướng là tăng vào ngày 7 sau đó giảm dần đến khi kết thúc thí nghiệm vào ngày 21. Điều này có thể ở độ mặn cao vi khuẩn phát triển chậm do quá trình nitrat hóa xảy ra chậm, điều này phù hợp với các nghiên cứu của Bernhard *et al.* (2005), tác giả ghi nhận rằng chu trình nitrate hóa diễn ra khá chậm, thường mất khoảng vài tuần cho sự phát triển quần xã vi khuẩn nitrate hóa. Hàm lượng các hợp chất đạm có xu hướng giảm càng về cuối thí nghiệm là do vi khuẩn phát triển và quá trình nitrite hóa xảy ra mạnh. Vi khuẩn nitrat hóa kém phát triển hơn khi ở độ mặn cao (Lê Văn Cát và Phạm Thị Hồng Đức, 2010). Vì thế, ở nghiệm thức độ mặn 35 ppt hàm lượng đạm luôn có xu hướng giảm thấp hơn so với các nghiệm thức độ mặn cao hơn.

3.1.3 Sự biến động của PO₄³⁻ và TP

Hàm lượng PO₄³⁻ và TP tăng dần theo thời gian thí nghiệm, dao động trong khoảng 0,063-0,332 và 0,18 – 0,98 mg/L. Trong đó, giá trị PO₄³⁻ đạt cao nhất là nghiệm thức BF_35 ppt và TP cao nhất là ở nghiệm thức 100 BF_100 ppt khác biệt có ý nghĩa so với các nghiệm thức còn lại (Bảng 4). Do thí nghiệm được bố trí keo thủy tinh nên hàm lượng lân tích tụ trong nước ngày càng nhiều và không được hấp thu bởi đất từ đó dẫn đến hàm lượng ngày càng cao về cuối thí nghiệm. Bên cạnh đó, PO₄³⁻ là dạng lân hòa tan được hấp thu bởi tảo (Lavens and Sorgeloos, 1996) tuy nhiên điều kiện thí nghiệm không thuận lợi cho tảo (vi khuẩn phát triển, ánh sáng hạn chế...) làm cho tảo kém phát triển nên hàm lượng lân hòa tan tăng dần về cuối thí nghiệm.

Bảng 4: Hàm lượng PO₄³⁻ và TP theo thời gian thí nghiệm

| Ngày thu mẫu | 0 | 7 | 14 | 21 |
|------------------------------------|-------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------|
| PO₄³⁻ | | | | |
| BF_35 ppt | 0,074±0,01 ^a | 0,142±0,023 ^b | 0,266±0,030 ^b | 0,332±0,076 ^b |
| BF_60 ppt | 0,073±0,01 ^a | 0,103±0,018 ^{ab} | 0,170±0,048 ^{ab} | 0,180±0,011 ^a |
| BF_80 ppt | 0,076±0,00 ^a | 0,078±0,009 ^a | 0,194±0,009 ^{ab} | 0,196±0,012 ^a |
| BF_100 ppt | 0,083±0,01 ^a | 0,063±0,010 ^a | 0,110±0,021 ^a | 0,217±0,026 ^a |
| TP | | | | |
| BF_35 ppt | 0,174±0,01 ^a | 0,58±0,05 ^c | 0,73±0,04 ^{ab} | 0,61±0,05 ^a |
| BF_60 ppt | 0,175±0,01 ^a | 0,37±0,04 ^{ab} | 0,75±0,08 ^{ab} | 0,83±0,05 ^b |
| BF_80 ppt | 0,177±0,01 ^a | 0,28±0,06 ^a | 0,75±0,02 ^a | 0,83±0,01 ^b |
| BF_100 ppt | 0,179±0,00 ^a | 0,47±0,02 ^{bc} | 0,86±0,06 ^b | 0,98±0,03 ^c |

Các giá trị trung bình trong cùng một cột có ký tự khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa ($p < 0,05$)

3.1.4 Tổng chất rắn lơ lửng (TSS) và Tổng chất rắn lơ lửng dễ bay hơi (VSS)

Bảng 5 biểu thị hàm lượng TSS và VSS của các nghiệm thức tăng dần theo thời gian thí nghiệm, dao động lần lượt là 132 -1831 mg/L và 28,5-575 mg/L. Kết quả thống kê cho thấy các nghiệm thức có sự khác biệt thống kê từ ngày 7 trở đi. Ngoài ra, độ mặn càng cao thì hàm lượng TSS và VSS càng cao. Điều này có thể do thí nghiệm được thực hiện

trong điều kiện nền đáy trơ và sục khí liên tục, lượng chất rắn được tích lũy ngày càng nhiều và không được tiêu thụ bởi các sinh vật khác nên càng về cuối thí nghiệm thì lượng TSS càng cao. Bên cạnh đó, độ mặn là yếu tố giới hạn sự tồn tại và hoạt động của nhóm vi sinh vật cũng như các quá trình sinh hóa diễn ra trong đó, ở độ mặn cao thì chỉ có một số loài vi khuẩn ưa mặn mới tồn tại (Deng *et al.*, 2013).

Bảng 5: Hàm lượng TSS và VSS trong thí nghiệm

| Ngày thu mẫu | 0 | 7 | 14 | 21 |
|--------------|------------|------------------------|--------------------------|--------------------------|
| TSS | | | | |
| BF_35 ppt | 132,0±0,00 | 199,5±4,5 ^a | 440,0±0,0 ^a | 849,0±5,0 ^a |
| BF_60 ppt | 132,0±0,00 | 214,0±3,0 ^b | 717,0±3,0 ^b | 1203,3±16,7 ^b |
| BF_80 ppt | 132,0±0,00 | 307,0±4,0 ^c | 873,8±3,8 ^c | 1443,3±36,7 ^c |
| BF_100 ppt | 132,0±0,00 | 209,0±1,0 ^b | 1066,7±13,3 ^d | 1831,7±68,3 ^d |
| VSS | | | | |
| BF_35 ppt | 28,5±0,00 | 72,0±4,8 ^b | 216,0±2,0 ^a | 334,0±7,8 ^a |
| BF_60 ppt | 28,5±0,00 | 66,5±2,6 ^b | 321,0±5,2 ^b | 433,3±16,7 ^b |
| BF_80 ppt | 28,5±0,00 | 100,5±5,7 ^c | 340,0±5,4 ^c | 575,0±33,3 ^c |
| BF_100 ppt | 28,5±0,00 | 58,0±1,7 ^a | 368,3±11,7 ^d | 575,0±59,5 ^c |

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

Theo De Schrysver *et al.* (2008) và Hargreaves (2013) thì hàm lượng TSS thích hợp trong hệ thống bio-floc là 200 – 1000 mg/L, khoảng tối ưu là 300 – 500 mg/L. Tuy nhiên, vấn đề quản lý TSS trong hệ thống bio-floc vẫn còn nhiều tranh cãi, nó còn phụ thuộc vào điều kiện áp dụng và đối tượng nuôi mà có sự quản lý cho phù hợp, có nhiều cách để quản lý TSS bao gồm việc bổ sung carbon hữu cơ hay loại bỏ TSS bằng nhiều phương pháp (Avnimelech, 2012). VSS được xem là yếu tố để đánh giá lượng chất hữu cơ có trong lượng chất rắn lơ lửng. Dựa vào hai yếu tố TSS và VSS có thể ước lượng được lượng vật chất trơ trong bio-floc (De schrysver *et al.*, 2008). Theo Metcalf and Eddy (2003), thông qua việc xác định VSS có thể đánh giá sự phát triển của bio-floc. Ngoài ra, Avnimelech (2012) còn cho rằng lượng VSS có liên quan đến thành phần và mật độ vi khuẩn, vì đây là lượng chất hữu cơ cần thiết để vi khuẩn đồng hóa thành sinh khối của chúng.

3.2 Thể tích bio-floc và mật độ tổng vi khuẩn

Thể tích bio-floc của các nghiệm thức tăng dần theo thời gian thí nghiệm, dao động trong khoảng 0,1 – 66 ml/L (Bảng 6). Từ ngày 7 đến ngày 14, thể tích bio-floc ở nghiệm thức BF_35 và nghiệm thức BF_60 tăng nhanh hơn và khác biệt có ý nghĩa với 2 nghiệm thức có độ mặn cao hơn, thấp nhất là nghiệm thức BF_100 (1,8 ml/L). Tuy nhiên, không có sự khác biệt ($p > 0,05$) giữa các nghiệm thức vào

ngày 21 và nghiệm thức BF_80 đạt giá trị cao nhất (66,7 ml/L), trong khi thể tích thấp nhất là nghiệm thức BF_100 ppt.

Một số nghiên cứu đã tìm thấy thể tích bio-floc thích hợp cho ao nuôi thủy sản là 15-20 ml/L (Avnimelech, 2012; Hargreaves, 2013). Kết quả của thí nghiệm này có thể tích bio-floc cao hơn nhiều so với khuyến cáo do không có sinh vật sử dụng bio-floc làm thức ăn.

Mật độ tổng vi khuẩn trong nước luôn thấp hơn so với tổng vi khuẩn trong hạt bio-floc và tăng dần theo thời gian thí nghiệm, lần lượt là 0,1 – 197 x 10⁴ CFU/ml trong nước và 0,1 – 12,7 x 10⁹ CFU/ml trong hạt bio-floc (Bảng 6). Khi kết thúc thí nghiệm, mật độ vi khuẩn trong nước và trong bio-floc ở nghiệm thức BF_35 ppt và BF_60 ppt cao hơn có ý nghĩa ($p < 0,05$) so với hai nghiệm thức còn lại.

Theo De Schrysver *et al.* (2008) và Avnimelech (2012), thành phần vi khuẩn chủ yếu trong cấu trúc của bio-floc là vi khuẩn dị dưỡng. Mật độ vi khuẩn trong nước ở thí nghiệm này tương tự như thí nghiệm của Trần Nguyễn Hải Nam (2012) khi thể tích sinh khối của vi khuẩn dị dưỡng bằng cách bổ sung bột khoai mì và phân heo, duy trì tỷ lệ C:N khác nhau là 10:1, 15:1 và 20:1, kết quả cho thấy sau 7 ngày thì tổng vi khuẩn cao nhất đạt ở nghiệm thức C:N=10:1, đây cũng là tỷ lệ được sử dụng trong thí nghiệm này.

Bảng 6: Thể tích bio-floc và mật độ tổng vi khuẩn trong thời gian thí nghiệm

| Ngày thu mẫu | 0 | 7 | 14 | 21 |
|--|------------------------|--------------------------|--------------------------|---------------------------|
| Thể tích bio-floc (ml/L) | | | | |
| BF_35 ppt | 0,1±0,00 | 7,30±0,76 ^c | 24,0±3,61 ^c | 56,7±11,55 ^a |
| BF_60 ppt | 0,1±0,00 | 6,50± 0,87 ^c | 22,7±2,52 ^{bc} | 56,7±5,77 ^a |
| BF_80 ppt | 0,1±0,00 | 3,80± 0,29 ^b | 14,7±4,62 ^{ab} | 66,7±15,28 ^a |
| BF_100 ppt | 0,1±0,00 | 1,80±0,29 ^a | 9,0±1,00 ^a | 53,3±15,28 ^a |
| Tổng vi khuẩn trong nước (x10⁴ CFU/ml) | | | | |
| BF_35 ppt | 1,1±0,10 ^c | 22,8±0,679 ^c | 151,0±7,211 ^b | 197,8±34,316 ^b |
| BF_60 ppt | 0,3±0,017 ^b | 20,7± 1,114 ^c | 16,8±2,577 ^a | 163,7±22,212 ^b |
| BF_80 ppt | 0,1±0,005 ^a | 18,3± 0,802 ^b | 9,8±1,012 ^a | 20,8±3,338 ^a |
| BF_100 ppt | 0,1±0,002 ^a | 12,4±0,586 ^a | 19,7±0,917 ^a | 43,8±5,062 ^a |
| Tổng vi khuẩn trong hạt bio-floc (x10⁹ CFU/ml) | | | | |
| BF_35 ppt | - | 8,1±0,173 ^d | 11,3±1,155 ^b | 12,7±0,577 ^c |
| BF_60 ppt | - | 2,1±0,115 ^c | 10,0± 0,000 ^b | 11,7±0,577 ^c |
| BF_80 ppt | - | 0,4±0,040 ^b | 1,1± 0,072 ^a | 1,6±0,095 ^a |
| BF_100 ppt | - | 0,1±0,010 ^a | 1,9±0,265 ^a | 2,9±0,265 ^b |

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

Kết quả của thí nghiệm này cho thấy mật độ tổng vi khuẩn trong hạt bio-floc cao hơn rất nhiều so với tổng vi khuẩn trong nước. Điều này có thể giải thích bởi đặc tính của vi khuẩn, chúng cần giá thể bám để tồn tại hơn là tự do trong nước. Avnimelech (2012) cho rằng vi khuẩn bám trên hạt bio-floc có lợi hơn rất nhiều so với vi khuẩn tự do trong nước về mặt tiếp xúc được với dinh dưỡng và oxy vì hạt floc có cấu trúc mở, với độ rỗng cao nên dễ dàng lơ lửng trong nước và cho dòng chảy xuyên qua. Ngoài ra khi bám lên trên hạt floc thì còn tránh được một số đối tượng ăn vi khuẩn.

Thành phần bio-floc của các nghiệm thức ở các độ mặn khác nhau gần như không có sự khác nhau. Ngoài vi khuẩn luôn hiện diện trong bio-floc, qua quan sát mẫu dưới kính hiển vi đã tìm thấy các loài tảo (*Chlamydomonas*, *Navicula*, *Oscillatoria*, ...), mảnh vụn hữu cơ, động vật nguyên sinh... là những thành phần cơ bản luôn hiện diện trong hạt bio-floc được nhiều nghiên cứu đã công bố trước đây trên thế giới (De Schryver *et al.*, 2008; Avnimelech, 2012; Hargreaves, 2013) và ở Việt Nam (Lục Minh Diệp, 2012).

Kích thước bio-floc trong thí nghiệm dao động rất lớn từ vài μm đến vài mm và rất khó để đánh giá chính xác sự khác biệt về kích thước giữa các nghiệm thức. Tuy nhiên, quan sát dưới kính hiển vi cho thấy kích thước của bio-floc ở nghiệm thức có độ mặn cao dường như nhỏ hơn và có sự kết dính bền vững hơn bio-floc hình thành ở độ mặn thấp. Điều này phù hợp với nhận định của Avnimelech (2012), khi ở độ mặn cao (lực ion cao) hoặc các ion đa hóa trị chiếm ưu thế thì tạo ra lực hút mạnh làm

cho kết cấu bio-floc bền vững hơn, đây là một trong những cơ chế kết dính của bio-floc.

3.3 Thành phần và mật độ tảo trong nước

Trong hệ thống bio-floc luôn có sự hiện diện của các loài vi tảo. Kết quả định tính thành phần tảo cho thấy sự xuất hiện của 12 loài tảo. Trong đó, một số loài ưu thế trong suốt thí nghiệm là *Nanochloropsis*, *Tetraselmis* sp., *Chlamydomonas*, *Chaetoceros* sp. và về cuối thí nghiệm thì tảo sợi chiếm ưu thế ở độ mặn thấp. Ở độ mặn cao (80 và 100 ppt) xuất hiện ít loài tảo (8 loài) hơn ở độ mặn thấp (35 và 60ppt). Mật độ tảo dao động trong khoảng 10.000 – 210.000 tế bào/ml, có xu hướng tăng lên sau một tuần thí nghiệm và sau đó giảm dần đến cuối thí nghiệm (Bảng 7). Mật độ tảo cao nhất là nghiệm thức BF_35 ppt và khác biệt thống kê so với các nghiệm thức còn lại ($p < 0,05$).

Lavens and Sorgeloos (1996) khẳng định rằng sự phát triển của tảo khác nhau theo loài và phụ thuộc rất nhiều vào yếu tố môi trường như chất dinh dưỡng (N và P), nhiệt độ, oxy, pH, độ mặn, cường độ ánh sáng, tảo nước lợ phát triển tối ưu ở độ mặn 20 - 24 ppt.

Mật độ tảo giảm dần về cuối thí nghiệm có thể là do tảo phát triển đến cực đại sau 5-7 ngày sau đó đến pha tàn và do thí nghiệm không thay nước và không cấp thêm nước mới nên mật độ ngày càng giảm đi. Mặt khác, càng về cuối thí nghiệm thì mật độ vi khuẩn càng cao, do duy trì tỷ lệ C:N cao để kích thích cho vi khuẩn dị dưỡng phát triển. Do đó, khi vi khuẩn chiếm ưu thế chúng có thể tiết ra kháng sinh ức chế sự phát triển của tảo trong hệ thống này (Lavens and Sorgeloos, 1996).

Bảng 7: Biến động mật độ tảo trong thời gian thí nghiệm (tế bào/ml)

| Nghiệm thức | Ngày 0 | Ngày 7 | Ngày 14 | Ngày 21 |
|-------------|-----------------------------|----------------------------|---------------------------|---------------------------|
| BF_35 ppt | 199.254±2.692 ^c | 216.817±8.965 ^c | 96.999±4.679 ^c | 35.066±4.460 ^c |
| BF_60 ppt | 105.716±17.676 ^b | 83.401±1.643 ^b | 44.246±4.825 ^b | 21.411±1.539 ^b |
| BF_80 ppt | 55.451±3161 ^a | 30.411±2.499 ^a | 17.492±3.724 ^a | 18.181±56 ^{ab} |
| BF_100 ppt | 35.188± 4.632 ^a | 21.425±1.520 ^a | 12.419±1.781 ^a | 9.731±708 ^a |

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

3.4 Thành phần sinh hóa của bio-floc

Kết quả Bảng 8 biểu thị độ ẩm của bio-floc giữa các nghiệm thức tương tự nhau và không thay đổi giữa các đợt thu mẫu, dao động trong khoảng 55,33-57,63%. Hàm lượng protein và Nitơ (N) vào ngày 7 ở nghiệm thức độ mặn thấp (35 ppt và 60 ppt) cao hơn so với độ mặn cao (80 ppt và 100 ppt), trong đó, nghiệm thức BF_100 ppt thấp nhất và khác biệt có ý nghĩa so với nghiệm thức BF_35 ppt và BF_60 ppt. Vào ngày 14, hàm lượng protein và N tăng cao hơn so với ngày 7 và giảm vào ngày 21 nhưng không có sự khác biệt thống kê ($p > 0,05$) giữa các nghiệm thức. Hàm lượng lipid không thay đổi nhiều giữa các nghiệm thức độ mặn; hàm lượng tro cao vào ngày 7 và giảm thấp vào ngày 14 và 21. Hàm lượng carbon (C) vào ngày 14 cao hơn so với ngày 7, ngày 21 và tương tự giữa các nghiệm thức. Tỷ lệ C:N qua các đợt thu mẫu luôn cao hơn 10, nghiệm thức BF_35 ppt vào ngày 14 và BF_80 ppt vào ngày 12 cao hơn có ý nghĩa ($p < 0,05$) so với

các nghiệm thức còn lại.

Kuhn and Lawrence, (2012) cho rằng thành phần dinh dưỡng bio-floc thay đổi theo điều kiện môi trường, nguồn carbon cung cấp, hàm lượng TSS, độ mặn, mật độ nuôi, cường độ ánh sáng, thực vật nổi, quần xã vi khuẩn và tỉ lệ vi khuẩn chiếm trong bio-floc. Tác giả cũng nhận thấy bio-floc mới được hình thành thì vi khuẩn dị dưỡng chiếm ưu thế, sau thời gian nấm chiếm ưu thế trong cụm bio-floc. Nghiên cứu của De Schryver *et al.* (2008) cho thấy kích thước của bio-floc có liên quan đến thành phần dinh dưỡng bên trong của hạt floc. Việc phân chia kích cỡ bio-floc được tiến hành đã tìm thấy một số nhóm kích cỡ <48 μm, 48-100 μm và >100 μm. Trong đó, hạt bio-floc > 100 μm có thành phần dinh dưỡng cao nhất với hàm lượng protein là 27,8% và lipid là 7,8%, kể đến là nhóm 48-100 μm và <48μm với hàm lượng protein lần lượt là 23,4% và 17,2% với hàm lượng lipid tương ứng là 6,0% và 6,7% khối lượng khô.

Bảng 8: Thành phần sinh hóa bio-floc ở các độ mặn khác nhau (% khối lượng khô)

| | Độ ẩm | Protein | Lipid | Ash | C | N | C:N ratio |
|----------------|-------------------------|--------------------------|------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|--------------------------|
| Ngày 7 | | | | | | | |
| BF_35 ppt | 57,02±0,99 ^a | 18,47±0,79 ^b | 1,03±0,21 ^a | 68,96±4,98 ^a | 30,28±0,47 ^a | 2,95±0,13 ^b | 10,26±0,28 ^a |
| BF_60 ppt | 55,09±0,54 ^a | 18,03±0,48 ^b | 1,14±0,12 ^a | 67,41±2,61 ^a | 29,37±2,12 ^a | 2,88±0,08 ^b | 10,20±1,01 ^a |
| BF_80 ppt | 56,40±0,56 ^a | 17,09±0,81 ^{ab} | 1,03±0,14 ^a | 65,59±5,92 ^a | 27,39±2,58 ^a | 2,73±0,13 ^{ab} | 10,05±1,42 ^a |
| BF_100 ppt | 57,21±0,65 ^a | 15,22±0,11 ^a | 1,02±0,10 ^a | 60,64±3,09 ^a | 27,59±1,38 ^a | 2,44±0,02 ^a | 11,33±0,65 ^a |
| Ngày 14 | | | | | | | |
| BF_35 ppt | 56,42±0,47 ^a | 21,03±1,07 ^a | 1,20±0,17 ^a | 48,73±3,88 ^a | 45,76±1,80 ^a | 3,36±0,17 ^a | 13,63±1,23 ^b |
| BF_60 ppt | 57,09±1,12 ^a | 22,52±1,59 ^a | 1,33±0,26 ^a | 53,58±2,87 ^a | 41,74±1,78 ^a | 3,60±0,25 ^a | 11,59±0,32 ^a |
| BF_80 ppt | 55,33±0,75 ^a | 24,25±0,18 ^a | 1,20±0,10 ^a | 53,16±3,01 ^a | 44,44±2,20 ^a | 3,88±0,03 ^a | 11,46±0,65 ^a |
| BF_100 ppt | 57,63±1,01 ^a | 20,10±1,30 ^a | 1,18±0,09 ^a | 54,34±5,62 ^a | 41,15±1,46 ^a | 3,22±0,21 ^a | 12,81±0,38 ^{ab} |
| Ngày 21 | | | | | | | |
| BF_35 ppt | 57,60±0,76 ^a | 16,30±1,45 ^a | 1,15±0,17 ^a | 59,88±1,89 ^a | 32,82±2,82 ^a | 2,61±0,23 ^a | 12,58±0,04 ^a |
| BF_60 ppt | 56,98±0,90 ^a | 17,81±0,47 ^a | 1,08±0,24 ^a | 63,97±2,11 ^a | 36,93±4,03 ^a | 2,85±0,08 ^a | 12,94±1,07 ^a |
| BF_80 ppt | 55,93±0,71 ^a | 16,10±0,33 ^a | 1,11±0,17 ^a | 63,86±5,78 ^a | 39,20±2,22 ^a | 2,58±0,05 ^a | 15,21±0,55 ^b |
| BF_100 ppt | 57,00±0,37 ^a | 17,48±0,29 ^a | 1,06±0,24 ^a | 62,10±5,16 ^a | 35,77±1,18 ^a | 2,80±0,05 ^a | 12,80±0,64 ^a |

Các giá trị trong cùng một cột mang chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$)

Nhiều nghiên cứu cho rằng giá trị dinh dưỡng của bio-floc, ngoài việc cung cấp lượng đạm cần thiết (giàu acid amin) cho động vật thủy sản nuôi còn là nguồn thức ăn bổ sung, làm giảm chi phí thức ăn 10-20% và làm tăng năng suất 30-60% (De

Schryver *et al.*, 2008; Avnimelech, 2012), ngoài ra trong thành phần bio-floc còn chứa các acid béo thiết yếu và vitamin cần thiết cho tôm, cá và giàu phospho (0,38-2,39%) cung cấp khoáng cho tôm, cá (Kuhn and Lawrence, 2012). Kết quả của thí

nghiệm này tương tự với nghiên cứu của Soares *et al.* (2004), hàm lượng protein của bio-floc trong hệ thống nuôi tôm sú dao động trong khoảng 15-25%. Với thành phần dinh dưỡng của bio-floc trong nghiên cứu này biểu thị bio-floc có thể là thức ăn thích hợp cho các đối tượng thủy sản sống trong môi trường có độ mặn cao (*Artemia*).

4 KẾT LUẬN

Trong hệ thống bio-floc ở các độ mặn khác nhau (35, 60, 80 và 100 ppt), các hợp chất đạm (NH₄, NO₂, NO₃ và TN) tăng cao sau 7 ngày thí nghiệm sau đó có khuynh hướng giảm dần đến khi kết thúc thí nghiệm vào ngày 21. Ở độ mặn thấp (35 ppt), các hợp chất đạm có mức giảm nhiều hơn so với độ mặn cao (60- 100 ppt). Hàm lượng TSS và VSS tăng theo sự tăng độ mặn và tất cả có khuynh hướng tăng theo thời gian thí nghiệm.

Thể tích biofloc, mật độ tổng vi khuẩn trong nước và trong bio-floc tăng dần theo thời gian thí nghiệm, trong đó ở độ mặn thấp (35 và 60 ppt) có mật độ tổng vi khuẩn cao hơn gấp 5 -10 so với độ mặn 80 và 100 ppt vào ngày 14 và 21.

Thành phần sinh hóa của bio-floc thay đổi theo thời gian thí nghiệm, trong đó hàm lượng protein và lipid vào ngày 14 có giá trị cao hơn ngày 7 và ngày 21.

Kết quả nghiên cứu này cho thấy bio-flocs có thể gây tạo ở độ mặn cao để phục vụ nuôi các loài thủy sản chịu mặn cao.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 1995. Official Methods of Analysis. Washington. DC. USA. 1234 pp.
2. Avnimelech, Y. 2007. Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge bioflocs technology ponds. *Aquaculture* 264, 140–147.
3. Avnimelech, Y. 2012. *Biofloc Technology - A Practical Guide Book*, 2nd Edition. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, United State
4. Bernhard, A.E., Donn, T., Giblin, A.E. and Stah, D.A. 2005. Loss of diversity of ammonia-oxidizing bacteria correlates with increasing salinity in an estuary system. *Environmental Microbiology* 7, 1289–1297.
5. De Schryver, P., R. Crab, T. Defroit, N. Boon, and W. Verstraete. 2008. The basic

of bio-flocs technology: The added value for aquaculture. *Aquaculture* 277, 125-137.

6. Deng, Y., Xu, G and Liying Sui, L. 2013. Isolation and identification of Halophilic bacteria from solar saltern ponds. International Workshop on Brine Shrimp *Artemia* in Solar Saltworks: Functional Role and Sustainable Resource, Tianjin, China. 26-28, April, 2013.
7. Emerenciano, M., Gaxiola, G. and Cuzon, G. 2013. Biofloc Technology (BFT): A Review for aquaculture application and animal food industry. The Creative Commons Attribution License, 301-327.
8. Hargreaves, J.A. 2013. Biofloc Production Systems for Aquaculture. Southern regional aquaculture center. SRAC Publication No. 4503.
9. Huynh Thanh Toi, Boeckx, P., Sorgeloos, P., Bossier, P. and Van Stappen, G. 2013. Bacteria contribute to *Artemia* nutrition in algae-limited conditions: A laboratory study. *Aquaculture* 7, 388-391.
10. Kuhn, D.D and Lawrence, A. 2012. Ex-situ biofloc technology. In: Avnimelech Y, editor. *Biofloc Technology - A practical guide book*, 2nd ed., The World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, USA. pp. 217-230.
11. Lavens, P., and P. Sorgeloos, 1996. Manual on the production and use of live food for aquaculture. FAO Technical Paper No. 361. Food and Agriculture Organisation of the United Nations, Rome.
12. Lê Văn Cát và Phạm Thị Hồng Đức. 2010. Nghiên cứu động học quá trình nitrat hóa sử dụng kỹ thuật vi sinh tầng chuyển động trong môi trường nước mặn. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ* tập 48, số 3, 1-10.
13. Lục Minh Diệp, 2012. Ứng dụng công nghệ biofloc, giải pháp kỹ thuật thay thế cho nghề nuôi tôm he thương phẩm hiện nay tại Việt Nam. Kỷ yếu hội thảo khoa học ứng dụng công nghệ mới trong nuôi trồng thủy sản: 3-13.
14. Metcalf and Eddy, 2003. *Wastewater Engineering: Treatment and Reuse*, 4th edition. McGraw-Hill, 119 pp.
15. Moriarty, D.J.W. 1997. The role of microorganisms in aquaculture ponds. *Aquaculture* 151, 333–349.

16. Nguyễn Trần Hải Nam. 2012. Ảnh hưởng của tỷ lệ C:N trong nguồn thức ăn bổ sung đến sự phát triển của vi khuẩn dị dưỡng, sản lượng và chất lượng trứng bào xác trong ao nuôi *Artemia*. Báo cáo đề tài khoa học và công nghệ cấp Bộ, Trường Đại học Cần Thơ, 74 trang.
17. Andrew J. Ray, A.J., Lewis, B.L., Browdy, C.L. and Leffler, J.W. 2010. Suspended solids removal to improve shrimp (*Litopenaeus vannamei*) production and an evaluation of a plant-based feed in minimal-exchange, super-intensive culture systems. *Aquaculture* 299, 89–98.
18. Ray, A. 2012. Biofloc technology for super-intensive shrimp culture. In: Avnimelech Y, editor. *Biofloc Technology - A practical guide book*, 2nd ed., The World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, USA. pp. 167-188.
19. Soares, R., Jackson, C., Coman, F., Preston, N. 2004. Nutritional composition of flocculated material in experimental zero-exchange system for *Penaeus monodon*. In: *Australian Aquaculture, 2004 WAS*, Sydney. pp.89.