



(12) **BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ**

(19) **Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt nam (VN)**
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ

(11) 
1-0019360

(51)⁷ **C02F 3/34, 101/10, 103/20**

(13) **B**

(21)	1-2009-02410	(22)	09.04.2008
(86)	PCT/US2008/059714	09.04.2008	(87) WO2008/127933
(30)	60/911,718	13.04.2007 US	23.10.2008
(45)	25.07.2018	364	(43) 25.03.2010
(73)	NOVOZYMES BIOLOGICALS, INC. (US)		
	5400 Corporate Circle, Salem, Virginia 24153, United States of America		
(72)	DRAHOS, David (US), TATARKO, Matt (US)		
(74)	Công ty TNHH T&T INVENMARK Sở hữu trí tuệ Quốc tế (T&T INVENMARK CO., LTD.)		

(54) **PHƯƠNG PHÁP XỬ LÝ NƯỚC ĐỂ CẢI THIẾN SẢN LƯỢNG VÀ/HOẶC CHẤT LƯỢNG CỦA ĐỘNG VẬT DƯỚI NƯỚC VÀ ĐỘNG VẬT BIỂN**

(57) Sáng chế đề cập đến phương pháp xử lý khối nước nuôi động vật dưới nước hoặc động vật biển bao gồm bước cho khối nước này tiếp xúc với một hoặc nhiều vi khuẩn oxy hóa lưu huỳnh, chẳng hạn như vi khuẩn được chọn từ chi *Paracoccus* với lượng đủ để kiểm soát, làm giảm, hoặc loại bỏ H_2S trong khối nước. Một hoặc nhiều vi khuẩn oxy hóa lưu huỳnh được chọn từ chi *Paracoccus* được sử dụng cho môi trường bị nhiễm H_2S với lượng đã định trước để cải thiện sản lượng và chất lượng của động vật dưới nước hoặc động vật biển trong đó.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến phương pháp xử lý nước nói chung và cụ thể là đến phương pháp kiểm soát hàm lượng hydro sulfua trong môi trường nước và môi trường biển. Phương pháp này có thể được sử dụng để dùng cho ao nuôi động vật dưới nước hoặc động vật biển và bùn cần xử lý để kiểm soát, làm giảm đến mức tối thiểu và/hoặc loại bỏ lượng hydro sulfua (H_2S) để làm tăng sản lượng và/hoặc chất lượng của động vật dưới nước và động vật biển.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Nhiều môi trường nước và biển, chẳng hạn như các khu nuôi cá, bể, ao, đầm phá, hồ, cửa sông, và đại dương chứa một hoặc nhiều vùng ưa khí và một hoặc nhiều vùng kỵ khí trong khối nước. Ở các vùng ưa khí gần bề mặt của khối nước, không khí và gió cung cấp oxy và vi khuẩn ưa khí tổng hợp ra, trong số đó có, phosphat, cacbon dioxit và amoniac. Ở các vùng kỵ khí gần đáy cột nước, các vi sinh vật kỵ khí có xu hướng tổng hợp, trong số đó có, hydro sulfua, amoniac và metan. Sự tích tụ hydro sulfua ở các vùng kỵ khí và bùn bên dưới là độc và không mong muốn vì chúng ảnh hưởng đến quần thể động vật dưới nước và động vật biển. Trong một vài trường hợp, chẳng hạn như các ao nuôi cá và tôm thương mại, nơi mà các quần thể này sống hoặc ở gần đáy khối nước trong hoặc gần vùng kỵ khí, sự tích tụ hydro sulfua làm giảm sản lượng của quần thể này và/hoặc chất lượng của từng cá thể trong quần thể.

Một vài nghiên cứu về các vấn đề có liên quan đến các vùng kỵ khí là đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này. Ví dụ, các chất oxy hóa hóa học, chẳng hạn như ozon, clo dioxit, và hydro, canxi, hoặc magie peroxit, có thể được bổ

sung vào khối nước để làm giảm bớt điều kiện kỵ khí. Mặc dù, các phương pháp này có thể có hiệu quả, nhưng chi phí cho các phương pháp này cao, buộc người sử dụng phải giảm đến mức tối thiểu lượng chất oxy hóa bổ sung vào khối nước. Nhu cầu tiết kiệm này có thể có hại vì nó dẫn đến giảm liều lượng. Việc giảm liều lượng còn có nhiều vấn đề phải vì nó có thể gây oxy hóa không hoàn toàn hoặc một phần, dẫn đến phát sinh mùi. Nếu clo dioxit được bổ sung vào các axit hữu cơ, thì quá trình oxy hóa không hoàn toàn có thể dẫn đến sự tạo ra axit cloroaxetic, dẫn đến có mùi hôi vốn dễ nhận thấy ngay ở nồng độ rất thấp. Tuy nhiên, việc khử mùi được thực hiện và có thể gây hại cho động vật dưới nước hoặc động vật biển trong môi trường, chẳng hạn như tôm hoặc cá.

Các phương pháp đã biết khác để kiểm soát lượng hydro sulfua bao gồm xử lý nước bằng oxy. Ví dụ, US 5,876,990 đã mô tả hệ môi trường sinh hóa để làm giảm sự ô nhiễm. Hệ này bao gồm môi trường thứ nhất cung cấp chất kích thích oxy để phân tán từ từ vào môi trường nước, và môi trường thứ hai cung cấp chất cung cấp oxy. Hai môi trường này được trộn với nhau trong môi trường chứa nước để tạo ra oxy mới sinh ở tốc độ phù hợp sao cho lượng oxy này được hấp thụ vào môi trường nước xung quanh, thúc đẩy sự phát triển của các loài hiếu khí và làm giảm sự ô nhiễm sinh học. Tuy nhiên, việc sử dụng hệ này không làm thay đổi căn bản nồng độ hydro sulfua trong bùn dưới cột nước và cũng có thể gây hại cho động vật dưới nước và động vật biển trong môi trường này. Hơn thế nữa, chi phí cho việc xử lý này có thể đắt hơn nhiều so với lợi ích kinh tế tiềm năng thu được từ việc xử lý này đối với các khu nuôi tôm hoặc cá.

Được quan tâm là US 7,160,712 đề cập đến các phương pháp xử lý mùi trong các khối xử lý nước thải. Ở đây, các vấn đề về mùi được xử lý bằng cách thay đổi tính chất hóa học của nước để làm giảm các chất hóa học chứa lưu huỳnh không có lợi về mặt nhiệt động, và vi khuẩn, chẳng hạn

Paracoccus pantotrophus được bổ sung vào nước. Tuy nhiên, tài liệu này không gợi ý việc sử dụng các phương pháp này để cải thiện sản lượng và/hoặc chất lượng của các động vật dưới nước và động vật biển chẳng hạn như các khu nuôi cá thương mại.

Các phương pháp khác để làm giảm hàm lượng hydro sulfua trong môi trường nuôi trồng thủy sản bị nhiễm bẩn bao gồm việc thay một phần nước. Tuy nhiên, phương pháp thau rửa này có thể không khả thi, đắt, và tiềm ẩn nguy hại nếu nước rửa đưa vào các chất gây ô nhiễm, chẳng hạn virus và/hoặc mầm bệnh.

Trong các hóa chất và phương pháp làm sạch nước có thể có hiệu quả làm giảm hàm lượng hydro sulfua, nhưng các phương pháp này đắt và có thể làm giảm sản lượng và/hoặc chất lượng của động vật dưới nước hoặc động vật biển sinh trưởng trong đó. Do đó, mong muốn có một hệ sinh học hoặc sinh hóa, không gặp phải nhiều vấn đề, có hiệu quả kiểm soát được lượng hydro sulfua tích tụ trong môi trường nước hoặc môi trường biển và bùn của hệ hóa sinh này.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Nhận thấy rằng sản lượng và/hoặc chất lượng của động vật dưới nước và động vật biển có thể được cải thiện bằng cách xử lý điều kiện kỵ khí trong khối nước và/hoặc bùn của nó. Các phương pháp xử lý bao gồm việc bổ sung một lượng hữu hiệu của một hoặc nhiều vi khuẩn oxy hóa lưu huỳnh, chẳng hạn như các vi khuẩn được chọn từ chi *Paracoccus* vào khối nước và/hoặc vào bùn ao. Các vi khuẩn oxy hóa lưu huỳnh có khả năng oxy hóa sulfua (S^{2-}) thành lưu huỳnh nguyên tố (S^0), (S^{4+}) tồn tại dưới dạng sulfite (SO_3^{2-}), hoặc (S^{6+}) tồn tại dưới dạng sulfate SO_4^{2-} . Theo các phương án, phương pháp xử lý này còn bao gồm một hoặc nhiều bước làm thay đổi tính chất hóa học của nước để làm giảm các loại chất hóa học chứa lưu huỳnh không có lợi về mặt nhiệt động.

Vì vậy, mục đích của sáng chế là đề xuất một hoặc nhiều phương pháp mới để xử lý khối nước và/hoặc bùn bằng cách cho khối nước và/hoặc bùn của nó tiếp xúc với một lượng hữu hiệu của một hoặc nhiều vi khuẩn oxy hóa lưu huỳnh được chọn từ chi *Paracoccus*.

Các phương pháp theo sáng chế là thích hợp trong đó các dạng hydro sulfua tạo thành trong khối nước và/hoặc lớp bùn gần đáy khối nước, và theo các phương án, trong đó lượng nitrat đủ sẵn có để đóng vai trò là chất nhận electron. Khối nước thích hợp bao gồm các môi trường nuôi trồng thủy sản, bể, ao, ruộng, khu nuôi cá, hồ, suối, sông, đại dương, cửa sông, đầm phá, các phần bị ô nhiễm của chúng và các loại hình kết hợp của chúng.

Theo các phương án, phương pháp xử lý các động vật dưới nước hoặc động vật biển bao gồm bước cho khối nước hoặc bùn của nó, hoặc cần được xử lý hoặc cần được khử ô nhiễm, tiếp xúc với một hoặc nhiều vi khuẩn oxy hóa lưu huỳnh được chọn từ chi *Paracoccus* với lượng đủ để kiểm soát, làm giảm, hoặc loại bỏ H_2S trong khối nước hoặc trong bùn. Theo các phương án, lượng vi khuẩn oxy hóa lưu huỳnh là đủ để tạo ra nồng độ vi khuẩn oxy hóa lưu huỳnh trong bùn nằm trong khoảng từ 100CFU/g đến 100000CFU/g. Theo các phương án, lượng vi khuẩn oxy hóa lưu huỳnh là đủ để tạo ra được nồng độ vi khuẩn oxy hóa lưu huỳnh trong khối nước nằm trong khoảng từ 100CFU/ml đến 100000CFU/ml. Khối nước này có thể là khu nuôi trồng thủy sản, bể, ao, đầm phá, hồ, cửa sông, đại dương, vùng bị ô nhiễm của chúng, hoặc các loại hình kết hợp của chúng. Theo các phương án, các phương pháp thích hợp có thể bao gồm bước làm thay đổi tính chất hóa học của khối nước bằng cách tạo ra nồng độ nitrat trong khối nước nằm trong khoảng từ 0,01ppm đến 500ppm, hoặc nồng độ nitrat trong khối nước nằm trong khoảng từ 1,0ppm đến 250ppm, hoặc nồng độ nitrat trong khối nước nằm trong khoảng từ 0,01ppm đến 10ppm. Ví dụ, hóa học của khối nước có thể được thay đổi bằng cách tạo ra nồng độ nitrat trong khối nước bằng 200ppm hoặc

khoảng 200ppm. Các phương pháp này cũng có thể bao gồm bước cho động vật dưới nước hoặc động vật biển chẳng hạn như động vật thủy sản, tôm biển/nước lợ, tôm hùm, tôm sông, cá sống dưới đáy, cá, tôm, hào, trai, sò, động vật thân mềm, và hỗn hợp của chúng vào trong khối nước. Theo các phương án, lượng hữu hiệu vi khuẩn oxy hóa lưu huỳnh này là lượng đủ để duy trì hàm lượng H_2S dưới 1ppm (phần triệu) trong ít nhất một tuần. Theo các phương án, lượng *Paracoccus* nằm trong khoảng từ 0,01ppm đến 500ppm. Theo sáng chế, cũng có thể bổ sung các vi sinh vật khác.

Theo các phương án, phương pháp làm tăng sản lượng động vật dưới nước và động vật biển trong khối nước bao gồm các bước: làm giảm hàm lượng H_2S trong khối nước và bùn của nó bằng cách tạo ra quần thể vi khuẩn oxy hóa lưu huỳnh được chọn từ chi *Paracoccus* (bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở *Paracoccus pantotrophus*) trong khối nước với lượng nằm trong khoảng từ 100CFU/ml đến 100000CFU/ml và trong bùn với lượng nằm trong khoảng từ 100CFU/g đến 100000CFU/g; và làm thay đổi tính chất hóa học của khối nước bằng cách tạo ra nồng độ nitrat trong khối nước nằm trong khoảng từ 0,01ppm đến 500ppm. Các phương pháp này bao gồm bước làm thay đổi tính chất hóa học của khối nước bao gồm bước tạo ra mức oxy hóa khử tiềm năng trong khối nước hoặc trong bùn của khối nước này ít nhất bằng -330mV, trong đó hàm lượng H_2S cuối cùng trong khối nước là dưới 1ppm. Theo các phương án, hàm lượng H_2S cuối cùng trong khối nước hoặc bùn là dưới 0,5ppm, 0,4ppm, hoặc 0,3ppm. Theo các phương án, hàm lượng H_2S cuối cùng trong khối nước hoặc bùn nằm trong khoảng từ 0,1ppm đến 0,5ppm. Theo các phương án, các phương pháp này bao gồm việc tạo ra độ pH trong khối nước nằm trong khoảng từ 6,0 đến 8,5. Theo các phương án, sản lượng được tăng so với khối nước tương đương hoặc gần tương đương không được bổ sung vi khuẩn oxy hóa lưu huỳnh theo sáng chế.

Theo các phương án, phương pháp làm tăng chất lượng hoặc sản lượng động vật dưới nước và động vật biển trong khối nước bao gồm các bước: giảm hàm lượng H_2S trong khối nước bằng cách tạo ra quần thể vi khuẩn oxy hóa lưu huỳnh được chọn từ chi *Paracoccus* trong khối nước với lượng nằm trong khoảng từ 100CFU/ml đến 100000CFU/ml; và làm thay đổi tính chất hóa học của khối nước bằng cách tạo ra nồng độ nitrat trong khối nước nằm trong khoảng từ 1ppm đến 250ppm, trong đó, hàm lượng cuối của H_2S trong khối nước nằm trong khoảng từ 0,1ppm đến 0,5ppm. Theo các phương án, các phương pháp này bao gồm bước bổ sung động vật dưới nước hoặc động vật biển vào khối nước, trong đó các động vật này được chọn từ nhóm bao gồm động vật thủy sản, tôm biển/nước lợ, tôm hùm, lươn, tôm càng, cá sống dưới đáy, cá, tôm nước ngọt, hàu, trai, sò, động vật thân mềm, và tổ hợp các động vật này. Các phương pháp theo sáng chế là thích hợp để làm tăng sản lượng và chất lượng sinh vật bất kỳ được nuôi trong khu nuôi trồng thủy sản bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, động vật thủy sản và/hoặc thực vật. Theo các phương án, phương pháp này bao gồm bước đưa vi khuẩn oxy hóa lưu huỳnh vào trong khối nước để thu được nồng độ ban đầu của vi khuẩn trong khối nước nằm trong khoảng từ 100CFU/ml đến 100000CFU/ml cho đến khi thu hoạch động vật dưới nước hoặc động vật biển hoặc biểu hiện có lợi mong muốn khác.

Theo các phương án, sáng chế đề cập đến một hoặc nhiều chế phẩm để xử lý động vật dưới nước và động vật biển chứa, trong đó chế phẩm này chứa *Paracoccus pantotrophus* với lượng đã định trước.

Các phương án theo sáng chế bao gồm một hoặc nhiều hỗn hợp các vi sinh vật mà được sử dụng phối hợp để làm giảm, loại bỏ hoặc kiểm soát H_2S trong khối nước hoặc bùn. Ví dụ, hỗn hợp chứa *Paracoccus pantotrophus* với lượng đã định trước cùng với một hoặc nhiều vi sinh vật khác được mô tả.

Theo các phương án, chế phẩm theo sáng chế chứa ít nhất một vi sinh vật khác mà bao gồm *Bacillus alkalophilus*, *Bacillus brevis*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus circulans*, *Bacillus clausii*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus lentus*, *Bacillus amyoliquofaciens*, *Bacillus lautus*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus stearothermophilus*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus pasteurii*, *Bacillus thuringiensis* hoặc hỗn hợp của chúng. Theo các phương án, chế phẩm theo sáng chế chứa ít nhất một trong số các vi sinh vật *Bacillus* nêu trên, trong đó *Paracoccus* như *Paracoccus pantotrophus* và *Bacillus* được trộn với nhau để tạo thành hỗn hợp được đặc trưng bởi tỷ lệ khối lượng nằm trong khoảng từ 4:1 đến 1:4. Theo các phương án, chế phẩm theo sáng chế chứa *Bacillus megaterium*, trong đó *Paracoccus pantotrophus* và *Bacillus megaterium* được trộn với nhau để tạo thành hỗn hợp được đặc trưng bởi tỷ lệ khối lượng nằm trong khoảng từ 4:1 đến 1:4.

Theo các phương án, sáng chế đề cập đến phương pháp xử lý động vật dưới nước hoặc động vật biển bao gồm các bước: cho khối nước hoặc bùn của nó tiếp xúc với một hoặc nhiều vi khuẩn oxy hóa lưu huỳnh với lượng đủ để kiểm soát, làm giảm, hoặc loại bỏ H_2S trong khối nước hoặc bùn. Một hoặc nhiều vi khuẩn oxy hóa lưu huỳnh có thể được trộn với vi khuẩn khác, như *Bacillus* tùy thuộc vào mục đích xử lý và các điều kiện nước. Hỗn hợp này có thể được tạo ra với các tỷ lệ khối lượng khác nhau.

Các phương pháp kiểm soát, làm giảm và/hoặc làm giảm đến mức tối thiểu lượng hydro sulfua bằng cách cho khối nước và/hoặc bùn tiếp xúc với riêng *Paracoccus pantotrophus* hoặc kết hợp với các vi khuẩn khác cũng được mô tả, cùng với các chế phẩm thích hợp để sử dụng theo sáng chế.

Mô tả chi tiết sáng chế

Trong các vùng kỵ khí gần đáy cột nước hoặc trong bùn đáy, các vi sinh vật kỵ khí như vi khuẩn khử sulfat (SRB: sulfate reducing bacteria) có xu hướng tạo ra, trong số đó có, hydro sulfua, amoniac và metan. Ví dụ, vi khuẩn

khử lưu huỳnh (SRB) khử lưu huỳnh trong các hợp chất chứa sulfat (SO_4^{2-}) (S^{6+}) thành (S^{2-}) làm chất nhận điện tử cuối và sinh ra hydro sulfua (H_2S) trong quá trình này. Sự tích tụ hydro sulfua (H_2S) trong nước hoặc bùn đáy chứa động vật dưới nước và động vật biển, như ao nuôi trồng thủy sản thương mại, sẽ làm ảnh hưởng và tiêu diệt động vật dưới nước và động vật biển như tôm biển/nước lợ, một số loài động vật thủy sản như cá sống dưới đáy, tôm hùm, và tôm càng, hoặc sinh vật nuôi trồng thủy sản bất kỳ mà có xu hướng sống ở đáy của khối nước. Để làm tăng sản lượng và/hoặc chất lượng động vật dưới nước và động vật biển, mức tích tụ tăng hoặc gây độc của H_2S ở lớp kỵ khí và/hoặc bùn phía dưới có thể được kiểm soát, giảm và/hoặc loại bỏ. Do đó, hiện đã phát hiện thấy rằng sản lượng và/hoặc chất lượng của động vật dưới nước và động vật biển có thể được cải thiện bằng cách bổ sung một lượng hữu hiệu vi khuẩn oxy hóa lưu huỳnh như *Paracoccus pantotrophus* vào khối nước hoặc bùn đáy. Theo các phương án, phương pháp xử lý này còn bao gồm thêm một hoặc nhiều bước mà làm thay đổi tính chất hóa học nước để khử các chất hóa học chứa lưu huỳnh không có lợi.

Do đó, sáng chế đề xuất các phương pháp và chế phẩm để xử lý môi trường dưới nước hoặc môi trường biển thích hợp để nuôi động vật dưới nước và động vật biển. Các phương pháp theo sáng chế bao gồm bước đưa một lượng đã định trước chứa vi khuẩn oxy hóa lưu huỳnh như *Paracoccus pantotrophus* vào vùng cần kiểm soát hoặc xử lý chẳng hạn như vùng bị nhiễm H_2S . Vi khuẩn oxy hóa lưu huỳnh này có thể nằm trong dung dịch và sẵn có để làm giảm, kiểm soát và/hoặc loại bỏ H_2S . Theo các phương án, các phương pháp xử lý thích hợp bao gồm bổ sung vi khuẩn, chẳng hạn *Paracoccus pantotrophus* (trước đây được gọi là *Thiosphaera pantotropha*), có khả năng oxy hóa sulfua (S^{2-}) thành lưu huỳnh nguyên tố (S^0), (S^{4+}) tồn tại dưới dạng sulfit (SO_3^{2-}), hoặc (S^{6+}) tồn tại dưới dạng sulfat SO_4^{2-} . Theo một phương án, *Paracoccus pantotrophus* (chủng 35512 theo ATCC, LMD (Delft

Collection of Microorganisms) 82.5) được bổ sung độc lập với lượng hữu hiệu để xử lý khối nước và/hoặc bùn bị ô nhiễm.

Ví dụ thích hợp không giới hạn về vi khuẩn oxy hóa lưu huỳnh để sử dụng theo sáng chế bao gồm một hoặc nhiều vi khuẩn được chọn từ chi *Paracoccus*. Ví dụ không giới hạn về chi *Paracoccus* thích hợp bao gồm : *P. alcaliphilus*, *P. alkenifer*, *P. aminophilus*, *P. aminovorans*, *P. cartinifaciens*, *P. denitrificans*, *P. kocurii*, *P. marcusii*, *P. methylytens*, *P. pantotrophus*, *P. solventivorans*, *P. thiocyanatus*, *P. versustus* và hỗn hợp của chúng. Theo các phương án, chỉ sử dụng *P. pantotrophus* là thích hợp để sử dụng theo sáng chế. Theo các phương án, hỗn hợp *P. pantotrophus* và một hoặc nhiều *Paracoccus* khác là thích hợp để sử dụng theo sáng chế. Theo các phương án, vi khuẩn oxy hóa lưu huỳnh bất kỳ và/hoặc hỗn hợp của chúng có thể thích hợp để sử dụng theo sáng chế. Ví dụ, hỗn hợp bao gồm *P. pantotrophus* và một hoặc nhiều vi khuẩn oxy hóa lưu huỳnh có thể thích hợp để sử dụng theo sáng chế.

Ví dụ không giới hạn khác về các hỗn hợp thích hợp bao gồm *P. pantotrophus* phối hợp với *P. alcaliphilus*; *P. pantotrophus* phối hợp với *P. alkenifer*; *P. pantotrophus* phối hợp với *P. aminophilus*; *P. pantotrophus* phối hợp với *P. aminovorans*; *P. pantotrophus* phối hợp với *P. cartinifaciens*; *P. pantotrophus* phối hợp với *P. denitrificans*; *P. pantotrophus* phối hợp với *P. kocurii*; *P. pantotrophus* phối hợp với *P. marcusii*; *P. pantotrophus* phối hợp với *P. methylytens*; *P. pantotrophus* phối hợp với *Bacillus megaterium*; *P. pantotrophus* phối hợp với *P. solventivorans*; *P. pantotrophus* phối hợp với *P. thiocyanatus*; *P. pantotrophus* phối hợp với *P. versustus*.

Các hỗn hợp thích hợp khác bao gồm *P. pantotrophus* phối hợp với hai loại vi khuẩn khác. Ví dụ, *P. pantotrophus* phối hợp với *P. alcaliphilus* và *P. alkenifer*; *P. pantotrophus* phối hợp với *P. alkenifer* và *P. aminophilus*; *P. pantotrophus* phối hợp với *P. aminovorans* và *P. cartinifaciens*; *P.*

pantotrophus phối hợp với *P. denitrificans* và *P. kocurii*; *P. pantotrophus* phối hợp với *P. marcusii* và *P. methylutens*; *P. pantotrophus* phối hợp với *P. pantotrophus* và *P. solventivorans*; *P. pantotrophus* phối hợp với *P. thiocyanatus* và *P. versustus*. Các hỗn hợp khác gồm *P. pantotrophus* với hai loại vi khuẩn dễ dàng được hiểu bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Các hỗn hợp thích hợp khác bao gồm *P. pantotrophus* phối hợp với ba vi khuẩn khác. Ví dụ, *P. pantotrophus* phối hợp với *P. alcaliphilus*, *P. alkeniferv* và *P. aminophilus*; *P. pantotrophus* phối hợp với *P. aminovorans*, *P. cartinifaciens* và *P. denitrificans*; *P. pantotrophus* phối hợp với *P. marcusii*, *P. kocurii* và *P. methylutens*; *P. pantotrophus* phối hợp với *P. solventivorans*, *P. thiocyanatus* và/hoặc *P. versustus*. Các hỗn hợp khác bao gồm *P. pantotrophus* với ba vi khuẩn là dễ dàng được hiểu bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Các hỗn hợp thích hợp khác bao gồm *P. pantotrophus* phối hợp với bốn, năm, sáu, bảy, tám, chín, mười, mười một, mười hai, mười ba, mười bốn, mười lăm, v.v. loại vi khuẩn khác. Hỗn hợp khác gồm có *P. pantotrophus* với nhiều vi khuẩn dễ dàng được hiểu bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Theo các phương án, một hoặc nhiều vi khuẩn oxy hóa lưu huỳnh như các vi khuẩn được chọn từ chi *Paracoccus* có thể được sử dụng cho một hoặc nhiều khối nước để kiểm soát, làm giảm đến mức tối thiểu và/hoặc loại bỏ H_2S không mong muốn để thúc đẩy các quần thể động vật dưới nước và/hoặc động vật biển. Theo sáng chế, thuật ngữ “xử lý” chỉ việc sử dụng vi khuẩn theo sáng chế như các vi khuẩn được chọn từ chi *Paracoccus* để ngăn ngừa theo cách dự phòng sự tích lũy H_2S mà có thể có tác động bất lợi lên quần thể động vật dưới nước và/hoặc động vật biển, hoặc để cải thiện mức nhiễm H_2S hiện có có tác động bất lợi lên quần thể động vật dưới nước và/hoặc động vật

biển. Hiện số lần xử lý khác nhau có thể được thực hiện để thúc đẩy sản lượng và chất lượng của quần thể động vật dưới nước và/hoặc động vật biển như tôm biển/nước lợ, tôm hùm, tôm càng, cá sống dưới đáy, các vi sinh vật thích hợp để nuôi trồng thủy sản, và hỗn hợp của các quần thể động vật dưới nước và/hoặc động vật biển.

Phương thức hoạt động của vi khuẩn oxy hóa lưu huỳnh là đã biết và còn được mô tả trong US 7,160,712. Mặc dù, không muốn bị ràng buộc bởi cách mô tả bất kỳ, kể cả theo sáng chế, cho rằng các vi khuẩn oxy hóa lưu huỳnh và khử lưu huỳnh sử dụng chất hữu cơ hòa tan được đánh giá về nhu cầu oxy sinh hóa trong 5 ngày hoặc BOD_5 làm nguồn năng lượng. Một số vi khuẩn, như *Paracoccus* có thể sử dụng các hợp chất chứa lưu huỳnh đã được khử (tức là, H_2S), làm nguồn năng lượng của chúng. Nếu không sẵn có các lượng thích hợp trong khối nước, vi khuẩn này cũng cần chất nhận điện tử để chuyển hóa các nguồn năng lượng. Đặc tính của chất nhận điện tử có mặt trong nước thường kích thích chủng vi khuẩn mà phát triển mạnh trong môi trường này. Phản ứng có lợi nhất về mặt năng lượng trong nước thường là phản ứng khử oxy (O_2) thành nước (H_2O). Sự có mặt oxy hòa tan trong nước thường cho phép vi khuẩn không có khả năng sử dụng các hợp chất lưu huỳnh làm chất nhận điện tử cuối để chuyển hóa chất hữu cơ trong nước. Ngoài ra, vi khuẩn khử lưu huỳnh nhiều nhất có khả năng sử dụng oxy hơn là lưu huỳnh làm chất nhận điện tử cuối, và sẽ sử dụng oxy nếu sẵn có lượng đủ trong nước. Nếu không có đủ oxy, vi khuẩn khử lưu huỳnh sử dụng lưu huỳnh trong các hợp chất chứa sulfat SO_4^{2-} làm chất nhận điện tử cuối và sinh ra hydro sulfua (H_2S) trong quá trình này.

Theo sáng chế “nhiễm H_2S ” chỉ mức biểu hiện H_2S để phát hiện bất kỳ. Mức biểu hiện này có thể do một số yếu tố gây ra, như, ví dụ loại và lượng vi khuẩn có mặt, lượng chất dinh dưỡng trong cột nước, lượng oxy hòa tan và/hoặc các trạng thái môi trường bị ảnh hưởng hoặc bị rối loạn chức năng

khác. Ví dụ không giới hạn về mức biểu hiện này bao gồm tăng tốc độ phát triển của vi khuẩn kỵ khí, làm ảnh hưởng và/hoặc tiêu diệt các quần thể dưới nước và động vật thủy sinh, và/hoặc làm giảm chất lượng động vật dưới nước và động vật biển như kích thước và hình dạng của các động vật này bị giảm. Ví dụ, các mức biểu hiện này bao gồm sản lượng và chất lượng của các động vật sống dưới đáy bị giảm như động vật thủy sản, tôm biển/nước lợ, tôm hùm, cá sống dưới đáy, vi sinh vật nuôi trồng thủy sản, hoặc tôm càng sống trong vùng kỵ khí hoặc gần vùng kỵ khí. Cần hiểu rằng các mức biểu hiện là không giới hạn và chỉ là một phần các mức biểu hiện này thích hợp để xử lý theo sáng chế được nêu ở đây.

Theo các phương án, chế phẩm để sử dụng theo sáng chế chứa một hoặc nhiều vi khuẩn oxy hóa lưu huỳnh, như các vi khuẩn được chọn từ chi *Paracoccus* với lượng hữu hiệu để cải thiện các điều kiện của nước và/hoặc làm giảm mức biểu hiện bất lợi của H_2S . Theo sáng chế “lượng hữu hiệu” chỉ lượng vi khuẩn oxy hóa lưu huỳnh thích hợp để mang lại lợi ích tích cực cụ thể ở các quần thể động vật dưới nước hoặc động vật biển như sản lượng của toàn bộ quần thể tăng và/hoặc kích thước và chất lượng của mỗi vi sinh vật trong quần thể này tăng. Lợi ích tích cực có thể mang tính chất bổ sung trong tự nhiên khi mà sinh vật này trông to hơn hoặc khỏe mạnh hơn ở bên ngoài hoặc có liên quan đến sức khỏe hoặc tổ hợp của hai loại này. Theo các phương án, lợi ích tích cực này đạt được bằng cách cho môi trường dưới nước bị nhiễm H_2S tiếp xúc với hỗn hợp vi khuẩn như các vi khuẩn được chọn từ chi *Paracoccus* để cải thiện sản lượng và/hoặc chất lượng của động vật dưới nước và/hoặc động vật biển. Phương pháp xử lý này bao gồm bước cho các môi trường dưới nước bị ô nhiễm H_2S tiếp xúc với một lượng vi khuẩn được chọn từ chi *Paracoccus* hữu hiệu để loại bỏ H_2S , và/hoặc làm giảm H_2S đến mức không gây độc ngay lập tức hoặc không gây bất lợi cho động vật dưới nước hoặc động vật biển, ví dụ, đến mức dưới 0,03ppm ở pH nằm trong khoảng từ 6,0 đến 9,0 trong khối nước và/hoặc bùn ngay dưới cột nước. Theo

các phương án, hàm lượng H_2S cuối cùng trong khối nước hoặc bùn nằm trong khoảng từ 0,01ppm đến 0,5ppm, hoặc từ 0,1ppm đến 0,5ppm.

Nồng độ vi khuẩn oxy hóa lưu huỳnh cụ thể được sử dụng thường tùy thuộc vào mục đích sử dụng các vi khuẩn này. Ví dụ, liều lượng và tần suất sử dụng có thể thay đổi tùy thuộc vào loại và mức nhiễm H_2S . Theo các phương án, một hoặc nhiều vi khuẩn oxy hóa lưu huỳnh, như các vi khuẩn được chọn từ chi *Paracoccus* được sử dụng cho khối nước với lượng đủ để tạo ra nồng độ vi khuẩn oxy hóa lưu huỳnh trong khối nước nằm trong khoảng từ 100 đến 100000CFU/ml, hoặc trong bùn đáy với lượng nằm trong khoảng từ 100 đến 100000CFU/g. Theo một vài phương án, một hoặc nhiều vi khuẩn oxy hóa lưu huỳnh, như vi khuẩn được chọn từ chi *Paracoccus* được sử dụng cho khối nước với lượng thích hợp để tạo ra nồng độ vi khuẩn oxy hóa lưu huỳnh trong khối nước nằm trong khoảng từ 1000CFU/ml đến 10000CFU/ml, hoặc trong bùn đáy với lượng nằm trong khoảng từ 1000CFU/g đến 10000CFU/g. Theo các phương án, một hoặc nhiều vi khuẩn oxy hóa lưu huỳnh như vi khuẩn được chọn từ chi *Paracoccus* được sử dụng cho khối nước với lượng đủ để tạo ra nồng độ vi khuẩn oxy hóa lưu huỳnh trong khối nước với lượng nằm trong khoảng từ 5000CFU/ml đến 10000CFU/ml, hoặc trong bùn đáy với lượng nằm trong khoảng từ 5000CFU/g đến 10000CFU/g. Theo sáng chế, CFU/ml chỉ số lượng đơn vị tạo khuẩn lạc trong mỗi mililit, và CFU/g chỉ số lượng đơn vị tạo khuẩn lạc trong mỗi gam.

Theo các phương án, một hoặc nhiều vi khuẩn oxy hóa lưu huỳnh như vi khuẩn được chọn từ chi *Paracoccus* được sử dụng cho khối nước với lượng đủ để tạo ra nồng độ vi khuẩn oxy hóa lưu huỳnh trong khối nước, hoặc phần bị ô nhiễm của chúng với lượng ít nhất nằm trong khoảng từ 0,01 đến 500ppm, hoặc lượng ít nhất nằm trong khoảng từ 0,1 đến 250ppm, hoặc với lượng nằm trong khoảng từ 0,1 đến 100ppm, hoặc với lượng nằm trong khoảng từ 0,1 đến 50ppm, hoặc với lượng nằm trong khoảng từ 0,1 đến

10ppm. Theo các phương án, một hoặc nhiều vi khuẩn oxy hóa lưu huỳnh như các vi khuẩn được chọn từ chi *Paracoccus* được sử dụng cho bùn nước với lượng đủ để tạo ra nồng độ vi khuẩn oxy hóa lưu huỳnh trong bùn, hoặc phần bị ô nhiễm của chúng với lượng ít nhất nằm trong khoảng từ 0,01 đến 500ppm, hoặc với lượng ít nhất nằm trong khoảng từ 0,1 đến 250ppm, hoặc với lượng nằm trong khoảng từ 0,1 đến 100ppm, hoặc với lượng nằm trong khoảng từ 0,1 đến 50ppm, hoặc với lượng nằm trong khoảng từ 0,1 đến 10ppm. Theo một vài phương án, vi khuẩn oxy hóa lưu huỳnh như *Paracoccus pantotrophus* (chủng 35512 theo ATCC, LMD (Delft Collection of Microorganisms)) được đưa vào trong nước cần xử lý với lượng nằm trong khoảng từ 0,01ppm đến 500ppm. Theo một vài phương án, vi khuẩn oxy hóa lưu huỳnh như *Paracoccus pantotrophus* (chủng 35512 theo ATCC, LMD (Delft Collection of Microorganisms)) được đưa vào trong bùn với lượng nằm trong khoảng từ 0,01ppm đến 500ppm.

Theo các phương án, vi khuẩn oxy hóa lưu huỳnh để sử dụng theo sáng chế có thể được bổ sung khối nước trong các ứng dụng đưa vi khuẩn vào theo mẻ. Ví dụ, vi khuẩn *Paracoccus pantotrophus* có thể được sử dụng cho các ao đã được xử lý bằng cách đưa vi khuẩn vào hằng giờ, hằng ngày và/hoặc hằng tuần để duy trì nồng độ ở lượng đã định trước hoặc lượng đích. Ví dụ, vi khuẩn oxy hóa lưu huỳnh có thể được sử dụng ở dạng chế phẩm khô chứa $3,5 \times 10^9$ CFU/g, với lượng và khoảng thời gian để duy trì tổng lượng *Paracoccus* được tạo ra hoặc duy trì ở lượng nằm trong khoảng từ 100 đến 100000 CFU/ml cho mỗi khoảng thời gian từ 1 đến 7 ngày cho đến khi đạt được mục đích xử lý và/hoặc thu hoạch, và theo một vài phương án, lượng này nằm trong khoảng từ 10 đến 100000 CFU/ml mỗi khoảng thời gian 7 ngày cho đến khi đạt được mục đích hoặc thu hoạch.

Một hoặc nhiều vi khuẩn oxy hóa lưu huỳnh có thể được cho vào ao, phá, hoặc khối nước khác. Trong các khối nước lớn hơn như phá, có thể cần

rắc vi khuẩn oxy hóa lưu huỳnh lên khối nước để tránh phải đợi vi khuẩn oxy hóa lưu huỳnh này phân tán trong cả khối nước. Các đơn vị phun trên cơ sở sử dụng máy bay, tàu, bờ và các biện pháp rải rắc thông thường khác có thể được sử dụng để đưa vi khuẩn oxy hóa lưu huỳnh vào khối nước. Ngoài việc bổ sung vi khuẩn oxy hóa lưu huỳnh vào toàn bộ khối nước, có thể cần bổ sung vi khuẩn này vào các vùng trong khối nước, trong đó các vùng này có điều kiện kỵ khí.

Theo các phương án, một hoặc nhiều vi khuẩn oxy hóa lưu huỳnh có thể được sử dụng phối hợp với các vi sinh vật khác. Ví dụ không giới hạn về các vi sinh vật thích hợp này bao gồm một hoặc nhiều vi sinh vật được chọn từ nhóm bao gồm chi *Acinetobacter*, *Aspergillus*, *Azospirillum*, *Burkholderia*, *Bacillus*, *Ceriporiopsis*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Lactobacillus*, *Paenebacillus*, *Pseudomonas*, *Rhodococcus*, *Syphingomonas*, *Streptococcus*, *Thiobacillus*, *Trichoderma*, *Xanthomonas* và hỗn hợp của chúng. Ví dụ không giới hạn về các vi sinh vật thích hợp từ chi *Bacillus* có thể được chọn từ nhóm bao gồm *Bacillus alkalophilus*, *Bacillus brevis*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus circulans*, *Bacillus clausii*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus lentus*, *Bacillus amyoliquofaciens*, *Bacillus lautus*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus stearothermophilus*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus pasteurii*, *Bacillus thuringiensis* hoặc hỗn hợp của chúng. Ví dụ, *Bacillus megaterium* có tất cả các đặc điểm của chủng SB-3112, ATCC PTA-3142 và được mô tả trong US 6,649,401 có thể được sử dụng phối hợp với vi khuẩn oxy hóa lưu huỳnh theo sáng chế. *Paracoccus* như *Paracoccus pantotrophus* và các vi sinh vật khác có thể được trộn theo các tỷ lệ khối lượng khác nhau tùy thuộc vào mục đích và điều kiện xử lý. Ví dụ, *Paracoccus* có thể được trộn với một vi sinh vật khác để tạo ra chế phẩm được đặc trưng bởi khoảng tỷ lệ (khối lượng) từ 10:1 đến 1:10, ví dụ: 9:2, 8:3, 7:4, 6:5, 5:6, 4:7, 3:8, 2:9, hoặc 1:10.

Theo các phương án, một hoặc nhiều vi khuẩn oxy hóa lưu huỳnh để sử dụng theo sáng chế có thể được trộn để tạo ra hỗn hợp với các thành phần khác như loài *Bacillus* chủng PondPlus® và/hoặc loài *Nitrifier* chủng PondProtect®, cả hai đều sẵn có từ Novozymes.

Theo một vài phương án, hỗn hợp gồm có vi khuẩn oxy hóa lưu huỳnh như *Paracoccus pantotrophus* (chủng 35512 theo ATCC, LMD (Delft Collection of Microorganisms) phối hợp với *Bacillus megaterium* được tạo ra trong nước hoặc bùn cần xử lý với lượng nằm trong khoảng từ 0,01ppm đến 500ppm. Ví dụ không giới hạn về các chế phẩm hỗn hợp thích hợp để sử dụng theo sáng chế bao gồm chế phẩm chứa *Paracoccus pantotrophus* và *Bacillus megaterium* như được mô tả trên đây, với tỷ lệ (khối lượng) nằm trong khoảng từ 10:1 đến 1:10, ví dụ: 9:2, 8:3, 7:4, 6:5, 5:6, 4:7, 3:8, 2:9, hoặc 1:10, và theo một phương án tỷ lệ này nằm trong khoảng từ 1,5 đến 2,5. Tỷ lệ hỗn hợp thích hợp khác dễ dàng được hiểu bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở tỷ lệ khối lượng nằm trong khoảng từ 4:1 đến 1:4.

Theo các phương án, các biện pháp xử lý còn bao gồm một hoặc nhiều bước mà làm thay đổi tính chất hóa học nước hoặc hóa học bùn đáy để làm giảm các loại hóa chất chứa lưu huỳnh không có lợi. Ví dụ, khi nhận thấy rằng nước hoặc bùn đáy cần xử lý ban đầu không có các hóa chất thích hợp dùng làm chất nhận điện tử cuối, một hoặc nhiều chất oxy hóa, mà việc khử nó cần nhiều năng lượng hơn khử sulfat, có thể được cho vào khối nước. Theo các phương án, các biện pháp xử lý chủ yếu nhằm vào bùn đáy làm đích cơ bản tại đó có mặt vùng kỵ khí và sinh ra khí H_2S . Theo các phương án, việc sử dụng vi khuẩn oxy hóa lưu huỳnh như các vi khuẩn được chọn từ chi *Paracoccus* có thể được sử dụng độc lập hoặc phối hợp với một hoặc nhiều chất oxy hóa thích hợp để làm chất nhận điện tử. Theo các phương án, các chất oxy hóa thích hợp là các hóa chất mà hầu hết các vi khuẩn khử lưu huỳnh

không thể sử dụng làm chất nhận điện tử. Ví dụ không giới hạn về các chất oxy hóa thích hợp bao gồm các hóa chất chứa thành phần nitrat (NO_3^-) mà có thể được khử bằng phương pháp sinh học thành khí nitơ N_2 và/hoặc hydro peroxit H_2O_2 mà có thể được khử bằng phương pháp hóa học thành nước sau đó. Việc bổ sung một hoặc nhiều chất oxy hóa vào khối nước, mà cũng có mặt trong bùn đáy phối hợp với vi khuẩn (có mặt từ ban đầu hoặc được bổ sung thêm), sẽ làm thay đổi thế oxy hóa khử (ORP: oxidation reduction potential) của bùn đáy. Khoảng giá trị ORP đích của bùn đáy nằm trong khoảng từ -330mV đến +100mV. Theo các phương án, giá trị ORP thấp có thể sẽ phát triển theo thời gian sau khi bổ sung thành phần Paracoccus. Hơn thế nữa, theo các phương án, vi khuẩn được bổ sung để ngăn ngừa sự tăng lên của H_2S , và sẽ tồn tại trong nước và bùn trên các nguồn dinh dưỡng khác, thậm chí trong điều kiện ưa khí, cho đến khi đạt các điều kiện sinh ra H_2S .

Ví dụ không giới hạn thích hợp về một hoặc nhiều chất oxy hóa để sử dụng theo sáng chế bao gồm oxy O_2 , ozon O_3 , peroxit như hydro peroxit H_2O_2 , canxi peroxit $\text{CaO}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, magie peroxit $\text{MgO}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, nitrat $\text{R}(\text{NO}_3)_x$, nitrit RNO_2 , permanganat KMnO_4 , kalidicromat $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, kali clorat KClO_3 , và/hoặc clo dioxit ClO_2 , và hỗn hợp của chúng. Theo các phương án, NO_3 có thể được khử bằng phương pháp sinh học thành khí nitơ N_2 là thích hợp để sử dụng theo sáng chế. Việc sử dụng NO_3 cũng thích hợp cho nhiều ứng dụng trong nuôi trồng thủy sản ở đó nitrat có mặt với lượng đủ do quá trình nitrat hóa thông thường. Theo các phương án, các chất oxy hóa thích hợp bao gồm một hoặc nhiều muối nitrat, như natri nitrat NaNO_3 , được sử dụng riêng lẻ hoặc phối hợp với canxi nitrat $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$.

Mặc dù, sáng chế mô tả sự gia tăng ORP tăng do bổ sung thêm các hóa chất, nhưng đây là một quá trình sinh hóa ở mức độ lớn. Việc bổ sung thêm các chất nhận điện tử khác cho phép vi khuẩn thay đổi ORP của nước và/hoặc bùn. Khi vi khuẩn này có mặt trong hệ này không có khả năng khử nitrat

(hoặc các chất nhận điện tử thay thế khác) hoặc không có khả năng oxy hóa lưu huỳnh, việc bổ sung thêm chúng là thích hợp để tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình khử các chất nhận điện tử và do đó làm tăng ORP. Khi ORP tăng, việc khử lưu huỳnh không còn là lợi thế nhiệt động đối với vi khuẩn, và vi khuẩn sử dụng các chất nhận điện tử khác hiệu quả hơn sẽ chiếm ưu thế so với các vi khuẩn đặc biệt thích hợp để sử dụng lưu huỳnh.

Ngoài việc thay đổi ORP, có thể cần thay đổi độ pH. Độ pH có thể được thay đổi đến mức thích hợp bất kỳ như được xác định bởi người nuôi trồng đến mức tối ưu cho sự phát triển động vật trong khu nuôi trồng thủy sản cụ thể. Theo các phương án, độ pH đích nằm trong khoảng từ 6,0 đến 9,0 bao gồm giá trị pH=6,0 đến giá trị pH=9,0. Do đó, có thể bổ sung các chất điều chỉnh độ pH với lượng đủ để làm thay đổi độ pH của khối nước đến độ pH nằm trong khoảng từ 6,0 đến 8,5. Các giá trị ORP đích và độ pH đích có mối quan hệ tỷ lệ nghịch; độ pH càng thấp, thì giá trị ORP mong muốn càng cao và ngược lại.

Nếu có vài chất oxy hóa có mặt ban đầu trong khối nước trước khi xử lý, có thể bổ sung một lượng lớn chất oxy hóa vào khối nước. Lượng cụ thể cần thiết có thể được tính toán cho mỗi khối nước. Lượng cần thiết sẽ tùy thuộc vào thể tích của khối nước được xử lý, giá trị ORP hiện tại của nước, ORP đích, nồng độ chất phụ gia bất kỳ, nhiệt độ (tác động đến điểm cân bằng các loại hóa chất cũng như là tỷ lệ mà tại đó quá trình sinh học diễn ra), tổng nồng độ của axit hữu cơ, tổng nồng độ lưu huỳnh, và tổng nồng độ H_2S tạo ra các hợp chất lưu huỳnh. Theo các phương án, nitrat được sử dụng với lượng nằm trong khoảng từ 0,01ppm đến 500ppm, hoặc nồng độ nitrat trong khối nước nằm trong khoảng từ 1,0ppm đến 250ppm, hoặc nồng độ nitrat trong khối nước ở giá trị nằm trong khoảng từ 0,01ppm đến 10ppm. Ví dụ, tính chất hóa học của khối nước có thể được thay đổi bằng cách tạo ra nồng độ nitrat trong

khối nước bằng 200ppm hoặc khoảng 200ppm. Theo sáng chế “ppm” có nghĩa là phần triệu.

Có thể cho chất oxy hóa vào vùng hạ lưu của khối nước. Ngoài việc cho chất này vào toàn bộ khối nước, có thể mong muốn cho chất này vào các vùng trong khối nước, nơi mà ORP bị giảm nhiều nhất.

Sau khi xử lý ORP, có thể cần bổ sung chất oxy hóa khác vào hệ này để duy trì. Ví dụ, các liều duy trì của chất oxy hóa có thể được đưa theo mẻ vào trong khối nước theo các khoảng thời gian cách nhau đều đặn như hàng giờ, hàng ngày hoặc hàng tuần. Theo các phương án, dung dịch natri nitrat hoặc canxi nitrat lỏng cho các liều duy trì là thích hợp để sử dụng trong sáng chế.

Nếu xử lý lần đầu, mức liều duy trì cho mục đích duy trì sẽ thay đổi tùy theo từng khối nước, và có thể được tính một cách riêng rẽ. Theo các phương án, lượng thích hợp của các liều duy trì bao gồm lượng NO_3^- bằng khoảng 1,2mg mỗi lít của thể tích nước. Theo các phương án, liều này được cung cấp để duy trì nitrat với lượng nằm trong khoảng từ 1ppm đến 10ppm.

Theo các phương án, sau khi bổ sung (nếu cần) các hóa chất để thay đổi độ pH và giá trị ORP, bổ sung vi khuẩn oxy hóa lưu huỳnh vào nước. Thông thường, tốt hơn là đưa trực tiếp vi khuẩn oxy hóa lưu huỳnh vào sau khi bổ sung các hóa chất thay đổi ORP vào nước. Nếu các hóa chất làm thay đổi độ pH và giá trị ORP được bổ sung vào ở các lần đầu xử lý với lượng lớn trong khoảng vài ngày, thông thường, tốt hơn là bổ sung vi khuẩn oxy hóa lưu huỳnh sau mỗi lần xử lý độ pH và ORP.

Các phương pháp xử lý theo sáng chế bao gồm cho vùng bị nhiễm H_2S tiếp xúc với vi khuẩn được chọn từ chi *Paracoccus* với lượng hữu hiệu để cải thiện quần thể động vật dưới nước và động vật biển. Theo các phương án, vùng cần xử lý hoặc kiểm soát H_2S chẳng hạn như hồ, ao, ruộng, khu nuôi thủy sản, hồ, cửa sông, đại dương, đầm phá, được xử lý bằng cách cho các vùng này sử dụng một hoặc nhiều vi khuẩn oxy hóa lưu huỳnh chẳng hạn như

vi khuẩn từ chi *Paracoccus* hoặc một mình hoặc phối hợp với chất oxy hóa và/hoặc chất điều chỉnh độ pH. Theo các phương án, vi khuẩn khử lưu huỳnh như vi khuẩn được chọn từ chi *Paracoccus* và/hoặc chất oxy hóa được sử dụng cho đến khi đạt được mục đích xử lý. Tuy nhiên, thời gian xử lý có thể khác nhau tùy thuộc vào mức độ nghiêm trọng của tình trạng cần xử lý. Ví dụ, thời gian xử lý có thể kéo dài một vài ngày đến vài tháng tùy thuộc vào mục đích xử lý là kiểm soát, làm giảm và/hoặc loại bỏ tạp H_2S và/hoặc làm tăng sản lượng và/hoặc chất lượng của các động vật dưới nước hoặc động vật biển như tôm biển hoặc nước lợ, tôm hùm, sinh vật nuôi trồng thủy sản và/hoặc tôm càng. Sau một vài lần xử lý theo sáng chế, sản lượng của động vật dưới nước và/hoặc động vật biển tăng với lượng nằm trong khoảng từ 5% đến 200%. Theo các phương án, sản lượng của động vật dưới nước và/hoặc động vật biển tăng với lượng 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, 150%, hoặc 200%. Sau một vài lần xử lý theo sáng chế, kích thước của động vật dưới nước và/hoặc động vật biển tăng từ 1 đến 10%, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9% hoặc lớn hơn.

Phương pháp xử lý theo sáng chế bao gồm bước đánh giá ban đầu khối nước về sự phát triển các động vật dưới nước hoặc động vật biển. Các đặc điểm khác nhau có thể được đánh giá, quan sát và/hoặc tạo ra như một phần của quá trình xử lý. Các đặc điểm thích hợp của nước xử lý bao gồm: độ trong, nhiệt độ nước, độ pH, lượng oxy hòa tan, độ mặn, EC, độ kiềm toàn phần, độ cứng, tổng lượng amoniac, lượng nitrit, và/hoặc nitrat. Theo các phương án, độ trong có thể được tạo ra với lượng nằm trong khoảng từ 7,0cm đến 40cm. Theo các phương án, nhiệt độ nước có thể được tạo ra ở giá trị nằm trong khoảng từ 23,0°C đến 30,1°C vào buổi sáng và/hoặc từ 31,0°C đến 33,5°C vào buổi chiều. Theo các phương án, độ pH của khối nước có thể được tạo ra và/hoặc được thay đổi đến giá trị nằm trong khoảng từ 7,00 đến 8,5. Theo các phương án, độ pH thích hợp vào các giờ buổi sáng có giá trị nằm

trong khoảng từ 7,6 đến 7,9. Theo các phương án, độ pH thích hợp vào các giờ buổi tối có giá trị nằm trong khoảng từ 8,2 đến 8,5. Theo các phương án, oxy hòa tan có thể được tạo ra với lượng nằm trong khoảng từ 2,0ppm đến 8,0ppm, tùy thuộc vào độ sâu và thời gian trong ngày. Theo các phương án, độ mặn thích hợp của khối nước sử dụng theo sáng chế nằm trong khoảng từ 0,5 đến 45ppt. Theo các phương án, EC có thể được tạo ra ở giá trị nằm trong khoảng từ 4,5 đến 12mcm/cm. Theo các phương án, độ kiềm toàn phần có thể nằm trong khoảng từ 80ppm đến 305ppm. Theo các phương án, độ cứng toàn phần có thể được tạo ra nằm trong khoảng từ 750ppm đến 1826ppm. Theo các phương án, tổng lượng amoniac có thể được tạo ra nằm trong khoảng từ 0,006ppm đến 0,070ppm. Theo các phương án, lượng nitrit có thể được tạo ra nằm trong khoảng từ 0,0 đến 0,009ppm. Theo các phương án, lượng nitrat có thể được tạo ra nằm trong khoảng từ 2,5ppm đến 20ppm.

Theo các phương án, các phương pháp xử lý động vật dưới nước hoặc động vật biển như các động vật nuôi trồng thủy sản bao gồm cho khối nước hoặc bùn của nó, hoặc cần xử lý hoặc cần khử nhiễm, tiếp xúc với một hoặc nhiều vi khuẩn oxy hóa lưu huỳnh với lượng đủ để kiểm soát, làm giảm, hoặc loại bỏ H_2S trong khối nước hoặc bùn. Theo các phương án, lượng vi khuẩn oxy hóa lưu huỳnh đủ để tạo ra nồng độ vi khuẩn oxy hóa lưu huỳnh trong bùn với lượng nằm trong khoảng từ 100CFU/g đến 100000CFU/g. Theo các phương án, lượng vi khuẩn oxy hóa lưu huỳnh đủ để tạo ra nồng độ vi khuẩn oxy hóa lưu huỳnh trong khối nước với lượng nằm trong khoảng từ 100CFU/ml đến 100000CFU/ml. khối nước này có thể là khu nuôi trồng thủy sản, bể, ao, đồng ruộng, đầm phá, hồ, cửa sông, đại dương, một phần bị nhiễm của chúng, hoặc hỗn hợp của chúng. Theo các phương án, các phương pháp thích hợp có thể bao gồm bước thay đổi tính chất hóa học khối nước bằng cách tạo ra nồng độ nitrat trong khối nước nằm trong khoảng từ 0,01ppm đến 500ppm, hoặc nồng độ nitrat trong khối nước nằm trong khoảng từ 1,0ppm đến 250ppm, hoặc nồng độ nitrat trong khối nước nằm trong khoảng từ

0,01ppm đến 10ppm. Ví dụ, hóa học khối nước có thể được thay đổi bằng cách tạo ra nồng độ nitrat trong khối nước bằng 200ppm hoặc khoảng 200ppm. Các phương pháp này cũng có thể bao gồm bước cho động vật dưới nước hoặc động vật biển như động vật thủy sản, tôm biển/nước lợ, tôm hùm, tôm càng, cá sống dưới đáy, cá, tôm nước ngọt, hàu, trai, sò, động vật thân mềm, sinh vật bất kỳ thích hợp để nuôi trồng thủy sản và tổ hợp các động vật này vào trong khối nước. Theo các phương án, lượng hữu hiệu của vi khuẩn oxy hóa lưu huỳnh là lượng đủ để duy trì hàm lượng H_2S dưới 1ppm trong ít nhất 1 tuần. Theo các phương án, lượng vi khuẩn oxy hóa lưu huỳnh nằm trong khoảng từ 0,01ppm đến 500ppm. Các vi sinh vật khác cũng có thể được bổ sung theo sáng chế. Các phương pháp theo sáng chế thích hợp để làm tăng sản lượng và chất lượng của sinh vật bất kỳ phát triển trong khu nuôi trồng thủy sản bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, động vật thủy sản và/hoặc thực vật.

Sáng chế còn đề cập đến các chế phẩm chứa vi khuẩn oxy hóa lưu huỳnh. Các chế phẩm để sử dụng theo sáng chế bao gồm các chế phẩm để xử lý động vật dưới nước và động vật biển chứa một lượng *Paracoccus pantotrophus* đã định trước. Ví dụ, các gói 1kg có thể được đóng gói chứa 100% *Paracoccus pantotrophus*. Các chế phẩm khác bao gồm một lượng đã định trước của *Paracoccus pantotrophus* phối hợp với ít nhất một vi sinh vật khác. Ví dụ, *Paracoccus pantotrophus* có thể được trộn với vi sinh vật *Bacillus* như *Bacillus alkalophilus*, *Bacillus brevis*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus circulans*, *Bacillus clausii*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus lentus*, *Bacillus amyoliquofaciens*, *Bacillus lautus*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus stearothermophilus*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus pasteurii*, *Bacillus thuringiensis* hoặc hỗn hợp của chúng. Chế phẩm này có thể chứa một hỗn hợp gồm *Paracoccus pantotrophus* và một vi sinh vật khác theo tỷ lệ khối lượng khác nhau (khối lượng) tùy thuộc vào mục đích mong muốn của chế phẩm này hoặc các điều kiện nước/bùn. Ví dụ, *Paracoccus pantotrophus*

và vi sinh vật khác có thể tạo ra hỗn hợp được đặc trưng bởi tỷ lệ khối lượng nằm trong khoảng từ 4:1 đến 1:4. Theo một phương án, tỷ lệ khối lượng của *Paracoccus pantotrophus* so với *Bacillus megaterium* nằm trong khoảng từ 1,5 đến 2,5.

Chế phẩm thích hợp theo sáng chế cũng chứa *Paracoccus pantotrophus* với lượng nằm trong khoảng từ 1×10^5 đến 11×10^9 CFU/gm, ví dụ 3×10^9 CFU/gm. *Paracoccus pantotrophus* có thể được đóng gói riêng rẽ với lượng đã định trước là 200g. Các chế phẩm khác chứa một hỗn hợp bao gồm *Paracoccus pantotrophus* với lượng nằm trong khoảng từ 1×10^5 đến 11×10^9 CFU/gm phối hợp với *Bacillus megaterium* với lượng nằm trong khoảng từ 1×10^5 đến 11×10^9 CFU/gm. Các chế phẩm không có thể được đóng gói riêng rẽ với kích thước đã định trước với lượng *Paracoccus pantotrophus* và *Bacillus megaterium* đã định trước, ví dụ 3×10^9 CFU/gm.

Theo các phương án, liều lượng chế phẩm thích hợp để sử dụng theo sáng chế có thể được sử dụng cho khối nước hoặc đất/bùn nhằm mục đích ngăn ngừa nhiễm H_2S và/hoặc xử lý nhiễm H_2S . Các giai đoạn ứng dụng thích hợp và liều lượng *Paracoccus pantotrophus* và *Bacillus megaterium* để ngăn ngừa và xử lý để sử dụng theo sáng chế được thể hiện trong bảng 1 dưới đây.

Bảng 1

	Giai đoạn sử dụng	Liều lượng	Khuyến cáo
Ngăn ngừa	Trong khi chuẩn bị ao và/hoặc bùn	1-3kg/10000m ² , ví dụ 2kg/10000m ²	Rải rắc trên đất ao ẩm
(dự phòng)	Sau khi đưa động vật dưới nước hoặc động vật biển vào ao, ví dụ, 35 ngày sau khi cho động vật dưới nước và động vật biển vào từ 90 ngày cho đến khi thu hoạch	0,5-1,5kg/10000m ² ; mỗi 7-10 ngày, ví dụ 1kg/10000m ² ; mỗi 7-10 ngày.	Khả năng lớn là hydro sulfua thường được sinh ra trong giai đoạn nuôi trồng sớm và muộn.

Xử lý	Khi ao và/hoặc bùn có màu đen và/hoặc mùi khó chịu	1-3kg/10000m ² ; sau đó 0,5-1,5kg/10000m ² 3-4 ngày sau khi sử dụng lần đầu - ví dụ 2kg/10000m ² ; sau đó 1kg/10000m ² 3-4 ngày sau khi sử dụng lần đầu.	Duy trì độ kiềm trên 100ppm.
-------	--	--	------------------------------

Bảng 1 thể hiện các liều lượng thích hợp theo sáng chế xấp xỉ 5-10kg/10000m²/vụ. Các con số này được điều chỉnh cho ao hoặc vùng bùn lớn hơn được xử lý, và/hoặc cỡ vụ lớn hơn/nhỏ hơn.

Các ví dụ không giới hạn dưới đây còn minh họa các chế phẩm, phương pháp và cách xử lý theo sáng chế. Cần lưu ý rằng sáng chế không giới hạn ở các chi tiết cụ thể nêu trong các ví dụ này.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1

Phương pháp sử dụng vi khuẩn *Paracoccus pantotrophus* để kiểm soát hydro sulfua (H₂S) được đánh giá trong ba thử nghiệm riêng rẽ. Trong thử nghiệm 1, H₂S được tạo ra bằng cách trộn bùn trong ao nuôi tôm biển/nước lợ và thức ăn cho tôm trong ba ngày. Sau khi H₂S được tạo ra, chia bùn này thành bốn nhóm như sau: nhóm đối chứng (không bổ sung vi khuẩn và natri nitrat (NaNO₃)); nhóm xử lý 1 (bổ sung 200ppm NaNO₃); nhóm xử lý 2 (bổ sung 5ppm vi khuẩn và 200ppm NaNO₃); nhóm xử lý 3 (bổ sung 10ppm vi khuẩn và 200ppm NaNO₃). Các kết quả cho thấy lượng sulfite (S²⁻) và H₂S ở nhóm đối chứng tăng từ ngày thứ nhất cho đến khi kết thúc nghiên cứu. Lượng của cả S²⁻ và H₂S trong tất cả các nhóm xử lý giảm cho đến khi nồng độ nitrat bằng 0, sau đó lượng S²⁻ và H₂S tăng trở lại. Tuy nhiên, quan sát thấy lượng S²⁻ và H₂S lần lượt thấp nhất trong nhóm xử lý 2, 3 và 1.

Các kết quả của thử nghiệm 1 được thể hiện dưới đây:

Nhóm đối chứng: bùn 200g, thức ăn cho tôm 50g và 800ml nước ao.

Nhóm xử lý 1: bùn 200g, thức ăn cho tôm 50g và 800ml nước ao + 200ppm NaNO_3 sau ba ngày.

Nhóm xử lý 2: bùn 200g, thức ăn cho tôm 50g và 800ml nước ao + 200ppm NaNO_3 và 5ppm *Paracoccus pantotrophus* sau ba ngày.

Nhóm xử lý 3: bùn 200g, thức ăn cho tôm 50g và 800ml nước ao + 200ppm NaNO_3 và 10ppm *Paracoccus pantotrophus* sau 3 ngày.

Lượng sulfua, H_2S , và nitrat trong thử nghiệm 1 được thể hiện trong bảng 2 dưới đây.

Bảng 2

Ngày	Thông số	Đối chứng	Nhóm xử lý 1	Nhóm xử lý 2	Nhóm xử lý 3
0	Sulfua	$3,75 \pm 0,00^a$	$3,75 \pm 0,00^a$	$3,75 \pm 0,00^a$	$3,75 \pm 0,00^a$
	H_2S	$3,98 \pm 0,00^a$	$3,98 \pm 0,00^a$	$3,98 \pm 0,00^a$	$3,98 \pm 0,00^a$
	Nitrat	0,00	0,00	0,00	0,00
1	Sulfua	$4,50 \pm 0,25^c$	$3,67 \pm 0,14^{bc}$	$3,33 \pm 0,29^{ab}$	$2,50 \pm 0,50^a$
	H_2S	$4,77 \pm 0,27^c$	$3,89 \pm 0,16^{bc}$	$3,53 \pm 0,31^{ab}$	$2,65 \pm 0,53^a$
	Nitrat	$0,00^a$	$10,00 \pm 0,00^b$	$10,00 \pm 0,00^b$	$10,00 \pm 0,00^b$
2	Sulfua	$4,75 \pm 0,25^d$	$3,50 \pm 0,25^c$	$2,92 \pm 0,38^b$	$1,50 \pm 0,00^a$
	H_2S	$5,04 \pm 0,27^d$	$3,71 \pm 0,27^c$	$3,09 \pm 0,41^b$	$1,59 \pm 0,00^a$
	Nitrat	$0,00^a$	$5,00 \pm 0,00^b$	$5,00 \pm 0,00^b$	$2,50 \pm 0,00^b$
3	Sulfua	$5,00 \pm 0,25^d$	$3,17 \pm 0,38^c$	$2,08 \pm 0,14^b$	$1,25 \pm 0,00^a$
	H_2S	$5,30 \pm 0,27^d$	$3,36 \pm 0,40^c$	$2,21 \pm 0,16^b$	$1,33 \pm 0,00^a$
	Nitrat	$0,00^a$	$5,00 \pm 0,00^b$	$2,50 \pm 0,00^b$	$0,00^a$
4	Sulfua	$5,50 \pm 0,00^c$	$2,33 \pm 0,29^b$	$1,00 \pm 0,87^a$	$1,67 \pm 0,29^{ab}$
	H_2S	$5,83 \pm 0,00^c$	$2,47 \pm 0,31^b$	$1,06 \pm 0,92^a$	$1,80 \pm 0,28^{ab}$
	Nitrat	$0,00^a$	$2,50 \pm 0,00^b$	$0,00^a$	$0,00^a$
5	Sulfua	$5,67 \pm 0,14^b$	$2,17 \pm 0,29^a$	$1,50 \pm 0,00^a$	$2,08 \pm 0,63^a$
	H_2S	$6,01 \pm 0,16^b$	$2,30 \pm 0,31^a$	$1,59 \pm 0,00^a$	$2,21 \pm 0,67^a$
	Nitrat	$0,00^a$	$0,00^a$	$0,00^a$	$0,00^a$
6	Sulfua	$6,17 \pm 0,14^b$	$2,58 \pm 1,13^a$	$1,83 \pm 0,29^a$	$3,00 \pm 0,25^a$

Ngày	Thông số	Đối chứng	Nhóm xử lý 1	Nhóm xử lý 2	Nhóm xử lý 3
7	H ₂ S	6,54 ± 0,16 ^b	2,69 ± 1,21 ^a	1,94 ± 0,31 ^a	3,18 ± 0,27 ^a
	Nitrat	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a
	Sulfua	6,50 ± 0,25 ^c	3,17 ± 0,38 ^b	2,00 ± 0,50 ^a	3,50 ± 0,25 ^b
7	H ₂ S	6,89 ± 0,27 ^c	3,36 ± 0,40 ^b	2,12 ± 0,53 ^a	3,71 ± 0,27 ^b
	Nitrat	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a

Bảng 2: Giá trị trung bình ± SD của sulfua, hydro sulfua và nitrat từ các nhóm đối chứng và nhóm thử nghiệm. Lưu ý: Các số kèm các chữ cái khác nhau thể hiện độ chênh lệch có ý nghĩa thống kê $P < 0,05$.

Thử nghiệm 2 được thực hiện chính xác như thử nghiệm 1, ngoại trừ rằng bùn trong ao nuôi tôm không được trộn với thức ăn cho tôm trước khi thử nghiệm. Natri nitrat được bổ sung để duy trì mức OMP trong suốt quá trình thử nghiệm. Các kết quả chỉ ra rằng lượng S²⁻ và H₂S ở nhóm đối chứng tăng giống như thử nghiệm 1. Trong tất cả các nhóm xử lý, hàm lượng S²⁻ và H₂S bằng 0 ở ngày thứ 3 từ khi xử lý.

Nhóm đối chứng: bùn 200g, thức ăn cho tôm 50g và 800ml nước ao

Nhóm xử lý 1: bùn 200g, thức ăn cho tôm 50g và 800ml nước ao + 200ppm NaNO₃.

Nhóm xử lý 2: bùn 200g, thức ăn cho tôm 50g và 800ml nước ao + 200ppm NaNO₃ và 5ppm *Paracoccus pantotrophus*.

Nhóm xử lý 3: bùn 200g, thức ăn cho tôm 50g và 800ml nước ao + 200ppm NaNO₃ và 10ppm *Paracoccus pantotrophus*

Kết quả của thử nghiệm 2 được thể hiện trong Bảng 3 dưới đây:

Bảng 3

Ngày	Thông số	Mẫu đối chứng	Nhóm xử lý 1	Nhóm xử lý 2	Nhóm xử lý 3
0	Sulfua	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a
	H ₂ S	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a
	Nitrat	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a
1	Sulfua	1,00 ± 0,00 ^a	0,75 ± 0,00 ^a	0,75 ± 0,00 ^a	0,50 ± 0,00 ^a
	H ₂ S	1,06 ± 0,00 ^a	0,77 ± 0,06 ^a	0,80 ± 0,00 ^a	0,53 ± 0,00 ^a
	Nitrat	0,00 ^a	10,00 ± 0,00 ^b	10,00 ± 0,00 ^b	10,00 ± 0,00 ^b
2	Sulfua	1,25 ± 0,00 ^C	1,08 ± 0,14 ^b	0,33 ± 0,29 ^a	0,17 ± 0,29 ^a
	H ₂ S	1,33 ± 0,00 ^C	1,15 ± 0,16 ^b	0,35 ± 0,31 ^a	0,18 ± 0,31 ^a
	Nitrat	0,00 ^a	10,00 ± 0,00 ^b	10,00 ± 0,00 ^b	10,00 ± 0,00 ^b
3	Sulfua	1,33 ± 0,14 ^b	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a
	H ₂ S	1,42 ± 0,15 ^b	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a
	Nitrat	0,00 ^a	10,00 ± 0,00 ^b	10,00 ± 0,00 ^b	10,00 ± 0,00 ^b
4	Sulfua	1,50 ± 0,00 ^b	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a
	H ₂ S	1,59 ± 0,00 ^b	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a
	Nitrat	0,00 ^a	10,00 ± 0,00 ^b	10,00 ± 0,00 ^b	10,00 ± 0,00 ^b
5	Sulfua	2,17 ± 0,29 ^b	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a
	H ₂ S	2,30 ± 0,31 ^b	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a
	Nitrat	0,00 ^a	10,00 ± 0,00 ^b	10,00 ± 0,00 ^b	10,00 ± 0,00 ^b
6	Sulfua	2,75 ± 0,25 ^b	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a
	H ₂ S	2,92 ± 0,27 ^b	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a
	Nitrat	0,00 ^a	10,00 ± 0,00 ^b	10,00 ± 0,00 ^b	10,00 ± 0,00 ^b
7	Sulfua	2,83 ± 0,14 ^b	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a
	H ₂ S	3,01 ± 0,15 ^b	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a
	Nitrat	0,00 ^a	10,00 ± 0,00 ^b	10,00 ± 0,00 ^b	10,00 ± 0,00 ^b

Bảng 3: Giá trị trung bình ± SD của sulfua, hydro sulfua và nitrat từ các nhóm đối chứng và nhóm thử nghiệm. Lưu ý: các số có kèm theo chữ khác nhau thể hiện độ chênh lệch có ý nghĩa thống kê $P < 0,05$.

Trong thử nghiệm 3, nồng độ của vi khuẩn và natri nitrat được giảm đến 1ppm *Paracoccus pantotrophus* và 10ppm natri nitrat. Thử nghiệm 3 được thực hiện như thử nghiệm 2. Trong thử nghiệm 3, lượng S^{2-} và H_2S tăng được quan sát thấy ở nhóm đối chứng so với thử nghiệm 2. Hơn thế nữa, trong thử nghiệm 3, lượng S^{2-} và H_2S bằng 0 vào ngày thứ 4. Lượng S^{2-} và H_2S tăng ở nhóm xử lý 1 và 2, nhưng vẫn thấp hơn nhóm đối chứng.

Nhóm đối chứng: bùn 200g, thức ăn cho tôm 50g và 800ml nước ao

Nhóm xử lý 1: bùn 200g, thức ăn cho tôm 50g và 800ml nước ao + 10ppm $NaNO_3$

Nhóm xử lý 2: bùn 200g, thức ăn cho tôm 50g và 800ml nước ao + 1ppm *Paracoccus pantotrophus*

Nhóm xử lý 3: bùn 200g, thức ăn cho tôm 50g và 800ml nước ao + 10ppm $NaNO_3$ và 1ppm *Paracoccus pantotrophus*

Kết quả từ thử nghiệm 3 được thể hiện dưới đây trong bảng 4:

Bảng 4

Ngày	Thông số	Đối chứng	Nhóm xử lý 1	Nhóm xử lý 2	Nhóm xử lý 3
0	Sulfua	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a
	H_2S	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a
	Nitrat	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a
1	Sulfua	1,25 ± 0,25 ^a	1,08 ± 0,14 ^a	1,00 ± 0,25 ^a	1,42 ± 0,14 ^a
	H_2S	1,33 ± 0,27 ^a	1,15 ± 0,16 ^a	1,06 ± 0,27 ^a	1,50 ± 0,15 ^a
	Nitrat	0,00 ^a	10,00 ± 0,00 ^b	0,00 ^a	10,00 ± 0,00 ^b
2	Sulfua	1,33 ± 0,14 ^a	1,17 ± 0,14 ^a	1,00 ± 0,25 ^a	1,25 ± 0,25 ^a
	H_2S	1,42 ± 0,15 ^a	1,24 ± 0,16 ^a	1,06 ± 0,27 ^a	1,33 ± 0,27 ^a
	Nitrat	0,00 ^a	10,00 ± 0,00 ^b	0,00 ^a	10,00 ± 0,00 ^b
3	Sulfua	1,42 ± 0,14 ^a	1,25 ± 0,25 ^a	1,17 ± 0,29 ^a	1,17 ± 0,29 ^a
	H_2S	1,50 ± 0,15 ^a	1,33 ± 0,27 ^a	1,24 ± 0,31 ^a	1,24 ± 0,31 ^a
	Nitrat	0,00 ^a	10,00 ± 0,00 ^b	0,00 ^a	10,00 ± 0,00 ^b
4	Sulfua	1,50 ± 0,25 ^b	1,33 ± 0,38 ^b	1,42 ± 0,29 ^b	0,00 ^a

Ngày	Thông số	Đối chứng	Nhóm xử lý 1	Nhóm xử lý 2	Nhóm xử lý 3
	H ₂ S	1,59 ± 0,27 ^b	1,42 ± 0,41 ^b	1,51 ± 0,31 ^b	0,00 ^a
	Nitrat	0,00 ^a	10,00 ± 0,00 ^b	0,00 ^a	10,00 ± 0,00 ^b
5	Sulfua	1,92 ± 0,14 ^b	1,58 ± 0,52 ^b	1,67 ± 0,14 ^b	0,00 ^a
	H ₂ S	2,03 ± 0,15 ^b	1,68 ± 0,55 ^b	1,77 ± 0,16 ^b	0,00 ^a
	Nitrat	0,00 ^a	10,00 ± 0,00 ^b	0,00 ^a	10,00 ± 0,00 ^b
6	Sulfua	2,33 ± 0,14 ^c	1,75 ± 0,25 ^b	1,67 ± 0,29 ^b	0,00 ^a
	H ₂ S	2,48 ± 0,15 ^c	1,86 ± 0,27 ^b	1,77 ± 0,31 ^b	0,00 ^a
	Nitrat	0,00 ^a	10,00 ± 0,00 ^b	0,00 ^a	10,00 ± 0,00 ^b
7	Sulfua	2,58 ± 0,38 ^c	1,92 ± 0,14 ^b	1,75 ± 0,25 ^b	0,00 ^a
	H ₂ S	2,74 ± 0,40 ^c	2,03 ± 0,15 ^b	1,86 ± 0,27 ^b	0,00 ^a
	Nitrat	0,00 ^a	10,00 ± 0,00 ^b	0,00 ^a	10,00 ± 0,00 ^b

Bảng 4: Giá trị trung bình ± SD của sulfua, hydro sulfua và nitrat từ nhóm đối chứng và nhóm thử nghiệm. Lưu ý: Các số có kèm theo các chữ cái khác nhau thể hiện độ chênh lệch có ý nghĩa thống kê $P < 0,05$.

Kết quả của thử nghiệm 1, 2 và 3 cho thấy rằng *Paracoccus pantotrophus* có thể được sử dụng để kiểm soát lượng H₂S tạo ra chỉ bởi bùn trong ao nuôi tôm, hoặc được trộn với thức ăn cho tôm. Cần sử dụng nitrat để hỗ trợ cho hoạt tính của vi khuẩn, tuy nhiên ao nuôi tôm thông thường thường chứa nitrat với lượng lớn hơn 10ppm. Các kết quả này chứng minh rằng vi khuẩn có thể có ích khi sử dụng cho ao nuôi tôm hoặc động vật thủy sinh hoặc bùn.

Ví dụ 2

Một nghiên cứu được thực hiện để quan sát tác động của *Paracoccus pantotrophus* để kiểm soát hàm lượng hydro sulfua (H₂S) và NaNO₃ trong các điều kiện trong phòng thí nghiệm. H₂S được tạo thành bằng cách trộn 200g bùn đất ao và 50g thức ăn cho tôm trong bình có dung tích 1000ml trong ba ngày. Chia hỗn hợp này thành bốn nhóm xử lý và ba nhóm lần lặp lại và được xử lý như sau:

- Nhóm 1 Đối chứng không được xử lý
- Nhóm 2 NaNO₃ được bổ sung đến nồng độ 200ppm
- Nhóm 3 *Paracoccus pantotrophus* được bổ sung đến nồng độ 5ppm và NaNO₃ được bổ sung đến nồng độ 200ppm
- Nhóm 4 *Paracoccus pantotrophus* được bổ sung đến nồng độ 5ppm và NaNO₃ được bổ sung đến nồng độ 200ppm

Bảng 5 thể hiện các kết quả của nghiên cứu:

Bảng 5

Ngày	Thông số	Nhóm 1	Nhóm 2	Nhóm 3	Nhóm 4
0	hydro sulfua Nitrat	3,98 ± 0,00 ^a 0,00 ^a	3,98 ± 0,00 ^a 0,00	3,98 ± 0,00 ^a 0,00	3,98 ± 0,00 ^a 0,00 ^a
1	hydro sulfua Nitrat	4,77 ± 0,27 ^c 0,00 ^a	3,89 ± 0,16 ^{bc} 10,00 ± 0,00 ^b	3,53 ± 0,31 ^{ab} 10,00 ± 0,00 ^b	2,65 ± 0,53 ^a 10,00 ± 0,00 ^b
2	hydro sulfua Nitrat	5,04 ± 0,27 ^d 0,00 ^a	3,71 ± 0,27 ^c 5,00 ± 0,00 ^b	3,09 ± 0,41 ^b 5,00 ± 0,00 ^b	1,59 ± 0,00 ^a 2,50 ± 0,00 ^b
3	hydro sulfua Nitrat	5,30 ± 0,27 ^d 0,00 ^a	3,36 ± 0,40 ^c 5,00 ± 0,00 ^b	2,21 ± 0,16 ^b 2,50 ± 0,00 ^b	1,33 ± 0,00 ^a 0,00 ^a
4	hydro sulfua Nitrat	5,83 ± 0,00 ^c 0,00 ^a	2,47 ± 0,31 ^b 2,50 ± 0,00 ^b	1,06 ± 0,92 ^a 0,00 ^a	1,80 ± 0,28 ^{ab} 0,00 ^a
5	HydroSulfit Nitrat	6,01 ± 0,16 ^b 0,00 ^a	2,30 ± 0,31 ^a 0,00 ^a	1,59 ± 0,00 ^a 0,00 ^a	2,21 ± 0,67 ^a 0,00 ^a
6	hydro sulfua Nitrat	6,54 ± 0,16 ^b 0,00 ^a	2,69 ± 1,21 ^a 0,00 ^a	1,94 ± 0,31 ^a 0,00 ^a	3,18 ± 0,27 ^a 0,00 ^a
7	hydro sulfua Nitrat	6,89 ± 0,27 ^c 0,00 ^a	3,36 ± 0,40 ^b 0,00 ^a	2,12 ± 0,53 ^a 0,00 ^a	3,71 ± 0,27 ^b 0,00 ^a

Lưu ý: Các số có kèm theo các chữ cái khác nhau thể hiện độ chênh lệch có ý nghĩa thống kê $P < 0,05$.

Nghiên cứu này chỉ ra rằng nồng độ H_2S tăng ở nhóm đối chứng từ khi bắt đầu cho đến khi kết thúc. Nồng độ H_2S bị giảm cho đến khi nồng độ NO_3^- được giảm đến 0 ở các nhóm thử nghiệm 2, 3 và 4 sau khi nồng độ H_2S tăng.

Ví dụ 3

Nghiên cứu được thực hiện để kiểm tra lượng vi khuẩn thích hợp cần để ngăn ngừa sự sản sinh H_2S .

200g bùn đất ao và 50g thức ăn cho tôm được trộn trong bình có dung tích 1000ml. Chia hỗn hợp này thành 5 nhóm xử lý, với ba lần lặp lại và được xử lý như sau:

- | | |
|--------|---|
| Nhóm 1 | Đối chứng không được xử lý |
| Nhóm 2 | $NaNO_3$ được bổ sung đến nồng độ 10ppm |
| Nhóm 3 | <i>Paracoccus pantotrophus</i> được bổ sung đến nồng độ 0,1ppm và $NaNO_3$ được bổ sung đến nồng độ 10ppm |
| Nhóm 4 | <i>Paracoccus pantotrophus</i> được bổ sung đến nồng độ 1ppm và $NaNO_3$ được bổ sung đến nồng độ 10ppm |
| Nhóm 5 | <i>Paracoccus pantotrophus</i> được bổ sung đến nồng độ 5ppm và $NaNO_3$ được bổ sung đến nồng độ 10ppm |
| Nhóm 6 | <i>Paracoccus pantotrophus</i> được bổ sung đến nồng độ 10ppm và $NaNO_3$ được bổ sung đến nồng độ 10ppm. |

$NaNO_3$ được bổ sung vào tất cả các bình với lượng nằm trong khoảng từ 3 đến 5g để duy trì ở nồng độ 10ppm trong 7 ngày.

Lượng H_2S được đo hằng ngày trong 7 ngày nhờ kit Hach (U.S.A.). Kết quả được thể hiện trong Bảng 6.

Bảng 6

Ngày	Thông số	Nhóm 1	Nhóm 2	Nhóm 3	Nhóm 4	Nhóm 5	Nhóm 6
0	H ₂ S NO ₃ ⁻	0,00 ^a 0,00 ^a	0,00 ^a 0,00 ^a	0,00 ^a 0,00 ^a	0,00 ^a 0,00 ^a	0,00 ^a 0,00 ^a	0,00 ^a 0,00 ^a
1	H ₂ S NO ₃ ⁻	1,33 ± 0,27 ^b 0,00 ^a	1,42 ± 0,41 ^b 10,00 ± 0,00 ^b	1,59 ± 0,00 ^b 10,00 ± 0,00 ^b	1,50 ± 0,15 ^b 10,00 ± 0,00 ^b	0,80 ± 0,00 ^a 10,00 ± 0,00 ^b	0,53 ± 0,00 ^a 10,00 ± 0,00 ^b
2	H ₂ S NO ₃ ⁻	1,42 ± 0,15 ^b 0,00 ^a	1,33 ± 0,27 ^b 10,00 ± 0,00 ^b	1,42 ± 0,15 ^b 10,00 ± 0,00 ^b	1,33 ± 0,27 ^b 10,00 ± 0,00 ^b	0,35 ± 0,31 ^a 10,00 ± 0,00 ^b	0,18 ± 0,31 ^a 10,00 ± 0,00 ^b
3	H ₂ S NO ₃ ⁻	1,50 ± 0,15 ^c 0,00 ^a	1,24 ± 0,16 ^b 10,00 ± 0,00 ^b	1,33 ± 0,27 ^b 10,00 ± 0,00 ^b	1,24 ± 0,31 ^b 10,00 ± 0,00 ^b	0,00 ^a 10,00 ± 0,00 ^b	0,00 ^a 10,00 ± 0,00 ^b
4	H ₂ S NO ₃ ⁻	1,59 ± 0,27 ^c 0,00 ^a	1,15 ± 0,16 ^b 10,00 ± 0,00 ^b	0,00 ^b 10,00 ± 0,00 ^b	0,00 ^a 10,00 ± 0,00 ^b	0,00 ^a 10,00 ± 0,00 ^b	0,00 ^a 10,00 ± 0,00 ^b
5	H ₂ S NO ₃ ⁻	2,03 ± 0,15 ^c 0,00 ^a	1,33 ± 0,27 ^b 10,00 ± 0,00 ^b	0,00 ^a 10,00 ± 0,00 ^b	0,00 ^a 10,00 ± 0,00 ^b	0,00 ^a 10,00 ± 0,00 ^b	0,00 ^a 10,00 ± 0,00 ^b
6	H ₂ S NO ₃ ⁻	2,48 ± 0,15 ^c 0,00 ^a	1,42 ± 0,41 ^b 10,00 ± 0,00 ^b	0,00 ^a 10,00 ± 0,00 ^b	0,00 ^a 10,00 ± 0,00 ^b	0,00 ^a 10,00 ± 0,00 ^b	0,00 ^a 10,00 ± 0,00 ^b
7	H ₂ S NO ₃ ⁻	2,74 ± 0,40 ^c 0,00 ^a	1,68 ± 0,55 ^b 10,00 ± 0,00 ^b	0,00 ^a 10,00 ± 0,00 ^b	0,00 ^a 10,00 ± 0,00 ^b	0,00 ^a 10,00 ± 0,00 ^b	0,00 ^a 10,00 ± 0,00 ^b

Lưu ý: Các số có kèm theo các chữ khác nhau thể hiện độ chênh lệch có ý nghĩa thống kê $P < 0,05$.

Bảng 6 thể hiện nồng độ H₂S tăng ở nhóm 1 (nhóm đối chứng) từ khi bắt đầu thử nghiệm cho đến khi kết thúc thử nghiệm. Ở nhóm 2, lượng H₂S tạo ra được giảm cho đến ngày thứ 4. Ở nhóm 3 và 4, H₂S được giảm đến 0 trong vòng 4 ngày. Ở nhóm 5 và nhóm 6, H₂S sinh ra được giảm đến 0 chỉ trong vòng 3 ngày. Thử nghiệm này cho thấy rằng hàm lượng vi khuẩn ít nhất bằng 0,1ppm có thể là lượng hữu hiệu để kiểm soát nồng độ H₂S được tạo thành từ bùn ao nuôi tôm được trộn với thức ăn cho tôm.

Do đó, vi khuẩn *P. pantotrophus* có thể được sử dụng để kiểm soát nồng độ H₂S được tạo thành từ bùn ao nuôi tôm được trộn với thức ăn cho tôm. Nồng độ tối ưu của NaNO₃ có thể là cần thiết cho quá trình xử lý bằng vi khuẩn xảy ra liên tục. Các kết quả thu được từ nghiên cứu này có thể được áp

dụng và sử dụng cho ao nuôi tôm hoặc khu nuôi các động vật dưới nước hoặc động vật biển.

Ví dụ 4

Các thử nghiệm được tiến hành để quan sát tác động của chế phẩm chứa một hỗn hợp bao gồm *Paracoccus pantotrophus* và *Bacillus megaterium* đối với sự phát triển, khả năng sống và sự sinh sản của tôm trắng được nuôi trong điều kiện có độ mặn thấp, và để quan sát tác động của hỗn hợp này lên chất lượng nước của ao nuôi tôm.

Nguyên liệu và phương pháp

Hỗn hợp chứa *Paracoccus pantotrophus* và *Bacillus megaterium* có tỷ lệ trọng lượng nằm trong khoảng từ 1,5 đến 2,5 được tạo ra (CFU/g xấp xỉ 3×10^9).

Trại nuôi tôm tư nhân có điều kiện độ mặn thấp được chuẩn bị ở Bangkok, Thái Lan với hệ tái tuần hoàn khép kín. Sáu ao riêng rẽ được chuẩn bị và được chia thành hai nhóm. Nhóm I bao gồm ba ao được xử lý bằng hỗn hợp này. Nhóm II bao gồm ba ao tương tự với các ao Nhóm I, ngoại trừ là hỗn hợp theo sáng chế không được cho vào các ao này. Tất cả các ao có diện tích bằng 4000m² và độ sâu của nước nằm trong khoảng từ 1,5 đến 1,8m. Hỗn hợp này được sử dụng cho các ao được xử lý 7 ngày một lần cho đến khi thu hoạch để duy trì nồng độ vi khuẩn trong đó ở mức 0,1ppm. Không có biện pháp xử lý nào khác được áp dụng cho Nhóm I. Tất cả sáu ao đều được quản lý như nhau cho đến khi thu hoạch. Mật độ thả tôm là 40PL/m², giai đoạn sau ấu trùng, từ lò ấp trứng không mang mầm bệnh. Thức ăn dạng viên có bán trên thị trường được sử dụng để nuôi tôm bốn lần mỗi ngày. Ao được thu hoạch khoảng 4 tháng sau khi thả giống.

Nghiên cứu về sự phát triển, khả năng sống và sản lượng

Tôm trong mỗi ao được lấy mẫu, và được đo khối lượng trung bình mỗi 7 ngày cho đến khi thu hoạch (bắt đầu ở ngày thứ 30 sau khi thả giống vào ao). Sau khi thu hoạch, khả năng sống, tốc độ phát triển, tỷ lệ chuyển hóa thức ăn và sản lượng được tính và so sánh.

Nghiên cứu về chất lượng nước

Các mẫu nước được thu gom từ tất cả sáu ao và các thử nghiệm trong điều kiện phòng thí nghiệm dưới đây được thực hiện ở khoảng thời gian xác định:

1. Oxy hòa tan: 7:00 giờ đến 16:00 giờ hằng ngày.
2. Độ pH trong nước: 7:00 giờ đến 16:00 giờ hằng ngày.
3. Độ mặn: được đo một lần mỗi tuần.
4. Độ kiềm toàn phần và độ cứng: được đo một lần mỗi tuần
5. Độ dẫn điện: một lần mỗi tuần
6. Độ trong: một lần mỗi tuần
7. Tổng lượng amoniac, nitrit, nitrat và hydro sulfua: một lần mỗi tuần
8. Thế oxy hóa khử: hai tuần một lần.

Tất cả các số liệu được so sánh với các ao đối chứng bằng cách sử dụng thử nghiệm t.

Bảng 7 dưới đây thể hiện tác động của hỗn hợp này lên sự phát triển, khả năng sống và sự sinh sản của tôm như được mô tả trên đây. Cụ thể là, Bảng 7 thể hiện thể trọng trung bình và mức phát triển hằng ngày trung bình ở các ao đã được xử lý và các ao đối chứng.

Bảng 7

	Ao được xử lý		Ao đối chứng	
Tuần	Thể trọng trung bình	Mức phát triển hàng ngày trung bình	Thể trọng trung bình	Mức phát triển hàng ngày trung bình
	(g)	(g/ngày)	(g)	(g/ngày)
5	3,06	0,09	2,91	0,08
7	5,15	0,15	4,71	0,13
9	7,26	0,15	6,17	0,1
11	10,51	0,23	9,18	0,21
13	13,89	0,24	12,34	0,23
15	16,77	0,21	15,31	0,21

Kết quả: thể trọng trung bình và mức phát triển hàng ngày trung bình của tôm trong các ao được xử lý bằng hỗn hợp này là lớn hơn so với mức phát triển của tôm trong các ao đối chứng không được xử lý.

Bảng 8 dưới đây thể hiện sự so sánh về mức phát triển, khả năng sống, tỷ lệ chuyển hóa thức ăn và sản lượng giữa các ao được xử lý bằng hỗn hợp theo sáng chế và các ao không được xử lý.

Bảng 8

Ao	Diện tích (M ²)	Ngày nuôi (số ngày)	Thể trọng trung bình (g)	Tỷ lệ sống (%)	Tỷ lệ chuyển hóa thức ăn	Sản lượng (Kg/rai)	Mức phát triển hàng ngày trung bình (g/ngày)
Nhóm I: Ao được xử lý (bằng <i>P. pantotrophus</i>)							
1	2,5	111	17,24	77,33	1,22	800	0,16
2	2,5	111	16,39	89,47	1,11	880	0,15
3	2,5	111	16,67	84,00	1,16	840	0,15
Trung bình	2,5	111	16,77±0,43 ^a	83,6±6,08 ^a	1,16±0,06 ^a	840±40,00 ^a	0,15±0,01 ^a
Nhóm II: Ao đối chứng (không được xử lý bằng <i>P. pantotrophus</i>)							
4	2,5	111	15,38	67,17	1,62	620	0,14
5	2,5	111	15,63	64,00	1,62	600	0,14

6	2,5	111	14,93	75,93	1,32	680	0,13
Trung bình	2,5	111	15,31±0,35 ^b	69,03±6,18 ^b	1,52±0,17 ^b	633,33±41,63 ^b	0,14±0,01 ^b

Lưu ý : 1 rai = 1600m²

Các chữ cái ghi ở góc trên khác nhau trên cùng một cột thể hiện độ lệch chuẩn ($P < 0,05$) trên bảng 8.

Kết quả: Thê trọng trung bình, tỷ lệ sống sót, tỷ lệ chuyển hóa thức ăn và sản lượng là lớn hơn ở Nhóm I và nhỏ hơn ở Nhóm II.

Cụ thể hơn là, các nghiên cứu cho thấy sản lượng tăng 33% (kg/ha); thê trọng trung bình tăng 9% (g); Mức phát triển hằng ngày trung bình tăng 12% (g/ngày); tỷ lệ sống sót tăng 21%; tỷ lệ chuyển hóa thức ăn giảm 23%.

Các nghiên cứu về tác động của hỗn hợp này lên chất lượng nước trong ao nuôi tôm được thực hiện. Bảng 9 dưới đây thể hiện các thông số chất lượng nước (khoảng và giá trị trung bình) ở các ao đối chứng và ao được xử lý.

Bảng 9

Thông số nước	Ao được xử lý bằng <i>P. pantotrophus</i>		Ao đối chứng	
	Khoảng	Trung bình	Khoảng	Trung bình
Độ trong (cm)	7,0-40,0	16,82±8,00 ^a	8,0-35,0	18,13±8,57 ^a
Nhiệt độ nước (°C)				
-sáng	29,0-30,1	29,5±0,28 ^a	29,0-29,9	29,6±0,23 ^a
-chiều	31,0-33,5	32,0±0,69 ^a	30,3-33,5	32,0±0,73 ^a
Độ pH- sáng	7,61-7,92	7,75±0,07 ^a	7,60-7,84	7,73±0,06 ^a
- chiều	8,24-8,48	8,37±0,05 ^a	8,22-8,55	8,38±0,06 ^a
Oxy hòa tan				
- sáng	4,81-5,37	5,08±0,18 ^a	4,81-5,30	5,03±0,14 ^a
(ppm) - chiều	7,13-9,68	8,59±0,62 ^b	7,04-9,96	8,20±0,74 ^a
Độ mặn (ppt)	2,60-6,80	4,68±1,30 ^a	2,80-5,50	4,28±0,87 ^a

EC (mcm/cm)	4,90-11,87	8,30±2,17 ^a	5,10-9,86	7,69±1,58 ^a
Độ kiềm toàn phần (ppm.)	94-303	194±51 ^a	93-244	182±38 ^a
Độ cứng (ppm)	758-1826	1260±329 ^a	772-1532	1142±220 ^a
Tổng lượng amoniac (ppm)	0,006-0,070	0,029±0,013 ^a	0,004-0,059	0,032±0,015 ^a
Nitrit (ppm.)	0,000-0,009	0,004±0,002 ^a	0,001-0,008	0,004±0,002 ^a
hydro sulfua (ppm)	ND	ND	ND	ND
Nitrat (ppm.)	2,50-10,00	4,39±2,67 ^b	2,50-10,00	3,11±1,43 ^a

Lưu ý: Chữ cái ghi ở góc trên trên cùng hàng thể hiện độ lệch chuẩn ($P < 0,05$).

Bảng 10 thể hiện giá trị thế oxy hóa khử ở các ao được xử lý và ao đối chứng.

Bảng 10

	Ao được xử lý bằng hỗn hợp chứa <i>P. pantotrophus</i>		Đối chứng	
Tuần	Vùng cho ăn	Giữa ao	Vùng cho ăn	Giữa ao
	(mV)	(mV)	(mV)	(mV)
2	-15	-29	-53	-92
4	-26	-45	-83	-106
6	-42	-64	-91	-111
8	-54	-78	-84	-113
10	-61	-86	-96	-116
12	-52	-93	-82	-124
14	-67	-98	-102	-146

Ví dụ 5

Bảng 11 thể hiện các đặc điểm của một chế phẩm theo sáng chế.

Bảng 11

Chế phẩm	<i>Paracoccus pantotrophus</i>
Lượng vi khuẩn	3,0 tỷ CFU/g (3,0 X 10E9 CFU/g)
Đặc điểm bên ngoài	Bột chảy tự do màu nâu vàng nhạt
Mùi	Giống như nấm men
Khoảng độ pH tối ưu	7,5 – 8,3
Khoảng nhiệt độ tối ưu	23°C – 40°C (nước ao)
Khoảng độ mặn	0 - 40ppt
Bảo quản và vận chuyển	Nhiệt độ bảo quản tối ưu bằng 23°C hoặc thấp hơn, tránh ánh sáng trực tiếp. Bảo quản ở nơi khô mát
Hạn dùng	Tốt nhất khi sử dụng trong vòng 1 năm kể từ ngày sản xuất

Cần hiểu rằng các thay đổi khác có thể được đưa ra theo các phương án được mô tả ở đây. Do đó, mô tả trên đây không bị hạn chế, mà chỉ là các ví dụ minh họa cho các phương án. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này hiểu được các thay đổi khác nhau đều thuộc phạm vi của yêu cầu bảo hộ đi kèm.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Phương pháp xử lý nước để cải thiện sản lượng và/hoặc chất lượng của động vật dưới nước hoặc động vật biển, trong đó phương pháp này bao gồm các bước:

cho khối nước hoặc bùn của nó tiếp xúc với một hoặc nhiều vi khuẩn oxy hóa lưu huỳnh thuộc chi *Paracoccus pantotrophus* với lượng hữu hiệu nằm trong khoảng từ 100CFU/ml đến 100000CFU/ml trong khối nước hoặc với lượng hữu hiệu nằm trong khoảng từ 100CFU/g đến 100000CFU/g trong bùn, đủ để kiểm soát, làm giảm, hoặc loại bỏ H_2S trong khối nước hoặc bùn của nó; và

làm thay đổi tính chất hóa học của khối nước hoặc bùn của nó bằng cách tạo ra nồng độ nitrat trong khối nước hoặc bùn của nó nằm trong khoảng từ 0,01ppm đến 500ppm, trong đó khối nước hoặc bùn này chứa một hoặc nhiều động vật dưới nước và động vật biển và sản lượng của động vật dưới nước hoặc động vật biển được gia tăng so với cùng một khối nước hoặc bùn của nó khi vi khuẩn oxy hóa lưu huỳnh không được bổ sung đó, và trong đó bước thay đổi tính chất hóa học của khối nước hoặc bùn của nó bao gồm bước tạo ra mức oxy hóa-khử tiềm năng trong khối nước hoặc bùn của nó bằng ít nhất khoảng -330mV.

2. Phương pháp theo điểm 1, trong đó khối nước là môi trường nuôi trồng thủy sản, khu nuôi thủy sản, bể chứa nước, ao, đầm phá, ruộng lúa, hồ, cửa sông, biển hoặc dạng phối hợp của chúng.

3. Phương pháp theo điểm 1, trong đó khối nước là môi trường nuôi trồng thủy sản.

4. Phương pháp theo điểm 1, trong đó khối nước là khu nuôi thủy sản.

5. Phương pháp theo điểm 1, trong đó khối nước là bể chứa nước.

6. Phương pháp theo điểm 1, trong đó khối nước là ao.

7. Phương pháp theo điểm 1, trong đó bước tiếp xúc bao gồm việc tiếp xúc của vùng kỵ khí trong khối nước hoặc bùn của nó.
8. Phương pháp theo điểm 1, trong đó nồng độ nitrat trong khối nước hoặc bùn của nó nằm trong khoảng từ 1ppm đến 250ppm.
9. Phương pháp theo điểm 1, trong đó nồng độ nitrat trong khối nước hoặc bùn của nó bằng khoảng 200ppm.
10. Phương pháp theo điểm 1, trong đó phương pháp này còn bao gồm bước cho động vật dưới nước hoặc động vật biển bao gồm động vật thủy sản, tôm biển/nước lợ, tôm hùm, lươn, tôm càng, cá sống dưới đáy, cá, tôm nước ngọt, hàu, trai, sò, động vật thân mềm, hoặc dạng kết hợp của chúng vào khối nước.
11. Phương pháp theo điểm 1, trong đó phương pháp này còn bao gồm bước cho động vật thủy sản vào khối nước.
12. Phương pháp theo điểm 1, trong đó phương pháp này còn bao gồm bước cho tôm biển/nước lợ vào khối nước.
13. Phương pháp theo điểm 1, trong đó phương pháp này còn bao gồm bước cho tôm hùm vào khối nước.
14. Phương pháp theo điểm 1, trong đó lượng hữu hiệu của *Paracoccus pantotrophus* là lượng đủ để duy trì hàm lượng H_2S dưới 1ppm trong ít nhất 1 tuần.
15. Phương pháp theo điểm 1, trong đó phương pháp này còn bao gồm bước bổ sung vào khối nước hoặc bùn của nó vi sinh vật khác thuộc chi *Bacillus* được chọn từ nhóm bao gồm *Bacillus alkalophilus*, *Bacillus brevis*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus circulans*, *Bacillus clausii*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus lentus*, *Bacillus amyloliquofaciens*, *Bacillus lautus*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus stearothermophilus*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus pasteurii*, *Bacillus thuringiensis* hoặc hỗn hợp của chúng.

16. Phương pháp theo điểm 1, trong đó sản lượng của động vật dưới nước hoặc động vật biển được gia tăng ít nhất 5% so với cùng khối nước không được bổ sung vi khuẩn oxy hóa lưu huỳnh vào đó.

17. Phương pháp gia tăng sản lượng động vật dưới nước hoặc động vật biển, trong đó phương pháp này bao gồm các bước:

làm giảm hàm lượng H_2S trong khối nước và bùn của nó bằng cách tạo ra quần thể vi khuẩn oxy hóa lưu huỳnh là *Paracoccus pantotrophus* trong khối nước với lượng hữu hiệu nằm trong khoảng từ 100CFU/ml đến 100000CFU/ml và trong bùn với lượng hữu hiệu nằm trong khoảng từ 100CFU/g đến 100000CFU/g; và

làm thay đổi tính chất hóa học của khối nước bằng cách tạo ra nồng độ nitrat trong khối nước nằm trong khoảng từ 0,01ppm đến 500ppm, trong đó khối nước chứa một hoặc nhiều động vật trong nước hoặc động vật biển và trong đó bước làm thay đổi tính chất hóa học của khối nước bao gồm bước tạo ra mức oxy hóa-khử tiềm năng trong khối nước hoặc bùn của nó bằng ít nhất khoảng -330mV.

18. Phương pháp theo điểm 17, trong đó hàm lượng cuối cùng của H_2S trong khối nước là dưới 1ppm.

19. Phương pháp theo điểm 17, trong đó hàm lượng cuối cùng của H_2S trong khối nước hoặc bùn là dưới 0,5ppm.

20. Phương pháp theo điểm 17, trong đó hàm lượng cuối cùng của H_2S trong khối nước hoặc bùn nằm trong khoảng từ 0,1ppm đến 0,5ppm.

21. Phương pháp theo điểm 17, trong đó phương pháp này còn bao gồm bước tạo ra độ pH trong khối nước nằm trong khoảng từ 6,0 đến 9,0.

22. Phương pháp theo điểm 17, trong đó bước làm giảm hàm lượng H_2S trong khối nước và bùn của nó xảy ra trong vùng kỵ khí trong khối nước.

23. Phương pháp theo điểm 17, trong đó phương pháp này còn bao gồm bước cho các động vật trong nước hoặc động vật biển bao gồm động vật thủy sản, tôm biển/nước lợ, tôm hùm, lươn, tôm càng, cá sống dưới đáy, cá, tôm nước ngọt, hào, trai, sò, động vật thân mềm, hoặc dạng kết hợp của chúng vào khối nước.

24. Phương pháp theo điểm 17, trong đó phương pháp này còn bao gồm bước cho động vật thủy sản vào khối nước.

25. Phương pháp theo điểm 17, trong đó phương pháp này còn bao gồm bước cho tôm biển/nước lợ vào khối nước.

26. Phương pháp theo điểm 17, trong đó phương pháp này còn bao gồm bước cho tôm hùm vào khối nước.

27. Phương pháp theo điểm 17, trong đó phương pháp này còn bao gồm bước bổ sung vào khối nước hoặc bùn của nó vi sinh vật khác thuộc chi *Bacillus* được chọn từ nhóm bao gồm *Bacillus alkalophilus*, *Bacillus brevis*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus circulans*, *Bacillus clausii*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus lentus*, *Bacillus amyoliquofaciens*, *Bacillus lautus*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus stearothermophilus*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus pasteurii*, *Bacillus thuringiensis* hoặc hỗn hợp của chúng.

28. Phương pháp theo điểm 17, trong đó sản lượng của động vật dưới nước hoặc động vật biển được gia tăng ít nhất 5%.