

NGHIÊN CỨU ĐIỀU KIỆN NUÔI CẤY THÍCH HỢP THU SINH KHỐI TẢO *SPIRULINA PLATENSIS* TRONG HỆ THỐNG KÍN DẠNG ỒNG

Trần Hải Anh¹, Nguyễn Minh Tân², Nguyễn Lan Hương³

Trong nghiên cứu này, chúng tôi khảo sát một số yếu tố ảnh hưởng đến sự sinh trưởng của tảo trên hệ thống kín dạng ống dung tích 100 lít/m², cụ thể là mật độ giống ban đầu, thời gian chiếu sáng, cường độ ánh sáng và tốc độ dòng chảy. Điều kiện phù hợp cho sự phát triển của tảo *Spirulina platensis* là mật độ giống ban đầu OD_{560nm} 0,3; cường độ ánh sáng 3500 – 4000 lux với thời gian chiếu sáng 16 giờ/ngày; vận tốc dòng 0,33 m/s. Lượng sinh khối tảo đạt cực đại là $4,82 \pm 0,14$ g sinh khối tảo khô/L sau thời gian 8 ngày nuôi.

Từ khóa: *Spirulina platensis*, sinh trưởng, hệ thống kín dạng ống.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Theo số liệu của Tổ chức Y tế thế giới WHO, tảo *Spirulina* có thể giúp con người phòng chống ít nhất là 70% các loại bệnh. Chính vì vậy, tảo *Spirulina* đã được EC khuyến cáo, được WHO và các Bộ Y tế của nhiều quốc gia trên thế giới công nhận không chỉ là nguồn thực phẩm sạch mà còn là giải pháp cho phòng và điều trị bệnh của thế kỷ 21. Việc sản xuất công nghiệp *Spirulina* được thực hiện chủ yếu trong điều kiện ngoài trời bằng cách sử dụng hệ thống nuôi hở (các ao tròn và kênh dẫn nước) và ánh sáng mặt trời tự nhiên. Đây là quy trình khá đơn giản là do tính kinh tế của quy trình sản xuất và được áp dụng rộng rãi ở một số nước như Đài Loan, Mỹ, Trung Quốc... Tuy nhiên hạn chế của phương pháp này luôn tồn tại những khó khăn như khó kiểm soát các điều kiện thích hợp cho sinh trưởng của tảo, không ổn định, khó kiểm soát chất lượng sinh khối và quan trọng nhất là nguy cơ ô nhiễm rất cao từ đó gây ảnh hưởng xấu tới chất lượng sinh khối và gây phức tạp cho quá trình chế biến về

sau. Chính vì thế, trên thế giới hiện nay đã dần từ bỏ nuôi theo phương pháp truyền thống (ví dụ như Ý, Israel, Đức...), thay vào đó là việc nghiên cứu và ứng dụng hệ thống quang sinh học (photo-bioreactor – PBR). Tại Việt Nam một số đơn vị sản xuất như Vina Tảo, Vĩnh Hảo,... cũng đang bắt đầu áp dụng việc nuôi sinh khối tảo bằng hệ thống PBR, tuy nhiên mới chỉ ở quy mô nhỏ. Việc nghiên cứu điều kiện nuôi cấy tảo *Spirulina* trong hệ thống PBR để đưa ra quy trình nuôi cấy vi tảo một cách hiệu quả và phù hợp với điều kiện tại Việt Nam là rất cần thiết.

Do đó trong nghiên cứu này chúng tôi đi sâu nghiên cứu các điều kiện thích hợp để nuôi sinh khối tảo trong hệ thống kín dạng ống.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

2.1.1. Giống tảo: *S. platensis* được cung cấp từ Phòng Sinh học Tảo – Đại học Quốc gia Hà Nội.

¹ThS – Viện CNSH-CNTTP, ĐHBKHN

²TS – Viện NC&PT UD các hợp chất thiên nhiên, ĐHBKHN

³PGS.TS – Viện CNSH-CNTTP, ĐH Bách Khoa HN
Email: huong.nguyenlan@hust.edu.vn

Ngày nhận bài: 5/1/2018

Ngày phản biện đánh giá: 15/1/2018

Ngày đăng bài: 5/3/2018

2.1.2. Môi trường Zarrouk cải tiến được dùng cho nuôi tảo bao gồm: 16,8g/l NaHCO_3 ; 0,5g/l K_2HPO_4 ; 2,5 g/l NaNO_3 ; 1g/l NaCl ; 0,2 g/l $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 0,01g/l $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 1g/l K_2SO_4 ; 0,04g/l $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; 0,08g/l EDTA.

2.2. Thiết bị sử dụng

2.2.1. Hệ thống PBR có thể tích là 100 lít với 20 vòng ống được thiết kế bằng ống thủy tinh bao gồm hai loại ống có chiều dài 1260 mm và 660 mm, đường kính ống 32 mm. Được kết nối bởi cút nhựa góc 90° và ống nhựa mềm tạo nên một chiều dài đường đi cho dịch tảo trong một hệ thống khoảng 20 m và dạng xoắn theo chiều từ dưới lên trên với tiết diện dần ống là hình chữ nhật. Hệ thống dùng bơm ly tâm với công suất 150W với ưu điểm không tạo những dòng xoáy mạnh và áp suất lớn trong bơm nên không ảnh hưởng đến sự phát triển của tảo. Khi hệ thống hoạt động dịch tảo từ thùng chứa được bơm đưa vào hệ thống ở vị trí ống dưới cùng, chảy qua chiều dài ống theo chiều xoắn hình chữ nhật với góc nghiêng (khoảng 200) lên trên cao tại vị trí trên cùng rồi được tuần hoàn trở lại thùng.



Hình 1. Hệ thống PBR nuôi tảo *Spirulina*

2.2.2. Các thiết bị phân tích: Máy so màu (NovaSpec™ III, Anh); máy đo cường độ sáng LM-8000A (Đài Loan) của PTN bộ môn Công nghệ Sinh học, ĐH Bách Khoa Hà Nội.

2.3. Phương pháp nghiên cứu.

2.3.1. Đánh giá sự phát triển của tảo

Sự sinh trưởng của tảo *S. platensis* được xác định dựa vào mật độ quang hấp thụ ở bước sóng 560 nm (OD_{560}) [1].

Trọng lượng khô được xác định theo phương pháp của Torzillo và cộng sự (1993) [2].

2.3.2. Phương pháp công nghệ xác định điều kiện phát triển của tảo *S. platensis*

Tảo giống được chuyển từ nhân giống trong phòng thí nghiệm trên các chai nhựa 1,5L lên hệ thống dàn.

2.3.2.1. Xác định mật độ giống ban đầu.

Tảo *S. platensis* được nuôi trên môi trường Zarrouk cải tiến với cường độ chiếu sáng là 2500–3000 lux, thời gian chiếu sáng là 12/24 giờ, nhiệt độ nuôi 30°C, mật độ giống ban đầu tương ứng với giá trị OD_{560} thay đổi từ 0,1 đến 0,5. Sự phát triển của sinh khối tảo được xác định hàng ngày bằng cách theo dõi OD_{560} . Lượng sinh khối khô được xác định tại ngày sinh khối đạt cực đại.

2.3.2.2. Xác định ảnh hưởng của cường độ ánh sáng.

Ánh sáng được thay đổi bởi các hệ thống chiếu sáng có cường độ lần lượt là 800–1200 lux, 1500–1800 lux, 3500–4000 lux và 4500–5500 lux. Thời gian chiếu sáng 24/24 giờ và mật độ giống ban đầu OD_{560} 0,3. Hàng ngày xác định OD_{560} . Lượng sinh khối khô được xác định tại ngày sinh khối đạt cực đại.

2.3.2.3. Xác định ảnh hưởng của thời gian chiếu sáng.

Thời gian chiếu sáng được thay đổi

với 12/24 giờ, 16/24 giờ và 24/24 giờ. Theo dõi sự sinh trưởng bằng cách đo OD₅₆₀ hàng ngày. Lượng sinh khối khô được xác định tại ngày sinh khối đạt cực đại.

2.3.2.4. Xác định ảnh hưởng của tốc độ dòng chảy.

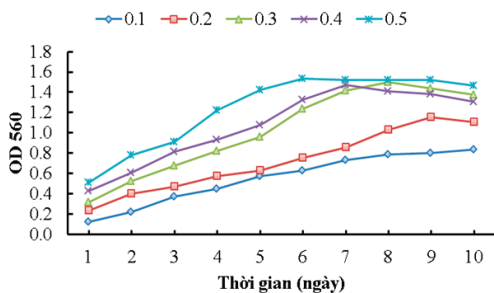
Để đánh giá được ảnh hưởng của tốc độ dòng chảy đến sự sinh trưởng và phát triển của tảo *Spirulina*, tiến hành thay đổi các vận tốc dòng chảy khác nhau là $v = 0,14$ m/s; $v = 0,33$ m/s; $v = 0,49$ m/s. Thời

gian chiếu sáng là 16 giờ/ngày. Theo dõi sự sinh trưởng bằng cách xác định OD₅₆₀ hàng ngày. Lượng sinh khối khô được xác định tại ngày sinh khối đạt cực đại.

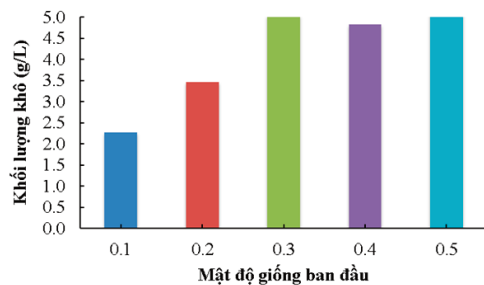
III. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1. Nghiên cứu ảnh hưởng của mật độ giống ban đầu.

Sự sinh trưởng của sinh khối tảo *S. platensis* ở các mật độ giống ban đầu khác nhau được thể hiện ở Hình 1.



A



B

Hình 1. Đồ thị chỉ ảnh hưởng của mật độ giống ban đầu đến sự phát triển của *Spirulina* (A) và khối lượng khô cực đại thu được (B)

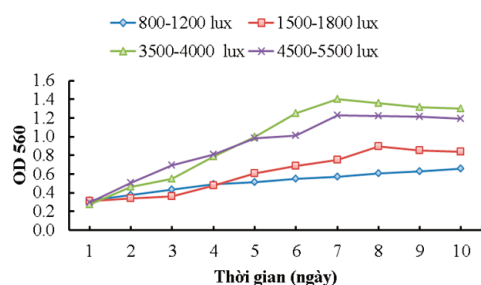
Hình 1.A cho thấy sự sinh trưởng của tảo phụ thuộc vào mật độ giống ban đầu, với OD₅₆₀ ban đầu từ 0,3-0,5 tảo phát triển tốt hơn so với OD₅₆₀ ban đầu 0,1 – 0,2. Điều này cũng thể hiện rõ ở lượng sinh khối khô thu được được thể hiện ở hình 1.B. Với mật độ OD₅₆₀ khởi đầu 0,5 cho thấy thời gian tăng trưởng và thời gian đạt mật độ cực đại là ngắn nhất, mặc dù OD₅₆₀ ban đầu là 0,4 cho tốc độ tăng trưởng ở những ngày đầu nhanh hơn so với OD₅₆₀ ban đầu từ 0,1 – 0,3 nhưng khi đi vào pha tăng trưởng thì sự phát triển lại không cao hơn nhiều so với OD₅₆₀ ban đầu 0,3. Và OD₅₆₀ ban đầu 0,3 *S. platensis* có thể tăng sinh nhanh chóng đến nồng độ sinh khối cao nhất. Kết quả thí nghiệm cho thấy tại OD₅₆₀ ban đầu 0,3 tảo có sự phát triển vượt trội hơn so với các mật độ

giống ban đầu còn lại, đạt cực đại vào ngày nuôi 8 với lượng sinh khối khô thu được $5,05 \pm 0,03$ g/L. Kết quả này cho thấy sự phù hợp với nghiên cứu của Azgin và cộng sự (2014) lượng sinh khối khô thu được khi nuôi *S. platensis* ở T-PBR đạt 3,492 - 4,959 g/L [1] và trong nghiên cứu của Travieso et al. (2003) khi nuôi *Spirulina* trong thiết bị quang sinh học dạng ống thì khối lượng khô đạt được 5,82 g/L [3].

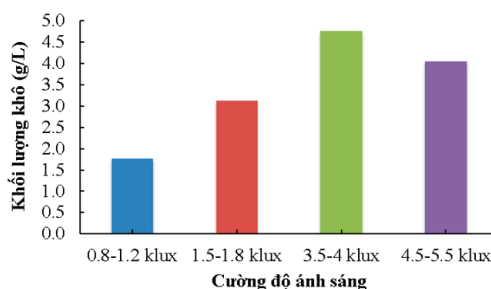
Do đó, giá trị OD₅₆₀ ban đầu 0,3 được chọn làm nồng độ sinh khối ban đầu để tiến hành các thí nghiệm sau, và có thể giảm được lượng tảo bổ trí ban đầu cũng như có thể tiết kiệm được chi phí sản xuất khi nuôi cấy ở qui mô lớn mà vẫn đạt được mật độ cao.

3.2. Nghiên cứu ảnh hưởng của cường độ ánh sáng

Sự sinh trưởng của sinh khối tảo *S. platensis* ở các cường độ ánh sáng khác nhau được thể hiện ở Hình 2.



A



B

Hình 2. Đồ thị chỉ ảnh hưởng của cường độ chiếu sáng đến sự phát triển của *Spirulina* (A) và khối lượng khô cực đại thu được (B)

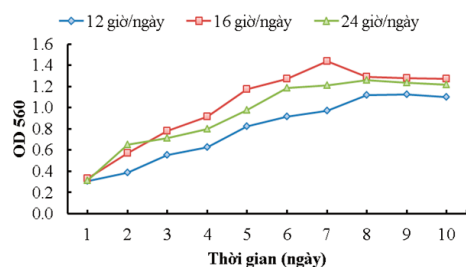
Theo kết quả ở hình 2.A thấy rằng với cường độ chiếu sáng mạnh 4500–5500 lux, tảo có tốc độ phát triển ban đầu khá tốt, tuy nhiên đến ngày nuôi thứ 5 thì sự sinh trưởng có dấu hiệu chậm lại, không ổn định và chỉ có thể đạt OD₅₆₀ cực đại là 1,232 vào ngày thứ 7. Với cường độ chiếu sáng 3500–4000 lux, cho thấy đường cong sinh trưởng có phần ổn định hơn và đạt mật độ tế bào khá cao OD₅₆₀ cực đại là 1,436 tương ứng với lượng sinh khối khô thu được 4,76 g/L (hình 2.B). Cho đến ngày nuôi thứ 5 sự sinh trưởng và phát triển cao hơn so với cường độ chiếu sáng 800–1200 lux và 1500–1800 lux tảo có biểu hiện phát triển yếu và đạt cực đại

sau 8 hoặc hơn 10 ngày.

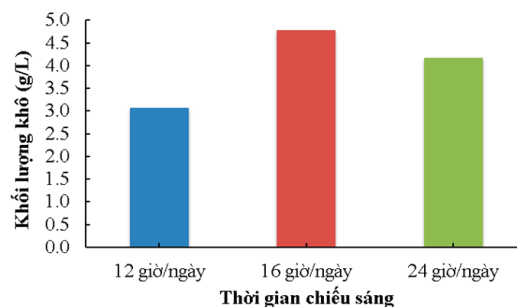
Henrard A. et al. (2011) đã chỉ ra rằng sự phát triển tốt nhất của tảo tại cường độ chiếu sáng 3200 lux [4]. Kumar et al (2011) nhận thấy điều kiện nuôi tối ưu cho sự phát triển của tảo *S. platensis* với cường độ chiếu sáng 3500 lux [5]. Kết quả thí nghiệm thu được cũng khẳng định tảo *S. platensis* phát triển mạnh đạt sinh khối nhiều và ổn định ở điều kiện chiếu sáng từ 3500 – 4000 lux.

3.3. Nghiên cứu ảnh hưởng của thời gian chiếu sáng

Sự sinh trưởng của sinh khối tảo *S. platensis* ở các thời gian chiếu sáng khác nhau được thể hiện ở Hình 3.



A



B

Hình 3.3. Đồ thị chỉ ảnh hưởng của thời gian chiếu sáng đến sự phát triển của *Spirulina* (A) và khối lượng khô cực đại thu được (B)

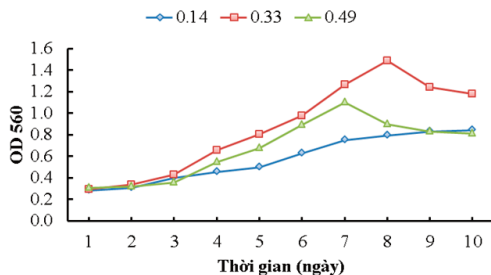
Kết quả Hình 3 cho thấy Khi được chiếu 16 giờ/ngày *S. platensis* có thể tăng

sinh nhanh chóng và đạt nồng độ sinh khối cao nhất vào ngày nuôi 7 với lượng

sinh khối khô đạt được 4,77 g/L (hình 3.B). Tại thời gian chiếu sáng 24 giờ/ngày cho tốc độ tăng trưởng ở những ngày đầu nhanh hơn nhưng đến ngày nuôi 3 thì sự phát triển bắt đầu suy giảm. Khi chiếu sáng với 12 giờ/ngày sự phát triển của tảo yếu hơn hẳn so với các thời gian chiếu sáng còn lại. Pareek (2001) đã tiến hành thử nghiệm để xác định chu kỳ sáng tối ưu cho sự phát triển và năng suất của tảo. Họ nhận thấy rằng với thời gian chiếu sáng tối ưu cho sự phát triển của *S. platensis* là 16 giờ/ngày [6].

3.4. Nghiên cứu ảnh hưởng của vận tốc dòng chảy

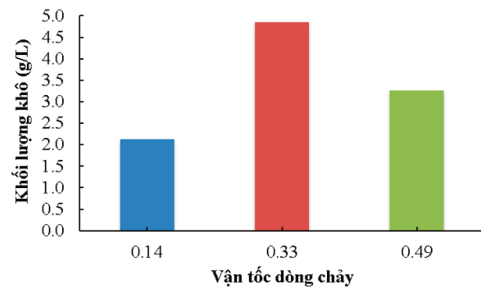
Đối với vận hành hệ thống kín dạng



Hình 4. Đồ thị chỉ ảnh hưởng của vận tốc dòng chảy đến sự phát triển của *Spirulina* (A) và khối lượng khô cực đại thu được (B)

Carlozzi (2008) cho biết đã tiến hành thực nghiệm nuôi trồng tảo *Spirulina* ở vận tốc dòng từ 0,2 đến 0,5 m/s [7]. Kết quả thí nghiệm cũng cho thấy trong khoảng vận tốc dòng từ 0,14 m/s – 0,49m/s, tảo *S. platensis* tuy có tốc độ sinh trưởng khác nhau nhưng đều cho thấy sự sinh trưởng tốt. Bên cạnh các tác động cơ học vào dịch tảo, vận tốc dòng còn ảnh hưởng tới khả năng hòa tan oxy trong dịch nuôi qua chế độ chảy dòng hay chảy xoáy. Chế độ chảy xoáy làm giảm khả năng hòa tan oxy, đồng thời thải bỏ oxy do quá trình quang hợp sinh ra nhanh hơn, khiến cho tảo sinh trưởng tốt hơn. Trong 3 giá trị khảo sát, giá trị v là 0,33 m/s ($Re = 8150$) và v là 0,49m/s ($Re =$

ồng tốc độ dòng chảy trong ống cũng là một thông số ảnh hưởng lớn đến sự phát triển của tảo. Quan sát hình 4 nhận thấy có sự khác biệt đáng kể về tăng trưởng sinh khối *S. platensis* giữa vận tốc dòng 0,14 m/s với 0,33 m/s và 0,49 m/s. Với vận tốc dòng chảy là 0,14 m/s thì tốc độ tăng trưởng chậm hơn so với 2 giá trị còn lại, sự khác biệt thể hiện bắt đầu từ ngày thứ 3. Trong khi đó, với hai vận tốc 0,33 và 0,49m/s thì không có sự khác biệt đáng kể tính đến ngày thứ 7. Tuy nhiên sang ngày thứ 8, giá trị OD_{560} đột ngột giảm ở mẫu thí nghiệm vận tốc 0,49m/s, còn ở 0,35 m/s thì vẫn tiếp tục tăng đến ngày tiếp theo.



13585) là cho chế độ chảy chuyển tiếp sang chảy xoáy ($2300 < Re < 10000$) và chảy xoáy ($Re > 10000$), Giá trị v là 0,14 m/s ($Re = 2121$) cho chế độ chảy dòng ($Re < 2300$) [8].

Như vậy, chọn giá trị vận tốc dòng 0,33 m/s là giá trị thích hợp để nuôi tảo *Spirulina*, với lượng sinh khối khô thu được sau 8 ngày nuôi là 4,85 g/l.

IV. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu thu được cho thấy:

Điều kiện thích hợp nuôi sinh khối tảo *Spirulina* trong hệ thống kín dạng ống quy mô 100 l/mẻ như sau: mật độ giống ban đầu OD_{560} 0,3; cường độ chiếu sáng 3500–4000 lux, thời gian chiếu sáng 16

giờ/ngày, vận tốc dòng 0,33 m/s. Sau 8 ngày nuôi lượng sinh khối khô đạt cực đại là $4,82 \pm 0,14$ g/L.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Azgin, C., Işık, O., Uslu, L., & Ak, B. (2014). *A Comparison the Biomass of Productivity, Protein and Lipid Content of Spirulina platensis Cultured in the Pond and Photobioreactor*. Journal of Biological and Environmental Sciences, 8(24), 183-187.
2. Torzillo, G., Carlozzi, P., Pushparaj, B., Montaini, E. & Materassi, R. (1993). *A two-plane photobioreactor for outdoor culture of Spirulina*. Biotechnol. Bioeng, 42, 891-898.
3. Travieso L. et al. (2001). *A helical tubular photobioreactor producing Spirulina in a semicontinuous mode*. International Biodeterioration & Biodegradation. 47 (3), 151-155.
4. Henrard A. et al. (2011). *Vertical tubular photobioreactor for semicontinuous culture of Cyanobium sp.* Bioresource technology. 102 (7), 4897-4900.
5. Kumar M. et al. (2011). *Growth and biopigment accumulation of cyanobacterium Spirulina platensis at different light intensities and temperature*. Brazilian Journal of Microbiology. 42 (3), 1128-1135.
6. Pareek A. et al. (2001). *Optimum photoperiod for the growth of Spirulina platensis*. J. Phytol. Res. 14, 219-220.
7. Carlozzi P. (2008). *Closed photobioreactor assessments to grow, intensively, light dependent microorganisms: a twenty-year Italian outdoor investigation*. The Open Biotechnology Journal. 2, 63-72.
8. Trần Xoa và các cộng sự (2006). *Sổ tay quá trình và thiết bị trong công nghệ hóa chất*. NXB Khoa học và kỹ thuật, tập 1, 359-374.

Summary

STUDY ON CULTIVATION OF SPIRULINA PLATENSIS IN TUBULAR PHOTOBIOREACTOR

In this study, some factors affecting on the growth of *Spirulina platensis* in tubular photobioreactor with 100 liter working volume, such as initial seed optical density, light intensity, photoperiod, and flow velocity were investigated. The suitable conditions for the growth of *S. platensis* were determined as: initial seed optical density (OD_{560nm}) of 0.3; light intensity of 3500-4000 lux with lighting time of 16 hours/day; flow velocity 0.33 m/s. The highest biomass has gained about 4.82 ± 0.14 g of dry biomass/L after 8 days of cultivation.

Keywords: *Spirulina platensis*, growth, tubular photobioreactor.

