

NGHIÊN CỨU MỘT SỐ YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG ĐẾN SỰ SINH TRƯỞNG CỦA TẢO *SPIRULINA PLATENSIS* QUY MÔ PHÒNG THÍ NGHIỆM

Trần Hải Anh¹, Nguyễn Hà Trung², Nguyễn Minh Tân³, Nguyễn Lan Hương⁴

Trong nghiên cứu này, chúng tôi khảo sát một số yếu tố ảnh hưởng đến sự sinh trưởng của tảo, cụ thể là mật độ giống ban đầu, thời gian chiếu sáng, cường độ ánh sáng và nhiệt độ môi trường nuôi ở quy mô là bình tam giác 250ml và chai nhựa 1,5 lít. Điều kiện phù hợp cho sự phát triển của tảo *Spirulina platensis* là mật độ giống ban đầu OD₅₆₀ nm 0,3; thời gian chiếu sáng 24/24 giờ với cường độ ánh sáng 3500 – 4000 lux và nhiệt độ môi trường là 35°C. Lượng sinh khối tảo đạt cực đại là $3,12 \pm 0,08$ g sinh khối tảo khô/lít sau thời gian 8 ngày nuôi.

Từ khóa: *Spirulina platensis*, sinh trưởng, quy mô phòng thí nghiệm

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hàng chục năm qua, các sản phẩm từ tảo *S. platensis* đã được sử dụng rộng rãi trên toàn thế giới vì giá trị dinh dưỡng và giá trị sinh học đặc biệt của nó. Việt Nam được biết đến là nơi có điều kiện thuận lợi để nuôi trồng tảo tuy nhiên tiềm năng đó chưa được tận dụng và khai thác một cách hiệu quả. Tảo *Spirulina* là sinh vật dạng sợi đa bào, sống ở nước kiềm giàu bicacbonat và là loài tảo có giá trị dinh dưỡng cao. Hàm lượng protein chiếm 50 - 70% trọng lượng khô, với đầy đủ thành phần của nhiều loại axit amin không thay thế, giàu axit béo (đặc biệt γ -linolenic axit), vitamin (nhất là vitamin nhóm B trong đó có B12), giàu sắc tố (nhất là β -caroten), khoáng đa lượng, vi lượng ...

Hiện nay trên thế giới cũng như tại Việt Nam, chủ yếu nuôi tảo *Spirulina* bằng các hệ thống ao, bể hở. Tuy nhiên việc nuôi sinh khối tảo bằng điều kiện nuôi hở luôn tồn tại nhiều những khó khăn như khó kiểm soát các điều kiện thích hợp cho sinh trưởng của tảo, khó

kiểm soát chất lượng sinh khối và quan trọng nhất là nguy cơ ô nhiễm cao. Vì thế, trên thế giới hiện nay đã dần từ bỏ nuôi theo phương pháp truyền thống, thay vào đó là việc nghiên cứu và ứng dụng hệ thống kín. Tại Việt Nam một số đơn vị sản xuất như Vina Tảo, Vĩnh Hảo,.. cũng đang bắt đầu áp dụng, tuy nhiên mới chỉ ở quy mô nhỏ. Khi tiến hành nuôi thu sinh khối tảo trong các hệ thống kín hay hồ đều đòi hỏi quá trình cấp giống từ phòng thí nghiệm. Do đó trong nghiên cứu này chúng tôi đi sâu nghiên cứu một số yếu tố ảnh hưởng đến sự sinh trưởng của tảo *S. platensis* quy mô phòng thí nghiệm nhằm lựa chọn được các điều kiện thích hợp để thu được sinh khối tảo cho quy trình nuôi tảo ở quy mô 100-200 lít/m² trên hệ thống kín.

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

¹ThS - Đại học Bách Khoa Hà Nội
E-mail: huong.nguyenlan@hust.edu.vn

²KS - Đại học Bách Khoa Hà Nội

³PTS - Đại học Bách Khoa Hà Nội

⁴PGS.TS - Đại học Bách Khoa Hà Nội

Ngày nhận bài: 25/4/2016

Ngày phản biện đánh giá: 2/5/2016

Ngày đăng bài: 30/6/2016

học Quốc gia Hà Nội.

2.1.2. Môi trường Zarrouk cải tiến
 được dùng cho nuôi tảo bao gồm: 16,8g/l NaHCO₃; 0,5g/l K₂HPO₄; 2,5 g/l NaNO₃; 1g/l NaCl; 0,2 g/l MgSO₄.7H₂O; 0,01g/l FeSO₄.7H₂O; 1g/l K₂SO₄; 0,04g/l CaCl₂.2H₂O; 0,08g/l EDTA.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. 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 560nm (OD₅₆₀) [6].

Trọng lượng khô được xác định theo phương pháp của Torzillo và cộng sự (1993) [8].

2.2.2. Một số yếu tố ảnh hưởng tới sự phát triển của tảo *S. platensis*

Tảo giống được chuyển từ các ống nghiệm sang các bình tam giác 250ml, sau đó chuyển sang chai nhựa 1,5 lít. Đã tiến hành khảo sát ảnh hưởng mật độ giống ban đầu, thời gian chiếu sáng, cường độ ánh sáng và nhiệt độ nuôi đến sự phát triển của sinh khối tảo *S. platensis* ở cả quy mô bình tam giác 250ml và chai nhựa 1,5 lít.

- Ảnh hưởng của mật độ giống ban đầu

Tảo *S. platensis* được nuôi trên môi trường Zarrouk, với cường độ chiếu sáng là 1500-1800 lux, thời gian chiếu sáng là 12/24 giờ, nhiệt độ nuôi 30°C, mật độ giống ban đầu tương ứng với giá trị OD₅₆₀

thay đổi từ 0,05 đến 0,5. Sự phát triển của sinh khối tảo được xác định hàng ngày bằng cách theo dõi OD₅₆₀.

- Ảnh hưởng của thời gian chiếu sáng

Tảo *S. platensis* được nuôi với điều kiện tương tự như trên, trong đó mật độ giống OD₅₆₀ 0,3 thời gian chiếu sáng được thay đổi với 12/24 giờ và 24/24 giờ. Theo dõi sự sinh trưởng bằng cách đo OD₅₆₀ hàng ngày.

- 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 OD₅₆₀ 0,3. Hàng ngày xác định OD₅₆₀.

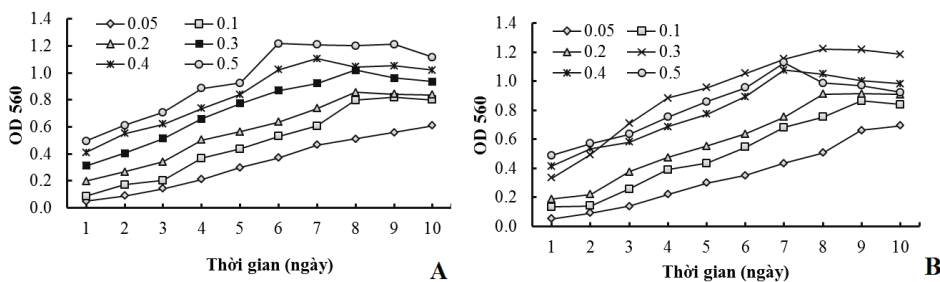
- Ảnh hưởng của nhiệt độ

Để đánh giá được ảnh hưởng của nhiệt độ đến sự sinh trưởng và phát triển của tảo *Spirulina*, tiến hành thay đổi nhiệt độ nuôi cấy tảo ở 20°C, 25°C, 30°C và 35°C. Theo dõi sự sinh trưởng bằng cách xác định OD₅₆₀ hàng ngày.

III. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của mật độ giống ban đầu

Sự sinh trưởng của tảo *S. platensis* với các mật độ giống ban đầu khác nhau được thể hiện ở hình 3.1.



Hình 3.1. Đồ thị chỉ ảnh hưởng của mật độ giống ban đầu đến sự phát triển của *Spirulina* ở quy mô bình tam giác 250 ml (A) và chai nhựa 1,5l (B)

Kết quả hình 3.1 cho thấy ở quy mô bình tam giác 250ml với sự thay đổi của tỷ lệ giống ban đầu OD₅₆₀ từ 0,05 đến 0,5 thì tỷ lệ giống ban đầu giương như tỷ lệ thuận với sự sinh trưởng của tảo. Tuy nhiên khi OD₅₆₀ ban đầu là 0,05; 0,1; 0,2; tảo có biểu hiện phát triển yếu trong khoảng 3 ngày đầu, sau đó sự phát triển tăng dần và đạt cực đại sau 8 hoặc hơn 10 ngày. *S. platensis* phát triển tốt với các giá trị OD₅₆₀ ban đầu 0,3; 0,4; 0,5. Với mật độ OD₅₆₀ khởi đầu 0,5 cho thời gian tăng trưởng và đạt mật độ cực đại ngắn nhất là 6 ngày, nhưng để có OD₅₆₀ ban đầu đạt 0,5 sẽ tốn nhiều lượng tảo ban đầu cho nhân giống.

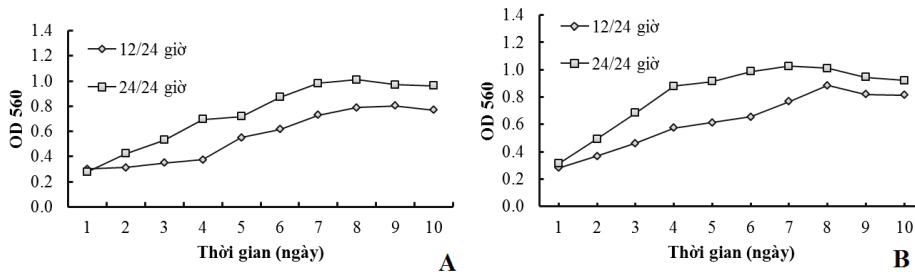
Khi nuôi *S. platensis* ở chai nhựa 1,5lít với OD₅₆₀ ban đầu là 0,4 và 0,5 tảo phát triển tốt hơn ở so với OD₅₆₀ ban đầu từ 0,05 - 0,2 nhưng lại phát triển kém hơn OD₅₆₀ so với OD₅₆₀ ban đầu là 0,3. Kết quả thí nghiệm cho thấy tại OD₅₆₀ ban đầu 0,3

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 $3,12 \pm 0,08\text{g/l}$. 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* đạt 2,89 - 3,23g/l [1].

Như vậy mật độ giống ban đầu có ảnh hưởng lớn đến sự sinh trưởng của tảo. Để thời gian nuôi không quá dài thì mật độ OD₅₆₀ ban đầu nên dao động từ 0,3-0,5. Với mục tiêu có giống tốt cho quy mô nuôi 100-200 lít/mẻ chúng tôi chọn OD₅₆₀ ban đầu cho quy mô bình tam giác 250ml và chai 1,5 lít là 0,3.

3.2. 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 3.2.



Hình 3.2. Đồ thị chỉ ảnh hưởng của thời gian chiếu sáng đến sự phát triển của *Spirulina* ở quy mô bình tam giác 250 ml (A) và chai nhựa 1,5 lít (B)

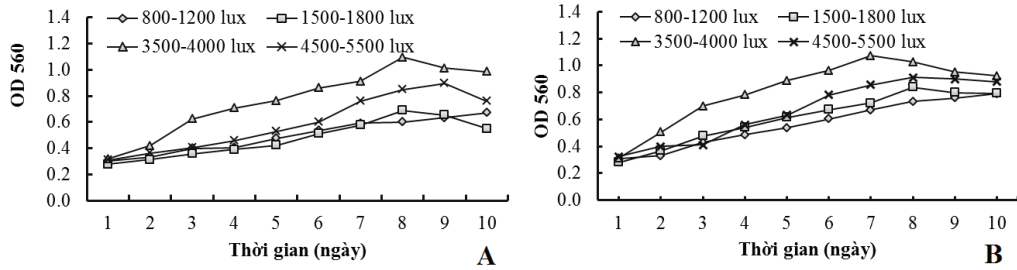
Hình 3.2 biểu diễn sự sinh trưởng của *S. platensis* ở các thời gian chiếu sáng khác nhau. Với bình tam giác 250ml khi chiếu sáng liên tục (24/24 giờ) thì tảo sinh trưởng tốt và đạt cực đại vào ngày nuôi 8 vượt trội hơn hẳn với khi chiếu 12/24 giờ. Và với chai nhựa 1,5 lít tảo cũng phát triển mạnh khi được chiếu liên tục. Theo Janssen (2002) thì thời gian chiếu sáng càng dài năng suất tảo *Spirulina* càng cao,

năng suất tảo đạt cao nhất khi chiếu sáng liên tục [5].

Do mục tiêu của việc nuôi tảo là nhằm thu sinh khối cao nên tiến hành chọn thời gian chiếu sáng là 24/24 giờ.

3.3. 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 3.3.



Hình 3.3. Đồ thị chỉ ảnh hưởng của cường độ sáng đến sự phát triển của Spirulina ở quy mô bình tam giác 250ml (A) và chai nhựa 1,5 lít (B)

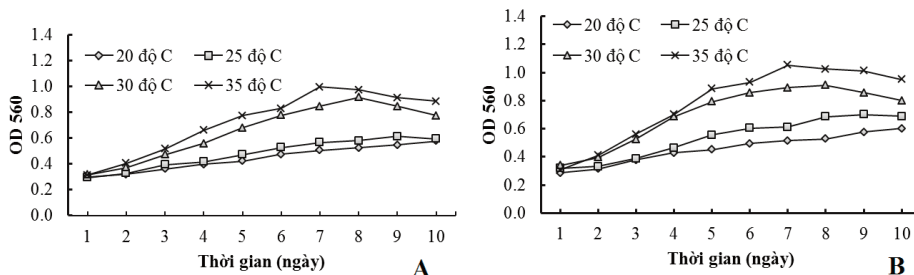
Sự sinh trưởng của tảo với 4 cường độ chiếu sáng khác nhau ở bình tam giác 250ml và chai nhựa 1,5lít được thể hiện ở hình 3. Kết quả cho thấy tại cường độ ánh sáng 800-1200 lux, 1500-1800 lux và 4500-5500 lux thì tảo sinh trưởng và phát triển kém. Điều này có thể giải thích là do, với cường độ ánh sáng thấp (800 - 1800 lux) thì ức chế sinh trưởng của tảo và trở thành yếu tố giới hạn, khi cường độ ánh sáng cao (4500-5500 lux) và ở giai đoạn ban đầu mật độ tảo còn thấp, thì ánh sáng quá mạnh sẽ khiến tổn thương sợi

tảo điều này làm ức chế sinh trưởng của tảo [3]. Danesi và cộng sự (2004) đưa ra kết luận rằng trong khoảng cường độ 2000-5000 lux thì tảo sinh trưởng tốt [2].

Như vậy trong nghiên cứu này cường độ ánh sáng lựa chọn là 3500-4500 lux được lựa chọn cho các thí nghiệm tiếp theo.

3.4. Ảnh hưởng của nhiệt độ nuôi cấy

Sự sinh trưởng của sinh khối tảo *S. platensis* ở các nhiệt độ khác nhau được thể hiện ở hình 3.4.



Hình 3.4. Đồ thị chỉ ảnh hưởng của nhiệt độ đến sự phát triển của Spirulina ở quy mô bình tam giác 250ml (A) và chai nhựa 1,5 lít (B)

Kết quả Hình 3.4 cho thấy với bình tam giác 250ml và chai nhựa 1,5 lít ở nhiệt độ 20°C và 25°C tảo phát triển rất chậm. Theo nhiều nghiên cứu, *S. platensis* gần như không thể phát triển ở nhiệt độ dưới 20°C, tuy tảo không chết nhưng phát triển rất kém [7].

Với nhiệt độ 35°C giá trị OD₅₆₀ đạt cực

đại, sinh khối tảo phát triển mạnh mẽ, vượt trội hơn so với ở nhiệt độ 30°C. Tảo *S. platensis* có thể sống trong nhiệt độ nước là 20-40°C, nhưng phát triển tối thích ở khoảng 35-38°C [4]. Kết quả này cho thấy sự phù hợp với nghiên cứu của các tác giả trên. Do đó, nhiệt độ 35°C là nhiệt độ thích hợp cho nuôi cấy tảo *S. platensis*.

IV. KẾT LUẬN

Điều kiện phù hợp cho sự sinh trưởng của tảo *S. platensis* ở quy mô bình tam giác 250 ml và chai nhựa 1,5 lít là: mật độ giống ban đầu OD₅₆₀ 0,3, thời gian chiếu sáng 24 giờ/ngày, cường độ ánh sáng 3500 - 4000 lux và nhiệt độ môi trường nuôi 35°C. Lượng sinh khối tảo đạt cực đại là 3,12 ± 0,08 g sinh khối tảo khô/lít sau thời gian 8 ngày nuôi.

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. Danesi, E. D. G., Rangel-Yagui, C. O., Carvalho, J. C. M., & Sato, S. (2004). *Effect of reducing the light intensity on the growth and production of chlorophyll by Spirulina platensis*. Biomass and Bioenergy, 26(4), 329-335.
3. Dubey, R.C. (2006). *A textbook of Biotechnology*. Fourth revised and enlarge edition, S. Chand company limited. 419-421.
4. Hu Q. (2004). *Industrial production of microalgal cell mass and secondary products-major industrial species: Arthrospira (Spirulina) platensis*. In: Richmond A, editor *Handbook of microalgal culture: Biotechnology and applied phycology*. Oxford: Blackwell Science Ltd. 264–272.
5. Janssen, M. G. J. (2002). *Cultivation of microalgae: effect of light/dark cycles on biomass yield* (Doctoral dissertation).
6. Leduy, A., & Therien, N. (1977). *An improved method for optical density measurement of the semimicroscopic blue green alga Spirulina maxima*. Biotechnology and Bioengineering, 19(8), 1219-1224.
7. Qasim, M., Najeeb, I., Rasheed, M., Shahzad, K. A., Ahad, A., Fatima, Z., & Anwar, Z. (2012). *Physico-chemical growth requirements and molecular characterization of indigenous Spirulina*. African Journal of Microbiology Research, 6(11), 2788-2792.
8. 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.

Summary

SOME FACTORS AFFECT ON GROWTH OF *SPIRULINA PLATENSIS* AT LABORATORY SCALE

In this study, some factors affecting on the growth of *Spirulina platensis* including initial seed optical density, photoperiod, light intensity and temperature in 250 mL flasks scale and 1.5L plastic bottle were investigated. The suitable conditions for the growth of *S. platensis* were determined: seed optical density (OD₅₆₀ nm) of 0.3; continuous illumination of 24/24 hours with light intensity of 3500-4000 lux, cultivation temperature of 35°C. The highest biomass achieved was 3.12 ± 0.08 g dry biomass/L after 8 days of cultivation

Keywords: *Spirulina platensis*, growth, laboratory scale.

