

Ảnh hưởng của một số yếu tố môi trường đến quá trình nhân giống *Spirulina platensis* nước lợ phục vụ sản xuất sinh khối tại tỉnh Thanh Hóa

Trần Bảo Trâm^{1*}, Nguyễn Thị Hiền¹, Phan Xuân Bình Minh¹, Nguyễn Thị Thanh Mai¹, Trương Thị Chiên¹, Phạm Hương Sơn²

¹Trung tâm Sinh học Thực nghiệm, Viện Ứng dụng Công nghệ

²Phòng thí nghiệm y sinh công nghệ cao, Viện Ứng dụng Công nghệ

Ngày nhận bài 16/10/2018; ngày chuyển phản biện 19/10/2018; ngày nhận phản biện 18/11/2018; ngày chấp nhận đăng 22/11/2018

Tóm tắt:

Kết quả khảo sát một số yếu tố ảnh hưởng đến quá trình nhân giống ở hệ thống nuôi kín có sục khí phục vụ sản xuất của hai chủng *Spirulina platensis* thu thập tại Thanh Hóa (TH) và Bình Thuận (BT2) đã cho thấy, cả hai chủng đều sinh trưởng tốt trong môi trường nước lợ với pH cao (10 với chủng TH và 9,5 với chủng BT2). Nhiệt độ thích hợp trong điều kiện phòng nhân giống khoảng 30°C cho cả 2 chủng thí nghiệm. Với chu kỳ chiếu sáng: tối là 12:12 giờ thì cường độ ánh sáng thích hợp cho chủng TH và BT2 là 4.000 và 3.000 lux, sinh khối cực đại ở ngày nuôi thứ 8 với mật độ quần thể (OD_{560}) tương ứng đạt 1,42 và 1,33.

Từ khóa: nhân giống, nước lợ, sinh khối, *Spirulina*, Thanh Hóa.

Chỉ số phân loại: 4.5

Đặt vấn đề

Spirulina (*Arthrospira*) là vi khuẩn lam dạng sợi đa bào, có thể sống ở những môi trường khắc nghiệt mà không thích hợp cho các loài vi tảo khác, tạo thành quần thể trong các hồ nước ngọt, nước lợ và một số môi trường nước mặn, chủ yếu là ở các hồ nước muối kiềm [1]. Mặc dù đã được sử dụng từ rất lâu nhưng chỉ đến những năm 70 của thế kỷ trước người ta mới tập trung đầu tư nuôi trồng *Spirulina* trên quy mô lớn cũng như nghiên cứu về thành phần dinh dưỡng và ứng dụng của nó. Nghiên cứu thành phần hóa học cho thấy, tảo *Spirulina* có chứa tới 55-70% protein, giàu axit béo (trong đó chủ yếu là axit γ -linolenic), vitamin và khoáng vi lượng [2, 3]. Chính vì vậy, từ lâu *Spirulina* đã được sử dụng để bổ sung cho cơ thể nhiều chất dinh dưỡng cần thiết, giúp cải thiện tình trạng suy dinh dưỡng và điều trị bệnh béo phì, tăng cường sức khỏe, tăng sức đề kháng cho cơ thể, chống stress và chống lão hóa. Hiện nay, các sản phẩm từ *Spirulina* đã được sử dụng ở nhiều nước trên thế giới, và được các tổ chức quốc tế như FAO, WHO công nhận là thực phẩm bổ dưỡng và khuyến dùng.

Trong sản xuất sinh khối *Spirulina*, giống là yếu tố đầu tiên được các nhà sản xuất lựa chọn khi tiến hành nuôi trồng. Bên cạnh đó, việc xác định các điều kiện thích hợp để nuôi *Spirulina* luôn được các nhà sản xuất ưu tiên quan tâm, trong đó quan trọng nhất là các yếu tố về dinh dưỡng, nhiệt độ và

ánh sáng [4]. Ở Việt Nam, việc nuôi *Spirulina* bằng nước lợ hay nước biển đã được triển khai tại Công ty CP Long Phú, bước đầu mang lại nguồn thu cho doanh nghiệp và tạo sinh kế cho người dân trên địa bàn xã Quảng Thái, huyện Quảng Xương (Thanh Hóa). Chính vì vậy, việc nghiên cứu lựa chọn giống cũng như các điều kiện nhân nuôi giống sơ cấp ban đầu phục vụ cho sản xuất sinh khối *Spirulina* nước lợ sẽ mở ra một hướng phát triển nông nghiệp bền vững cho các vùng ven biển Việt Nam.

Đối tượng và phương pháp



Hình 1. Khu thực nghiệm nhân giống *Spirulina* tại Công ty CP Long Phú.

*Tác giả liên hệ: Email: trantram_74@yahoo.com

Effect of some factors on the cultivation of *Spirulina platensis* in brackish water for biomass production in Thanh Hoa province

Bao Tram Tran^{1*}, Thi Hien Nguyen¹,
Xuan Binh Minh Phan¹, Thi Thanh Mai Nguyen¹,
Thi Chien Truong¹, Huong Son Pham²

¹Center for Experimental Biology, NACENTECH

²High-Tech Biomedical Application Development Lab, NACENTECH

Received 16 October 2018; accepted 22 November 2018

Abstract:

The result of investigating some factors affecting the cultivation of two *Spirulina platensis* strains collected in Thanh Hoa (TH) and Binh Thuan (BT2) provinces in the close system form with aeration showed that both the strains could grow well in brackish water with high pH values (10 for TH and 9.5 for BT2). The suitable temperature in the laboratory condition was about 30°C for both the strains. With the light:dark cycle of 12:12 h, the appropriate light intensity was 4,000 lux for those in TH and 3,000 lux for those in BT2, and the maximum biomass expressed by the optical density at wavelength of 560 nm reached 1.42 and 1.33 for the two strains in the 8th day, respectively.

Keywords: biomass, brackish water, cultivation, *Spirulina*, Thanh Hoa.

Classification number: 4.5

Đối tượng nghiên cứu

Giống *Spirulina platensis* được thu thập tại Thanh Hóa và Bình Thuận (ký hiệu lần lượt là TH và BT2). Nghiên cứu được thực hiện tại Công ty CP Long Phú - xã Quảng Thái, huyện Quảng Xương (Thanh Hóa).

Hiện tại, Công ty CP Long Phú đang tiến hành nuôi thương mại *Spirulina* với nguồn nước biển pha loãng 5‰, để thuận lợi cho việc triển khai ứng dụng các nguồn giống mới thu thập trong sản xuất tại Công ty, nhóm nghiên cứu cũng đã sử dụng nước biển pha loãng tới độ mặn 5‰, môi trường dinh dưỡng bổ sung là Zarrouk cải tiến.

Bố trí thí nghiệm

Tảo *S. platensis* được nhân nuôi trong hệ thống chai nhựa 1,5 l (dạng kín) có sục khí với mật độ giống ban đầu có mật độ quang (Optical Density - OD) được đo ở bước sóng 560 nm (OD₅₆₀) là 0,2. Với mỗi yếu tố ảnh hưởng tới quá trình sinh trưởng và phát triển của tảo, chúng tôi bố trí các công thức thí nghiệm khác nhau, bao gồm:

+ Ảnh hưởng của nhiệt độ: được bố trí 5 công thức với dải nhiệt độ là 15, 20, 25, 30, 35°C ($\pm 1^\circ\text{C}$).

+ Ảnh hưởng của pH: được bố trí 5 công thức với dải pH là 8, 8,5, 9, 9,5, 10.

+ Ảnh hưởng của cường độ chiếu sáng: sử dụng đèn huỳnh quang ánh sáng trắng chiếu sáng 4 công thức với cường độ ánh sáng là 2.000, 3.000, 4.000 và 5.000 lux.

+ Ảnh hưởng của thời gian chiếu sáng: được bố trí với 3 công thức có chu kỳ chiếu sáng trong ngày: 8, 10, 12h.

Phương pháp thu thập và xử lý số liệu

+ Đánh giá sinh trưởng của tảo *S. platensis* được xác định dựa vào mật độ quang hấp thụ ở bước sóng 560 nm. Theo dõi tốc độ sinh trưởng của dịch nuôi cấy 1 ngày/lần liên tục trong 10 ngày. Mỗi thí nghiệm được thực hiện với 3 lần lặp lại.

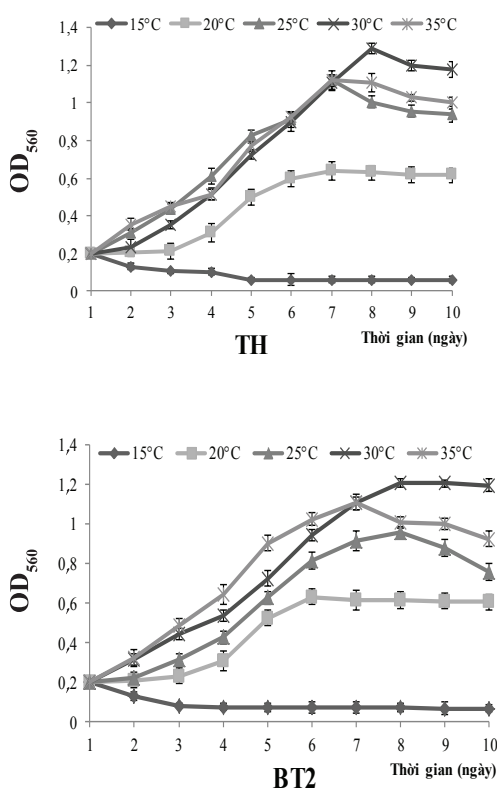
+ Xử lý số liệu: mẫu thí nghiệm được phân tích lặp lại 3 lần và lấy kết quả trung bình (trung bình $\pm$ SD). Quá trình xử lý số liệu được thực hiện trên phần mềm Excel 2007.

Kết quả và thảo luận

Ảnh hưởng của nhiệt độ

Nhiệt độ ảnh hưởng đến quá trình sinh trưởng của tảo thông qua tác động đến quá trình trao đổi chất diễn ra trong tế bào và nó là một trong những yếu tố chính điều khiển sự phát triển của *Spirulina*. Kết quả nghiên cứu cho thấy, nhiệt độ có ảnh hưởng rõ nét đến sinh trưởng của cả 2 chủng TH và BT2: ở khoảng nhiệt độ 15-20°C, tảo sinh trưởng và phát triển chậm hoặc chết (ở ngưỡng 15°C).

Trong khoảng 25-35°C tảo sinh trưởng tốt và sinh khối cực đại đều đạt ở ngày nuôi thứ 7-8 (hình 2).



Hình 2. Ảnh hưởng nhiệt độ nuôi cấy đến sinh trưởng *S. platensis*.

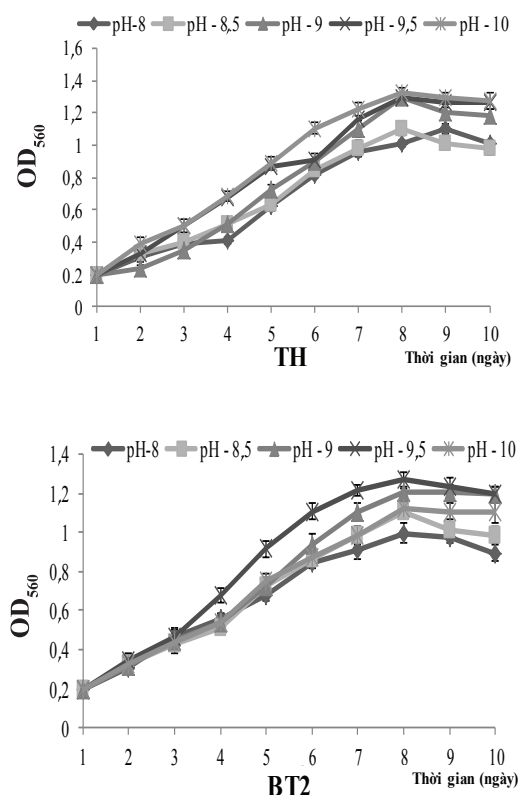
Tuy nhiên, ở ngưỡng 30°C đường cong sinh trưởng của cả 2 chủng TH và BT2 đều vượt trội hơn so với ở mức 25 và 35°C, đạt cực đại ở ngày nuôi thứ 8 (OD₅₆₀ lần lượt đạt 1,29 và 1,20). Kết quả thu được trong nghiên cứu cũng tương đồng với kết quả công bố của Hu (2004) cho thấy tảo có thể sống ở dải nhiệt độ từ 20-40°C [5], hay Danesi và cộng sự (2001) cũng xác định được nhiệt độ tối ưu cho tăng trưởng của *Spirulina* là 30°C [6].

Kết quả thu được cho thấy, ở nhiệt độ thấp, hoạt tính quang hợp của tảo thấp, dẫn đến sinh trưởng và phát triển chậm, khi nhiệt độ tăng, cường độ quang hợp tăng dẫn đến sinh trưởng của tảo tăng. Tuy nhiên, khi nhiệt độ tăng lên quá nhiệt độ tối thích của tảo sẽ làm giảm hoạt tính quang hợp và dẫn đến ngừng hẳn quang hợp [7]. Một nghiên cứu khác của Vonshak và cộng sự (1982) cho thấy, khi nhiệt độ cao tảo sử dụng nhiều năng lượng dự trữ như cacbohydrate để tăng hoạt động hô hấp trong chu kỳ tối dẫn đến làm giảm trọng lượng của tế bào [8].

Ảnh hưởng của pH

Với chi *Spirulina* khi pH quá cao hay quá thấp sẽ làm ức chế quá trình điều hòa áp suất thẩm thấu, quang hợp và trao đổi chất của tảo [9]. Tuy nhiên, giá trị pH tối ưu cho tăng

trưởng của tảo phụ thuộc vào nhiều yếu tố như giống, điều kiện nhân nuôi. Chính vì vậy, trong nghiên cứu chúng tôi tiến hành xác định pH thích hợp cho từng chủng tảo trong điều kiện nhân nuôi tại Công ty CP Long Phú, tỉnh Thanh Hóa (hình 3).



Hình 3. Ảnh hưởng của pH môi trường đến sinh trưởng *S. platensis*.

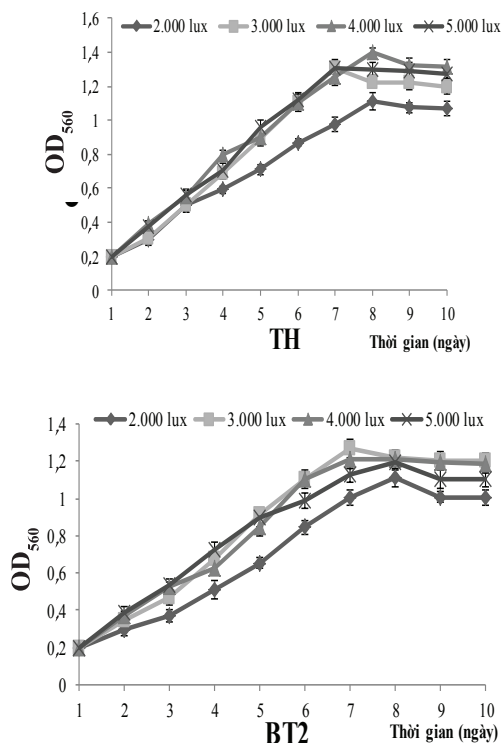
Kết quả trên hình 3 cho thấy, cũng giống với các loài thuộc chi *Spirulina* nói chung, cả 2 chủng tảo thực nghiệm đều có thể sinh trưởng và phát triển ở pH 8-10. Tuy nhiên, với chủng TH, ở ngưỡng pH 10 tảo phát triển tốt hơn so với khoảng pH 8-9,5, và mật độ quần thể đạt cực đại (OD₅₆₀=1,33 ở ngày nuôi thứ 8). Với chủng BT2, tảo phát triển tốt nhất ở pH 9,5, tiếp đó là pH 9 và thời gian đạt sinh khối cực đại ở pH 9,5 (OD₅₆₀=1,27 ở ngày nuôi thứ 8).

Kết quả này cũng phù hợp với các công bố trước đây, như nghiên cứu của Belkin và cộng sự (1971) đã xác định pH tối ưu cho sinh trưởng của *S. platensis* nuôi trong môi trường Zarrouk (với nguồn N bổ sung là NaNO₃ 29,4 mM) từ 9-9,5 [10], hay với chủng *S. platensis* (Ấn Độ) nuôi trong môi trường Zarrouk có hàm lượng NaHCO₃ 18 g/l, độ mặn 1‰ cho sinh trưởng tốt nhất ở pH 9 [10]. Trong khi ở độ mặn cao 15-25‰, chủng *S. platensis* của Trường Đại học Nha Trang cho kết quả sinh trưởng tốt hơn ở pH 9-9,5, hay như chủng *Spirulina* sp. (Trường Đại học Cần Thơ) thì pH

9 là điều kiện tốt nhất cho sự phát triển sinh khối cũng như tích lũy chlorophyll và carotenoid của loài tảo này... [11, 12].

Ảnh hưởng của cường độ chiếu sáng

Cũng như các cơ thể có khả năng quang hợp nói chung, ánh sáng là nguồn năng lượng chính cho quá trình sản xuất sinh khối vi tảo. Trong đó, cường độ ánh sáng là yếu tố có ảnh hưởng trực tiếp đến cường độ quang hợp, nhất là trong điều kiện mật độ tảo đạt cao [13].



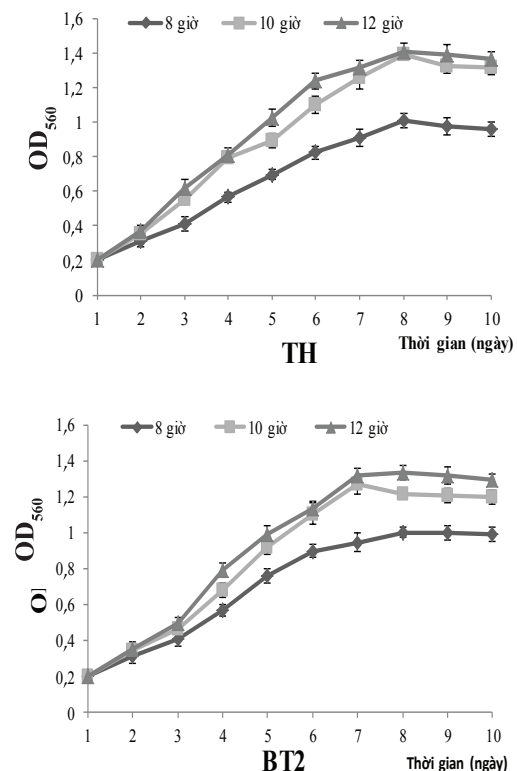
Hình 4. Ảnh hưởng của cường độ chiếu sáng đến sinh trưởng *S. platensis*.

Kết quả nghiên cứu cho thấy, với chủng TH, ở cường độ ánh sáng 4.000 lux, tảo sinh trưởng và phát triển tốt nhất, mật độ quần thể đạt cao nhất ở ngày nuôi thứ 8 ($OD_{560}=1,40$), còn ở ngưỡng cường độ ánh sáng 2.000 lux tảo sinh trưởng và phát triển kém hơn. Với chủng BT2, tảo sinh trưởng tốt nhất ở cường độ sáng 3.000 lux (đạt cao nhất ở ngày nuôi thứ 8 với $OD_{560}=1,29$), tiếp đó là ở cường độ chiếu sáng 4.000 lux, 5.000 lux, còn ở cường độ 2.000 lux sinh trưởng của tảo phát triển chậm nhất (hình 4). Điều này có thể giải thích là do, với cường độ ánh sáng thấp (2.000 lux) ức chế sinh trưởng của tảo và trở thành yếu tố giới hạn, trong khi cường độ ánh sáng cao (5.000 lux) và ở giai đoạn ban đầu mật độ tảo còn thấp, thì ánh sáng quá mạnh sẽ gây tổn thương tảo, ảnh hưởng đến các sắc tố

quang hợp như chlorophyll, phycocyanin, và bắt đầu xuất hiện hiện tượng ức chế quang hợp có thể làm tảo chết hoặc làm giảm năng suất [14].

Ảnh hưởng của thời gian chiếu sáng

Bên cạnh cường độ chiếu sáng, thời gian chiếu sáng cũng ảnh hưởng rất lớn đến quá trình quang hợp. Chính vì vậy, việc nghiên cứu chu kỳ chiếu sáng thích hợp cho nuôi *Spirulina* cũng là dữ liệu quan trọng khi ứng dụng trong sản xuất ở điều kiện ngoài trời phải phụ thuộc hoàn toàn vào thời gian chiếu sáng tự nhiên.



Hình 5. Ảnh hưởng của thời gian chiếu sáng đến sinh trưởng *S. platensis*.

Hình 5 biểu diễn tốc độ sinh trưởng của 2 chủng TH và BT2 ở các chu kỳ chiếu sáng khác nhau. Đối với cả 2 chủng TH và BT2, thời gian chiếu sáng 8h/ngày tảo phát triển chậm hơn hẳn so với chu kỳ chiếu sáng: tối là 10:14 đến 12:12 giờ, mật độ quần thể đạt cực đại ở ngày nuôi thứ 8 với chu kỳ chiếu sáng: tối là 10:14 và 12:12 giờ, OD_{560} tương ứng đạt 1,40 và 1,42 (chủng TH) và 1,33 (chủng BT2). Như vậy, có thể thấy, khi rút ngắn thời gian chiếu sáng đã ảnh hưởng đến quá trình quang hợp của tảo, dẫn đến sinh trưởng của tảo bị giảm sút. Thời gian chiếu sáng càng dài thì năng suất tảo *Spirulina* càng cao, năng suất tảo đạt cao nhất khi chiếu sáng liên tục [15].

Kết luận

Trong điều kiện phòng nuôi tại Công ty CP Long Phú (Quảng Xương, tỉnh Thanh Hóa), kết quả thử nghiệm cho thấy cả 2 chủng *S. platensis* TH và BT2 đều có thể sử dụng cho nhân giống tảo nước lợ phục vụ sản xuất sinh khối. Điều kiện nhân giống thích hợp với chủng TH là: nhiệt độ nuôi cấy 30°C, pH môi trường 10, cường độ ánh sáng 4.000 lux, chu kỳ chiếu sáng: tối là 12:12 giờ cho sinh khối đạt cực đại ở ngày nuôi thứ 8 ($OD_{560}=1,42$). Với chủng BT2 nhiệt độ nuôi cấy thích hợp 30°C, pH môi trường 9,5, cường độ ánh sáng 3.000 lux và thời gian chiếu sáng: tối là 12:12 giờ cho sinh khối cao nhất ở ngày nuôi thứ 8 ($OD_{560}=1,33$).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Vonshak (1997), *Spirulina platensis (Arthrospira): Physiology, Cell Biology and Biotechnology*, Taylor and Francis, London, 233pp.
- [2] R. Henrikson (1994), *Microalga Spirulina, superalimento del futuro*, Ronore Enterprises, Ediciones Urano, Barcelona, España, 222pp.
- [3] A. Belay (1997), "Mass culture of *Spirulina* outdoors: the earthrise farms experience", *Spirulina platensis (Arthrospira) Physiology, Cell Biology and Biotechnology*, London: Taylor & Francis, pp.131-158.
- [4] J.F. Cornet, C.G. Dussap, G. Dubertret (1992), "A structured model for simulation of cultures of the cyanobacterium *Spirulina platensis* in photobioreactors. I. Coupling between light transfer and growth kinetics", *Biotechnol. Bioeng.*, **40**, pp.817-825.
- [5] Q. Hu (2004), "Industrial production of microalgal cell mass and secondary products-major industrial species: *Arthrospira (Spirulina) platensis*", *Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied phycolgy*, Oxford: Blackwell Science Ltd, pp.264-272.
- [6] E.D.G. Danesi, C.O. Rangel, L.H. Pelizer, J.C.M. Carvalho, S. Sato, I.O. Moraes (2001), "Production of *Spirulina platensis* under different temperatures and urea feeding regimes for chlorophyll attainment", *Proceed. 8th Intl. Congress Engin. Food*, **2**, pp.1978-1982.
- [7] Muhammad Qasim, Imran Najeeb, Majeeda Rasheed, Khawar Ali Shahzad, Abdul Ahad, Zahida Fatima and Zubair Anwar (2012), "Physico-chemical growth requirements and molecular characterization of indigenous *Spirulina*", *Afr. J. Microbiol. Res.*, **6(11)**, pp.2788-2792.
- [8] A. Vonshak, A. Abeliovich, S. Boussiba, S. Arad, A. Richmond (1982), "Production of *Spirulina* biomass: affects of environmental factors and population density", *Biomass*, **2(3)**, pp.175-185.
- [9] J.P. Pandey, N. Pathak, and A. Tiwan (2010), "Standardization of pH and light intensity for the biomass production of *Spirulina platensis*", *J. Algal Biomass Utln.*, **1(2)**, pp.93-102.
- [10] S. Belkin and S. Boussiba (1971), "Resistance of *Spirulina platensis* (Cyanophyta) to high pH values", *Plant Cell Physiol.*, **32**, pp.953-958.
- [11] Gaurav Sharma, Manoj Kumar, Mohammad Irfan Ali1, and Nakuleshwar Dut Jasuja (2014), "Effect of Carbon Content, Salinity and pH on *Spirulina platensis* for Phycocyanin, Allophycocyanin and Phycoerythrin Accumulation", *J. Microb. Biochem. Technol.*, **6(4)**, pp.202-206.
- [12] Trần Thị Lê Trang, Hoàng Thị Bích Mai, Nguyễn Tấn Sỹ, Nguyễn Thị Thúy, Trần Văn Dũng, Trần Thị Tuyết, Nguyễn Thị Hà Giang, Lê Thị Hoài Nhon (2012), "Nghiên cứu ảnh hưởng của pH và độ mặn đến sinh trưởng của quần thể tảo *Spirulina platensis*", *Tạp chí Hoạt động Khoa học*, **10**, tr.73-76.
- [13] J. Falquet, and J. Hurni (1997), *The nutritional aspects of Spirulina*, Antenna Foundation, https://www.antenna.ch/wp-content/uploads/2017/03/AspectNut_UK.pdf (Accessed July 25, 2017).
- [14] Đặng Đình Kim, Đặng Hoàng Phước Hiền (1999), *Công nghệ sinh học vi tảo*, Nhà xuất bản Nông nghiệp, tr.5-125.
- [15] M.G.J. Janssen (2002), *Cultivation of microalgae: effect of light/dark cycles on biomass yield*, doctoral dissertation.