

**TRƯỜNG ĐẠI HỌC CẦN THƠ**  
**KHOA THỦY SẢN**  
**Bộ môn Thủy Sinh Học Ứng Dụng**

**Ngô Thụy Thùy Tâm**

**PHÁT TRIỂN NUÔI SINH KHỐI TẢO *Spiurlina platensis***  
**TRONG PHÒNG THÍ NGHIỆM**

**LUẬN VĂN TỐT NGHIỆP ĐẠI HỌC**

**Tháng 7/ 2009**

## TÓM TẮT

Thí nghiệm nhằm tìm ra mật độ nuôi cấy ban đầu và tỷ lệ thu sinh khối tảo *Spirulina platensis* thích hợp để tiến hành thử nghiệm nuôi sinh khối với thể tích lớn hơn.

Thí nghiệm 1 được tiến hành gồm 3 nghiệm thức và 3 lần lặp lại với 3 mật độ tảo khác nhau là 10.000tb/ml; 30.000tb/ml và 50.000tb/ml. Kết quả cho thấy ở mật độ 30.000tb/ml và 50.000tb/ml khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê ở mức  $p < 0,05$  nhưng khác biệt có ý nghĩa thống kê với NT 10.000tb/ml.

Thí nghiệm 2 gồm 3 nghiệm thức và 3 lần lặp lại nhưng với tỷ lệ thu sinh khối khác nhau : NT1 (tỷ lệ thu hoạch là 25%/ngày); NT2 (tỷ lệ thu hoạch là 30%/ngày) và NTĐC ( không thu hoạch tảo trong suốt quá trình nuôi). Sau 15 ngày nuôi, tỷ lệ thu hoạch ở NT1 cho kết quả tốt nhất với mật độ tảo lên đến  $90.072 \pm 2.748$  tb/ml cao hơn NTĐC và NT2.

Như vậy, mật độ tảo 30.000tb/ml và tỷ lệ thu sinh khối 25% /ngày sẽ được sử dụng để nuôi với bể có thể tích lớn hơn.

## Lời cảm tạ

Trước hết em xin chân thành cảm ơn cha mẹ và người thân đã giúp đỡ và động viên về tinh thần cũng như vật chất để em hoàn thành tốt đề tài này.

Em xin bày tỏ lòng biết ơn đến cô Dương Thị Hoàng Oanh và cô Trần Sương Ngọc đã hướng dẫn, giúp đỡ và động viên trong suốt thời gian thực hiện đề tài.

Để đề tài được tốt hơn em cũng không quên gửi lời cảm ơn đến cô Huỳnh Thị Ngọc Hiền, cô Phạm Thị Tuyết Ngân và chị Trần Thị Thủy đã hướng dẫn nhiệt tình và tạo mọi điều kiện trong suốt thời gian thực hiện đề tài.

Sau cùng, xin gửi lời cảm ơn tập thể lớp NTTSLT33 và các bạn NTTSK31 đã nhiệt tình giúp đỡ trong quá trình thực hiện đề tài.

## MỤC LỤC

Phần 1 ĐẶT VẤN ĐỀ.....	7
1.1. Giới thiệu .....	7
1.2. Mục tiêu đề tài.....	8
1.3. Nội dung đề tài .....	8
1.4. Thời gian thực hiện đề tài .....	8
Phần 2 TỔNG QUAN TÀI LIỆU .....	9
2.1. Đặc điểm sinh học của tảo <i>Spirulina platensis</i> .....	9
2.4. Các yếu tố môi trường trong bể nuôi tảo .....	10
2.2. Các phương pháp nuôi tảo.....	14
2.5. Một số ứng dụng của tảo <i>Spirulina</i> .....	15
Phần 3 VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU .....	18
3.1. Vật liệu nghiên cứu.....	18
3.2. Phương pháp nghiên cứu: .....	19
3.2.1. Thí nghiệm 1: Ảnh hưởng của mật độ nuôi cấy ban đầu lên sự phát triển của tảo <i>Spirulina platensis</i> . .....	19
3.2.2. Thí nghiệm 2: Ảnh hưởng của tỷ lệ thu sinh khối lên sự phát triển của tảo <i>Spirulina platensis</i> .....	19
3.3. Phương pháp thu thập, tính toán và xử lý số liệu :.....	20
Phần 4 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN.....	22
4.1. Thí nghiệm 1 : Ảnh hưởng của mật độ nuôi cấy ban đầu lên sự phát triển của tảo <i>Spirulina platensis</i> . .....	22
4.1.1 Các yếu tố môi trường :.....	22
4.1.2 Sự phát triển của quần thể tảo.....	28
4.2. Thí nghiệm 2 : Ảnh hưởng của tỷ lệ thu sinh khối tảo lên sự phát triển của tảo <i>Spirulina platensis</i> . .....	30
4.2.1 Các yếu tố môi trường.....	30
4.2.2 Sự phát triển của quần thể tảo ở TN2 .....	35
Phần 5 KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT .....	39
Kết luận.....	39
Đề xuất.....	39
TÀI LIỆU THAM KHẢO .....	40

## DANH SÁCH HÌNH

Hình 2.1 Tế bào tảo <i>Spirulina platensis</i> .....	<u>3</u>
Hình 3.2.1 Thí nghiệm về mật độ .....	<u>13</u>
Hình 3.2.1 Thí nghiệm về tỷ lệ thu sinh khối .....	<u>14</u>
Hình 3.3.3 Máy đo nhiệt độ và pH.....	<u>15</u>
Hình 4.1.1 Biến động nhiệt độ ở TN1 .....	<u>17</u>
Hình 4.1.2. Biến động pH ở thí nghiệm 1 .....	<u>18</u>
Hình 4.1.3. Biến động TAN ở thí nghiệm 1 .....	<u>19</u>
Hình 4.1.4. Biến động NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> ở thí nghiệm 1 .....	<u>20</u>
Hình 4.1.5. Biến động PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> ở thí nghiệm 1 .....	<u>21</u>
Hình 4.1.6 Sự phát triển của quần thể tảo ở TN1.....	<u>22</u>
Hình 4.2.1 Biến động nhiệt độ ở TN2 .....	<u>25</u>
Hình 4.2.2 Biến động pH ở TN2.....	<u>26</u>
Hình 4.2.3 Biến động TAN ở TN2.....	<u>27</u>
Hình 4.2.4 Biến động NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> ở TN2.....	<u>28</u>
Hình 4.2.5 Biến động PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> ở TN2 .....	<u>29</u>
Hình 4.2.6 Sự phát triển của quần thể tảo ở TN1.....	<u>30</u>

## DANH SÁCH BẢNG

Bảng 3.1.Môi trường Zarrouk.....	12
Bảng 4.1.Sự phát triển của quần thể tảo ở TN1 .....	22
Bảng 4.3.Sự phát triển của quần thể tảo .....	31

# Phần 1

## ĐẶT VẤN ĐỀ

### 1.1. Giới thiệu

*Spirulina platensis* là một loại vi tảo có dạng xoắn, màu xanh lam. Tảo sống và phát triển mạnh trong môi trường giàu bicarbonat và độ kiềm cao ( độ pH từ 8,5 – 11). Tảo được xem là nguồn dinh dưỡng số một của thiên nhiên với đủ các thành phần thiết yếu như Protein, Lipid, Glucid cùng nhiều loại khoáng, vitamin và nhiều loại acid amin không thể thay thế là: Lysine, Metionin, Penylalalin, Triptophan....rất quan trọng cho trẻ đặc biệt là trẻ thiếu sữa mẹ. Ngoài ra, tảo còn chứa phong phú Vitamin B12, Beta-Caroten, Xanthophyll. Các nghiên cứu tiếp theo được tiến hành nhiều năm tại nhiều cơ sở nghiên cứu khoa học hàng đầu thế giới về y học và điều trị đã chứng minh rằng, tảo *Spirulina platensis* có những công dụng rất độc đáo như: Tăng cường sức khỏe toàn diện thông qua việc cung cấp đầy đủ cho cơ thể các Vitamin, khoáng chất và các Acid amin thiết yếu, ngăn chặn việc tích trọng lượng thừa trong cơ thể, giảm cảm giác đói nhưng vẫn cung cấp đủ cho cơ thể các chất cần thiết cho sự sống và phòng ngừa ung thư....Theo số liệu của Tổ chức Y tế thế giới WHO, tảo *Spirulina platensis* có thể giúp con người phòng chống ít nhất là 70% các loại bệnh. Chính vì vậy, tảo *Spirulina platensis* 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.

Trong tự nhiên tảo là mắt xích quan trọng trong chuỗi thức ăn và là nguồn dinh dưỡng tốt nhất trong nuôi thủy sản. Do đó để phục vụ cho mục đích này, nhiều loài tảo đã được nghiên cứu để nuôi sinh khối trong đó có tảo *Spirulina platensis*. Nhiều nước trên thế giới đã nghiên cứu và nuôi sinh khối thành công như : Mỹ, Trung Quốc, Ấn Độ....Trong đó Mỹ là nước dẫn đầu về khả năng sản xuất giống loài tảo này. Ở nước ta cho đến nay việc nuôi trồng còn mang tính nhỏ lẻ, chưa đáp ứng được nhu cầu sử dụng ngày càng tăng cao.

Vì vậy, trước những giá trị mà tảo *Spirulina platensis* mang lại cũng như nhận thấy tình hình nuôi trồng trong nước chưa đáp ứng được nhu cầu sử dụng tảo ngày càng tăng của con người. Xuất phát từ thực tế trên đề tài “ Phát triển nuôi sinh khối tảo *Spirulina platensis* trong phòng thí nghiệm” được thực hiện.

## **1.2. Mục tiêu đề tài**

Từ kết quả thí nghiệm có thể xác định mật độ ban đầu và tỷ lệ thu để để nuôi tảo *Spirulina platensis* nhằm phát triển tảo đại trà để làm thức ăn giàu dinh dưỡng cho con người, cho gia súc, gia cầm, sử dụng trong y học và ứng dụng cải thiện chất lượng nước môi trường ao nuôi thủy sản.

## **1.3. Nội dung đề tài**

- Ảnh hưởng của mật độ tảo bố trí ban đầu lên sự phát triển của tảo *Spirulina platensis*.
- Ảnh hưởng của tỷ lệ thu sinh khối tảo lên sự phát triển của tảo *Spirulina platensis*.

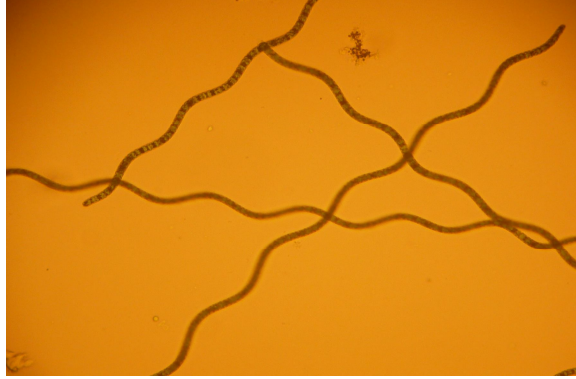
**1.4. Thời gian thực hiện đề tài :** Từ tháng 3/2009 đến tháng 6/2009.



## Phần 2

### TỔNG QUAN TÀI LIỆU

#### 2.1. Đặc điểm sinh học của tảo *Spirulina platensis*



Hình 2.1 Tế bào tảo *Spirulina platensis*

#### Phân loại tảo

Tảo *Spirulina* phân bố rộng trong các môi trường khác nhau như đất, bãi rong cỏ, hay các thủy vực nước ngọt, lợ, mặn hay ngay cả ở suối nước nóng. *Spirulina* có thể phát triển tốt trong các môi trường mà các tảo khác không thể sống được. Trong các thủy vực nước ngọt có nhiều tảo sinh sống, trong đó có *Spirulina*. *Spirulina* có thể tìm thấy ở cả những thủy vực có độ mặn 65 – 70 ppt.

#### Hình dạng và cấu tạo

*Spirulina* là tảo lam đa bào, dạng sợi. Tảo gồm nhiều tế bào hình trụ xếp không phân nhánh. Đường kính tế bào từ 1 – 12 $\mu\text{m}$ , chiều dài tế bào có thể 10 $\mu\text{m}$  và chiều dài chuỗi có thể đến 110 $\mu\text{m}$ . Các sợi tảo có tính di động trượt dọc trục của chúng. *Spirulina* có dạng xoắn trong môi trường chất lỏng và có hình xoắn tròn ốc thật sự trong môi trường đặc. Độ xoắn của tảo là đặc điểm để phân loại của loài.

#### Chu kỳ sinh sản

Trong chu kỳ sống, khi đến giai đoạn sinh sản chuỗi xoắn bị vỡ ra tạo thành nhiều đoạn tảo nhờ sự hình thành của những tế bào đặc biệt gọi là tế bào mắc xích. Các đoạn xoắn nhỏ ở mắc xích sẽ hình thành chuỗi ngắn có khả năng trượt gọi là hormogonia và sau đó sẽ hình thành chuỗi dài mới. Tế bào ở hormogonia rời khỏi vị trí đỉnh của tế bào mắc xích và trở nên tròn ở đầu cuối. Số lượng tế bào ở hormogonia tăng lên bởi sự phân chia của tế bào với nguyên sinh chất trở nên có hạt. Với tiến trình này, chuỗi được dài hơn và có dạng xoắn đặt thù.

#### Chu kỳ sinh trưởng của tảo

Sự sinh trưởng của tảo được diễn tả bằng sự phân chia tế bào. Với chế độ dinh dưỡng thích hợp và điều kiện sinh lý học thuận lợi, quá trình sinh trưởng của tảo trải qua ít nhất các pha sau :

- Pha chậm : Sự vô hiệu hóa các enzyme, sự giảm tốc độ trao đổi chất của tảo giống, tế bào gia tăng kích thước nhưng không có sự phân chia; một số yếu tố khuyếch tán được tạo ra do chính các tế bào thì cần cho quá trình cố định carbon; hoạt động trao đổi chất của các tế bào đã ức chế sự hoạt động của các độc tố nào đó có mặt trong môi trường, hay do cây tảo vào môi trường có chứa một vài chất có nồng độ quá cao.
- Pha tăng trưởng : là giai đoạn mà tế bào phân chia rất nhanh và liên tục. Tốc độ tăng trưởng trong giai đoạn này tùy thuộc vào kích thước tế bào, cường độ ánh sáng, nhiệt độ.
- Pha tăng trưởng chậm : Khi có một vài nhân tố xuất hiện như : sự giảm sút của yếu tố dinh dưỡng nào đó, tỷ lệ cung cấp oxy và carbonic, sự thay đổi pH, sự hạn chế ánh sáng, sự xuất hiện các yếu tố ngăn cản sự phân chia các tế bào do một chất độc nào đó....thì quá trình sinh trưởng của tảo bị ức chế, đây là giai đoạn đầu của pha tăng trưởng chậm. Tuy nhiên, pha này diễn ra rất nhanh với sự cân bằng được tạo ra giữa tốc độ tăng trưởng và các nhân tố giới hạn, nó được xem là pha quân bình.
- Pha suy tàn : Khi các chất dinh dưỡng trở nên cạn kiệt không đủ cung cấp cho sự sinh trưởng và trao đổi chất đến mức trở nên độc hại, tảo sẽ bị suy tàn gọi là pha chết.

## **2.4. Các yếu tố môi trường trong bể nuôi tảo**

### **Ánh sáng**

Cũng như các loài thực vật khác, tảo tổng hợp cacbon vô cơ thành các vật chất hữu cơ nhờ quá trình quang hợp do đó ánh sáng đóng vai trò quan trọng trong quá trình này. Cường độ ánh sáng cần thiết cho nuôi cấy tảo thay đổi tùy theo mật độ tảo, độ sâu nước nuôi, dụng cụ nuôi cấy. Quá trình quang hợp của tảo sẽ gia tăng khi cường độ bức xạ mặt trời gia tăng và sẽ giảm khi cường độ bức xạ mặt trời giảm (Trương Quốc Phú, 2006). Ở điều kiện phòng thí nghiệm, ánh sáng được xác định cho sự phát triển của tảo Spirulina là 150 – 200  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ . Tảo sử dụng chất Chlorophyll và một số chất màu quang hợp để hấp thụ ánh sáng mặt trời để biến đổi năng lượng hóa học dự trữ trong ATP và một số chất khử khác (Lê Văn Cát, 2006). Năng lượng mà tảo hấp thụ được chuyển hóa từ dạng carbon vô cơ ( khí  $\text{CO}_2$ , độ kiềm  $\text{HCO}_3^-$  thành dạng carbon hữu cơ ở dạng đơn giản nhất là đường đơn qua quá trình quang hợp. Theo Garham và ctv

(2000) tảo có đặc điểm hiệu ứng lại với sự tăng lên của cường độ ánh sáng. Để cho tảo phát triển cần một mức độ nhất định về cường độ ánh sáng, tuy nhiên nếu ánh sáng quá mạnh sẽ hạn chế sự phát triển của tảo do đó tảo sẽ giảm quang hợp. Ở điều kiện thiếu ánh sáng trong thời gian dài chúng sẽ thích nghi bằng cách tăng hàm lượng Chlorophyll trong cơ thể. Đặc tính ánh sáng khác nhau sẽ tạo ra Chlorophyll khác nhau và cũng ảnh hưởng đến quang hợp của tảo, mặc khác nó còn ảnh hưởng đến sinh trưởng và tỷ lệ sinh khối (Hu, 2003). Cường độ ánh sáng thích hợp khi nuôi trong bình thủy tinh dung tích nhỏ khoảng 1000lux, với bể nuôi lớn cường độ ánh sáng là 5.000 – 10.000 lux (Trương Sỹ Kỳ, 2004).

### **Nhiệt độ**

Mỗi loài tảo cần nuôi ở một khoảng nhiệt độ nước thích hợp, ngoài ngưỡng nhiệt độ tảo sẽ không phát triển và có thể bị chết. Nhiệt độ tốt nhất cho sự phát triển của tảo *Spirulina platensis* nằm trong khoảng 35 – 37<sup>0</sup>C, ở 40<sup>0</sup>C tế bào tảo sẽ bị tổn hại (Richmond, 1986). Tuy nhiên, tảo *Spirulina platensis* có thể nuôi trong 5 mức nhiệt độ khác nhau là 26 – 34<sup>0</sup>C, ở mức nhiệt độ 26<sup>0</sup>C với mật độ nuôi cấy ban đầu 5.000 tế bào/ml, nuôi trong môi trường Zarouk (Godia el al.,2002) thì sau 25 ngày nuôi cấy tảo có thể đạt mật độ tối đa 2.508.148 tế bào/ml (Nguyễn Phúc Hậu, 2008). Nhiệt độ thấp nhất giới hạn sự phát triển của tảo 29<sup>0</sup>C trong điều kiện pH = 9,5 và cường độ ánh sáng 6 klux (Biotechmol bioeng.,2007). Nhiệt độ không những ảnh hưởng trực tiếp hoặc gián tiếp lên quá trình trao đổi chất mà còn tác động lên cấu trúc tế bào (Payer, 1980). Nuôi tảo trong phòng sẽ dễ dàng không chế được nhiệt độ trong khi nuôi ngoài trời thời tiết thay đổi bất thường nên không khống chế được nhiệt độ.

### **pH**

Mặc dù có một số loài tảo có khả năng chịu được phạm vi pH rất rộng (pH 6 – 11). Tuy nhiên, phạm vi pH thích hợp cho sự phát triển của hầu hết các loài tảo là 7 – 9, tối ưu là 8,2 – 8,7. Đối với *Spirulina platensis* có thể sống và phát triển nhanh trong môi trường giàu Bicarbonic và độ kiềm cao (độ pH từ 8,5 – 11) Zarrouk, 1966). *Spirulina platensis* có thể sống trong 4 mức pH khác nhau từ 4 – 10, ở mức pH =8 với mật độ nuôi cấy ban đầu là 5.000 tế bào/ml trong môi trường Zarouk (Godia el al.,2002) thì sau 15 ngày nuôi cấy tảo có thể đạt mật độ tối đa là 458.642 tế bào/ml (Nguyễn Phúc Hậu, 2008). *Spirulina platensis* có thể thích nghi với môi trường thay đổi pH, tuy nhiên sự thay đổi này xảy ra đột ngột sẽ dẫn đến sự phá hủy tế bào, điều này xảy ra đối với môi trường có dung dịch đệm không tốt. Dung dịch đệm được đề nghị là 0,2 M NaHCO<sub>3</sub> (Zarouk, 1966). Sự hấp thu ion NO<sub>3</sub><sup>-</sup> sẽ dẫn đến sự tăng pH của môi trường và ngược lại sự hấp thu NH<sub>4</sub><sup>+</sup> sẽ làm giảm pH (Oh – Hama, 1986). pH có thể khống chế trong phạm

vi thích hợp bằng cách sục khí hay bổ sung  $\text{Ca}(\text{HCO}_3)_2$ . Trong quá trình nuôi cấy mật độ tảo càng cao sự thay đổi pH trong ngày càng lớn, thấp nhất vào sáng sớm và rất cao vào lúc xế chiều.

Ngoài các yếu tố trên sục khí cũng có vai trò quan trọng giúp tảo lơ lửng trong nước tránh lắng xuống đáy, làm tảo có cơ hội tiếp xúc đều với ánh sáng và chất dinh dưỡng. Đồng thời, sục khí hạn chế sự phân tầng nhiệt độ, sự kết tủa của kim loại cũng như sự lắng xuống đáy của các kim loại nặng.

## **Dinh dưỡng**

### **Đạm**

Nitrogen được tảo sử dụng để tạo ra các amino acid, acid nucleic, chlorophyll và các hợp chất hữu cơ chứa nitơ khác. Nitơ chiếm 1 – 10% trọng lượng khô của tế bào tảo ( Đặng Đình Kim, 1999). Hầu hết các loài tảo đều có thể sử dụng  $\text{N-NO}_3^-$  ở màng tế bào ( Graham, 2000). Nitrat được sử dụng nhưng với nồng độ rất thấp (Đặng Đình Kim, 1999). Theo Reynold (1986) tỷ lệ N:P tốt nhất cho *S.platensis* là 6-8:1. Các muối ammonium cũng được tảo sử dụng trong thời gian dài như  $\text{NH}_4^+$  nhưng nồng độ phải thấp hơn 100mgN/l trong khi  $\text{NO}_3^-$  được tảo sử dụng chính. Việc bổ sung ammonium vào tế bào tảo khi đang hấp thu nitrate thì ngày lập tức sẽ hạn chế hoàn toàn quá trình này. Tế bào *Spirulina platensis* tăng trưởng tốt nhất khi hàm lượng ure bổ sung vào môi trường nuôi cấy là 500mg/l với cường độ ánh sáng là 5600lux. Trong khi đó để thu được tảo có năng suất cao cần tạo được môi trường có nồng độ đạm cao đến 172 mg/l (Muzapharop & Taubaep, 1974 Trích bởi Trần Văn Vỹ, 1995). Tốc độ phát triển của tảo tốt nhất khi nồng độ nitrogen và phospho với hàm lượng là 25 và 2 mg/l (Monstert, 1987). Sự thay đổi quá trình trao đổi chất kết hợp với tốc độ phát triển của tế bào tảo giảm dưới điều kiện thiếu nitrogen ( Oh-hama, 1986).

Nguồn nitrogen cung cấp không những ảnh hưởng đến quá trình phát triển của tảo mà nó còn ảnh hưởng đến thành phần sinh hoá của tế bào tảo.

### **Lân**

Lân là một trong những nhân tố chính trong thành phần của tảo. Lân có vai trò chính trong đa số các quá trình xảy ra trong tế bào đặc biệt là quá trình chuyển hoá năng lượng và tổng hợp acid nucleic. Giống như đạm, lân cũng là yếu tố giới hạn sinh trưởng của tảo. Tảo sử dụng chủ yếu là phospho vô cơ. Phospho hữu cơ thường được thuỷ phân bởi các enzym ngoại bào như phosphoesterase, phosphatase để chuyển sang dạng phospho vô cơ dễ tiêu. Việc hấp thu lân ở tảo được kích thích bởi ánh sáng.

Lân thường tồn tại ở hai dạng phosphat hữu cơ ( DIP) hoặc phospho vô cơ hoà tan ( DOP). Hầu hết phospho hoà tan là DOP. DIP thường ở dạng Orthophosphat ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) và một ít Monophosphat ( $\text{HPO}_4^{2-}$ ) và Dihydrogen phosphat ( $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ). Tảo chỉ có thể sử dụng phosphat hữu cơ hoà tan. Khi môi trường thiếu phosphat hữu cơ hoà tan, tảo có thể tiết ra enzym alkaline phosphatase, đây là một loại enzym ngoại bào có khả năng giải phóng phosphat trong phạm vi chất hữu cơ. Hơn nữa, khi hàm lượng phosphat hữu cơ hoà tan biến động trong khoảng thời gian ngắn thì tảo có thể hấp thu và dự trữ phosphat trong tế bào. Trong thời gian biến động, một tế bào tảo có thể dự trữ phosphat đủ cho sự phân chia 20 tế bào (Graham, 2000).

Trong ao nuôi, sự phân huỷ thức ăn thừa và phân sẽ liên tục bổ sung phosphorus vào trong nước (Boyd, 1998).

### **Vi chất**

+ Kali thường có nồng độ cao trong nước thiên nhiên. Ý nghĩa Kali trong đời sống thủy sinh vật rất lớn : Kali xúc tiến quá trình quang hợp bằng cách thúc đẩy quá trình vận chuyển glucid từ phiến lá vào các cơ quan khác. Khi thiếu kali sự hình thành các liên kết cao năng bị chậm lại và hàm lượng phospho trong các acid nucleotic bị giảm.

Kali chiếm 1- 2% trọng lượng khô của tế bào và là cation chính trong tế bào chất. Đã có những nghiên cứu về nhu cầu kali cho quá trình tạo men (Hawker, Marshner, và Krauss, 1979) và tổng hợp tinh bột ( Besford, 1978), (trích bởi Oh-Hama và Miyachi, 1986).

+ Natri : Ion  $\text{Na}^+$  phổ biến rộng rãi trong nước thiên nhiên và mức độ phổ biến trong các cation chiếm vị trí hàng đầu. Trong nước ngọt chiếm khoảng 5-15%, trong thành phần cơ thể của thủy sinh vật chiếm khoảng 0.5-1% trọng lượng cơ thể chúng.

+ Magiê :  $\text{Mg}^{2+}$  rất quan trọng đối với thực vật vì nó có cấu tử trung tâm của diệp lục tố. Thiếu  $\text{Mg}^{2+}$  thực vật không tạo được diệp lục tố nên không quang hợp được vật chất hữu cơ.  $\text{Mg}^{2+}$  rất cần thiết cho việc hấp thu và di chuyển lân. Mg là thành phần của chlorophyll, ribôsom và nhiễm sắc thể ( Metzler, 1977).  $\text{Mg}^{2+}$  cũng cần thiết trong chức năng của enzym.

+  $\text{Ca}^{2+}$ : Là sản phẩm của quá trình phân hoá đất đá, đặc biệt là quá trình rửa trôi đá vôi, dolomit và thạch cao. Ion  $\text{Ca}^{2+}$  thường kết hợp với ion  $\text{CO}_3^{2-}$ ,  $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ; dạng  $\text{HCO}_3^-$  dễ chuyển hoá thành  $\text{CaCO}_3$  và phóng thích  $\text{CO}_2$  cho quá trình quang hợp của thực vật phù du trong nước.  $\text{Ca}^{2+}$  làm cho nước bớt chua, làm tăng độ hoà tan, đồng hoá các chất dinh dưỡng khác như đạm phospho, tạo

sự quân bình giữa các mối dinh dưỡng trong nước, giúp cho vi sinh vật hoạt động tốt hơn, cung cấp  $\text{Ca}^{2+}$  cho thực vật.

+ Fe : Sắt là một trong những nhân tố rất cần thiết cho đời sống thủy sinh vật mặc dù nhu cầu về nó không lớn lắm. Chất diệp lục cây xanh không thể tạo thành được nếu không có sắt, mặc dù trong thành phần diệp lục không có sắt. Hàm lượng sắt trong nước ngọt cao hơn trong nước biển đến hàng chục ppm. Hàm lượng các muối sắt hòa tan tỉ lệ nghịch với pH ( pH càng cao muối hòa tan của sắt càng thấp), do đó khi quá trình quang hợp của thực vật phù du trong ao xảy ra mạnh làm pH của nước tăng các muối hòa tan của sắt hầu như hết hẳn (Trương Quốc Phú, 2003).

+ Mangan: Ở hàm lượng thấp ( 0.001 – 0.002ppm) có tác dụng kích thích sự tăng trưởng củ thực vật, hàm lượng  $\text{Mn}^{+}$  thích hợp cho tảo là 0.005 – 0.2ppm).

+  $\text{Cu}^{2+}$  : cũng là nguyên tố vi lượng cần cho thực vật phát triển. Tiếp xúc với lượng đồng cao sẽ ức chế thực vật phát triển hoặc giết chết thực vật do phá hủy chức năng của tế bào đảm nhận các quá trình quang hợp, hô hấp, tổng hợp chlorophyll và phân chia tế bào của thực vật.

+  $\text{Zn}^{2+}$ : là thành phần cấu tạo carbonicanhydrase (xúc tác phản ứng hydrase hóa), làm tăng khả năng vận chuyển oxy.

## 2.2. Các phương pháp nuôi tảo

Có 3 phương pháp nuôi tảo : nuôi theo mẻ, nuôi bán liên tục và nuôi liên tục ( Trương Sỹ Kỳ, 2004).

- Nuôi theo mẻ : Nuôi tảo trong các bể nuôi có môi trường dinh dưỡng, sau một vài ngày khi mật độ tảo lên đến cực đại hoặc gần cực đại thì thu hoạch. Đây là phương pháp nuôi khá phổ biến vì đơn giản và thuận tiện, có thể xử lý khi môi trường nuôi có sự cố.
- Nuôi bán liên tục : Phương pháp này nhằm mục đích kéo dài thời gian nuôi bằng cách thu hoạch tảo từng phần. Sau khi thu hoạch thì cấp thêm nước và môi trường dinh dưỡng để cho tảo tiếp tục phát triển. Thông thường thì nuôi bán liên tục không tính được thời gian nuôi kéo dài bao lâu vì còn phụ thuộc vào chất lượng nước và các loài động vật dữ sử dụng làm thức ăn hoặc cạnh tranh không gian sống.
- Nuôi liên tục : Là phương pháp nuôi tương đối hiện đại, giá thành cao và đòi hỏi quy trình nuôi chặt chẽ. Nguyên tắc nuôi là liên tục dẫn tảo đến bể nuôi ấu trùng đồng thời cấp nước và môi trường dinh dưỡng vào bể nuôi. Tốc độ dòng chảy của nước lấy ra và nước có môi trường dinh dưỡng cấp

vào phải bằng nhau. Nuôi theo phương pháp này có thể kéo dài thời gian nuôi 2 – 3 tháng.

## 2.5. Một số ứng dụng của tảo *Spirulina*

Mustafas và ctv. (1994) báo cáo : *Spirulina platensis* được thêm vào làm thức ăn bổ sung cho *Pagrus major* với tỷ lệ 5% đã làm tăng tốc độ tăng trưởng của cá, hiệu quả chuyển đổi thức ăn và hiệu suất sử dụng Protein mà thành phần Protein có trong thịt cá không bị ảnh hưởng xấu. Tốc độ tăng trưởng và hiệu quả sử dụng thức ăn của cá Silver sea beam khác nhau không có ý nghĩa giữa nghiệm thức có bổ sung 50% *Spirulina platensis* trong khẩu phần ăn với nghiệm thức đối chứng 100% cá bột ( El-(1994)).

Chow và ctv.(1991) nghiên cứu về tốc độ tăng trưởng, tính ăn ngon miệng, hoạt động của enzyme tiêu hóa Protein và men tiêu hóa tinh bột nêu lên : không có sự khác nhau có ý nghĩa giữa các nhóm cá cho ăn thức ăn đối chứng và thức ăn bổ sung *Spirulina platensis*. *Spirulina platensis* cũng được đề nghị thay thế một phần bột cá trong chế độ ăn của cá Rô Phi *O.mossambicus*.

*Spirulina platensis* ảnh hưởng đến tích lũy mỡ của cá và chỉ nên bổ sung *Spirulina platensis* ở mức 5% để duy trì sự sinh trưởng bình thường của cá (Watanabe và ctv.,1990).

Nghiên cứu về sự ảnh hưởng của các nguồn Protein khác nhau lên khẩu phần ăn của tôm thẻ, Ali ( 1992) phát hiện : *Spirulina platensis* và đậu phộng cho sức tăng trưởng của tôm tốt hơn có ý nghĩa so với bánh dầu dừa và gingerly cakes; hiệu quả sử dụng Protein thô và giá trị sinh học của *Spirulina platensis* cao hơn có ý nghĩa so với đậu phộng.

Khi ương ấu trùng tôm He bằng tảo *Spirulina apletensis* và *S.platensis* cộng với bột đậu nành từ giai đoạn Zoea 1 đến Mysis 2, tôm đạt kích cỡ 663 – 757um, dài hơn có ý nghĩa so với thức ăn đối chứng chỉ dùng bột đậu nành (Gu và ctv.,1989).

Nghiên cứu của Benjamas Chuntapa (2003), tảo lam *Spirulina platensis* được nuôi trong bể tôm sú (*Peneus monodon*) để kiểm soát chất lượng nước nuôi tôm. Nội dung của nghiên cứu là đánh giá ảnh hưởng của: (1) Ba điều kiện nuôi tảo (không có tảo, có nuôi tảo nhưng không thu hoạch và thu hoạch bán liên tục) lên hàm lượng nitơ vô cơ ở cùng một mật độ tôm nuôi. (2) Hai mật độ nuôi tôm lên hàm lượng nitơ vô cơ trong điều kiện có tảo và không có tảo. Kết quả ở nghiệm thức thu hoạch bán liên tục ở cùng một mật độ tôm nuôi thì hàm lượng nitơ vô cơ ( $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NO}_2^-$ ) giảm có ý nghĩa ( $P<0,05$ ). Ở nghiệm thức không có tảo hàm lượng  $\text{NH}_4^+$ , và  $\text{NO}_3^-$ , dao động từ 0,5-0,6 mg/L trong khi hàm lượng

$\text{NO}_2^-$  biến động từ 16-18 mg/L ở ngày thứ 44. Với nghiệm thức không thu hoạch tảo thì hàm lượng nitơ biến động đáng kể. Ở nghiệm thức thu hoạch tảo bán liên tục hàm lượng nitrate giảm xuống còn 4 mg/L, ammonium là 0,0mg/L còn nitrite là 0,15 mg/L. Ở nghiệm thức có nuôi tảo dù mật độ tảo nuôi cao hay thấp thì các hợp chất có chứa nitơ vẫn giảm đáng kể trong các bể nuôi và không có mối tương quan rõ rệt với mật độ tảo nuôi. Đối với nghiệm thức không có tảo, hàm lượng các hợp chất có nitơ tăng cao và tỉ lệ sống của tảo giảm có ý nghĩa ở nghiệm thức có mật độ nuôi tảo cao.

Đề tài do tác giả Hoàng Sỹ Nam, Đặng Diễm Hồng (Viện Công nghệ sinh học) thực hiện đánh giá khả năng sinh trưởng và chất lượng của các chủng tảo trong 3 môi trường nước khoáng thuộc 3 địa điểm. Đồng thời đánh giá các chỉ tiêu hóa lí của môi trường trước và sau khi nuôi tảo làm cơ sở cho việc thiết lập qui trình nuôi đại trà làm giảm chi phí đầu tư, kéo dài thời gian và thu sinh khối tảo tối đa giữa các đợt nuôi. Vật liệu để tiến hành thí nghiệm bao gồm: Nguồn nước khoáng được lấy từ các nguồn nước khoáng thuộc 3 tỉnh Thạch Thành - Thanh Hóa, Thanh Tân- Thừa Thiên Huế, Thanh Liêm – Hà Nam được kí hiệu tương ứng là TH, HU,HN. Các hóa chất có độ tinh sạch cao được dùng để pha môi trường Zarrouch. Phân hóa học N:P:K của nhà máy sản xuất phân bón Lâm Thao. Các hóa chất chuyên dùng như: axeton, clô-rô-phooc, metanôn... Ngoài ra, còn dùng một số loài thuốc thử để phân tích hàm lượng các chất có trong môi trường nuôi tảo. Kết quả thí nghiệm cho thấy, trong 3 loại nước khoáng TH, HU, HN được sử dụng để nuôi trồng tảo *S.platensis*, nước khoáng TH có thành phần dinh dưỡng tốt nhất để nuôi trồng tảo. Hai loại nước khoáng này có thành phần thông số lý hóa tương tự nhau. Cả ba loại nước khoáng TH, HU và HN đều có thể sử dụng để nuôi trồng tảo *S.platensis*, trong đó nước khoáng nước khoáng TH cho tốc độ sinh trưởng của tảo cao nhất. Như vậy, có thể sử dụng nước khoáng TH, để nuôi trồng cả hai chủng tảo *S.platensis* CNT và C1 với công thức môi trường MT2. Với môi trường này chi phí cho nuôi tảo có thể giảm được 1/2 mà chất lượng tảo vẫn đảm bảo so với nuôi bằng môi trường Zarrouch chuẩn. Trong 2 chủng CNT và C1, chủng CNT có tốc độ sinh trưởng cao gấp 5 lần so với chủng C1. Thành phần hóa của hai chủng tảo CNT và C1 khi được nuôi trồng trong các môi trường khác nhau có khác nhau song vẫn đảm bảo được chất lượng để làm thực phẩm cho con người và động vật nuôi.

Theo Nguyễn Huỳnh Quang Thái, 2008, bổ sung tảo *Spirulina platensis* vào thức ăn làm tăng tỷ lệ sống của cá Chép Nhật từ 46,8% (NTĐC) lên 62,2% (NT1), 83,3% (NT2) và 80% (NT3). Tuy nhiên, tảo *Spirulina platensis* bổ sung vào thức ăn không ảnh hưởng đến sự phát triển về trọng lượng của cá Chép Nhật,



trong khi 6-9% g/kg sẽ giúp cho cá nhanh nhẹn và khỏe mạnh hơn so với thức ăn có hàm lượng tảo *Spirulina platensis* thấp hoặc không có tảo trong thức ăn.

Ngoài ra, do tảo *Spirulina platensis* có nhiều giá trị dinh dưỡng và giá trị sinh học cao nên tảo được coi là một loại thực phẩm chức năng như nguồn thức ăn bổ dưỡng cho con người, cho vật nuôi, nguồn hoá chất và vật liệu phân bón vi sinh...Hiện tảo được nhiều nước trên thế giới nghiên cứu và phát triển.

### Phần 3

## VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 3.1. Vật liệu nghiên cứu

- Tảo giống: Tảo *Spirulina platensis* đã được phân lập và nuôi giữ từ phòng thí nghiệm, Bộ môn thủy sinh học ứng dụng – Khoa Thủy Sản - Trường Đại Học Cần Thơ.

- Nguồn nước : Nước ngọt lấy từ nhà máy nước được xử lý bằng Chlorine nồng độ 20ppm và sục khí mạnh trong vòng 24h. Sau đó được trung hoà Clo dư bằng  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ . Nước xử lý để lắng trong thời gian 24h và được lọc qua túi bông gòn trước khi sử dụng để nuôi tảo.

- Môi trường nuôi cấy tảo: Môi trường Zarrouk ( Godia el ai.,2002).

Bảng 3.1 Môi trường Zarrouk

Hoá chất	Lượng (g/l) x 20 lần
NaCl(*)	20
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	4
CaCl <sub>2</sub>	0.8
FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0.2
EDTA	1.6
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	10
NaNO <sub>3</sub>	50
K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	20
NaHCO <sub>3</sub>	336
<i>Dung dịch A5 và B6</i>	
<i>Dung dịch A5</i>	
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	57.2
MnCl <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O	36.2
ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O.	4.4
CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	0.3
<i>Dung dịch B6</i>	
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	0.4592
NiSO <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O	0.957
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	0.358
CoCl <sub>2</sub>	0.8796

- Dung dịch A5 và dung dịch B6 pha bình thường, sử dụng 1ml cho 1lít tảo.
- Dung dịch (\*) pha gấp 20 lần, như vậy đúng ra khi cấy 1lít tảo cần 50 ml dung dịch (\*) nhưng trong thí nghiệm này chỉ sử dụng 25ml cho 1 lít tảo

- Dụng cụ: Bể 30 lít, bể 500 lít, vợt các loại (vợt thu vợt lọc), lưới thu, dây khí, chai 110ml (thu mẫu môi trường), ...

- Hoá chất: cồn, formol và các loại hoá chất khác.

### 3.2. Phương pháp nghiên cứu:

3.2.1. Thí nghiệm 1: Ảnh hưởng của mật độ nuôi cấy ban đầu lên sự phát triển của tảo *Spirulina platensis*.

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với ba nghiệm thức và ba lần lặp lại, gồm 9 bể, thể tích bể 30 lít, môi trường nuôi dưỡng cho tảo phát triển là môi trường Zarrouk và được cung cấp vào ngày đầu trước khi bố trí thí nghiệm, bể được đặt ngoài trời ánh sáng tự nhiên. Nước ngọt được cung cấp thêm hàng ngày để bù lại lượng nước mất đi do quá trình thu mẫu và bay hơi đối với tất cả các nghiệm thức, sục khí liên tục trong suốt quá trình nuôi.



Hình 3.2.1 Thí nghiệm về mật độ

Mật độ tảo được bố trí như sau:

- Nghiệm thức 1: mật độ tảo 10.000 tế bào/ml
  - Nghiệm thức 2: mật độ tảo 30.000 tế bào/ml
  - Nghiệm thức 3: mật độ tảo 50.000 tế bào/ml
- Các chỉ tiêu theo dõi: TAN,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ , thu mẫu 3 ngày/lần đối với tất cả các nghiệm thức.

3.2.2. Thí nghiệm 2: Ảnh hưởng của tỷ lệ thu sinh khối lên sự phát triển của tảo *Spirulina platensis*.

Bố trí thí nghiệm tương như thí nghiệm 1, môi trường Zarrouk được cung cấp một lần vào ngày đầu bố trí thí nghiệm đối với nghiệm thức 1, đối với nghiệm thức 2 và nghiệm thức 3 thu hoạch khi tảo ở cuối giai đoạn tăng trưởng và đầu giai đoạn tăng trưởng chậm, môi trường và nước ngọt được bổ sung vào bằng với lượng tảo thu hoạch, mật độ tảo bố trí ban đầu là 30.000tb/ml.



Hình 3.2.1 Thí nghiệm về tỷ lệ thu sinh khối

- Nghiệm thức 1: không thu hoạch tảo trong suốt quá trình nuôi.
- Nghiệm thức 2: thu mỗi ngày 25%.
- Nghiệm thức 3: thu mỗi ngày 30%.

➤ Các chỉ tiêu theo dõi: TAN,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ , thu mẫu 3 ngày/lần đối với tất cả các nghiệm thức.

### 3.3. Phương pháp thu thập, tính toán và xử lý số liệu :

- Phương pháp thu thập và phân tích số liệu :

- Các yếu tố thủy hoá : Nhiệt độ và pH đo vào lúc 10 giờ sáng bằng nhiệt kế thủy tinh và pH kế.



Hình 3.3 Máy đo nhiệt độ và pH

- TAN : Phân tích theo phương pháp Indophenol Blue.
- $\text{N-NO}_3^-$  : Phân tích theo phương pháp Salycilate.
- $\text{PO}_4^{3-}$  : Phân tích theo phương pháp Molidden Blue.
- Tính mật độ tảo : Tảo được thu mỗi ngày vào lúc 10 giờ sáng và cố định bằng formol 100 $\mu\text{l}$ /5ml tảo. Xác định mật độ tảo bằng buồng đếm Sedgwich Rafter, theo phương pháp của Boyd và Tucker (1992).

Mật độ tảo được xác định bằng công thức sau :

$$\text{Số lượng tảo ( cá thể/lít)} = T * (1000/A * N) * V_{mcd} * V_{mnt} * 1000.$$

Trong đó :

T : tổng số cá thể đếm được.

A : Diện tích ô đếm.

$V_{mcd}$  : Thể tích mẫu cô đặc.

$V_{mnt}$  : Thể tích mẫu nước thu.

Thí nghiệm kết thúc khi mật độ tảo *Spirulina platensis* ở các nghiệm thức bắt đầu giảm 2 ngày.

- Các phương pháp xử lý số liệu :

Số liệu được xử lý bằng chương trình Microsoft Excel và ANOVA một nhân tố để so sánh sự khác biệt giữa các nghiệm thức ở mức  $p < 0.05$ .

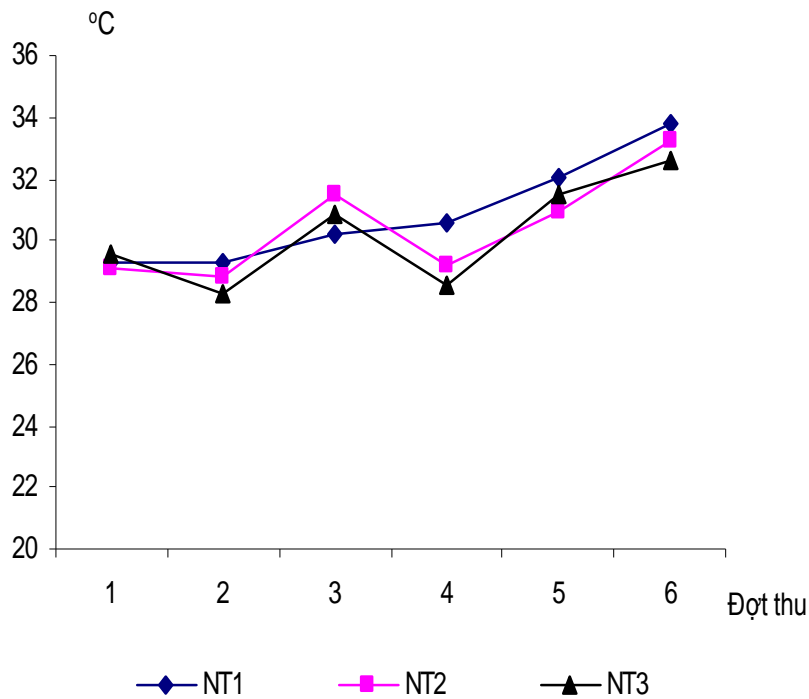
## Phần 4

### KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

#### 4.1. Thí nghiệm 1 : Ảnh hưởng của mật độ nuôi cấy ban đầu lên sự phát triển của tảo *Spirulina platensis*.

##### 4.1.1 Các yếu tố môi trường :

##### Nhiệt độ :

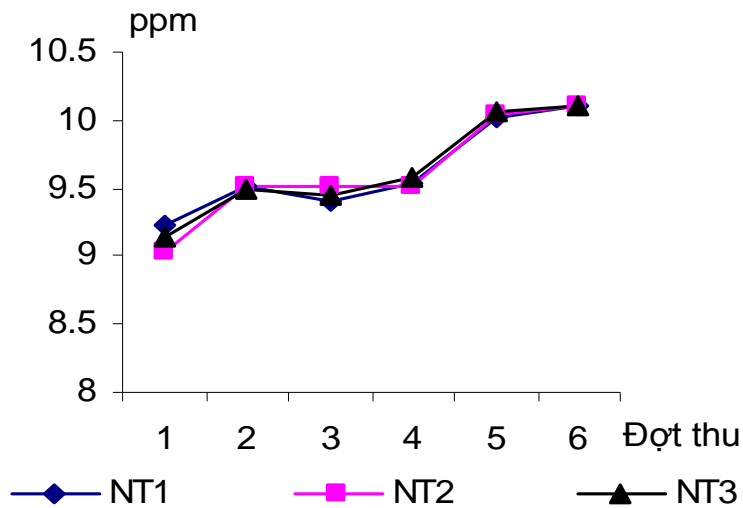


Hình 4.1.1 Biến động nhiệt độ ở TN1

Nhìn chung, nhiệt độ không có sự biến động lớn giữa các nghiệm thức qua các đợt thu mẫu. Nhiệt độ trung bình của NT1, NT2, NT3 lần lượt là  $30,9 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$ ;  $30,4 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$ ;  $29,9 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$ ; nhiệt độ cao nhất là  $34^{\circ}\text{C}$  và thấp nhất là  $28,2^{\circ}\text{C}$ . Biến động nhiệt độ ở các nghiệm thức trong suốt thời gian thí nghiệm không có sự khác biệt nhau, nhiệt độ tăng nhẹ ở đợt thứ 5 và thứ 6. Nguyên nhân làm cho nhiệt độ tăng là do vào 2 đợt thu mẫu cuối trời nắng trong khi các đợt thu mẫu đầu tiên trời mưa làm nhiệt độ giảm thấp ( $28,2^{\circ}\text{C}$ ). Nhiệt độ không những ảnh hưởng trực tiếp hoặc gián tiếp lên quá trình trao đổi chất mà còn tác động lên cấu trúc tế bào (Payer, 1980). Do đó mỗi loài tảo cần nuôi ở một khoảng nhiệt độ nước thích hợp, ngoài ngưỡng nhiệt độ tảo sẽ không phát triển và có thể bị chết. Theo Richmond (1986) nhiệt độ thích hợp cho sự phát triển của tảo *Spirulina platensis* là  $35 - 37^{\circ}\text{C}$ . Hình 4.1.1 cho thấy kết quả phân tích nhiệt độ thấp hơn

mức nhiệt độ tốt nhất cho tảo phát triển. Vì vậy, mật độ tảo tăng chậm ở các ngày đầu nhưng tăng nhanh vào các ngày cuối.

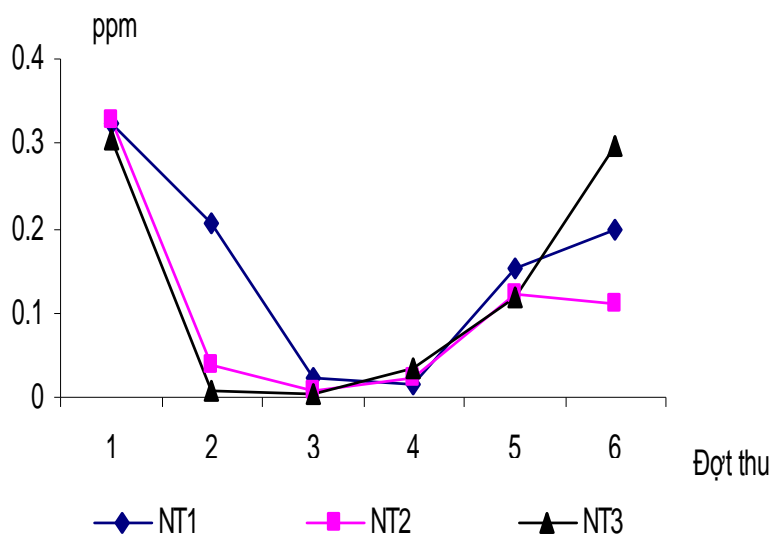
### Độ pH



Hình 4.1.2. Biến động pH ở thí nghiệm 1

pH là một trong những nhân tố môi trường có ảnh hưởng rất lớn lên sự phát triển của tảo. pH ở các nghiệm thức ít biến động, dao động trong khoảng 9,00 – 10,15 và đạt giá trị trung bình NT1, NT2, NT3 lần lượt là  $9,63 \pm 0,03$ ;  $9,62 \pm 0,02$ ;  $9,64 \pm 0,02$ . Biến động pH ở các nghiệm thức trong suốt thời gian thí nghiệm không có sự khác biệt nhau, tăng dần từ đợt thu mẫu thứ nhất đến thứ 2 sau đó giảm ở đợt thứ 3 và liên tục tăng đến khi kết thúc thí nghiệm (Hình 4.1.2). pH đạt giá trị cao nhất vào đợt 5 và 6 ở 3 nghiệm thức, nguyên nhân là do ở hai đợt thu mẫu này nhiệt độ tăng dẫn đến quá trình quang hợp của tảo xảy ra mạnh, tảo hấp thu nhiều  $\text{CO}_2$  làm pH cũng tăng theo, trong khi ở các đợt thu mẫu đầu tiên pH tăng là do tảo phát triển hấp thu  $\text{CO}_2$  cho quá trình quang hợp làm biến động hệ đệm carbonate-bicarbonate, đồng thời sự hấp thu  $\text{NO}_3^-$  của tảo cũng làm pH tăng. Ở đợt thu thứ 3 pH giảm nhẹ do trời mưa (nước mưa có tính acid làm pH giảm). Theo Oh-hama (1986) thì sự hấp thu  $\text{NO}_3^-$  của tảo sẽ dẫn đến pH tăng, điều này phù hợp với kết quả phân tích hàm lượng  $\text{NO}_3^-$ , giảm nhanh chóng ở đợt thu thứ nhất đến đợt thu thứ 5 do mật độ tảo càng cao  $\text{NO}_3^-$  hấp thu càng nhiều. Theo Zarrouk (1966) tảo *Spirulina platensis* phát triển tốt nhất ở pH 8,3-11,0 do đó pH phân tích được nằm trong khoảng thích hợp cho sự phát triển của tảo.

## TAN

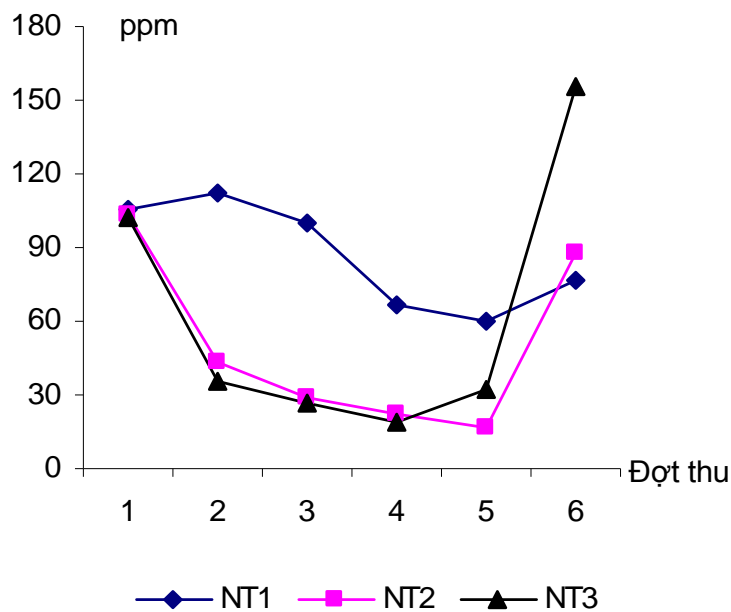


Hình 4.1.3. Biến động TAN ở thí nghiệm 1

Hình 4.1.3 cho thấy TAN ở các nghiệm thức có xu hướng giảm dần đến đợt thu mẫu thứ 4 và sau đó tăng dần lên ở đợt thu mẫu thứ 5 và 6, riêng NT3 TAN tăng ở đợt thu thứ 3. Nồng độ TAN ở các nghiệm thức biến động trong khoảng 0 - 0,344ppm. TAN trung bình ở các nghiệm thức lần lượt là  $0,154 \pm 0,039$ ppm;  $0,104 \pm 0,032$ ppm;  $0,128 \pm 0,022$ ppm tương ứng với NT1, NT2, NT3. Nhìn chung, TAN ở các nghiệm thức đều tăng ở các đợt thu mẫu cuối. Nguyên nhân làm TAN tăng cao là do vào các ngày kết thúc thí nghiệm mật độ tảo giảm dần đến gia tăng nồng độ TAN tương ứng ở NT1 mật độ tảo giảm mạnh (từ  $65.667 \pm 9.188$  tb/ml xuống còn  $49185 \pm 16.219$  tb/ml) và NT3 (từ  $92.056 \pm 1.292$  tb/ml xuống còn  $56.296 \pm 2.962$  tb/ml) vào ngày thứ 15. Ở đợt thu mẫu thứ 5 và 6 giữa 3 nghiệm thức có sự khác biệt nhau, NT1 và NT3 hàm lượng TAN tăng cao trong khi ở NT2 có xu hướng giảm ở đợt thứ 6 là do tảo vẫn còn phát triển nên hấp thu TAN. Hàm lượng TAN đạt giá trị thấp nhất ở NT1 và NT3 vào đợt thu mẫu thứ 3 (TAN = 0), điều này được giải thích là do tảo hấp thu TAN trong khi hàm lượng TAN cho vào môi trường không cao nên đến đợt thu mẫu thứ 3 tảo đã sử dụng hết và TAN bắt đầu tăng lên ở đợt thu mẫu cuối do tảo bị phân hủy làm tăng hàm lượng ammonium trong môi trường. Mặc khác, tảo tàn nên không hấp thu TAN do đó hàm lượng TAN tăng cao ở các đợt thu mẫu cuối.



$\text{NO}_3^-$

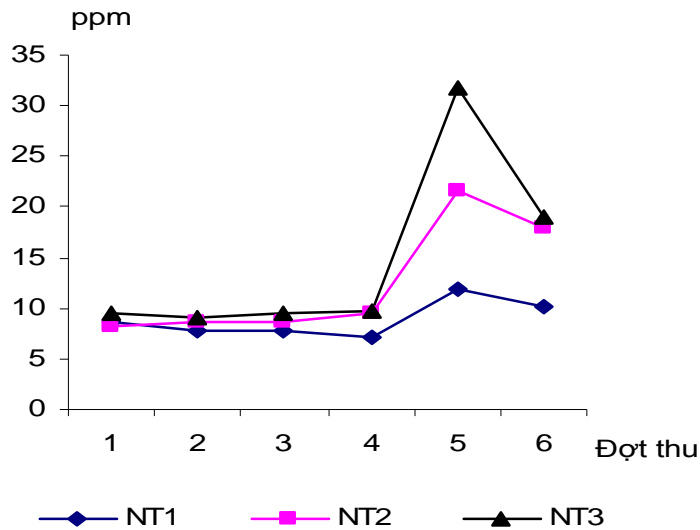


Hình 4.1.4. Biến động  $\text{NO}_3^-$  ở thí nghiệm 1

Hình 4.1.4 cho thấy, hàm lượng  $\text{NO}_3^-$  có sự khác biệt giữa các nghiệm thức qua các đợt thu mẫu và dao động trong khoảng 12,51 – 162,50ppm. Nồng độ  $\text{NO}_3^-$  trung bình giữa các NT lần lượt là  $86,84 \pm 5,99\text{ppm}$ ,  $50,25 \pm 5,05\text{ppm}$  và  $61,91 \pm 7,36\text{ppm}$  tương ứng với NT1, NT2 và NT3. Đợt thu thứ 2,3,4 không khác biệt ( $p > 0,05$ ) đối với NT2 và NT3 nhưng hàm lượng  $\text{NO}_3^-$  ở NT1 lại cao hơn có ý nghĩa ( $p < 0,05$ ) so với NT2 và NT3. Tuy nhiên, ở đợt thu thứ 6 NT1 và NT2 không khác biệt nhưng khác biệt có ý nghĩa với NT3. Hàm lượng  $\text{NO}_3^-$  ở NT1 tăng ở đợt thu mẫu thứ 2 là do mật độ tảo bố trí ban đầu thấp nên tảo chưa thích ứng với môi trường mới dẫn đến vào 3 ngày đầu mật độ tảo có chiều hướng giảm, tảo không hấp thu dinh dưỡng tuy nhiên sang ngày thứ 5 mật độ tảo tăng trở lại dẫn đến  $\text{NO}_3^-$  giảm ở các đợt thu tiếp theo. Ngược lại với NT1, ở NT2 và NT3 mật độ tảo liên tục tăng từ ngày thứ 2 đến ngày thứ 12 và giảm nhanh chóng đến ngày thứ 15 do mật độ tảo càng cao lượng dinh dưỡng hấp thu càng nhiều cho quá trình sinh trưởng, tương ứng với  $\text{NO}_3^-$  giảm từ đợt thu thứ 2 đến đợt thu thứ 5 và tăng cao ở đợt thu thứ 6. Hàm lượng  $\text{NO}_3^-$  tăng ở hai đợt thu mẫu cuối do tảo tàn, tảo không hấp thụ  $\text{NO}_3^-$  cùng với sự phân hủy xác tảo chính là nguyên nhân làm cho  $\text{NO}_3^-$  tăng lên. Theo Richmond (1986) tảo *Spirulina platensis* hấp thu chủ yếu đạm nitrate nên hàm lượng  $\text{NO}_3^-$  có khuynh hướng giảm nhanh chóng ở đợt thu mẫu thứ 2 đến thứ 4 ở tất cả các nghiệm thức và tăng ở đợt thu

5,6 đối với NT3, đợt thứ 6 đối với hai NT còn lại. Giá trị  $\text{NO}_3^-$  đạt cao nhất vào ngày thứ 15 của thí nghiệm.

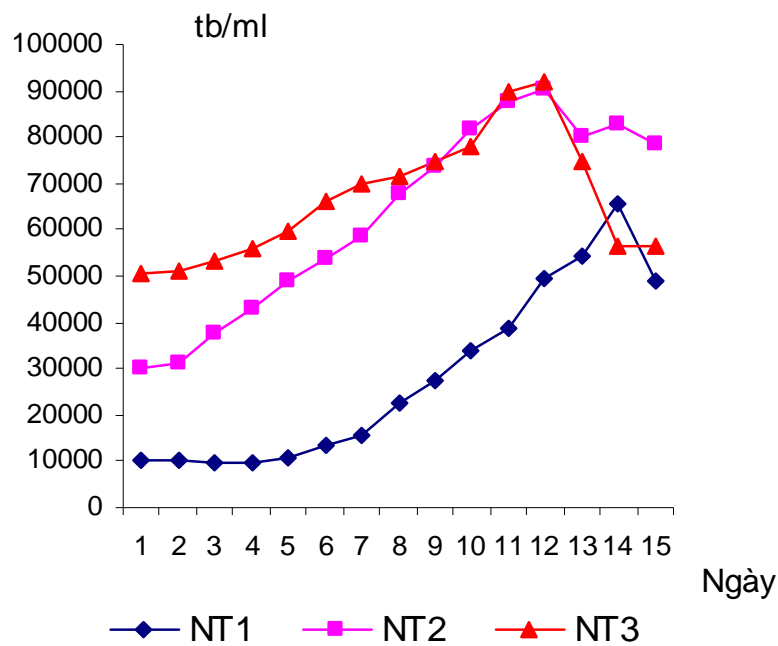
### $\text{PO}_4^{3-}$



Hình 4.1.5. Biến động  $\text{PO}_4^{3-}$  ở thí nghiệm 1

$\text{PO}_4^{3-}$  ở các nghiệm thức khá cao và dao động trong khoảng 7,27 – 52,4ppm (Hình 4.1.5).  $\text{PO}_4^{3-}$  trung bình của các nghiệm thức lần lượt là  $10,46 \pm 0,38\text{ppm}$  (NT1),  $12,44 \pm 0,75\text{ppm}$  (NT2) và  $14,81 \pm 1,97\text{ppm}$  (NT3). Giá trị  $\text{PO}_4^{3-}$  đạt cao nhất vào đợt thu mẫu thứ 5 nhưng giảm ở đợt thu thứ 6 đối với tất cả các nghiệm thức. Qua thống kê cho thấy đợt thu mẫu thứ nhất và thứ 5 cả ba nghiệm thức đều không khác biệt ( $p > 0,05$ ); tuy nhiên ở đợt thu thứ 2,4 và 6 giữa NT2, NT3 không khác biệt nhưng NT1 lại khác biệt có ý nghĩa với NT2 và NT3, đợt thu thứ 3 cả ba nghiệm thức đều khác biệt có ý nghĩa. Nhìn chung, hàm lượng  $\text{PO}_4^{3-}$  ở các nghiệm thức không có sự biến động lớn và có xu hướng giảm dần qua các đợt thu mẫu điều này phù hợp với sự phát triển của tảo, cao ở đầu thí nghiệm và giảm thấp nhất khi mật độ tảo đạt cao nhất.  $\text{PO}_4^{3-}$  là nhân tố giới hạn sự phát triển của tảo vì nó rất cần thiết cho quá trình quang hợp của các loài tảo và cũng được tảo sử dụng chính trong quá trình phát triển. Do đó nếu thiếu  $\text{PO}_4^{3-}$  thì quá trình quang hợp của tảo cũng bị ảnh hưởng. Trong quá trình phát triển tảo hấp thu dinh dưỡng làm cho hàm lượng  $\text{PO}_4^{3-}$  ở các đợt thu mẫu đầu giảm, ngược lại tảo tàn sẽ sinh ra lượng  $\text{PO}_4^{3-}$  cao ở đợt thu thứ 5 do quá trình phân hủy xác tảo.

#### 4.1.2 Sự phát triển của quần thể tảo



Hình 4.1.6 Sự phát triển của quần thể tảo ở TN1

Tảo *Spirulina platensis* được bố trí ban đầu với các mật độ khác nhau do đó tỷ lệ sinh trưởng cũng khác nhau. Hình 4.1.6 cho thấy mật độ tảo ở NT2 (30.000tb/ml) tăng nhanh hơn NT1 ( 10.000tb/ml) và NT3 ( 50.000tb/ml), mặc dù NT1 và NT3 có tăng nhưng tăng rất chậm. Mật độ trung bình ở NT1, NT2 và NT3 lần lượt là  $28.076 \pm 7.268$ tb/ml,  $63.066 \pm 3.496$ tb/ml và  $66.616 \pm 16.08$ tb/ml. Mật độ tảo ở NT2 và NT3 bắt đầu tăng theo pha tăng trưởng của tảo vào ngày thứ 2, trong khi NT1 mật độ tảo giảm từ ngày thứ 2 đến ngày thứ 4 sau đó tăng lại đến ngày thứ 14 và giảm mạnh vào ngày kết thúc thí nghiệm (ngày 15) khi tảo bắt đầu suy tàn. Mật độ tảo ở NT3 giảm nhanh chóng vào ngày thứ 13 đến ngày thứ 15 trong khi NT1 và NT2 mật độ tảo giảm vào ngày thứ 14.

Bảng 4.1 cho thấy mật độ tảo đạt cao nhất ở TN2 và TN3 là  $90.346 \pm 7.089$ tb/ml và  $92.056 \pm 2.2238$ tb/ml thuộc ngày 12 của thí nghiệm và không có sự khác biệt ( $p > 0,05$ ) ở hai nghiệm thức này, trong khi NT1 mật độ tảo đạt tối đa vào ngày thứ 14 (  $65.677 \pm 15.913$ tb/ml). Ở NT2 và NT3 tảo phát triển nhanh vào những ngày đầu là do mật độ bố trí cao 30.000tb/ml (NT2) và 50.000tb/ml (NT3), tuy nhiên tảo sẽ tàn nhanh hơn.vào những ngày cuối.

Bảng 4.1. Sự phát triển của quần thể tảo ở TN1

ĐV tính: tb/ml

Ngày	NT1 10.000tb/ml	NT2 30.000tb/ml	NT3 50.000tb/ml
1	1.0477 ± 519 <sup>a</sup>	301.85 ± 678 <sup>b</sup>	50.668 ± 2.027 <sup>c</sup>
2	9.985 ± 1558 <sup>a</sup>	31.157 ± 811 <sup>b</sup>	51.000 ± 1.732 <sup>c</sup>
3	9.681 ± 3.144 <sup>a</sup>	37.799 ± 11.593 <sup>b</sup>	53.148 ± 1.534 <sup>c</sup>
4	9.870 ± 3.929 <sup>a</sup>	43.148 ± 773 <sup>b</sup>	56.004 ± 722 <sup>c</sup>
5	10.935 ± 3.935 <sup>a</sup>	49.096 ± 4.299 <sup>b</sup>	59.592 ± 525 <sup>c</sup>
6	13.388 ± 6.493 <sup>a</sup>	53.556 ± 3.856 <sup>b</sup>	66.149 ± 280 <sup>c</sup>
7	15.360 ± 6.757 <sup>a</sup>	58.611 ± 2263 <sup>b</sup>	69.729 ± 597 <sup>c</sup>
8	22.370 ± 7.296 <sup>a</sup>	67.778 ± 2263 <sup>b</sup>	71.556 ± 674 <sup>b</sup>
9	27.622 ± 7.981 <sup>a</sup>	73.648 ± 3.518 <sup>b</sup>	74.526 ± 2.926 <sup>b</sup>
10	33.704 ± 10.955 <sup>a</sup>	81.519 ± 5.252 <sup>b</sup>	77.782 ± 1.464 <sup>b</sup>
11	38.804 ± 16.815 <sup>a</sup>	87.593 ± 4.287 <sup>b</sup>	89.593 ± 945 <sup>b</sup>
12	49.704 ± 14.225 <sup>a</sup>	90.346 ± 7.089 <sup>b</sup>	92.056 ± 2.238 <sup>b</sup>
13	54.370 ± 11.846 <sup>a</sup>	80.000 ± 9.871 <sup>b</sup>	74.666 ± 5.526 <sup>b</sup>
14	65.677 ± 15.913 <sup>ab</sup>	83.037 ± 4.083 <sup>a</sup>	56.482 ± 819 <sup>b</sup>
15	49.185 ± 28093 <sup>a</sup>	78.519 ± 10.09 <sup>a</sup>	56.296 ± 5.13 <sup>a</sup>

Ghi chú : Các trị số trên nằm cùng một hàng với kí tự giống nhau để chỉ không có sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Kí tự khác nhau chỉ sự khác biệt có ý nghĩa ở mức  $p < 0,05$ . . .

Mật độ tảo ở NT1 có chiều hướng giảm vào những ngày đầu nguyên nhân có thể do mật độ bố trí ban đầu thấp ( 10.000tb/ml ) tảo chưa thích ứng với môi trường mới khi bố trí nên tảo bị chết nhiều (quan sát thấy tảo chết bám vào thành bể) làm cho mật độ giảm, tuy nhiên vào ngày thứ 5 tảo đã ổn định và phát triển trở lại theo pha tăng trưởng của tảo và đến ngày thứ 14 thì suy tàn tương ứng với mật độ tảo giảm vào ngày thứ 15.

Mật độ tảo *Spirulina platensis* trong ba thí nghiệm phát triển không cao và chậm, mật độ cao nhất của NT2 là  $90.346 \pm 7.089$ tb/ml trong khi NT3 là  $92.056 \pm 2.238$ tb/ml ( so với Nguyễn Phúc Hậu, 2008 khi nuôi trong phòng thí nghiệm ở mức nhiệt độ 28 - 34°C với mật độ nuôi cấy ban đầu 5.000tb/ml, nuôi trong môi trường Zarrouk thì sau 15 ngày nuôi cấy tảo có thể đạt mật độ tối đa là 329.250 - 461.420tb/ml). Tảo *Spirulina platensis* ở cả 3 nghiệm thức phát triển không cao là do bố trí ngoài trời nên không kiểm soát được các yếu tố môi trường như nhiệt độ, ánh sáng, pH (Trương Sỹ Kỳ, 2004). Mặc khác, theo Payer (1980) nhiệt độ không những ảnh hưởng trực tiếp hoặc gián tiếp lên quá trình trao đổi chất mà còn tác động lên cấu trúc tế bào ( nhiệt độ đo được trong 3 nghiệm thức dao động từ 28,2 – 34°C thấp hơn mức nhiệt độ thích hợp cho sự phát triển của tảo *Spirulina platensis* là 35 – 37°C, theo Richmond (1986)). Bên cạnh đó, do tảo *Spirulina platensis* là loại vi tảo có kích thước lớn nên tốc độ phát triển, khả năng hấp thu dinh dưỡng và ánh sáng thấp hơn các loài tảo có kích thước nhỏ ( Lê Văn Cát, 2006). Khi mật độ tảo cao sẽ che chắn bớt ánh sáng quá trình quang hợp sẽ

kém đi dẫn đến kìm hãm lại sự phát triển tiếp theo của tảo. Điều này giải thích tại sao khi mật độ tảo đạt cao nhất sau đó sẽ giảm và suy tàn.

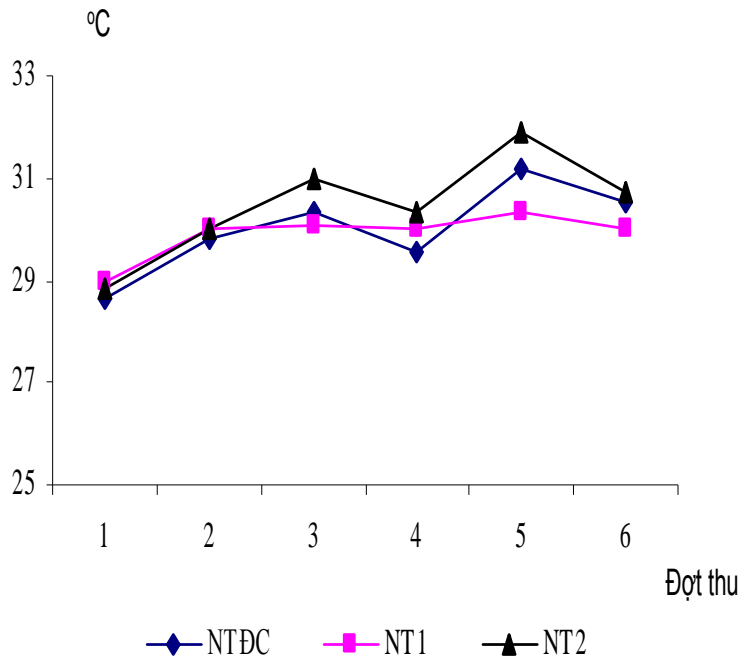
Theo Richmond (1986), muối dinh dưỡng mà tảo hấp thu chủ yếu là nitrate và đây là chất dinh dưỡng chính cho sự phát triển của tảo, nên khi bố trí tảo với mật độ tảo ban đầu khác nhau nhưng cho vào bể nuôi với một lượng dinh dưỡng như nhau thì mật độ tảo bố trí ban đầu cao sẽ giảm nhanh hơn vào những ngày cuối do tảo sử dụng hết nguồn dinh dưỡng cho quá trình phát triển. Mật độ tảo đạt đến đỉnh điểm vào ngày thứ 12 ở NT2 và NT3 trong khi NT1 đạt mật độ cao nhất vào ngày thứ 14. Kết quả thống kê cho thấy, mật độ tảo ở NT2 và NT3 không có sự khác biệt từ ngày thứ 8 đến ngày thứ 15. Từ đó cho thấy khi nuôi tảo ở ba mật độ: 10.000tb/ml, 30.000tb/ml và 50.000tb/ml với nồng độ dinh dưỡng như nhau thì NT2 (30.000tb/ml) cho kết quả tốt nhất vì mật độ tảo vào các ngày cuối cao  $90.346 \pm 7.089$ tb/ml không có sự khác biệt so với NT3 (50.000tb/ml) với mật độ tối đa là  $92.056 \pm 2.238$ tb/ml, khi tảo tàn mật độ cũng không giảm nhanh như NT3

Ngoài các yếu tố môi trường và hàm lượng dinh dưỡng ảnh hưởng trực tiếp lên sự phát triển của tảo thì mật độ bố trí tảo ban đầu cũng cần phải được chú ý khi tiến hành nuôi tảo với quy mô lớn. Vì vậy, để đạt được hiệu quả cao trong việc nuôi cấy tảo *Spirulina platensis* chọn mật độ nuôi cấy 30.000tb/ml là thích hợp nhất do có thể giảm được lượng tảo bố trí ban đầu cũng như hạn chế được sự phát triển của các loài tảo tạp và có thể tiết kiệm được chi phí sản xuất khi nuôi cấy ở qui mô lớn mà vẫn đạt được mật độ cao.

## 4.2. Thí nghiệm 2 : Ảnh hưởng của tỷ lệ thu sinh khối tảo lên sự phát triển của tảo *Spirulina platensis*.

### 4.2.1 Các yếu tố môi trường

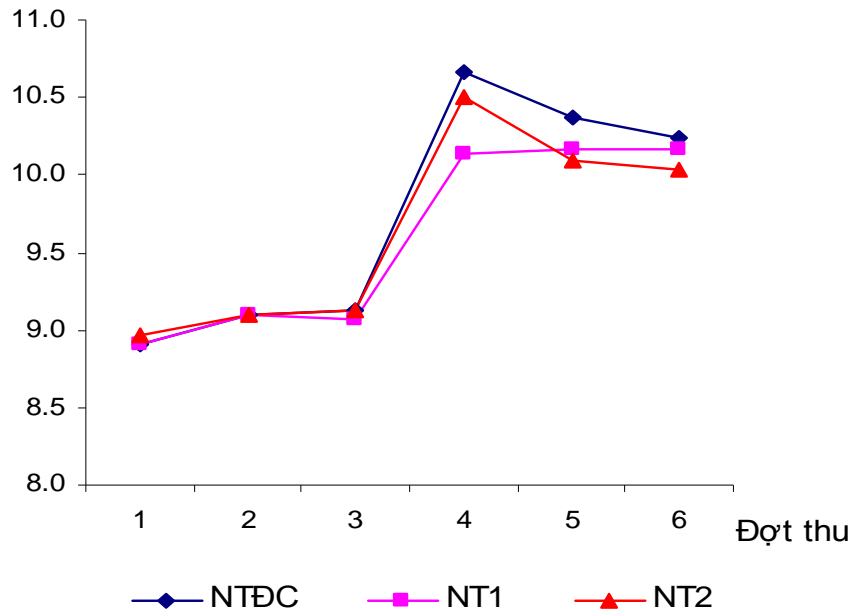
#### Nhiệt độ



Hình 4.2.1 Biến động nhiệt độ ở TN2

Hình 4.2.1, nhiệt độ không có sự biến động lớn giữa các nghiệm thức và dao động trong khoảng 28,5 – 32,5<sup>0</sup>C. Nhiệt độ trung bình ở các nghiệm thức lần lượt là  $30,0 \pm 0,4^0\text{C}$ ;  $30,1 \pm 0,3^0\text{C}$ ;  $30,5 \pm 0,4^0\text{C}$  tương ứng với NT đối chứng (NTĐC), NT1, NT2 và đạt cao nhất là 32,5<sup>0</sup>C trong khi nhiệt độ thấp nhất là 28,5<sup>0</sup>C; nguyên nhân làm nhiệt độ thấp ở đợt thu mẫu thứ nhất ( tương ứng với ngày đầu bố trí thí nghiệm) là do trong khi bố trí thí nghiệm trời không có nắng , tuy nhiên các đợt thu mẫu tiếp theo nhiệt độ vẫn ổn định và duy trì đến ngày kết thúc thí nghiệm. . Theo Richmond (1986) nhiệt độ thích hợp cho sự phát triển của tảo là 35 – 37<sup>0</sup>C do đó nhiệt độ đo được qua các nghiệm thức trong thí nghiệm 2 không nằm trong khoảng nhiệt độ tốt nhất cho sự phát triển của tảo. Điều này giải thích tại sao mật độ tảo tăng chậm vào những ngày đầu (nhiệt độ thấp) nhưng tăng nhanh vào các ngày gần cuối thí nghiệm (ngày 11, 12, 13 nhiệt độ tăng lên) nằm trong đợt thu mẫu thứ 5.

## pH

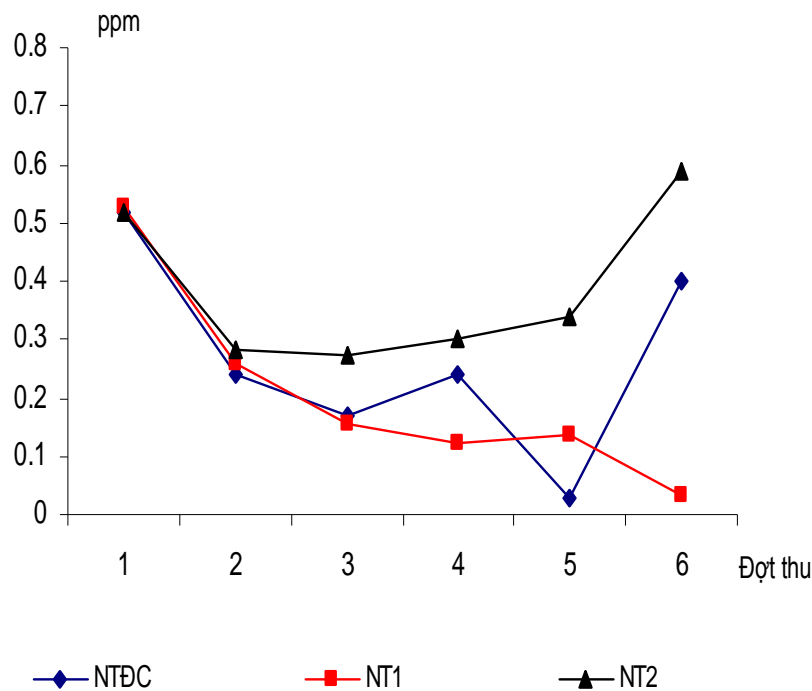


Hình 4.2.2 Biến động pH ở TN2

pH trung bình ở các nghiệm thức lần lượt là  $9,7 \pm 0,1$ ;  $9,6 \pm 0,0$ ;  $9,6 \pm 0,0$  tương ứng với NTĐC, NT1, NT2. Biến động pH ở các nghiệm thức sau 15 ngày thí nghiệm không có sự khác biệt nhau và nằm trong khoảng dao động từ 8,9 - 10,7. Theo Oh-Hama (1986), sự hấp thu  $\text{NO}_3^-$  của tảo sẽ dẫn đến pH tăng. Điều này thấy rõ khi pH ở các nghiệm thức luôn tăng trong suốt thời gian bố trí thí nghiệm nhưng sau đó giảm về cuối thí nghiệm (ngày 15) khi hàm lượng dinh dưỡng tăng lên do tảo tàn.

Cũng tương tự như nhiệt độ, pH đo được sau khi bố trí không cao. Tuy nhiên, sang đợt thu thứ 2 pH bắt đầu tăng lên và đạt cao nhất vào đợt thu thứ 4 (tương đương ngày thứ 10). Nguyên nhân là do ở đợt thu mẫu thứ 4 (ngày 7– 10) trời nắng gắt, nhiệt độ tăng lên làm quá trình quang hợp của tảo xảy ra mãnh liệt do đó làm tăng pH của nước ( Lê Văn Cát, 2006). Theo Zarrouk, 1966 *Spirulina platensis* phát triển tốt nhất ở pH 8,3 – 11) do đó pH đo được trong thí nghiệm này nằm trong khoảng thích hợp cho sự phát triển của tảo.

## TAN



Hình 4.2.3 Biến động TAN ở TN2

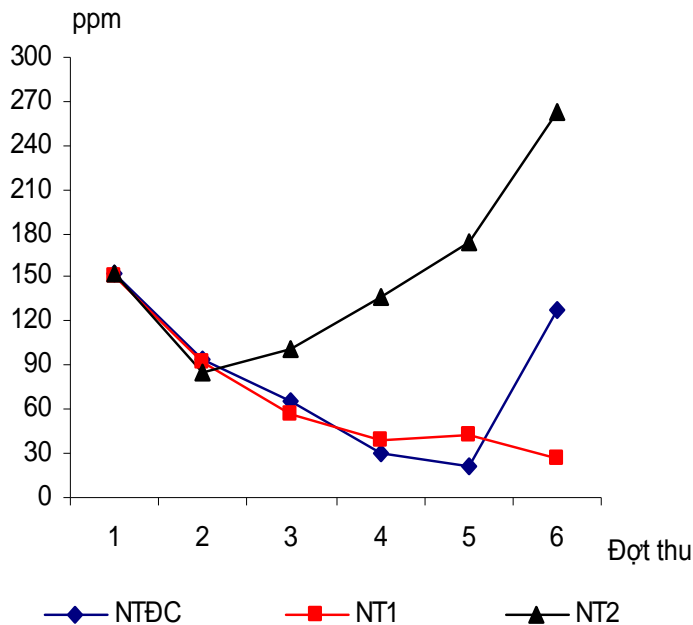
Hình 4.2.3 cho thấy hàm lượng TAN đều giảm ở tất cả các nghiệm thức từ đợt thu mẫu thứ 2 đến đợt thu mẫu thứ 4 và khác biệt không có ý nghĩa ( $p > 0,05$ ). TAN nằm ở mức dao động trong khoảng 0.006 - 0.762ppm và giá trị trung bình của các nghiệm thức lần lượt là  $0,266 \pm 0,065$ ppm;  $0,205 \pm 0,028$ ppm;  $0,383 \pm 0,084$ ppm tương ứng với NTĐC, NT1, NT2. Đối với NTĐC, TAN tăng ở đợt thu thứ 4 nhưng giảm ở đợt thu thứ 5 sau đó tăng ở đợt thu thứ 6 ứng với mật độ tảo giảm ở ngày thứ 10 và tăng vào ngày thứ 11 đến ngày thứ 12 nhưng giảm vào ngày thứ 15. Nguyên nhân là do ở các đợt thu này tảo phát triển nên hấp thu dinh dưỡng dẫn đến nồng độ TAN giảm ở đợt thu thứ 5, tuy nhiên ở đợt thu thứ 4 và 6 nồng độ TAN tăng là do tảo không phát triển nên tảo không hấp thu dinh dưỡng đồng thời quá trình phân hủy xác tảo khi tảo tàn cũng làm cho nồng độ TAN tăng cao.

Riêng NT1 và NT2, TAN có sự đối lập nhau. Ở NT1 nồng độ TAN giảm liên tục đến ngày kết thúc thí nghiệm (ngày 15) trong khi NT2 tăng liên tục. Do tảo *Spirulina platensis* hấp thu chủ yếu ở dạng đạm Nitrate (Richmond, 1986) do đó hàm lượng TAN không được sử dụng nhiều trong quá trình phát triển của tảo. TAN ở NT2 tăng là do tảo không phát triển, bên cạnh đó môi trường dinh dưỡng được bổ xung thêm hàng ngày cùng với lượng dinh dưỡng sinh ra do tảo tàn, quá trình phân hủy xác tảo đã làm cho hàm lượng TAN tăng cao. Trong khi đó ở NT2 tảo luôn phát triển, khi tảo phát triển sẽ hấp thu đạm dẫn đến TAN cũng



giảm theo. Mặc dù TAN không phải là yếu tố dinh dưỡng chính cho sự phát triển của tảo nhưng TAN và mật độ tảo lại có mối quan hệ mật thiết với nhau. TAN tăng khi mật độ tảo giảm và TAN giảm khi mật độ tảo tăng đối với tất cả các nghiệm thức.

$\text{NO}_3^-$

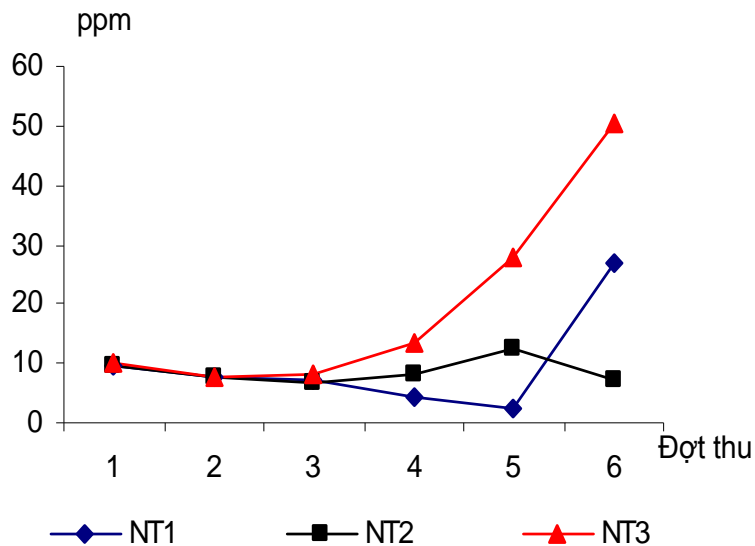


Hình 4.2.4 Biến động  $\text{NO}_3^-$  ở TN2

Do môi trường nuôi cấy có hàm lượng đạm chủ yếu là  $\text{NO}_3^-$ , vì vậy hàm lượng  $\text{NO}_3^-$  ở các nghiệm thức tương đối cao lúc bố trí thí nghiệm dao động trong khoảng 150,16 – 152,42ppm và giảm dần qua các đợt thu mẫu. Hàm lượng  $\text{NO}_3^-$  trung bình của các nghiệm thức trong thời gian thí nghiệm với các nồng độ lần lượt là  $81,75 \pm 8,73\text{ppm}$ ;  $67,93 \pm 4,63\text{ppm}$ ;  $152,17 \pm 12,29\text{ppm}$  tương ứng với NTĐC, NT1 và NT2. Hình 4.2.4 cho thấy  $\text{NO}_3^-$  giảm ở đợt thu mẫu thứ 2 đối với tất cả các nghiệm thức nhưng đến đợt thu mẫu thứ 3 thì ở NT2  $\text{NO}_3^-$  có xu hướng tăng đến đợt thu mẫu cuối. Trong khi đó NT1  $\text{NO}_3^-$  giảm liên tục đến đợt thu thứ 6 và NTĐC giảm đến đợt thu thứ 5 nhưng tăng dần ở đợt thu thứ 6. Khi tảo phát triển mạnh sẽ hấp thu nitrate làm giảm nhanh chóng hàm lượng nitrate trong môi trường nước. NT2 có hàm lượng  $\text{NO}_3^-$  tăng nhanh chóng từ đợt thu thứ 3 và đạt cao nhất ở đợt thu thứ 6 là 263,52ppm trong khi  $\text{NO}_3^-$  ở NTĐC là 127,39ppm.  $\text{NO}_3^-$  ở NT2 tăng cao là do tảo không phát triển, đồng thời dinh dưỡng được bổ sung vào sau khi thu hoạch đã làm cho môi trường bể nuôi tích trữ nhiều  $\text{NO}_3^-$ . NTĐC có hàm lượng  $\text{NO}_3^-$  giảm khi tảo phát triển ( tương ứng

với đợt thu thứ 2 – 5) nhưng tăng khi tảo tàn ( đợt 6). Do thu hoạch với tỷ lệ thích hợp nên mật độ tảo ở NT1 luôn tăng dẫn đến hàm lượng  $\text{NO}_3^-$  giảm đến đợt thu thứ 6 ( $26,75 \pm 9,58\text{ppm}$ ) tương ứng với ngày thứ 15 của thí nghiệm

### $\text{PO}_4^{3-}$

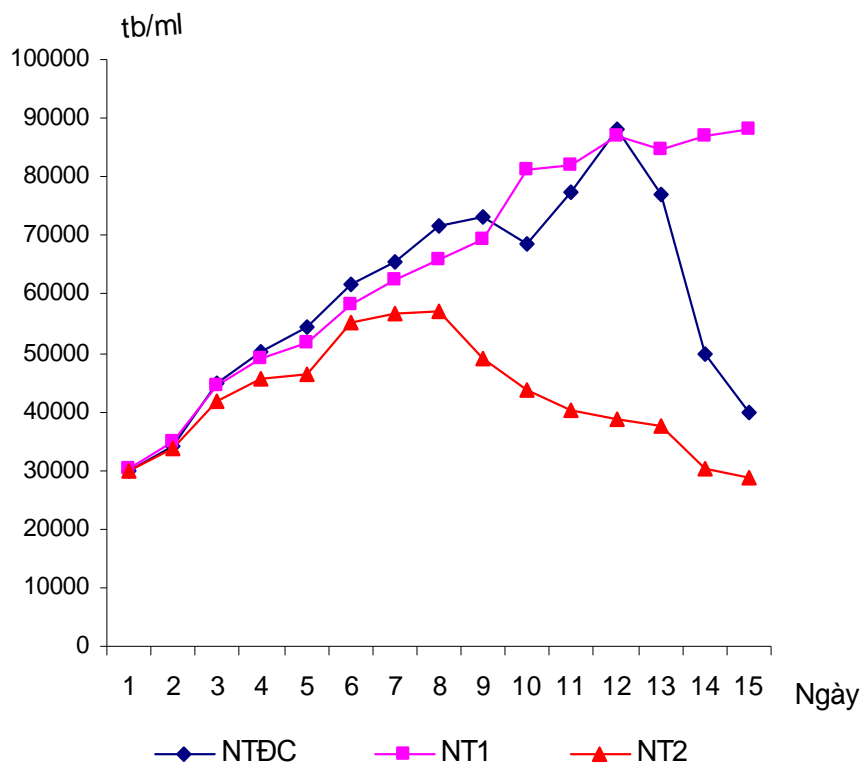


Hình 4.2.5 Biến động  $\text{PO}_4^{3-}$  ở TN2

Nồng độ  $\text{PO}_4^{3-}$  ở các nghiệm thức khá cao, biến động từ 1,17 – 53,86ppm và đạt giá trị trung bình ở các nghiệm thức lần lượt là  $9,69 \pm 0,98\text{ppm}$  (NTĐC);  $8,71 \pm 1,05\text{ppm}$  (NT1);  $19,62 \pm 1,64\text{ppm}$  (NT2). Theo thống kê cho thấy hàm lượng  $\text{PO}_4^{3-}$  ở ba nghiệm thức không có sự khác biệt ở đợt thu mẫu thứ nhất và thứ hai do lúc này tảo chưa thu hoạch, đồng thời nguồn dinh dưỡng cho vào ban đầu bằng nhau. Sự khác biệt giữa các nghiệm thức chỉ xảy ra sau khi tảo được thu hoạch ( tức ngày thứ 6 thuộc đợt thu mẫu thứ 3). Giữa NT1 (thu hoạch 25%/ngày) và NT2 (thu hoạch 30%/ngày) luôn có sự trái ngược nhau về nồng độ  $\text{PO}_4^{3-}$  sau khi thu hoạch. NT1 hàm lượng dinh dưỡng giảm dần qua các đợt thu do tảo phát triển mạnh trong suốt thời gian nuôi (sau 15 ngày nuôi tảo vẫn phát triển và chưa có dấu hiệu suy giảm) trong khi NT2 được thu hoạch với tỷ lệ cao hơn (30%/ngày) hàm lượng  $\text{PO}_4^{3-}$  tăng liên tục đến cuối thí nghiệm và đạt giá trị cao nhất là 53,86ppm tương ứng với mật độ giảm còn  $28.827 \pm 560$  tb/ml (ngày 15). Nguyên nhân làm  $\text{PO}_4^{3-}$  ở NT2 cao là do có sự tích trữ dinh dưỡng khi môi trường cho vào không được tảo hấp thu (tảo không phát triển). Riêng NTĐC  $\text{PO}_4^{3-}$  tuân theo quy luật giảm vào các đợt thu mẫu đầu tiên (do tảo hấp thu) và tăng ở các đợt thu cuối (do tảo tàn).

Phospho là chất dinh dưỡng quan trọng có ảnh hưởng lớn đến sự phát triển của tảo. Ở NTĐC hàm lượng này gần như giảm qua các đợt thu mẫu nhưng tăng vào đợt cuối khi mật độ tảo giảm ( Hình 4.2.4) . Trong khi đó ở hai nghiệm thức còn lại hàm lượng dinh dưỡng này được thêm vào sau khi thu hoạch để bù lượng dinh dưỡng mất đi làm cho lượng  $PO_4^{3-}$  luôn được duy trì trong suốt quá trình nuôi. Tuy nhiên, hàm lượng  $PO_4^{3-}$  sẽ bị biến động khi mật độ tảo có sự biến động tức là mật độ tảo tăng thì  $PO_4^{3-}$  giảm, ngược lại mật độ tảo giảm  $PO_4^{3-}$  tăng. Qua đồ thị biểu diễn  $PO_4^{3-}$  của các nghiệm thức ở các đợt thu cho thấy sự biến động của yếu tố dinh dưỡng này còn phụ thuộc vào tỷ lệ thu sinh khối tảo.

#### 4.2.2 Sự phát triển của quần thể tảo



Hình 4.2.6 Sự phát triển của quần thể tảo ở TN2

Hình 4.2.6 cho thấy mật độ ở các nghiệm thức đều phát triển theo pha tăng trưởng của tảo trong 6 ngày đầu. Từ ngày thứ 7 trở về sau mật độ tảo có sự khác biệt rõ rệt khi tiến hành thu hoạch với tỷ lệ thu khác nhau. Qua đó cũng cho thấy rằng tỷ lệ thu sinh khối cũng ảnh hưởng đến quá trình phát triển của tảo.

Mật độ tảo bố trí ban đầu cho tất cả các nghiệm thức là 30.000tb/ml. Khi tảo ở giai đoạn cuối pha tăng trưởng và đầu pha tăng trưởng chậm ( ngày thứ 6 ) thì tiến hành thu hoạch, mật độ tảo dao động khoảng 55.000 – 61.778tb/ml một phần

tảo sẽ được thu hoạch ( trong thí nghiệm này tỷ lệ thu hoạch là 25%/ngày và 30%/ngày) sau đó nước và môi trường dinh dưỡng sẽ được bù vào và quá trình nuôi lại tiếp tục.

Bảng 4.3.1 Mật độ tảo

*ĐV tính: tb/ml*

Ngày	NTĐC (Không thu hoạch tảo)	NT1 (Thu hoạch 25%/ngày)	NT2 (Thu hoạch 30%/ngày)
1	29.896 ± 404 <sup>a</sup>	30.370 ± 195 <sup>a</sup>	29.924 ± 142 <sup>a</sup>
2	34.043 ± 2261 <sup>a</sup>	34.043 ± 936 <sup>a</sup>	33.528 ± 1.492 <sup>a</sup>
3	44.860 ± 4088 <sup>a</sup>	44.555 ± 2.403 <sup>a</sup>	41.883 ± 3.190 <sup>a</sup>
4	50.139 ± 1359 <sup>a</sup>	48.889 ± 1.565 <sup>a</sup>	45.750 ± 1.065 <sup>a</sup>
5	54.447 ± 3837 <sup>a</sup>	51.778 ± 1.924 <sup>a</sup>	46.185 ± 4.160 <sup>a</sup>
6	61.777 ± 7134 <sup>a</sup>	58.222 ± 2.037 <sup>a</sup>	55.000 ± 3.272 <sup>a</sup>
7	65.611 ± 5039 <sup>b</sup>	62.642 ± 1.026 <sup>ab</sup>	56.558 ± 774 <sup>a</sup>
8	71.778 ± 8643 <sup>c</sup>	65.976 ± 6.042 <sup>b</sup>	57.058 ± 4.005 <sup>a</sup>
9	73.259 ± 6851 <sup>b</sup>	69.370 ± 5.787 <sup>b</sup>	49.000 ± 3.968 <sup>a</sup>
10	68.704 ± 5835 <sup>b</sup>	81.037 ± 6.246 <sup>b</sup>	43.646 ± 7.508 <sup>a</sup>
11	77.296 ± 4.182 <sup>b</sup>	81.840 ± 3.280 <sup>b</sup>	40.323 ± 3.328 <sup>a</sup>
12	88.107 ± 3.389 <sup>b</sup>	87.150 ± 1.602 <sup>b</sup>	38.709 ± 3.944 <sup>a</sup>
13	77.148 ± 3.727 <sup>b</sup>	74.741 ± 4.446 <sup>b</sup>	37.667 ± 2.986 <sup>a</sup>
14	49.984 ± 8.495 <sup>b</sup>	87.099 ± 2.081 <sup>c</sup>	30.145 ± 7.032 <sup>a</sup>
15	40.037 ± 14.021 <sup>b</sup>	90.072 ± 2.748 <sup>c</sup>	28.827 ± 5.600 <sup>a</sup>

*Ghi chú :Các trị số trên nằm cùng một hàng với kí tự giống nhau để chỉ không có sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê.  $p > 0,05$  .Kí tự khác nhau chỉ sự khác biệt có ý nghĩa ở mức  $p < 0,05$ .*

Bảng 4.3.2 Năng suất thu hoạch

*ĐV tính: tb/ml*

Ngày	NT1 (Thu hoạch 25%/ngày)	NT2 (Thu hoạch 30%/ngày)
7	15.661	16.967
8	16.494	17.117
9	17.343	17.117
10	20.259	13.094
11	20.460	12.097
12	21.787	11.613
13	21.185	11.303
14	21.775	9.044
15	22.018	8.648

Bảng 4.3.1 và bảng 4.3.2 cho thấy, mật độ tảo ở ba nghiệm thức không có sự biến động lớn ở các ngày đầu (ngày 2 – 6), trong các ngày này tảo vẫn phát triển theo pha tăng trưởng và không xảy ra sự khác biệt. Ngày thứ 7 ( sau khi tiến hành thu hoạch và cho thêm môi trường dinh dưỡng mật độ tảo ở NTĐC và NT2 có sự khác biệt ở mức  $p < 0,05$  nhưng không khác biệt với NT1. Năng suất thu hoạch có chiều hướng tăng ở NT1 và giảm ở NT2. NT thu hoạch 30% (NT2) tảo phát triển chậm hơn hai nghiệm thức còn lại và khác biệt có ý nghĩa  $p < 0,05$  so

với NTĐC và NT1. Trung bình mật độ tảo trước và sau khi thu hoạch tương ứng với ngày thứ 6 và 7 là  $61.777 \pm 7134\text{tb/ml}$  (NTĐC),  $58.222 \pm 2.037\text{tb/ml}$  (NT1),  $55.000 \pm 3.272\text{tb/ml}$  (NT2) thuộc ngày thứ 6 trong khi ngày thứ 7 là  $65.611 \pm 5039\text{tb/ml}$  (NTĐC),  $62.642 \pm 1.026\text{tb/ml}$  (NT1) và  $56.558 \pm 774\text{tb/ml}$  (NT2). Từ kết quả trên cho thấy, mặc dù tảo được thu hoạch nhưng ở NT1 tảo vẫn phát triển bình thường trong khi NT2 mật độ tảo lại có xu hướng giảm. Điều này cho thấy ở NT2 trong đợt thu hoạch đầu tiên do thu hoạch một lượng tảo lớn (30%/ngày) nên tảo phát triển chậm hơn so với NT1 thu hoạch 25%/ngày. Theo Lê Văn Cát (2006) Spirulina là loại vi tảo có kích thước lớn nên tốc độ phát triển, khả năng hấp thu dinh dưỡng và ánh sáng thấp hơn các loài tảo có kích thước nhỏ, điều này cũng được khẳng định bởi Hoogenhoat và Ames (1965); Reynolds (1984) tốc độ phát triển của tảo lam luôn kém hơn các nhóm tảo khác. Ở nhiệt độ  $20^{\circ}\text{C}$ , ánh sáng bão hòa, trong một ngày phần lớn tảo lam có hệ số phân đôi từ 0,3 – 1,4; trong khi đó ở tảo khuê là 0,8 - 1,9 và ở tảo lục đơn bào là 1.3 – 2,3. Điều này giải thích tại sao khi thu hoạch tảo với tỷ lệ thu cao thì sự phát triển của tảo sẽ thấp hơn so với thu hoạch với tỷ lệ thấp. Ngày thứ 8 mật độ tảo ở các nghiệm thức tiếp tục tăng nhưng cao nhất vẫn là NTĐC ( $71.778 \pm 8643\text{ tb/ml}$ ) tăng  $6.167\text{ tb/ml}$ ; NT1 ( $65.976 \pm 6.042\text{ tb/ml}$ ) tăng  $3.334\text{ tb/ml}$  trong khi NT2 ( $57.058 \pm 4.005\text{ tb/ml}$ ) tăng  $500\text{ tb/ml}$  và cả ba nghiệm thức này đều khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức  $p < 0,05$ . Kết quả trên cho thấy ở ngày thứ 8 NTĐC có tỷ lệ phát triển cao hơn hai nghiệm thức thu hoạch còn lại.

Ở ngày thứ 9, NTĐC và NT1 không có sự khác biệt, tảo vẫn phát triển bình thường. Tuy nhiên, ngược lại với NT1 (thu hoạch 25%/ngày), NT2 (thu hoạch 30%/ngày) tảo bắt đầu giảm mật độ từ  $57.058 \pm 4.005\text{ tb/ml}$  xuống còn  $49.000 \pm 3.968\text{ t/ml}$  tương ứng với số lượng tảo giảm là  $8.058\text{ tb/ml}$

Ở ngày thứ 10, mật độ tảo ở NT2 vẫn tiếp tục giảm, đến cuối thí nghiệm mật độ tảo giảm chỉ còn  $28.827 \pm 5.600\text{ tb/ml}$ . Theo Trần Thị Thanh Hiền và ctv (2000) khi nuôi tảo theo mô hình nuôi bán liên tục (tức là thu hoạch một phần khi tảo đạt mật độ cao) thì tảo rất dễ bị nhiễm tạp, khó chủ động và tảo có thể tàn bất thường đây cũng là nguyên nhân làm cho mật độ tảo ở TN2 giảm.

NT1 (thu hoạch 25%/ngày) tảo vẫn phát triển và không có sự khác biệt so với NTĐC ở ngày thứ 9, 10, 11, 12, 13 nhưng cao hơn có ý nghĩa ( $p < 0,05$ ) ở ngày thứ 14 và 15. NTĐC tảo đạt giá trị cực đại ở ngày thứ 12 ( $88.107 \pm 3.389\text{ tb/ml}$ ) trong khi NT1 đạt giá trị cực đại ở ngày thứ 15 ( $90.072 \pm 2.748\text{ tb/ml}$ ).

Mật độ tảo ở NTĐC giảm vào ngày 13 đến ngày kết thúc thí nghiệm (ngày 15) do các ngày cuối tảo sử dụng hết chất dinh dưỡng làm tảo không còn chất dinh

dưỡng để phát triển và bắt đầu suy tàn ( thấy rõ khi hàm lượng TAN,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$  tăng ở đợt thu mẫu thứ 6 ứng với ngày thứ 15 của thí nghiệm).

Ở NT1 (thu hoạch 25%/ngày) mật độ tảo luôn tăng trong khi NTĐC mật độ tảo tăng đến ngày thứ 12 sau đó liên tục giảm vào các ngày tiếp theo ( ngày 13, 14, 15). Đối với NT2 mật độ tảo giảm liên tục sau khi thu hoạch, đến ngày thứ 15 mật độ tảo giảm thấp hơn mật độ bố trí ban đầu ( chỉ còn  $28.827 \pm 5.600\text{tb/ml}$  ). Từ kết quả này cho thấy tỷ lệ thu sinh khối thích hợp nhất là 25%/ngày. Với tỷ lệ thu này mật độ tảo vẫn duy trì ổn định và cao hơn mật độ bố trí ban trong suốt thời gian thí nghiệm, từ đó có thể kéo dài được thời gian nuôi.

Qua kết quả thu được từ hai thí nghiệm trên có thể xác định được mật độ tảo bố trí và tỷ lệ thu sinh khối thích hợp cho sự phát triển của tảo là  $30.000\text{tb/ml}$  đối với mật độ và thu hoạch 25%/ngày đối với tỷ lệ thu sinh khối.

## Phần 5

# KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT

### Kết luận

Nghiên cứu về ảnh hưởng của mật độ tảo và tỷ lệ thu sinh khối lên sự phát triển của tảo *Spirulina platensis* trong điều kiện thí nghiệm đã rút ra được một số kết luận sau đây :

- Có thể nuôi tảo ở 3 mật độ khác nhau là 10.000tb/ml, 30.000tb/ml và 50.000tb/ml. Ở mật độ 30.000tb/ml cho kết quả tốt nhất tảo với mật độ cao nhất là  $90.346 \pm 7.089$  tb/ml sau 15 ngày nuôi.
- Khi nuôi tảo có thể tiến hành thu hoạch từng phần để kéo dài thời gian nuôi. Thu hoạch 25%/ngày là tỷ lệ thu hoạch tốt nhất trong ba nghiệm được thực hiện.

### Đề xuất

- Sử dụng chất thải hầm ủ Biogas của bèo lục bình và phân heo với liều lượng khác nhau để nuôi cấy tảo *Spirulina platensis*.
- Thử nghiệm nuôi sinh khối tảo với mật độ và tỷ lệ thu sinh khối như trên bằng chất thải hầm ủ Biogas của bèo lục bình và phân heo.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đặng Đình Kim, 1999. Công nghệ sinh học vi tảo. Nhà xuất bản nông nghiệp.
2. Lê Văn Cát, Đỗ Thị Hồng Nhung, Ngô Ngọc Cát, 2006. Nước nuôi thủy sản chất lượng và giải pháp cải thiện chất lượng nước. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật.
3. Nguyễn Phúc Hậu, 2008. Ảnh hưởng của nhiệt độ, pH và chế độ dinh dưỡng lên sự phát triển của tảo *Spirulina platensis*. Luận văn tốt nghiệp đại học.
4. Trần Sương Ngọc, 2003. Bước đầu tìm hiểu khả năng thu sinh khối tảo (*Chlorella sp*), luân trùng (*Brachionus plicatilis*) trong hệ thống nuôi kết hợp luân trùng, tảo và cá rô phi. Luận văn cao học.
5. Trần Văn Vỹ, 1995. Thức ăn tự nhiên của cá. Nhà xuất bản Nông nghiệp. Tái bản lần thứ nhất.
6. Trương Quốc Phú, 2003&2004. Bài giảng quản lý chất lượng nước trong ao nuôi. Khoa Thủy Sản-ĐHCT.
7. Trương Sỹ Kỳ, 2004. Kỹ thuật nuôi một số loài sinh vật làm thức ăn cho ấu trùng thủy sản. Nhà xuất bản Nông nghiệp.
8. Trần Thị Thủy, 2008. Ảnh hưởng của nhiệt độ, pH và chế độ dinh dưỡng lên sự phát triển của tảo *Chlorella*. Luận văn tốt nghiệp đại học.
9. Trần Ngọc Hải, Trần Thị Thanh Hiền, Nguyễn Văn Hòa, Trần Sương Ngọc, Nguyễn Thị Thanh Thảo, 2000. Giáo trình Kỹ thuật nuôi thức ăn tự nhiên.
10. Chenliang Yang, Ming Li, Chengying Yu, Gurevich Yu, Hong Liu. Consumption of nitrogen and phosphorus in humanurine by *Spirulina platensis*, 2008-Vol.10,No.1pp.45-54.
11. Graham L.E., L.W.Wilcox (2000), *Algae*, Prentice Hall, Upper Saddle River, NJ 07458.
12. Mostert E.S., J.U. Grobbelaar (1987), “ The influence of nitrogen and phosphorus on algal growth and quality I outdoor mass algae culture”, *Biomass* 13(4), pp: 219-233, Abs in English.
13. Oh-Hama.T and S.Miyachi, 1986, “ Chlorell ”, *Micro-algal Biotechnology*, Michael A.Borowitzka and Lesley J. Borowitzka (Eds), Cambridge university press, pp. 3-26.
14. Payer H.D.; Y. Chiemvichak, K. Hosakul, C. Kong-Panichkul, L. Kraidej; M. Nguitragul, S. Reungmanipytoon and P. Bủi (1980), “Temperature as an



important Borowitzka climactic factor during mass production of microscopic algae”, Algae biomass. G. Shelef and C.J. Soeder (Eds). Elsevier/North-Holland Biomedical press, New York, pp:389-399.

15. Reynolds, C.S. 1997. Vegetation Process in the Peralic: A Model for Ecosystem Theory. Excellence in Ecology, Ecology Institute. Oldendorf Lütich, 31pp.

16. Richmond, A. & Becker, W, (1986). Technological aspects of mass cultivation - a general outline. In Algae Mass culture. Ed. A. Richmond, pp.245-263. Boca Raton: CRC Press.

17. Zarrouk, C. (1966). Influence de divers facteurs physiques et chimiques sur la croissance et la photosynthèse de *Spirulina maxima* (setch. Et Gardner) Geitler. Ph. D. Thesis, University of Paris, France.

Website : <http://www.mekongfish.net.vn> truy cập ngày 21/4/2009.

<http://vi.wikipedia.org> truy cập ngày 12/6/2009.

<http://www.sokhcn.gov.vn> truy cập 21/4/2009.

