

**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC NÔNG LÂM TP.HCM
BỘ MÔN CÔNG NGHỆ SINH HỌC**

*****000*****



ĐỖ THỊ THANH HƯƠNG

**KHẢO NGHIỆM MỘT SỐ PHƯƠNG PHÁP
TĂNG SINH KHỐI GIỐNG TẢO *SPIRULINA PLATENSIS***

Luận văn kỹ sư

Chuyên ngành: Công nghệ sinh học

Thành phố Hồ Chí Minh

Tháng 9/2006

**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC NÔNG LÂM TP.HCM
BỘ MÔN CÔNG NGHỆ SINH HỌC
000**

**KHẢO NGHIỆM MỘT SỐ PHƯƠNG PHÁP
TĂNG SINH KHỐI GIỐNG TẢO *SPIRULINA PLATENSIS***

**Luận văn kỹ sư
Chuyên ngành: Công nghệ sinh học**

**Giáo viên hướng dẫn:
PGS. TS. TRẦN THỊ DÂN
KS. NGUYỄN VĂN ÚT**

**Sinh viên thực hiện:
Tên: BÙI THỊ NGỌC BÍCH
Khóa: 2002 – 2006**

Thành phố Hồ Chí Minh

Tháng 9/2006

**MINISTRY OF EDUCATION AND TRAINING
NONG LAM UNIVERSITY, HCMC
DEPARTMENT OF BIOTECHNOLOGY
000**

**TRYING SOME METHODS FOR INCREASING WEIGHT OF
SPIRULINA PLATENSIS IN THE LABORATORY**

**Graduation thesis
Major: Biotechnology**

**Professor:
Ms.LE THI PHUONG HONG**

**Student:
DO THI THANH HUONG
Term: 2002 – 2006**

**HCMC
9/2006**

PHẦN I : MỞ ĐẦU

1.1 Đặt vấn đề

Ngày nay, với sự bùng nổ của cuộc cách mạng khoa học kỹ thuật, việc tìm ra nguồn nguyên liệu vừa rẻ tiền mà chất lượng không còn là trở ngại lớn nữa. Cũng như vậy, thực phẩm dành cho người dân được thay thế bởi thực phẩm chức năng. Có thể nói trong những năm gần đây, việc nghiên cứu tìm và khai thác các loại nguyên liệu nâng cao giá trị dinh dưỡng bổ sung vào thực phẩm ngày càng được quan tâm nhiều hơn. *Spirulina platensis* cũng là một trong những môi quan tâm đó. Người ta nghiên cứu về *Spirulina platensis* rất nhiều, không những vì chúng có giá trị dinh dưỡng cao mà còn bởi chúng có nhiều tác dụng trong cả y lẫn sinh học.

Theo Prescott, Gorrunov và cộng sự (1969) cho rằng, trong tương lai y dược và những sự tìm kiếm trong y dược, bao gồm cả việc nghiên cứu và thí nghiệm các tảo có thể kể ra như việc tìm kiếm thuốc chữa ung thư, dị ứng, tảo tiết chất kháng sinh có thể thay thế cho Penixilin. Trong tương lai sẽ có môn chữa bệnh dùng tảo (Algothierapia hay Phycotherapia) (trích dẫn bởi Nguyễn Văn Tuyên, 2003).

Việc tăng sinh khối tảo mà vẫn giữ được chất lượng tốt qui mô phòng thí nghiệm sẽ là hướng mở áp dụng cho qui mô sản xuất công nghiệp, đồng thời có thể xác định được ảnh hưởng của các thành phần dinh dưỡng cho sự phát triển tốt hơn của tảo.

Xuất phát từ những yêu cầu đó, chúng tôi thực hiện đề tài :” Khảo sát một số phương pháp tăng sinh khối giống tảo *Spirulina platensis* qui mô phòng thí nghiệm”.

1.2 Mục đích nghiên cứu

Sử dụng một số phương pháp khác nhau nhằm tăng sinh khối tảo mà vẫn giữ được chất lượng tốt. Từ đó, tìm ra phương pháp tốt nhất để có thể ứng dụng qui mô sản xuất công nghiệp.

Thay đổi tỷ lệ các thành phần trong môi trường nuôi cấy, khảo sát ảnh hưởng của nồng độ các thành phần đó tới sự tăng sinh tảo.

Lựa chọn phương pháp thích hợp nhất cho khả năng thu hoạch tảo cao.

Mô tả nguyên tắc cấu tạo và nguyên lý hoạt động của máy khuấy từ việc thiết kế máy khuấy tạo dung tích nhỏ.

1.3 Yêu cầu

- Khảo sát ảnh hưởng của một số thành phần môi trường nuôi cấy.
- Khảo sát được ảnh hưởng của điều kiện nuôi cấy tới việc tăng sinh tạo.
- Khảo sát phương pháp thu hoạch tạo.
- Khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ nuôi cấy ban đầu tới việc thu hoạch tạo.
- Đề xuất đưa ra mô hình máy khuấy tạo dung tích nhỏ.

PHẦN II : TỔNG QUAN TÀI LIỆU

2.1 Tảo *Spirulina platensis*

2.1.1 Lịch sử phát triển và các công trình gây nuôi tảo *Spirulina* trong và ngoài nước

Con người từ xưa đã dùng rong tảo làm thực phẩm, như người Trung hoa biết ăn tảo biển từ 600 năm trước công nguyên. Tương tự người dân ở các quần đảo thuộc Nam Thái Bình Dương và ở Nhật Bản đã dùng nhiều giống tảo làm thực phẩm, như *Porphyra*, *Ulva*, *Alaria* v.v... Có lẽ đó là những dân tộc sử dụng rong tảo sớm nhất trên thế giới này, họ thu hái rong tảo tự nhiên và dùng làm rau ăn hay nguồn thực phẩm bổ dưỡng.

Với tảo *Spirulina* được coi như của trời phú cho 2 sắc dân, Aztec – Mexico (Châu Mỹ) và Kanembu, một bộ tộc thuộc Tchad (Châu Phi). Từ thời cổ xưa, 2 bộ tộc trên đã biết thu giống rong sống tự nhiên này sống trong các hồ nước khoáng giàu kiềm để chế biến thức ăn rất bổ dưỡng như : bánh bao, nước chấm, nấu canh soup. Trong giới khoa học, có lẽ tảo này được mô tả và đặt tên là *Spirulina* do hình dạng xoắn lò so lần đầu tiên năm 1827. Việc phát hiện và phát triển tảo ra khắp thế giới gắn liền với lịch sử tìm ra Tân Thế Giới – Châu Mỹ của Christophe Colomb, năm 1492. Tiếp theo sự kiện này, các bài viết về các loại thức ăn từ *Spirulina* của người Aztec, như món bánh Techuilatl được truyền bá ở Châu Âu. (Lê Đình Lãng, 1999).

Năm 1931, Rich tham quan các hồ trong thung lũng Rift ở vùng Đông Châu Phi nhận xét thấy môi trường sinh thái của hồng hạc với thức ăn tự nhiên là tảo.

Năm 1940, Dangeard nhận ra rằng các bánh tảo xanh dùng làm nước chấm hằng ngày của dân các hồ cạnh vùng Chad với thức ăn của hồng hạc ở thung lũng Rift là một, đó chính là tảo *Spirulina*.

Năm 1960, ông Duran – Chastel gặp khó khăn trong việc sản xuất Soude của công ty Sosa Texcoco, ngẫu nhiên phát hiện ra một loại vi sinh vật làm chậm cơ chế kết tinh của muối carbonate trong các bể bốc hơi, đó chính là tảo *Spirulina*. (Nguyễn Thanh Bích Ngọc, Nguyễn Hồng Hạnh, 1997).

Tuy vậy, mãi đến năm 1960 khi Leonard & Comperé người Bỉ phân tích công bố giá trị dinh dưỡng của bánh Dihe, thức ăn của người Kanembu làm từ Spirulina chứa hàm lượng protein rất cao, thì giới khoa học mới quan tâm nhiều hơn.

Năm 1963, giáo sư Clement thuộc Viện nghiên cứu dầu hỏa quốc gia Pháp là người đầu tiên nghiên cứu thành công việc nuôi tảo Spirulina qui mô công nghiệp. Theo nghiên cứu này, giống tảo Spirulina từ Tchad được sử dụng trong nuôi cấy với ý định dùng CO₂ rất dồi dào tại các mỏ khai thác dầu hoả. Vậy người Pháp đã đi tiên phong trong việc nuôi nhân tạo Spirulina và thương mại hoá sản phẩm này. Đặc biệt năm 1967, những người tiên phong đó lại có dịp triển khai những nghiên cứu của mình, do báo cáo của Clement được trình bày tại Hội nghị quốc tế về dầu hỏa tại Mexico được công ty Sosa Texcoco thích thú. Liên doanh sản xuất công nghiệp tảo Spirulina sử dụng nguồn nước khoáng bicarbonat giữa Viện nghiên cứu dầu hỏa Pháp và công ty Sosa Texcoco được thành lập. Từ đó đến nay, liên doanh này luôn dẫn đầu thế giới về lượng tảo Spirulina ở quy mô công nghiệp. Kỹ nghệ nuôi trồng Spirulina và một số vi tảo khác (*Chlorella*, Klamath,...) hoặc nấm sợi đã trở thành một lĩnh vực được đầu tư phát triển trong công nghệ sinh học để tạo sinh khối protein.

Thực ra, Spirulina không phải là thứ tảo được nghiên cứu đầu tiên, mà là tảo *Chlorella*. Như tại Hoa Kỳ, những năm 1948 – 1952 nhiều nghiên cứu nuôi tảo *Chlorella* được triển khai. Đến năm 1970, giá trị của tảo Spirulina được công nhận, với ưu thế nhiều mặt, thì sự phát triển nuôi trồng ở quy mô công nghiệp giống tảo này nở rộ ở nhiều quốc gia.

Tại Nhật Bản, được sự hỗ trợ kỹ thuật từ Hoa Kỳ tiến sỹ Nakamura tiến hành những nghiên cứu sớm nhất vào năm 1968, với giống tảo mẹ từ Tchad. Phương pháp nuôi trồng công nghiệp Spirulina của ông được triển khai ở vài vùng của Nhật Bản, Thái Lan và Hàn Quốc. Với đầu tư của nhiều công ty kinh doanh, các dự án này đã phát triển thành những xí nghiệp chuyên sản xuất tảo Spirulina.

Tại Ấn Độ, nghiên cứu nuôi các giống tảo cũng được triển khai từ những năm 1960, đặc biệt mô hình nuôi Spirulina ở quy mô cộng đồng nhỏ (làng, xã), do Ripley D. Fox khởi xướng phát triển khá tốt ở một số vùng như Karla Schechardy. R.D. fox, người

Pháp dày công nghiên cứu suốt 15 năm (1968 – 1983), và đã xây dựng được một phòng thí nghiệm nghiên cứu Spirulina ở Pháp. Đồng thời sáng tạo được mô hình nuôi tảo Spirulina, cung cấp tại chỗ cho việc phòng chống dinh dưỡng trẻ em. Mô hình này được nhiều nước nghèo, đang phát triển nghiên cứu áp dụng như Peru, Togô... và Việt Nam.

Ngoài các nước nêu trên, tảo Spirulina còn được phát triển ở nhiều quốc gia và vùng lãnh thổ Trung Quốc, Singapore, Đài Loan, Bulgarie, Ukraina, Hà Lan, Italia, Tây Ban Nha, Czech, Nam Phi, Chi Lê, Isarel, Maroc, Iran, Cuba, Hồng Kông, v.v...

Ở nước ta, tảo Spirulina được di thực nhập giống lưu giữ tại Viện Pasteur Paris Cộng Hoà Pháp, về nghiên cứu từ năm 1972 ở Viện Sinh Vật (Viện Khoa Học Việt Nam). Nghiên cứu quy trình kỹ thuật nuôi trồng do Viện này chủ trì, cùng với sự tham gia nghiên cứu về hoá học và giá trị dinh dưỡng trị bệnh của Viện y học quân sự, về tác dụng lâm sàng của Viện quân y 108 Hà Nội. Đề tài này ở mức độ phòng thí nghiệm, đã cho một kết quả tiên lượng tốt về khả năng nuôi trồng này ở nước ta theo mô hình ngoài trời, không mái che, có sục khí carbonic (CO_2), đồng thời khẳng định giá trị dinh dưỡng và chữa bệnh của Spirulina, mở hướng tiên phong cho các nghiên cứu về Spirulina.

Tới năm 1977, Viện sinh vật – nơi tiên phong của kỹ nghệ tảo Spirulina ở Việt Nam, lại triển khai kết quả trên ở mức độ lớn hơn, khi đề tài này được sự đầu tư của nhà nước và các bộ có liên quan, và đặc biệt nơi đón nhận đó là xí nghiệp nước suối Vĩnh Hảo (Bình Thuận).

Tại đây đã sử dụng nguồn nước suối khoáng giàu bicarbonat, natricarbonat thiên nhiên, một lợi thế của địa phương. Ngoài ra, còn sử dụng năng lượng sức gió để vận hành hệ thống máy khuấy trộn môi trường nuôi tảo. Tham gia nghiên cứu có trường Đại học Bách Khoa Hà Nội (chế tạo các thiết bị nuôi tảo), Viện y học quân sự, xí nghiệp dược phẩm TW 24 – Mekophar (bào chế các dược phẩm), bệnh viện Thống Nhất TP.HCM, bệnh viện phụ sản Từ Dũ TP.HCM (nghiên cứu lâm sàng các dạng thuốc...). Ngoài ra một số nghiên cứu khác về ứng dụng của Spirulina trong chăn nuôi gia cầm và thủy sản, tầm tảo cũng được triển khai tại trường Đại học tổng hợp Hà Nội, Ủy ban khoa học kỹ thuật nhà nước và Sở nông nghiệp Hà Nội, Hà Bắc, Thái Bình, Lâm Đồng, TP.HCM...

Nhóm tác giả trên do cố giáo sư Nguyễn Hữu Thước (Ủy ban khoa học kỹ thuật nhà nước) và các cộng sự Trần Văn Tựa, Phan Phương Lan, Đặng Đình Kim (Viện sinh vật) còn nghiên cứu sử dụng nguồn dinh dưỡng khác để nuôi tảo như nước thải ươm tơ tằm tại Đan Hoài (Hà Tây), Bảo Lộc (Lâm Đồng), nước suối khoáng Đắcmin (Buôn Ma Thuột). Như vậy với đề tài cấp nhà nước (Mã số 48.01.02.03) tổng kết tháng 4 năm 1986, đã đánh dấu bước tiến bộ đưa kết quả nghiên cứu từ phòng thí nghiệm ra ứng dụng ở quy mô công nghiệp, hứa hẹn nhiều triển vọng của giống tảo quý này ở nước ta.

Tại thành phố Hồ Chí Minh nhiều nghiên cứu về Spirulina cũng được tiến hành tại :

+ Sở y tế TP.HCM, từ năm 1985 đã tiếp nhận giống tảo Spirulina đầu tiên do ông bà R.D. Fox tặng thành phố, và giao cho Trạm nghiên cứu dược liệu giữ giống, nghiên cứu nuôi trồng. Các nghiên cứu sau đó được học tập, triển khai theo mô hình sử dụng Biogas và bổ sung hoá chất. Hiện Trung tâm dinh dưỡng trẻ em đang sản xuất ở diện tích khoảng 170 m² theo phương pháp hoá chất.

+ Viện sinh học nhiệt đới TP.HCM (thuộc Trung tâm Khoa học tự nhiên và Công nghệ quốc gia), từ năm 1989 đã triển khai nghiên cứu kỹ thuật với sự hỗ trợ của Cộng hoà Pháp. Các nghiên cứu này ở mức độ phòng thí nghiệm, với các khảo cứu nuôi tảo theo mô hình biogas từ Ấn Độ..., và nuôi bằng hoá chất, nhằm tìm một quy trình thích hợp có thể ứng dụng vào thực tế. Đặc biệt các nghiên cứu còn tìm quy trình chiết xuất một số hoạt chất sinh học từ Spirulina ứng dụng trong sinh hoá, y dược... Có lẽ trong tương lai đề tài này sẽ được ứng dụng trong một dự án lớn về công nghệ sinh học của Viện.

+ Cơ sở nuôi trồng và phát triển sản phẩm tảo Spirulina (tên giao dịch Labo. HELVINAM), tại huyện Bình Chánh TP.HCM, được thành lập năm 1994. Dưới sự khuyến khích của Sở y tế Tp.HCM, Ủy ban nhân dân huyện Bình Chánh và sự nhiệt tình của nhóm cán bộ nghiên cứu và một số nhà hảo tâm, cơ sở này bước đầu đã thành công. Quy trình liên hoàn nuôi trồng và sản xuất, sử dụng một số chế phẩm tảo Spirulina trong dinh dưỡng và làm thuốc phòng, chữa bệnh được thiết lập. Quy mô trong tương lai có

thể là một trong những xí nghiệp chuyên sản xuất tảo lớn ở Việt Nam, với hồ nuôi tảo kiểu nhà kính trên 2000 m² hiện có và khả năng mở rộng.

Ngoài ra, còn nhiều nhóm nghiên cứu những vấn đề khác nhau của *Spirulina* ở các trường Đại học, các trung tâm nghiên cứu, các hộ gia đình,...trong nước.

2.2.1 Phân loại

Spirulina tên gọi của vi sinh vật này do nhà tảo học người Đức Deurben đặt năm 1927, trên cơ sở hình thái đặc trưng nhất là dạng sợi xoắn (*spiralis*).

Sau này các chuyên gia phân loại học thống nhất tên khoa học đầy đủ :

Ngành : Cyanophyta

Lớp : Oscillatoriales

Họ : Oscillatoriaceae

Chi : *Spirulina*

Loài : *Spirulina platensis*

Vì có cấu tạo và chức năng khác các loài thông thường nên *Spirulina* còn có tên là vi khuẩn lam hay phiêu sinh thực vật.

2.2.2 Phân bố

Trước hết các vùng nước kiềm (pH 8-11) có thể có *Spirulina* sống tự nhiên, nhất là các hồ, suối khoáng, ấm áp. Về địa lý tảo này được tìm thấy ở phạm vi rất rộng : Châu Phi (Tchad, Congo, Ethiopia, Kenya, Nam Phi, Ai Cập, Tanzania, Zambia), Châu Mỹ (Hoa kỳ, Peru, Uruguay, Mexico), Châu Á (Ấn Độ, Pakistan, Srilanka, Việt Nam), Châu Âu (Nga, Ukraina, Hungarie,...). Từng vùng có thể có từng loài, giống *Spirulina* khác nhau, hoặc một loài như *S.platensis* lại được tìm thấy ở nhiều nước, có khi rất xa nhau tới nửa vòng trái đất. Sự phân bố này có thể do chọn lọc tự nhiên, không kể do con người chủ động di thực nuôi trồng. Cũng có thể được di thực theo một số loài chim di trú, mà loài hồng lạc (*Phoenicoraiasmirror*), thường ăn *Spirulina* ở Châu Mỹ là một số ví dụ.

Tảo *Spirulina* thường bám vào lông vũ và theo chim phân bố tới những nơi mà hồng lạc cư trú theo mùa. Như vậy số lượng các giống, loài của *Spirulina* có hàng chục

ở nhiều vùng trên thế giới, tức là hệ gen hay tính đa dạng sinh học (biodiversity) của chúng thật phong phú. (Lê Đình Lăng, 1999).

2.2.3. Hình thái và cấu tạo

Theo Frémy (1930) cơ thể hiển vi có dạng xoắn lò xo với 5-7 vòng xoắn đều nhau. Trichom không phân nhánh, không có bao, không chia thành các tế bào có vách ngăn ngang. Trong tế bào có những hạt nhỏ phân bố sát màng tế bào và ở những loài trôi nổi trên bề mặt nước thường có không bào khí. Chiều dài của Trichom từ 151 micron (gần bằng 1,5 mm); chiều rộng 5,5 - 6,5 micron, đầu sợi hơi thun lại. Các vòng xoắn đều nhau, đường kính 43 micron, khoảng cách giữa các vòng xoắn 2,6 micron. Chiều dài tế bào lớn hơn 2 micron và bằng một nửa chiều ngang. Chỗ vách ngăn ngang giữa các tế bào hơi thắt lại. Sống trong các thủy vực nước đứng, hiện nay *S.platensis* là đối tượng nuôi trồng công nghệ vì sinh khối của chúng giàu chất dinh dưỡng và protein (trích dẫn bởi Dương Tiên Đức, 1996).

Tảo lam phát triển thành sinh khối lớn ở hồ Ba mẫu (Hà Nội). (Dương Tiên Đức, 1996).

2.2.4. Đặc điểm dinh dưỡng của *Spirulina platensis*

Tảo *Spirulina* là vi sinh vật quang tự dưỡng bắt buộc, không thể sống hoàn toàn trong tối, quang hợp nhờ ánh sáng mặt trời và có khả năng cố định đạm rất cao. Đây là một trong khoảng 2500 loài cyanophyta cổ nhất, tự dưỡng đơn giản, có khả năng tổng hợp các chất cần thiết cho cơ thể, kể cả các đại phân tử phức tạp.

Môi trường dinh dưỡng của *Spirulina* gồm :

- ♦ Các dưỡng chất : trong môi trường nước *Spirulina* cần đủ nguồn dinh dưỡng carbon, nitơ, các chất khoáng đa lượng và vi lượng...Ngoài ra chúng còn cảm ứng với một số chất như là chất ức chế hoặc chất kích thích sinh trưởng.

- ♦ Các điều kiện lý hoá thích hợp : pH, áp suất thẩm thấu, ánh sáng, nhiệt độ, điều kiện khuấy trộn, v.v...

- ♦ Có rất nhiều đặc điểm dinh dưỡng của tảo này, nhằm triển khai các quy trình sản xuất sinh khối kinh tế nhất. Đó là các khảo cứu môi trường tự nhiên của *spirulina* sinh sống, đến pha chế các môi trường nhân tạo, hoặc nửa nhân tạo bằng bổ sung các

chất vào nguồn tài nguyên thiên nhiên : nước biển, nước suối khoáng, nước khoáng ngầm, giếng khoan..., có thể tóm lược như sau :

+ Dinh dưỡng carbon :

Tảo Spirulina đồng hoá carbon chủ yếu ở dạng vô cơ, tốt nhất là bicarbonat (HCO_3^-), thông qua quá trình quang hợp. Phản ứng quang tổng hợp hydratcacbon (đường) và một số chất khác :



Carbon dạng khí CO_2 cũng có thể được sử dụng nhưng phải đảm bảo cho môi trường ở vùng pH kiềm thích hợp. Do vậy nhiều tác giả đồng ý nguồn cacbon để nuôi Spirulina ở khoảng 1,2 – 16,8g NaHCO_3 /lít. Ở môi trường bicarbonat này, có thể sục hoặc khuấy trộn không khí thường (chứa 0,03% CO_2), hoặc nguồn khí có 1-2% CO_2 , nhằm để điều chỉnh pH, hoặc đảo môi trường giúp tế bào trộn đều, tiếp xúc được với ánh sáng. Tảo Spirulina tự dưỡng thông qua quá trình quang hợp, dùng carbon vô cơ nên thường được nuôi trồng kiểu quang tự dưỡng (Autotrophic culture). Các nghiên cứu của Ogawa T., Terui G. (1972), và Crance J.M (1975) cho thấy Spirulina có thể sử dụng glucose, muối acetat nhưng phải sử dụng ánh sáng hay quang tự dưỡng bắt buộc. Các nguồn carbon hữu cơ này được đánh dấu (^{14}C) để nghiên cứu sự phân bố trong tế bào và theo dõi sự phát triển. Các công trình nghiên cứu của Chen F, Zhang Y, Guo S. (1996), cho thấy có thể nuôi Spirulina trong điều kiện quang tự dưỡng (Phototrophic culture), với nguồn carbonglucose-acetat. Nồng độ glucose 1,81 – 2,66g/l và acetat 0,246 – 0,322g/l, với ánh sáng 2 – 4 Klux. Kiểu nuôi này cho sinh khối và hàm lượng phycocyanin cao, năng suất sinh khối đạt 5g/l.

+ Dinh dưỡng nitơ :

Tảo Spirulina và nhiều vi sinh vật cố định nitơ, đồng hoá nitơ theo phản ứng khử nhờ enzyme nitrogenase xúc tác khi có ATP. Kết quả nitơ được tổng hợp thành protein của chúng. Khả năng cố định đạm của Spirulina rất cao, cho hàm lượng nitơ \approx 10% trọng lượng khô, hay thường trên 50% protein. Nhưng Spirulina không có khả năng sử dụng nitơ dạng khí N_2 mà sử dụng dưới dạng nitrat (NO_3^-), với ngưỡng 30 – 70mg N/L, trung bình 4 – 12mg N/L (theo môi trường Zarrouk C). Ngoài ra có thể dùng

nguồn nitơ khác : nitơ amoniac (NH_3) dạng này thường có trong các loại nước thải Biogas, nitơ amon : $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (Amonisulphat- AS), $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ (Diamoniphotphat-DAP) là các loại phân bón hay dùng trong nông nghiệp, hoặc urê $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$. Nếu sử dụng các nguồn nitơ khác nitrat, cần khống chế nồng độ vì dễ gây sốc làm giảm năng suất sinh khối, thậm chí có thể gây chết tảo. Theo kinh nghiệm nên khống chế nồng độ nitơ tính theo NH_3 từ 30-70 mg/L hoặc dưới 100mg/L. Vậy nguồn thức ăn cho Spirulina có thể chuyển đổi theo cách :

Urê (NH_2CONH_2) \rightarrow Amoniác (NH_3) \rightarrow Amonium (NH_4^+) \rightarrow Nitrat (NO_3^-).

+ Các dưỡng chất khoáng :

- Phôtpho vô cơ dưới dạng muối natri, kaliphotphat hoà tan $\approx 90 - 180$ mg/L.

- Kali K^+ và Na^+ : dưới dạng muối chloride hoặc vài dạng kết hợp với nguồn nitơ, photpho.

Tảo Spirulina rất ưa muối, trong môi trường ưu trương nhất chứa kali tới 5g/L và natri tới 18g/L. Trong thực nghiệm một số ý kiến cho rằng tỷ lệ K^+/Na^+ nên nhỏ hơn 5, lớn hơn tảo sẽ chậm phát triển, hoặc hơn nữa gây rối loạn tế bào, phá vỡ cấu trúc tế bào tảo.

- Magie (Mg^{+2}) : đóng vai trò tương tự như photpho, trong tổng hợp các hạt polyphotphat.

- Canxi (Ca^{+2}) : không gây ảnh hưởng rõ đến sinh trưởng của tảo.

- Sắt : là những dưỡng chất thiết yếu, ảnh hưởng trực tiếp tới sinh trưởng và hàm lượng của protein. Sắt thường dùng ở dạng muối FeSO_4 (0,01g/L). Có thể dùng sắt dạng phức EDTA (Etylen diamin Tetracetic acid), phức này hoà tan bền hơn trong kiềm so với dạng vô cơ. Nồng độ Fe^{2+} trong môi trường rất rộng từ 0,56 – 56mg/L môi trường.

- Clo (Cl) tảo này rất ưa clo vô cơ, nồng độ dùng với muối NaCl , khoảng 1 – 1,5g/L.

o Các khoáng vi lượng khác : Bo (B^{3+}), kẽm (Zn^{2+}), Mangan (Mn^{2+}), đồng (Cu^{2+}), Coban (Co^{2+}) ...là các vi lượng được dùng, nhưng ảnh hưởng không rõ đến sinh khối protein, nhưng lại có ảnh hưởng tới một số thành phần khác như vitamin...

Spirulina có thể bị tác động bởi các kích thích tố (hormon), giúp tăng trưởng nhanh hơn như indol axeticacid (AIA), gibberelic acid (GA_3)...Một số công trình nghiên cứu chứng tỏ Spirulina có sản sinh các hormon tăng trưởng hoạt tính kiểu auxin, gibberelin và cytokinin. Các hormon nội sinh này kích thích nâng cao sinh khối còn tăng tốc sinh sản số sợi tảo. (Lê Đình Lăng, 1999).

2.2.5. Đặc điểm sinh sản của *Spirulina platensis*

Theo Keeton (1967) sự phân chia tế bào tảo lam được thực hiện bởi sự cắt đôi (binary fission), như ở các vi khuẩn, và cũng thường bởi sự phân đoạn của các sợi (trích dẫn bởi Lê Thị Phương Hồng, 1996).

Tảo đoạn là một trong những hình thức sinh sản phổ biến của vi khuẩn lam dạng sợi. Tảo đoạn là những đoạn tảo được hình thành từ các trichom, thường có kích thước khác nhau, gồm có từ 2 - 3 tế bào, đến số lượng nhiều hơn, có khả năng chuyển động tích cực nhờ trượt trên giá thể do tiết ra chất nhầy. (Dương Tiến Đức, 1996).

Các sợi tảo trưởng thành bị cắt ra thành vài đoạn tảo (hormogonia), mỗi đoạn tảo có từ 2 - 4 tế bào, nhờ sự thành lập của vài tế bào đặc biệt, gọi là hoại bào (necridia). Hoại bào có màu xanh vàng, dễ nhuộm đỏ với congo, và bị thủy giải để cho các tế bào hình đĩa tách rời có hai mặt lõm (Phạm Hoàng Hộ, 1972).

Sự phá vỡ các sợi tảo như thế có tính ngẫu nhiên, nhưng không bất kỳ (vì chỉ xảy ra nơi các hoại bào). (Lê Thị Phương Hồng, 1996).

Theo Boussiba (1989) các đoạn tảo con, sau khi tách rời nhau, trượt nhẹ khỏi sợi cha mẹ. Hai đầu xa của đoạn tảo, mất đi phần đỉnh của hoại bào, trở nên tròn với vách mỏng. Số tế bào trong các đoạn tảo gia tăng bởi sự cắt đôi tế bào, hay chính xác hơn sự phân chia xen giữa (intercalary cell division). Qua quá trình này, các sợi kéo dài tới mức trưởng thành và có dạng xoắn kiểu mẫu. Trong các điều kiện tăng trưởng tối hảo, thời gian tăng gấp đôi của *S. platensis* là 9,3 giờ (trích dẫn bởi Lê Thị Phương Hồng, 1996).

Theo Nguyễn Lâm Dũng (1980) để ước lượng sự tăng trưởng ta có thể đo chiều dài, chiều cao, chiều rộng, diện tích, thể tích, trọng lượng tươi hay khô, số lượng tế bào,...(trích dẫn bởi Lê Thị Phương Hồng, 1996).

2.3 Điều kiện nuôi cấy và các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình nuôi tảo *Spirulina platensis*

Có thể nói ngoài các điều kiện dinh dưỡng cơ bản thì quá trình nuôi cấy *Spirulina* còn bị chi phối bởi các yếu tố khác.

2.3.1 Ảnh hưởng của ánh sáng

Là thực vật bậc thấp chứa diệp lục, vi tảo thực hiện quá trình quang hợp theo cơ chế như ở thực vật bậc cao. Hoạt động đầu tiên của quang hợp là hấp thu ánh sáng. (Đặng Đình Kim, Đặng Hoàng Phước Hiền, 1998).

Theo Seshadri & Thomas (1979), sự tác động của ánh sáng tới *Spirulina* bởi hai yếu tố chính đó là thời gian và cường độ chiếu sáng. Quá trình nuôi cấy ngoài trời thì cường độ ánh sáng tối hảo cho *Spirulina* trong khoảng 20 – 30 klux. (trích dẫn bởi Lê Thị Phương Hồng, 1996).

Về thực hành nuôi cấy *Spirulina* cần ghi nhận vài thông số có liên quan đến chế độ ánh sáng như : cường độ ánh sáng tối ưu = 25000 – 30000 lux, ở khoảng này hoạt tính quang hợp cao nhất, cần điều chỉnh đạt được trong nuôi cấy.(Lê Đình Lăng, 1999).

Ngoài ra cường độ ánh sáng còn phụ thuộc vào mật độ nuôi cấy của tảo, vì khi cường độ ánh sáng cao mà mật độ tảo lớn thì mỗi sợi tảo vẫn nhận được cường độ ánh sáng nhỏ. Nhiều loại vi tảo có cường độ quang hợp bão hoà ở khoảng 33% tổng lượng cường độ ánh sáng. Vì vậy trong điều kiện ánh sáng có cường độ cao và thời gian chiếu sáng dài, người ta thấy xuất hiện hiện tượng quang ức chế có thể làm tảo chết hoặc làm giảm đáng kể năng suất nuôi trồng. (Đặng Đình Kim, Đặng Hoàng Phước Hiền, 1998).

Theo Charenkova C.A (1977) thì thời gian chiếu sáng càng dài thì năng suất tảo *Spirulina* càng cao. Năng suất tảo đạt cao nhất khi chiếu sáng liên tục. Như vậy tảo *Spirulina* không có chu kỳ quang. (trích dẫn bởi Nguyễn Thanh Bích Ngọc, Nguyễn Hồng Hạnh, 1997).

2.3.2 Nhiệt độ

Nhiệt độ môi trường luôn là một trong những yếu tố nhạy cảm ảnh hưởng đến bất kỳ sinh vật nào.

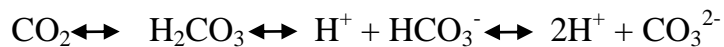
Trong điều kiện phòng thí nghiệm sinh trưởng của *Spirulina* đạt tối ưu ở nhiệt độ 35 – 37°C. (Đặng Đình Kim, Đặng Hoàng Phước Hiền, 1998).

Nhiệt độ môi trường nuôi là yếu tố cần đáp ứng liên tục, vì rất dễ bị chi phối và tác động bởi điều kiện xung quanh, mức độ và thời gian chiếu sáng. Do vậy nhiệt độ là một trong những yếu tố thường xuyên được theo dõi trong công nghệ nuôi trồng vi tảo.

Có một mối liên hệ giữa nhiệt độ và ánh sáng trong quá trình nuôi cấy tảo. Giống như hai mặt đối lập của một quá trình thống nhất, chúng đều đóng vai trò quan trọng quyết định đến năng suất và sinh khối của *Spirulina*. Sinh trưởng của tảo đạt cao nhất với một cường độ và thời gian chiếu sáng thích hợp, kèm theo nó là một chế độ nhiệt tương đối ổn định.

2.3.3 Thông số pH

Trong môi trường nuôi *Spirulina* pH là kết quả của cân bằng:



Vì vậy pH được coi là yếu tố chỉ thị, phản ánh các thành phần nuôi dưỡng cung cấp cho môi trường nuôi dưỡng tảo, chủ yếu là nguồn bicarbonat và khí CO₂ hoà tan. (Lê Đình Lăng, 1999).

Theo Trần Văn Tựa và Nguyễn Hữu Thước (1993) thì *S. Platensis* tăng trưởng tối hảo ở pH 9 – 11 ; pH = 9 tối hảo cho sự hấp thu carbon ghi dấu phóng xạ và sự phóng thích oxygen quang hợp. (trích dẫn bởi Lê Thị Phương Hồng, 1996).

2.4 Thành phần hoá học của *Spirulina platensis*

Theo Clement (1975), tảo *Spirulina* chứa hàm lượng protein rất cao, cao hơn tảo *Chlorella*. Ngoài ra chúng chứa đầy đủ các vitamin. (trích dẫn bởi Nguyễn Đức Lượng, 2002).

Bảng 2. 1 : Thành phần hoá học của tảo Spirulina

Số thứ tự	Thành phần	Số lượng (% chất khô)
1	Protein tổng số	60 - 70
2	Glucid	13 – 16
3	Lipid	7 – 8
4	Axit nucleic	4,29
5	Diệp lục	0,76
6	Caroten	0,23
7	Tro	4 –5

Bảng 2. 2 : Thành phần vitamin của tảo Spirulina

Số thứ tự	Thành phần	Số lượng (% tổng chất khô)
1	Vitamin B ₁₂	1,6
2	beta-Caroten	1.700
3	D-Ca- panthothenate	11
4	Axit folic	0,5
5	Inositol	3,5
6	Niacin (B ₃)	118
7	Vitamin B ₆	3
8	Vitamin B ₁	55
9	Vitamin E	190

Bảng 2. 3: Thành phần khoáng của tảo Spirulina

Số thứ tự	Thành phần	Số lượng (% tổng chất khô)
1	Canxi	1.150
2	Photpho	8.280
3	Sắt	528
4	Natri	344
5	Clo	4.200
6	Magie	1.663
7	Mangan	22
8	Kali	14,4
9	Saten	0,4

Bảng 2. 4 : Thành phần axit amin của tảo Spirulina

Số thứ tự	Thành phần	µg/10g	Số lượng (% tổng chất khô)
1	Isoleucin	350	5,6
2	Leucin	540	8,7
3	Lysin	290	4,7
4	Methionin	140	2,3
5	Phenilalanin	280	4,5
6	Theonin	320	5,2
7	Tryptophan	90	1,5
8	Valin	400	6,5
9	Alanin	470	7,6
10	Arginin	430	6,9
11	Axit aspartic	610	9,8
12	Cystin	60	1,0
13	Axit Glutamic	910	14,6
14	Glycin	320	5,2
15	Histidin	100	1,6
16	Prolin	270	4,3
17	Serin	320	5,2
18	Tyrosin	300	4,8

2.5 Vai trò, vị trí của tảo Spirulina trong công nghệ sinh học(CNSH)

Công nghệ sinh học (Biotechnology) thuộc phạm trù sản xuất, đó là những quá trình công nghiệp với việc sử dụng cơ thể sống (vi sinh vật,...) hoặc tế bào sống trong môi trường nuôi cấy v.v... để tạo ra những sản phẩm có ích cho xã hội. Công nghệ sinh học cổ điển tạo ra rượu, bia, chao, tương...; còn công nghệ sinh học hiện đại tạo ra thuốc

men, vitamin, acid amin chất lượng cao, chất dẻo từ vi sinh, và có thể cả hồng cầu – máu nhân tạo v.v...

Trong tự nhiên vai trò của giới tảo (Algae) nói chung, nhất là tảo biển với vai trò quang hợp gắn giữ cacbonic đã tạo ra khoảng 500 tỷ tấn chất hữu cơ có thể sử dụng được (trong đó có nhiều hoạt chất sinh học quý) và thải ra 90% lượng oxy trong bầu khí quyển cần cho sự hô hấp của người và động vật.

Chính điều này đã kích thích nghề nuôi tảo biển ra đời, và đặc biệt xuất hiện công nghệ sinh học vi tảo, với bộ 3 nổi tiếng *Chlorella*, *Scenedesmus* và *Spirulina*, có nhiều giá trị trong thực phẩm dinh dưỡng và dược phẩm, mỹ phẩm. Trong công nghệ sản xuất sinh khối vi sinh vật (Microbial biomass products), riêng nhóm 3 vi sinh vật tảo trên, *Spirulina* hiện được chọn để phát triển sản xuất hơn 2 loại kia do 5 ưu thế sau :

- ❖ Hiệu quả kinh tế cao và góp phần bảo vệ, cải thiện môi trường : Vi tảo *Spirulina* không những đơn giản trong nhu cầu dưỡng chất mà còn rất hiệu quả trong sử dụng năng lượng ánh sáng mặt trời, nước... (có thể dùng nước biển, nước lợ, nước mặn,...); gắn giữ carbon tốt (6,3 tấn/ha/năm); đồng thời tạo ra 16,8 tấn oxy...Điều này giúp cho nhà sản xuất thu hoạch được lợi ích kinh tế lớn hơn so với vi tảo khác và giúp bảo vệ môi trường khí quyển, giảm nhẹ hiệu ứng nhà kính (green house).

- ❖ Giá trị sử dụng đã vượt ra khỏi ranh giới truyền thống dùng làm thực phẩm, như có tác dụng chữa bệnh mới phát hiện, sản xuất thành môi trường nuôi cấy tế bào người, động vật, sử dụng làm mỹ phẩm v.v...

- ❖ Tham gia vào việc xử lý môi trường : ngoài việc cung cấp dưỡng khí oxy, *Spirulina* còn có khả năng gắn giữ mạnh các cation độc như chì, thủy ngân, cadmi,... nên có thể dùng để xử lý chất thải lỏng, xử lý nước. Sinh khối này sử dụng làm chất đốt, đặc biệt thay cho dầu diesel, nếu thành công thì đó là điều càng làm tăng giá trị của *Spirulina*.

- ❖ *Spirulina* có thể là đối tượng chuyển tải các tiến bộ khoa học kỹ thuật rất hiện đại trong công nghệ sinh học :

- ✓ Nuôi định hướng gắn giữ các chất có lợi cho dinh dưỡng và trị bệnh cho người và động vật. Đã có các tiến bộ về nuôi cấy *Spirulina* gắn Iod (phòng trị bệnh

thiếu vi chất iod), gắn Selen, gắn Germani (chất chống oxy hoá, chống lão hoá, phòng chống ung thư...)v.v... Hoặc nuôi với những tiền chất định hướng cho sinh khối Spirulina giàu acid béo cần thiết, giàu beta-caroten. Sự thành công trong tương lai phụ thuộc vào việc chọn giống Spirulina và tìm tòi công nghệ phù hợp, sẽ cho những lô/mẻ sinh khối Spirulina rất có giá trị trong y dược.

✓ Spirulina với công nghệ chuyển nạp gen: Chuyển nạp gen là kỹ thuật phân lập gen từ cơ thể cho (donor), cấy ghép vào bộ máy di truyền của cơ thể nhận (receiver), nhằm tạo ra tính trạng mới cần thiết từ cơ thể đó. Kỹ thuật tân tiến này đang được nghiên cứu với Spirulina ở 2 hướng sau :

* Chuyển gen chịu trách nhiệm di truyền tạo phao khí của Spirulina giúp vi sinh vật nổi trên mặt nước dễ dàng. Ta biết muốn phòng trừ bệnh sốt rét phải diệt muỗi *Anopheles stepensis*, bệnh sốt xuất huyết phải diệt muỗi *Aedes aegypti*, bệnh giun chỉ phải diệt muỗi *Culex quinquefasciatus*. Một cách hiệu quả cắt đứt vector truyền bệnh này là diệt ấu trùng (bọ gậy, lăng quăng...) của chúng. Hiện một số nghiên cứu cho thấy có những vi sinh vật, hoặc vi nấm có thể thực hiện được điều này. Tuy vậy việc phải sống trôi nổi trên mặt nước (môi trường ấu trùng các loại muỗi gây bệnh sinh sống), để diệt ấu trùng muỗi lại là điểm không có hoặc yếu kém của các vi sinh vật này. Do vậy có thể tách gen di truyền tạo phao khí nổi trên mặt nước của Spirulina ghép vào vi sinh vật có ích trên, tạo ra những đặc điểm mong muốn diệt ấu trùng muỗi gây bệnh.

* Chuyển nạp gen tạo chất dẻo sinh học cho Spirulina : có thể ghép vào Spirulina gen tạo chất polyhydroxyl butylat (P.H.B), gen này có ở vi khuẩn *Aleutroplus*, để tạo ra giống Spirulina mới có đặc tính phát triển sinh khối nhanh, đồng thời chứa P.H.B với hàm lượng thích hợp. Ly trích chất P.H.B để sản xuất nhựa thay thế nhựa dẻo (như poly styrene) và chất dẻo mới này dễ bị phân huỷ không làm ô nhiễm môi trường v.v...

❖ Spirulina tương đối thích nghi với mọi quy mô sản xuất : có thể thu hoạch từ tự nhiên, hoặc nuôi ở quy mô nhỏ (hộ gia đình, làng xã), trong điều kiện bán tự nhiên, với kỹ thuật đơn giản như nuôi trồng thuỷ sản. Ở quy mô công nghiệp (ngoài việc chuyển tải các kỹ thuật sinh học rất hiện đại nêu trên), Spirulina còn thích hợp với trình

độ công nghệ từ kỹ thuật nuôi bề mặt cổ điển đến kỹ thuật nuôi 3 chiều rất hiện đại. Còn kể ra nhiều ưu điểm khác như dễ thu hoạch do đặc tính nổi trên mặt nước, và kích thước lớn (dài 0,25 - 0,5 mm), nên dễ vớt, lọc v.v...(Lê Đình Lăng, 1999).

2.6 Mật rỉ (hay rỉ đường)

Mật rỉ là thứ liệu trong công nghệ sản xuất đường từ cây mía hay củ cải đường. Trước đây mật rỉ ít được sử dụng trong công nghệ vi sinh. Sau này người ta thấy mật rỉ có nhiều ưu điểm để tạo môi trường nuôi cấy vi sinh vật. Những đặc tính quan trọng phù hợp với quá trình lên men của mật rỉ bao gồm :

- Chứa hàm lượng đường cao
- Ngoài đường saccharose ra còn chứa nhiều chất hữu cơ, vô cơ, các chất thuộc vitamin và các chất kích thích sinh trưởng, trong đó có vitamin H (Biotin) là chất kích thích sinh trưởng đối với phần lớn nấm men.

- Tuy nhiên, rỉ đường cũng có những đặc điểm không phù hợp cho quá trình lên men. Muốn sử dụng chúng cho quá trình lên men đòi hỏi phải có các quá trình xử lý thích hợp. Các đặc điểm cần lưu ý mật rỉ bao gồm :

- ♦ Rỉ đường thường có màu sẫm. Màu này khó bị phá huỷ trong quá trình lên men. Sau lên men chúng sẽ bám vào sinh khối vi sinh vật và bám vào sản phẩm. Việc tách màu ra khỏi sinh khối và sản phẩm thường rất tốn kém và rất khó khăn. Giữa hai loại mật rỉ, loại mật rỉ từ cây mía có màu sẫm hơn màu mật rỉ nhận từ sản xuất củ cải phải xử lý trước khi tiến hành quá trình lên men.

- ♦ Hàm lượng đường khá cao (thường nằm trong khoảng 40 – 50%). Lượng đường này chủ yếu là saccharose nên khi tiến hành lên men phải pha loãng tới nồng độ thích hợp.

- ♦ Đặc điểm gây khó khăn lớn nhất cho quá trình lên men là hệ keo trong mật rỉ. Keo càng nhiều, khả năng hoà tan oxy càng kém và khả năng trao đổi chất của oxy càng kém. Do đó công việc quan trọng nhất khi sử dụng mật rỉ là phải phá hệ keo này.

♦ Vì rỉ đường là chất dinh dưỡng khá lý tưởng nên chúng rất dễ bị vi sinh vật xâm nhập và phát triển. Như vậy chất lượng mật rỉ cũng dễ thay đổi theo thời gian bảo quản.

Bảng 2. 5: Thành phần hoá học và một số tính chất quan trọng của hai loại mật rỉ

STT	Thành phần	Đơn vị tính	Hàm lượng mật rỉ	
			Củ cải	Đường mía
1	Đường tổng số	%	48 – 52	48 – 56
2	Chất hữu cơ khác	%	12 – 17	9 – 12
3	Protein (Nx6,25)	%	6 – 10	2 – 4
4	K	%	2 – 7	1,5 – 5
5	Ca	%	0,1 – 0,5	0,4 – 0,8
6	Mg	%	0,09	0,06
7	P	%	0,02 – 0,07	0,6 – 0,2
8	Biotn (vitamin H)	mg/kg	0,02 – 0,150	1 – 3
9	Axit pantotenic	mg/kg	50 – 110	15 – 55
10	Inozitol	mg/kg	5000 – 8000	2500 – 6000
11	Tiamin	mg/kg	1,3	1,8

Để giải quyết những đặc điểm không thuận lợi có trong mật rỉ đối với quá trình lên men, người ta thường sử dụng axit sunfuric đậm đặc với lượng 3,5 kg cho một tấn mật rỉ. Khi cho H_2SO_4 vào mật rỉ, ta có ba cách thực hiện quá trình xử lý này :

✓ Cách thứ nhất : Khi cho 3,5 kg H_2SO_4 vào một tấn mật rỉ, người ta khuấy đều ở nhiệt độ thường trong thời gian 24h, sau đó ly tâm dịch trong .

✓ Cách thứ hai : Khi cho 3,5 kg H_2SO_4 vào một tấn mật rỉ, người ta đun toàn bộ lên $85^\circ C$ và khuấy đều liên tục trong 6h, sau đó ly tâm thu dịch trong.

✓ Cách thứ ba : Cho H_2SO_4 đến khi pH của mật rỉ đạt được giá trị là 4, người ta đun nóng đến $120 - 125^\circ C$ trong một phút để các chất vô cơ kết tủa, sau đó ly tâm thu dịch trong.

Thực hiện một trong ba cách trên sẽ thu được dịch mật rỉ đã loại thể keo và màu. Từ mật rỉ qua xử lý này đem pha chế thành các loại môi trường có nồng độ khác nhau. Ví dụ môi trường nuôi cấy thu nhận sinh khối, nồng độ chỉ cần 2 – 4 %. Trong khi đó môi trường lên men cồn hoặc axit hữu cơ, nồng độ đường lại từ 16 – 22 %. Tuy nhiên giá trị của mật rỉ trong quá trình nuôi cấy nấm men thu nhận sinh khối không chỉ do lượng đường saccharose có trong mật rỉ mà còn do các loại muối khoáng, các chất kích thích sinh trưởng và các thành phần khác quyết định. (Nguyễn Đức Lượng, 2002)

2.7 Các kiểu thiết bị lên men có thể ứng dụng trong nuôi tảo

Thiết bị lên men đóng vai trò quan trọng trong công nghệ vi sinh vật. Đây là một lĩnh vực rất phức tạp và nhiều trường hợp thay đổi thiết bị lên men hợp lý sẽ thu được kết quả lên men rất tốt. Việc thiết kế chế tạo thiết bị lên men có ảnh hưởng rất lớn đến quá trình sinh lý của sinh vật.

Chúng ta phải hiểu rằng việc chuyển một giống vi sinh vật từ giống gốc được phân lập từ điều kiện tự nhiên sang quá trình sản xuất công nghiệp trải qua hai giai đoạn có tính quyết định đến sinh lý của vi sinh vật :

1- Giai đoạn từ điều kiện tự nhiên không kiểm soát sang điều kiện nuôi cấy trong phòng thí nghiệm và sản xuất thử với các yếu tố ảnh hưởng tới sinh lý của vi sinh vật hoàn toàn có kiểm soát.

2- Giai đoạn từ điều kiện có kiểm soát ở mức độ nhỏ trong phòng thí nghiệm sang giai đoạn sản xuất lớn với qui mô lớn. Các thiết bị lên men vài chục m³ đến hàng ngàn m³. Khi đó mọi yếu tố ảnh hưởng đến sinh lý của vi sinh vật hoàn toàn khác với điều kiện trong phòng thí nghiệm. Ví dụ, sự truyền nhiệt ở thiết bị phòng thí nghiệm khác sự truyền nhiệt ở thiết bị sản xuất, áp suất và khả năng hoà tan của oxy cũng khác.

2.7.1 Thiết bị có cánh khuấy

Các thiết bị có lắp đặt cánh khuấy đều được ứng dụng trong quá trình lên men hiếu khí cũng như lên men yếm khí. Cánh khuấy trong hai trường hợp này có tác dụng như sau :

1- Các khuấy làm tăng khả năng tiếp xúc chất dinh dưỡng và tế bào vi sinh vật. Có tiếp xúc giữa chất dinh dưỡng với tế bào vi sinh vật mới có sự trao đổi chất. Khả năng tiếp xúc càng nhiều, khả năng trao đổi chất càng mạnh. Do đó cả hai phương pháp lên men hiếu khí và kỵ khí đều cần có cánh khuấy.

Sự tiếp xúc này có thể được thực hiện từ những vị trí xa nhau giữa chất dinh dưỡng và vi sinh vật. Ví dụ, tế bào vi sinh vật ở vị trí rất xa chất dinh dưỡng, nhưng do cánh khuấy hoạt động, cả tế bào và chất dinh dưỡng sẽ chuyển động nên điều kiện và cơ hội gặp nhau là rất lớn.

Sự tiếp xúc này còn biểu hiện ở chỗ, trong khi tiến hành các quá trình trao đổi chất, các chất sau đồng hoá và dị hoá sẽ tạo ra một lớp bao quanh tế bào. Lớp bao quanh tế bào này sẽ làm cản trở sự chuyển vận các chất vào tế bào. Khi cánh khuấy hoạt động, lớp bao quanh này sẽ bị phá vỡ, như vậy mức độ xâm nhập của các chất dinh dưỡng sẽ mạnh hơn.

2- Trong trường hợp lên men trong điều kiện hiếu khí cánh khuấy làm tăng khả năng hoà tan của oxy. Các khí sẽ ở lại lâu hơn do dòng chuyển động của môi trường, và như vậy khả năng hoà tan của oxy từ bọt khí sẽ cao hơn.

Cánh khuấy làm tăng khả năng tách các khí CO_2 , H_2S , NH_3 ,...từ quá trình trao đổi chất, và như vậy sẽ làm giảm ảnh hưởng xấu của các loại khí này đến sinh lý của vi sinh vật.

3- Cánh khuấy làm tăng nhanh các quá trình sinh sản của vi khuẩn nấm men và nấm sợi : do tác động cơ học mà các tế bào dễ dàng tách ra và sống độc lập.

Trong phòng thí nghiệm, người ta thường thay cánh khuấy bằng những máy lắc. Những thiết bị có dung tích trên một lít người ta mới lắp cánh khuấy. Trong qui mô sản xuất công nghiệp người ta chỉ sử dụng máy khuấy chứ không sử dụng máy lắc. (Nguyễn Đức Lượng, 2002).

Phương pháp khuấy cơ học được thực hiện bằng các cách khuấy khác nhau để đạt các mục đích khác nhau :

- Thực hiện các quá trình thủy cơ : tạo nhũ tương, huyền phù, hoà tan, đồng hoá.

- Thực hiện quá trình trao đổi nhiệt : sự kết tinh, trích ly, hấp thụ và điện phân.

- Thực hiện quá trình nhiệt : cô đặc dung dịch, đun nóng và làm nguội.
- Thực hiện các phản ứng hoá học.
- Thực hiện các phản ứng sinh học.

Như vậy khuấy môi trường lỏng, trong đó pha liên tục là một chất lỏng, còn pha phân tán có thể là : pha lỏng, pha rắn, hoặc pha khí.

Khuấy chất lỏng là cung cấp năng lượng để tạo một dòng chảy thích hợp trong thiết bị nhằm đáp ứng các mục tiêu nói trên.

Quá trình khuấy có thể thực hiện trong thiết bị gián đoạn hoặc thiết bị liên tục theo yêu cầu sản xuất của một công nghệ sản xuất cụ thể. Điều kiện của một môi trường khuấy trộn được xác định bởi nhiệt độ, áp suất và nồng độ pha phân tán. Do vậy thiết bị khuấy có thể thực hiện dạng kín hay dạng hở.

Thiết bị khuấy thường được chế tạo dạng trụ thẳng đứng, tuy nhiên cũng có trường hợp áp dụng thiết bị khuấy nằm ngang. (Nguyễn Văn Lụa, 1999).

Trong nuôi trồng đại trà vi tảo, việc khuấy sục có tác dụng :

- Ngăn ngừa hiện tượng phân tầng nhiệt độ trong dịch nuôi.
- Giúp tế bào tảo tiếp xúc đều đặn với ánh sáng.
- Ngăn ngừa tảo lắng xuống đáy bể.
- Giúp phân phối dinh dưỡng và CO₂.

Như vậy kỹ thuật khuấy sục là vấn đề rất cần được quan tâm nhằm mục tiêu tăng năng suất tảo mà không làm ảnh hưởng tới trạng thái tế bào. Về mặt kinh tế, chọn giải pháp khuấy sục cho chi phí thấp nhất là yêu cầu đầu tiên. (Đặng Đình Kim, Đặng Hoàng Phước Hiền, 1999).

Trộn tảo là để ngăn cản sự lắng tụ, sự phân tầng nhiệt độ và những điều kiện yếm khí ở đáy. Sự khuấy trộn giúp chất dinh dưỡng tiếp xúc tích cực với bề mặt tảo và làm tăng năng suất tảo. Đối với thể tích nhỏ, sự khuấy tảo thường tiến hành bằng cách tạo bọt khí qua cái lọc. Không khí có chứa vài phần trăm CO₂, sẽ giữ giá trị pH ở khoảng 8 và để tránh những điều kiện hạn chế CO₂.

Với qui mô lớn, nhiều kỹ thuật trộn đã được phát triển chủ yếu là để xử lý nước thải chứa tảo hoặc sản xuất các loài đơn bào, những kỹ thuật dùng cho đến nay là bánh xe quay, bơm khí và bơm lớn. Hệ thống bánh xe quay thích hợp hơn cho nuôi môi trường cạn., thường tạo khí với môi trường nuôi sâu (dưới 2 m). Bơm khí cũng rất hữu hiệu và sử dụng bơm mạnh để khuấy trộn môi trường nuôi tảo quy mô lớn.

Theo kinh nghiệm, với đơn vị nuôi sâu 100 m^2 , sâu 1m thì khuấy 5 phút/giờ dường như để ngăn cản phân tầng nhiệt độ và để cung cấp dinh dưỡng cho toàn bộ khối nước. (Nguyễn Thanh Tùng, 1998).

2.7.2 Thiết bị có hệ thống thổi khí

Thiết bị có hệ thống thổi khí được lắp đặt trong các thiết bị lên men có những tác dụng sau :

- 1- Cung cấp oxy trong các trường hợp lên men hiếu khí, đặc biệt là quá trình thu nhận sinh khối (nấm men, nấm sợi hay vi khuẩn).
- 2- Cung cấp CO_2 trong trường hợp nuôi cấy tảo đơn bào (*Chlorella*, *Spirulina*, *Scenedesmus*).
- 3- Khuấy đảo môi trường làm tăng quá trình trao đổi chất, quá trình phát triển và quá trình sinh sản.
- 4- Giải phóng các khí được tạo ra từ quá trình trao đổi chất, làm giảm ảnh hưởng xấu đến quá trình lên men.

Việc cung cấp oxy hay CO_2 cho quá trình lên men là một việc làm hết sức phức tạp. Trong không khí, ngoài các thành phần của không khí còn chứa rất nhiều vi sinh vật, do đó không khí cung cấp cho quá trình lên men đòi hỏi phải được sạch sẽ về vi sinh vật và các tạp chất. (Nguyễn Đức Lượng, 2002).

PHẦN III : VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

3.1 Địa điểm và thời gian tiến hành đề tài

a/ Địa điểm: Phòng thí nghiệm 305 khu phượng vĩ trường Đại học Nông Lâm TP.HCM

b/ Thời gian tiến hành đề tài : từ 01-03-2006 đến 30-06-2006

3.2 Vật liệu

3.2.1 Nguồn tảo giống

Tảo *Spirulina platensis* được cung cấp từ cơ sở nuôi HELVINAM

3.2.2 Hoá chất

a/ Môi trường Zarrouk là môi trường hoá chất cơ bản cung cấp các thành phần dinh dưỡng thiết yếu cho *Spirulina* :

Bảng 3. 1: Thành phần môi trường Zarrouk

STT	Tên thành phần	Khối lượng
1	NaHCO ₃	16.8 g/l
2	NaNO ₃	2.6 g/l
3	NaCl	1.0 g/l
4	K ₂ HPO ₄	0.5 g/l
5	K ₂ SO ₄	1.0 g/l
6	MgSO ₄ .H ₂ O	0.2 g/l
7	CaCl ₂ .H ₂ O	0.04 g/l
8	EDTA Fe	0.08 g/l

b/ Môi trường rỉ đường

Rỉ đường sau khi qua xử lý màu bắt đầu tiến hành pha môi trường nuôi cấy *Spirulina*, thành phần bao gồm:

Bảng 3. 2 : Thành phần các môi trường rỉ đường

STT	Tên thành phần	Khối lượng	Đơn vị tính
1	Rỉ đường	1; 1.5	ml /L
2	NaHCO ₃	16.8	G/L

3.2.3 Dụng cụ thí nghiệm

- Chai nước biển 500 ml
- Kính hiển vi
- Khúc xạ kế
- Đèn huỳnh quang
- Máy sục khí
- Đèn cồn
- Giấy quỳ
- Autoclave
- Tủ sấy
- Bình tam giác 1 L
- Bình nhựa 5 L, 10 L, 21 L
- Bể kính 40 L
- Dây điện, pipét,...

3.3 Phương pháp nghiên cứu**3.3.1. Phương pháp bố trí thí nghiệm****3.3.1.1 Thí nghiệm 1 : Ảnh hưởng của nồng độ nuôi cấy lên khả năng thu hoạch tảo Spirulina**

Thí nghiệm đơn yếu tố được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên gồm ba nghiệm thức, mỗi nghiệm thức được tiến hành nuôi trong 3 chai nước biển, và tiến hành lặp lại 3 lần.

Khảo sát ảnh hưởng của nồng độ nuôi cấy ban đầu lên khả năng thu hoạch tảo Spirulina. Cấy 20 %, 25 %, 30 % tảo giống Spirulina vào 300 ml môi trường cơ bản

(Zarrouk) trong chai nước biển 500 ml. Sau 7 ngày nuôi cấy tiến hành thu hoạch tảo bằng lưới lọc và cân trọng lượng tảo tươi (mỗi chai nước biển lấy một mẫu tảo tươi).

Điều kiện nuôi cấy được giữ ổn định : nhiệt độ phòng nuôi : 34 – 37°C, pH = 8 – 11, thể tích môi trường nuôi cấy 300 ml, tốc độ sục khí 500 ml/ phút, cường độ ánh sáng 3000 – 3500 lux, chiếu sáng liên tục 24/24. Môi trường nuôi cấy và dụng cụ nuôi được hấp khử trùng bằng autoclave ở 1 atm trong 30 phút.

3.3.1.2 Thí nghiệm 2 : Ảnh hưởng của chế độ chiếu sáng lên sự tăng sinh khối tảo Spirulina

Thí nghiệm đơn yếu tố được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên gồm ba nghiệm thức, mỗi nghiệm thức được tiến hành nuôi trong 3 chai nước biển, và tiến hành lặp lại 3 lần.

Khảo sát chế độ chiếu sáng tới khả năng tăng sinh khối của tảo Spirulina. Cấy 30 % tảo giống Spirulina vào 300 ml môi trường trong chai nước biển 500 ml nuôi trong các điều kiện chiếu sáng khác nhau : 1500 – 1750 lux, 3000 – 3500 lux, 4500 – 5250 lux. Sau 7 ngày nuôi cấy tiến hành thu hoạch tảo bằng lưới lọc và cân trọng lượng tảo tươi (mỗi chai nước biển lấy một mẫu tảo tươi).

Điều kiện nuôi cấy được giữ ổn định trong suốt quá trình nuôi cấy: nhiệt độ phòng nuôi : 34 – 37°C, pH = 8 – 11, thể tích môi trường nuôi cấy 300 ml, tốc độ sục khí 500 ml/ phút, thể tích tảo giống 30%, chiếu sáng liên tục 24/24. Môi trường nuôi cấy và dụng cụ nuôi được hấp khử trùng bằng autoclave ở 1 atm trong 30 phút.

3.3.1.3 Thí nghiệm 3 : Ảnh hưởng của khối lượng muối bicarbonat trong môi trường nuôi cấy lên sự tăng sinh khối tảo Spirulina :

Thí nghiệm đơn yếu tố được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên gồm ba nghiệm thức, mỗi nghiệm thức được tiến hành nuôi trong 3 chai nước biển, và tiến hành lặp lại 3 lần.

Khảo sát ảnh hưởng của muối bicarbonat lên sự tăng sinh khối tảo Spirulina. Cấy 30% tảo giống Spirulina vào 300 ml môi trường nuôi cấy trong chai nước biển 500 ml ở các điều kiện môi trường có chứa 16; 16,8; 17 g NaHCO₃. Sau 7 ngày nuôi cấy tiến

hành thu hoạch tảo bằng lưới lọc và cân trọng lượng tảo tươi (mỗi chai nước biển lấy một mẫu tảo tươi).

Điều kiện nuôi cấy được giữ ổn định : nhiệt độ phòng nuôi : 34 – 37°C, pH = 8 – 11, thể tích môi trường nuôi cấy 300 ml, tốc độ sục khí 500 ml/ phút, cường độ ánh sáng 3000 – 3500 lux, chiếu sáng liên tục 24/24. Môi trường nuôi cấy và dụng cụ nuôi được hấp khử trùng bằng autoclave ở 1 atm trong 30 phút.

3.3.1.4 Thí nghiệm 4 : Ảnh hưởng của các môi trường nuôi cấy khác nhau lên sự tăng sinh khối tảo Spirulina:

Thí nghiệm đơn yếu tố được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên gồm ba nghiệm thức, mỗi nghiệm thức được tiến hành nuôi trong 3 chai nước biển, và tiến hành lặp lại 3 lần.

Khảo sát ảnh hưởng của các loại môi trường nuôi cấy khác nhau lên sự tăng sinh tảo Spirulina. Cấy 30 % tảo giống Spirulina vào 300 ml môi trường trong chai nước biển 500ml nuôi trong các điều kiện môi trường khác nhau bao gồm : môi trường 1 : môi trường cơ bản (Zarrouk), môi trường 2 : môi trường 1 ml rỉ đường + 16,8 g NaHCO₃, môi trường 3 : môi trường 1.5 ml rỉ đường + 16,8 g NaHCO₃. Sau 7 ngày nuôi cấy tiến hành thu hoạch tảo bằng lưới lọc và cân trọng lượng tảo tươi (mỗi chai nước biển lấy một mẫu tảo tươi).

Điều kiện nuôi cấy được giữ ổn định : nhiệt độ phòng nuôi : 34 – 37°C, pH = 8 – 11, thể tích môi trường nuôi cấy 300 ml, tốc độ sục khí 500 ml/ phút, cường độ ánh sáng 3000 – 3500 lux, chiếu sáng liên tục 24/24. Môi trường nuôi cấy và dụng cụ nuôi được hấp khử trùng bằng autoclave ở 1 atm trong 30 phút.

3.3.2 Phương pháp theo dõi chỉ tiêu chất lượng môi trường nuôi cấy và điều kiện nuôi cấy tảo Spirulina

Trong suốt quá trình nuôi cấy tiến hành theo dõi một số yếu tố môi trường nuôi cấy :

- Kiểm tra pH bằng giấy quỳ.
- Kiểm tra nhiệt độ phòng nuôi bằng nhiệt kế.

- Kiểm tra cường độ chiếu sáng bằng lux kế.

3.3.3 Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu thu được được xử lý bằng phần mềm excel và stagraphic 7.0.

3.4 Thiết kế máy khuấy dung tích nhỏ 40 –50 l

Máy khuấy dung tích nhỏ với các thông số sau :

- Tốc độ vòng quay từ 10 – 20 vòng/ phút.
- Khuấy trong môi trường dịch lỏng chứa tảo.
- Thể tích bình chứa từ 20 – 50 l
- Đường kính cánh khuấy từ

PHẦN IV : KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Các nhà khoa học trên thế giới đang nỗ lực trong công việc tìm kiếm các nguồn nguyên liệu mới, sạch và đảm bảo chất lượng để thay thế dần các nguồn nguyên liệu cũ. Tảo có thể là một trong những nguồn nguyên liệu cho ngành lương thực thực phẩm mới, nó không những chứa đầy đủ chất dinh dưỡng mà còn là một trong những dược liệu quý đến từ thiên nhiên. Đặc biệt là Spirulina, chúng dễ dàng trong công việc nuôi cấy, khả năng thu hoạch sinh khối cao, cả trong thao tác thông thường đến những kỹ thuật trong phòng thí nghiệm đều có khả năng áp dụng trên đối tượng này. Từ những công việc pha chế môi trường cơ bản chứa các thành phần hoá học phức tạp (Zarrouk) đến những môi trường nhân tạo đơn giản đều có thể sử dụng để nuôi Spirulina. Hoàn thiện dần các quy trình khảo sát việc tăng sinh khối Spirulina trong phòng thí nghiệm, nâng cao các hiệu suất của các công đoạn có thể tăng sinh khối tảo này ở qui mô công nghiệp.

4.1. Các thí nghiệm tăng sinh khối tảo

4.1.1 Một số yếu tố lý hoá ảnh hưởng đến thí nghiệm khảo sát tăng sinh khối Spirulina

Giống như các vi sinh vật thông thường, theo quy luật phát triển vi sinh vật nói chung, tảo nói riêng đều chịu sự ảnh hưởng, tác động bởi sự tham gia của các yếu tố lý cũng như hoá học.

Trong quá trình bố trí các thí nghiệm tăng sinh khối tảo một số thông số lý hoá được theo dõi chú yếu được trình bày ở bảng dưới :

Bảng 4.1 : Một số yếu tố lý hoá trong quá trình nuôi cấy:

Lần	Vị trí bố trí thí nghiệm	Nhiệt độ(°C)	pH	Tốc độ sục khí
1	Phòng thí nghiệm	34 – 37°C	8 - 11	500 ml/phút
2	Phòng thí nghiệm	35 – 37°C	8 – 11	500 ml/phút
3	Phòng thí nghiệm	34 – 37°C	8 – 11	500 ml/phút

4.1.1.1 Nhiệt độ

Nhiệt độ ảnh hưởng lên tất cả các quá trình sinh sống của cơ thể thực vật nói chung và của tảo *Spirulina* nói riêng. Ở nhiệt độ thấp quang hợp của tảo tương đối kém, cường độ quang hợp tăng theo sự tăng của nhiệt độ. Tuy nhiên việc tăng cao nhiệt độ lên quá nhiệt độ tối thích của tảo sẽ làm giảm sút quang hợp và dẫn đến ngừng hẳn quang hợp. Về nhiệt độ tối ưu đối với sinh trưởng của tảo theo các tác giả nó dao động trong khoảng 34 – 35°C, nhưng theo kết quả nghiên cứu của Viện sinh vật, Viện khoa học Việt Nam nhiệt độ tối thích cho sự phát triển của tảo là 32°C. (Nguyễn Anh Dũng, 1982).

Trong quá trình bố trí thí nghiệm theo kết quả khảo sát và theo dõi, nhiệt độ phòng thí nghiệm dao động từ 34 – 37°C, tảo phát triển mạnh, sinh khối đạt nhiều. Như vậy kết quả ghi nhận được về nhiệt độ trong cả quá trình thực hiện ở phòng thí nghiệm là phù hợp cho sự sinh trưởng, phát triển để tăng năng suất sinh khối tảo.

4.1.1.2 Độ pH

Theo Ciferri and Tiboni (1985), trong các hồ có nồng độ muối cao (đặc biệt là carbonat sodium có nguồn gốc trầm tích núi lửa), thí dụ các hồ thuộc Đông Phi, nước rất kiềm, pH \approx 9,4 – 11, *S. platensis* hiện diện một cách ưu thế. Do tính kiềm của môi trường tăng trưởng, sự nhiễm khuẩn trong dịch nuôi cấy *Spirulina* thấp hơn so với tảo

nuôi cấy chân hạch hay tế bào thực vật bậc cao với pH acid. (trích dẫn bởi Lê Thị Phương Hồng, 1996).

Tảo Spirulina thường sống tự nhiên ở vùng nước giàu NaHCO_3 và có pH = 8,5 – 11. Với giá trị pH cao như vậy rất thuận lợi cho việc nạp CO_2 vào môi trường nuôi cấy. (Nguyễn Anh Dũng, 1982).

Trong nuôi tảo lúc xuất phát thường sử dụng muối bicarbonat với pH hơi thấp (khoảng 8 – 8,5) sau đó pH tăng lên theo chiều phản ứng tạo OH^- , pH kiềm thích nghi với Spirulina nên hiệu quả của gắn giữ CO_2 tốt hơn so với nuôi tảo *chlorella* (ở pH trung tính hoặc acid), đó là một lợi thế của Spirulina. (Lê Đình Lãng, 1999).

Tuy vậy, sự nhiễm khuẩn không phải không xảy ra, rất là trong các ao nuôi cấy hở (open – pond culture), nếu các sợi tảo không được rửa nhiều lần với dung dịch sinh lý vô trùng (kết hợp với sự lọc hay ly tâm). Nếu dùng tảo làm thực phẩm, sự nhiễm khuẩn trên tảo sẽ gây nguy hiểm cho sức khoẻ con người. (Lê Thị Phương Hồng, 1996).

Việc bố trí thí nghiệm với thông số pH ghi nhận được từ 8 – 11 trong suốt thời gian nuôi cấy như vậy là rất thích hợp cho Spirulina *platensis* phát triển.

4.1.1.3 Tốc độ khuấy sục

Một điều đáng chú ý là tốc độ khuấy trộn ảnh hưởng đến mật độ tối ưu của tảo trong dung dịch. Trong điều kiện tự nhiên của mùa hè có độ chiếu sáng cao, khi nuôi không có khuấy trộn mật độ tảo nhân ban đầu tốt nhất là từ 0,8 – 1,1 g/l, trong điều kiện nuôi theo phương pháp bán công nghiệp có sục khí CO_2 mật độ tảo có thể giữ là 0,5 – 3 g/l. (Nguyễn Anh Dũng, 1982).

Trong điều kiện thực hiện việc khảo sát các ảnh hưởng ở phòng thí nghiệm tốc độ sục khí đo được là 500 ml/phút, có thể là phù hợp cho nuôi cấy tảo ở một lượng dung tích nhỏ. Vì vậy khi nuôi qui mô lớn hơn cần khảo sát thêm tác động của hệ thống sục khí và khuấy trộn đối với tốc độ tăng trưởng của Spirulina.

4.1.2 Ảnh hưởng của các phương pháp gây nuôi khác nhau lên sự gia tăng sinh khối, thu hoạch tảo Spirulina platensis

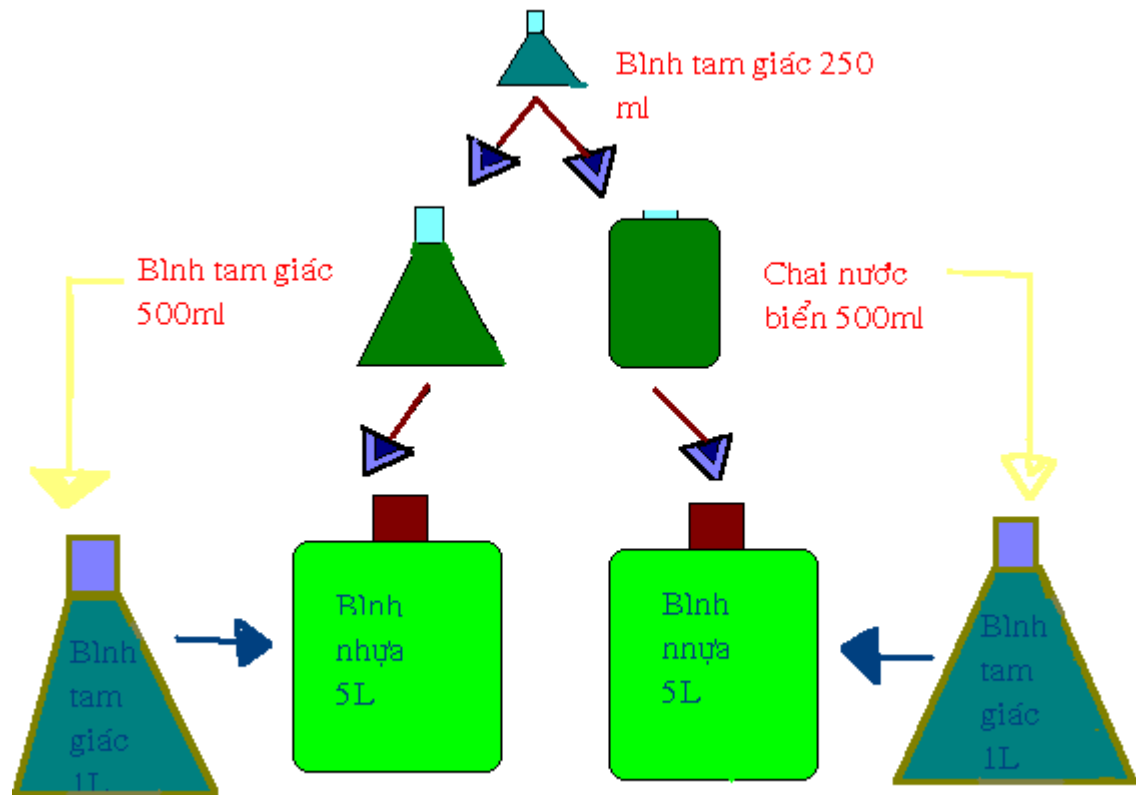
Có thể nói Spirulina là một trong những đối tượng được coi là có tiềm năng, bởi những ưu điểm nổi trội hơn so với các loài khác như, dễ nuôi, dễ thu sinh khối, phục vụ

các mục đích nghiên cứu từ khoa học cơ bản đến khoa học ứng dụng thực tiễn cao. Vì vậy các thử nghiệm áp dụng trên đối tượng này rất nhiều, người ta pha chế các môi trường nhân tạo khác nhau với các thành phần đơn giản để kiểm tra đầy đủ các dưỡng chất nhằm tăng sinh khối của Spirulina. Ngoài ra người ta còn kích thích nhiều biện pháp nhằm tăng sinh khối của tảo ở các phương diện khác nhau, từ đó tìm ra các điểm tối ưu trong các điều kiện như về nhiệt độ, ánh sáng, tốc độ khuấy sục môi trường... phù hợp với điều kiện nuôi trồng rộng rãi ở từng nơi.

Qua khảo sát nhận thấy về đặc điểm nuôi trồng Spirulina chúng ta dễ dàng nhận ra ảnh hưởng của các điều kiện nuôi cấy là một trong những vấn đề cần quan tâm trong việc tăng sinh khối. Điều kiện nuôi đó cụ thể phải được chú ý và quan tâm nhiều hơn bao gồm các thành phần dưỡng chất trong môi trường nuôi cấy, nhiệt độ, ánh sáng độ pH,... khi xem xét cần đặc biệt tìm hiểu ảnh hưởng tác động riêng cũng như cộng gộp của các nhân tố trên trong quá trình nuôi cấy tảo Spirulina.

Spirulina cũng là một trong những loài khả năng thu hoạch cao và dễ dàng. Người ta có thể thu hoạch chúng bằng các biện pháp ly tâm, lắng, tủa với hoá chất... đến các phương pháp đơn giản cũng có thể thực hiện được, như phương pháp dùng các vải lọc hay lưới lọc với đường kính lỗ lọc phù hợp đã có thể thu được một lượng tảo theo ý muốn.

Tuy nhiên điều đáng quan tâm hơn cả trong việc nuôi tăng sinh khối Spirulina đó là khi thu hoạch một lượng tảo tươi, thường phần nước còn lại trong môi trường nuôi có tính nhớt của kiềm rất cao, tảo thường có mùi tanh rất nồng. Khả năng tồn tại một lượng dư thừa nào đó của các muối kim loại mang tính bazơ trong tảo cũng như trong môi trường nước còn lại là rất cao, ảnh hưởng tới ô nhiễm môi trường. Vì vậy vấn đề đặt ra nếu dùng tảo vào làm nguồn thực phẩm cho người và động vật thì cần phải giảm được các ảnh hưởng nêu trên.



Hình 4. 1: Sơ đồ nhân sinh khối Spirulina từ nguồn tảo giống ban đầu

Quy trình nhân nhanh sinh khối của Spirulina được miêu tả ở hình 4.1 là : từ lượng tảo giống ban đầu nuôi trong bình tam giác 250ml, sau đó thực hiện các lần cấy chuyển, nuôi trong bình tam giác 500ml hoặc chai nước biển 500 ml chuyển sang nuôi trong bình tam giác 1L, nhân sinh khối rồi cấy sang bình nhựa 5L. Thu nước tảo ở bình nhựa 5L rồi chuyển sang nuôi trong các thể tích chứa lớn như 10L, 20L,...ta sẽ thu được lượng sinh khối tảo theo mong muốn.

4.1.2.1 Thí nghiệm 1 : Thí nghiệm đánh giá ảnh hưởng của nồng độ nuôi cấy ban đầu lên khả năng thu hoạch tảo

Để khảo sát ảnh hưởng của nồng độ nuôi cấy ban đầu lên khả năng thu hoạch tảo, tiến hành cấy tảo giống *Spirulina platensis* ở ba nồng độ khác nhau 20%, 25%, 30% vào 300 ml môi trường dinh dưỡng cơ bản (Zarrouk). Thí nghiệm được thực hiện lặp lại ba lần, mỗi nghiệm thức tiến hành nuôi trong 3 chai nước biển. Sau 7 ngày nuôi cấy tiến

hành thu hoạch bằng lưới lọc và cân trọng lượng tươi (mỗi chai nước biển lấy một mẫu tảo tươi).



Hình 4. 2 : Tảo giống được trữ trong điều kiện lạnh trước khi đem ra tiến hành các thí nghiệm.



Hình 4. 3 : Tảo nuôi trong thí nghiệm 1 ở ngày thứ 5

Bảng 4. 2: Trọng lượng tảo tươi thu được sau 7 ngày nuôi cấy (Số g tảo tươi/1L môi trường) ở thí nghiệm 1

Đợt TN	Nồng độ tảo cấy ban đầu								
	20 %			25 %			30%		
Đợt I	10	13	10	13	13	17	17	13	17
Đợt II	7	10	10	13	13	17	17	17	17
Đợt III	13	10	7	10	17	10	17	17	20

Nhìn chung, trọng lượng tảo tươi tăng dần theo chiều tăng của nồng độ, nồng độ nuôi cấy ban đầu càng cao thì trọng lượng tảo tươi thu hoạch được càng nhiều. Điều này là đúng với quy luật và kết quả thí nghiệm rất phù hợp với nhiều nhận định của các tác giả khác. Ở các khoảng nồng độ nuôi cấy khác nhau, khi bổ sung đầy đủ môi trường dinh dưỡng và ổn định điều kiện nhiệt độ phòng thí nghiệm từ 34 – 37°C, pH = 8 – 11, tốc độ khuấy sục 500 ml/phút, cường độ ánh sáng 3000 – 3500 lux, thì tảo phát triển mạnh sinh khối nhiều.



Hình 4. 4 : Tảo nuôi trong thí nghiệm 1 ở ngày thu hoạch thứ 7

Qua sự quan sát trực tiếp màu của dịch tảo trong môi trường nuôi ở phòng thí nghiệm nhận thấy ở nồng độ nuôi cấy ban đầu 30% thì màu tảo là xanh đậm hơn so với ở 20%, 25% tảo có màu xanh nhạt hơn.

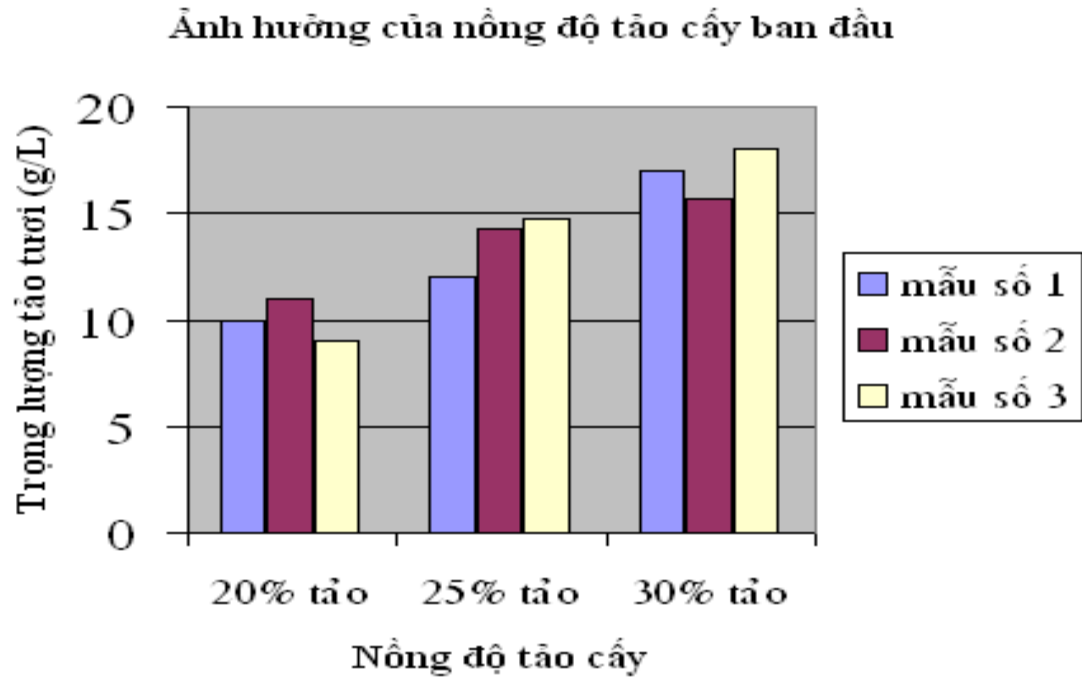
Theo nghiên cứu của thạc sỹ Lê Thị Phương Hồng năm 1996 thì từ ngày thứ 5 - 7 là giai đoạn tảo *Spirulina platensis* kéo dài tới đa sợi tảo, trong giai đoạn này chiều dài sợi tảo đạt tới mức tối đa.

Có lẽ vì vậy nên trọng lượng tảo thu hoạch ở ngày thứ bảy sẽ có khả năng là nhiều nhất so với các ngày khác .

Theo xử lý số liệu bằng stagraphic khẳng định có sự khác biệt về trọng lượng tảo tươi thu hoạch ở các nồng độ cấy ban đầu là 20%, 25%, 30% về phương diện thống kê học ($P < 0,05$).



Hình 4. 5 : Hình thái sợi tảo *Spirulina platensis* quan sát ở x400



Đồ thị 4. 1 : Biểu đồ so sánh trọng lượng tảo tươi thu được ở các nồng độ nuôi cấy ban đầu khác nhau (20%, 25%, 30%).

Nhận xét : theo biểu đồ trên thì ở khoảng nồng độ nuôi cấy ban đầu là 30% thì khả năng thu hoạch tảo là nhiều nhất với chu kỳ 7 ngày.

Tóm lại với điều kiện nhiệt độ phòng thí nghiệm từ 34 – 37°C, pH= 8 – 11, tốc độ khuấy sục 500 ml/phút, cường độ ánh sáng 3000 – 3500 lux thì ở khoảng nồng độ nuôi cấy ban đầu là 30% khả năng thu hoạch sinh khối tảo tươi là nhiều nhất, tảo có màu xanh đậm hơn so với các khoảng nồng độ 20%, 25% với chu kỳ thu hoạch là 7 ngày.

4.1.2.2 Thí nghiệm 2 : Thí nghiệm đánh giá ảnh hưởng của chế độ chiếu sáng lên sự tăng sinh khối tảo

Để khảo sát ảnh hưởng của chế độ chiếu sáng lên sự tăng sinh khối tảo, tiến hành cấy tảo giống *Spirulina platensis* ở nồng độ 30% vào 300 ml môi trường dinh dưỡng cơ bản (Zarrouk) đặt trong các điều kiện chiếu sáng khác nhau : 1500 – 1750 lux, 3000 – 3500 lux, 4500 – 5250 lux. Thí nghiệm được thực hiện lặp lại ba lần, mỗi nghiệm thức tiến hành nuôi trong 3 chai nước biển. Sau 7 ngày nuôi cấy tiến hành thu hoạch bằng lưới lọc và cân trọng lượng tảo tươi (mỗi chai nước biển lấy một mẫu tảo tươi).

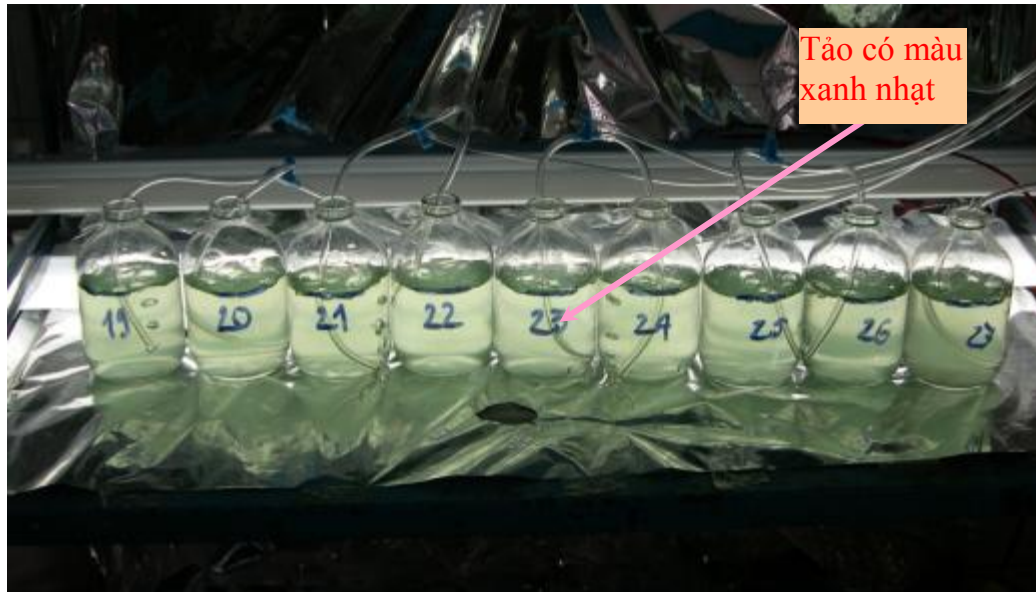
Bảng 4. 3 : Trọng lượng tảo tươi thu được sau 7 ngày nuôi cấy (Số g tảo tươi/1L môi trường) ở thí nghiệm 2

Đợt	Cường độ chiếu sáng khác nhau								
	1500 – 1750 lux			3000 – 3500 lux			4500 – 5250 lux		
Đợt I	17	17	20	20	17	20	23	27	20
Đợt II	17	17	13	23	23	20	17	17	10
Đợt II	20	20	13	20	20	20	17	23	23

Theo kết quả trên với việc xử lý bằng stagraphic thì trọng lượng tảo tươi thu được ở các điều kiện chế độ chiếu sáng khác nhau là có sự khác biệt về phương diện thống kê học ($P < 0,05$). Và giữa các chế độ chiếu sáng khác nhau 1500 – 1750 lux với 3000 – 3500 lux, 3000 – 3500 lux với 4500 – 5250 lux, hay 1500 – 1750 lux với 4500 – 5250 lux thì trọng lượng tảo tươi thu được cũng có sự khác nhau.



Hình 4. 6 : Tảo *Spirulina platensis* nuôi ở ngày thứ 5 trong điều kiện ánh sáng từ 3000 – 3500lux



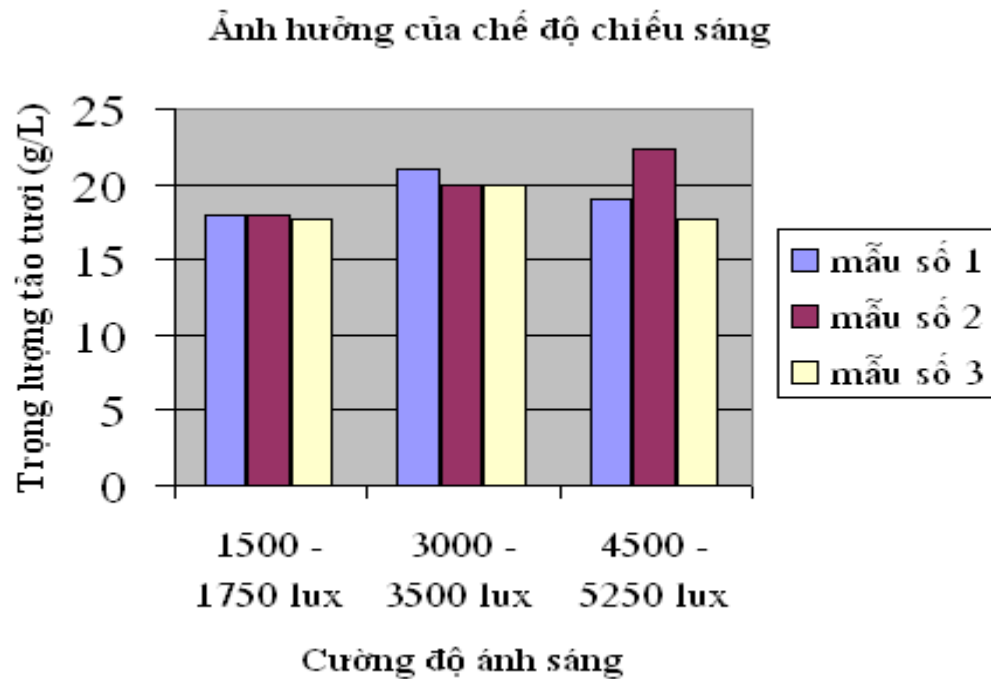
Hình 4. 7: Tảo nuôi ở điều kiện ánh sáng 1500 – 1750 lux trong ngày 1 của thí nghiệm



Hình 4. 8 : Tảo nuôi ở điều kiện ánh sáng 1500 – 1750 lux trong ngày 5 của thí nghiệm

Tảo lam có thể sinh trưởng tốt trong điều kiện chiếu sáng từ 1000 – 4500 lux.(Nguyễn Anh Dũng, 1982). Trong thí nghiệm bố trí kết quả thu được khẳng định Spirulina có thể sống sinh trưởng và phát triển được khi cường độ ánh sáng chiếu từ

1500 – 5250 lux. Điều này là tương đối phù hợp với nhận định của các tác giả nhau trong điều kiện phòng thí nghiệm.



Đồ thị 4. 2 : Biểu đồ so sánh trọng lượng tảo tươi thu được ở điều kiện cường độ chiếu sáng khác nhau (1500 – 1750 lux, 3000 – 3500 lux, 4500 – 5250 lux).

Nhận xét : nhìn vào biểu đồ ta thấy ở điều kiện chiếu sáng 1500 – 1750 lux và 3000 – 3500 lux thì trọng lượng tảo tươi thu được là tương đối ổn định hơn so với nghiệm thức còn lại 4500 – 5250 lux qua ba đợt thí nghiệm. Theo một số ý kiến của các nhà khoa học thì tảo *Spirulina platensis* sinh trưởng mạnh ở điều kiện chiếu sáng từ 3000 – 3500 lux. Và nhìn chung kết quả thí nghiệm thu được cũng khẳng định tảo *Spirulina platensis* phát triển mạnh đạt sinh khối nhiều và ổn định ở điều kiện chiếu sáng từ 3000 – 3500 lux, trong điều kiện nuôi ở phòng thí nghiệm với các thông số nhiệt độ phòng 34 – 37°C, pH = 8 – 11, tốc độ khuấy sục 500 ml/phút.

4.1.2.3 Thí nghiệm 3 : Thí nghiệm đánh giá ảnh hưởng của khối lượng muối bicarbonat trong môi trường nuôi cấy lên sự tăng sinh khối tảo Spirulina

Để khảo sát ảnh hưởng của khối lượng muối bicarbonat trong môi trường nuôi cấy lên sự tăng sinh khối tảo *Spirulina*, tiến hành cấy tảo giống *Spirulina platensis* ở nồng độ 30% vào 300 ml môi trường dinh dưỡng cơ bản (Zarrouk) đặt trong các điều

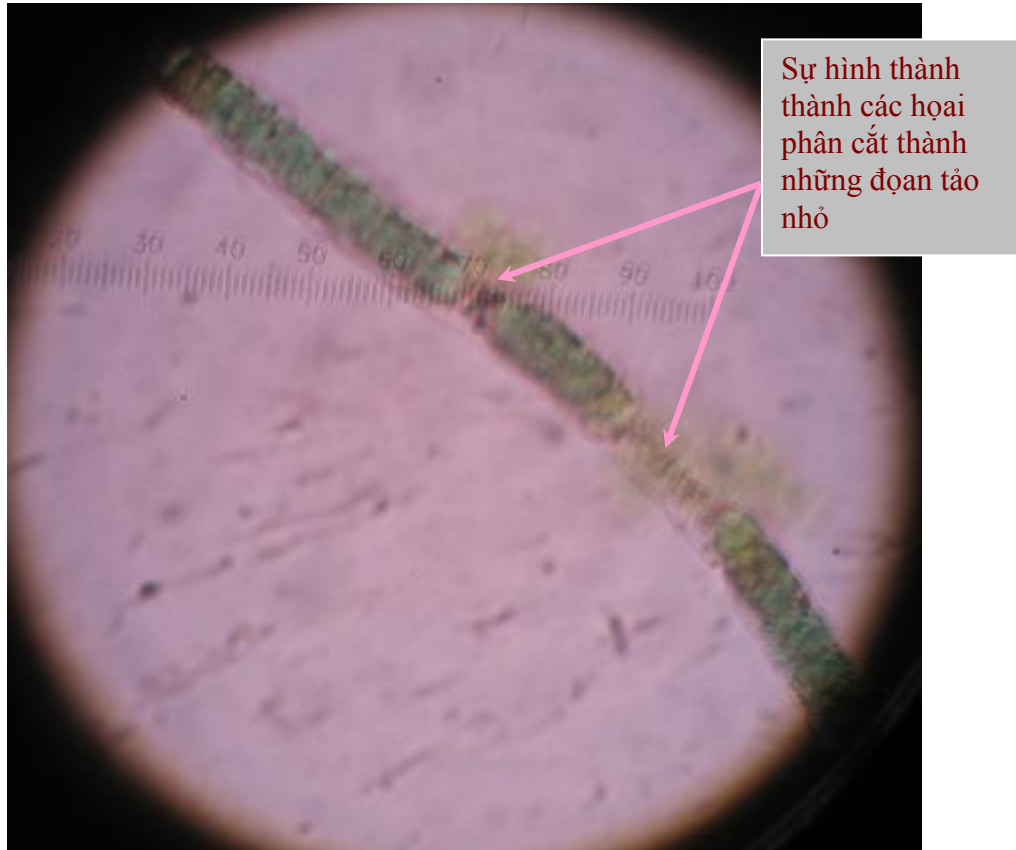
kiện môi trường chứa 16g NaHCO₃, 16,8g NaHCO₃, 17g NaHCO₃. Thí nghiệm được thực hiện lặp lại ba lần, mỗi nghiệm thức tiến hành nuôi trong 3 chai nước biển. Sau 7 ngày nuôi cấy tiến hành thu hoạch bằng lưới lọc và cân trọng lượng tảo tươi (mỗi chai nước biển lấy một mẫu tảo tươi).

Bảng 4. 4 : Trọng lượng tảo tươi thu được sau 7 ngày nuôi cấy (Số g tảo tươi/1L môi trường) ở thí nghiệm 3

Đợt TN	Nồng độ muối NaHCO ₃								
	16g			16,8g			17g		
Đợt I	20	20	17	10	13	20	17	20	17
Đợt II	17	13	13	20	17	20	17	17	17
Đợt III	17	17	17	20	17	17	17	27	13

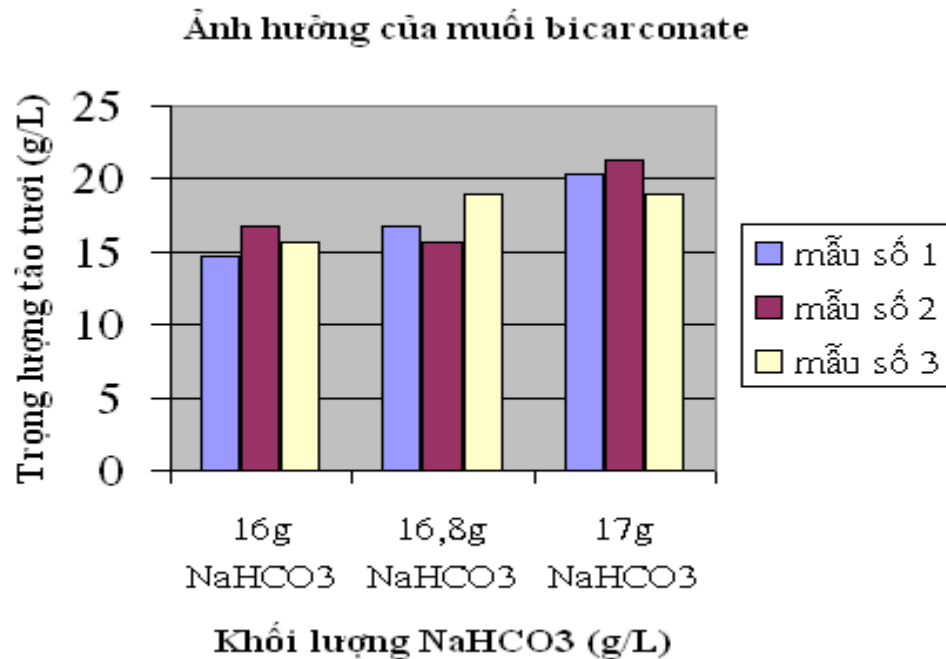
Kết quả thu được chứng tỏ Spirulina đều có khả năng sinh trưởng và phát triển tốt trong các điều kiện môi trường có chứa 16g NaHCO₃, 16,8g NaHCO₃, 17g NaHCO₃

Tuy nhiên xử lý số liệu với phần mềm stagraphic thấy trọng lượng tảo tươi thu được nuôi trong điều kiện môi trường có chứa 16g NaHCO₃, 16,8g NaHCO₃, 17g NaHCO₃ là có sự khác biệt về phương diện thống kê học ($P < 0,05$). Tức là sự phát triển của tảo trong điều kiện môi trường có chứa lượng muối NaHCO₃ khác nhau (16g NaHCO₃, 16,8g NaHCO₃, 17g NaHCO₃) là khác nhau.



Hình 4. 9 : Sự hình thành các thể hoại bào màu vàng của *Spirulina platensis*

Kết quả thu được đồng nghĩa với việc có thể nuôi *Spirulina platensis* ở các điều kiện môi trường có chứa từ 16 – 17g NaHCO_3 . Theo lý thuyết thì *Spirulina platensis* có thể sống được trong môi trường có chứa từ 1,2 – 16,8 g NaHCO_3 . Vậy kết quả thực nghiệm khảo sát là tương đối phù hợp với thí nghiệm đã đưa ra.



Đồ thị 4.3 : Biểu đồ so sánh trọng lượng tảo tươi thu được ở điều kiện môi trường chứa hàm lượng muối bicarbonat khác nhau (16g NaHCO₃, 16,8g NaHCO₃, 17g NaHCO₃).

Nhận xét : từ biểu đồ trên nhận thấy ở môi trường chứa 17g NaHCO₃ thì trọng lượng tảo tươi thu hoạch được là nhiều nhất và chất lượng tương đối ổn định qua ba lần thí nghiệm. Như vậy nuôi *Spirulina platensis* ở trong phòng thí nghiệm với việc kiểm soát và ổn định một số yếu tố nhiệt độ phòng 34 – 37°C, pH = 8 – 11, cường độ ánh sáng 3000 – 3500 lux, tốc độ khuấy sục 500 ml/phút thì môi trường có thể chứa lượng muối bicarconat từ 16 – 17g NaHCO₃ tảo vẫn sinh trưởng phát triển tốt, sinh khối thu được cao.

4.1.2.4 Thí nghiệm 4 : Thí nghiệm đánh giá ảnh hưởng của các môi trường nuôi cấy khác nhau lên sự tăng sinh khối tảo *Spirulina*:

Để khảo sát ảnh hưởng của các môi trường nuôi cấy khác nhau lên sự tăng sinh khối tảo *Spirulina*, tiến hành cấy tảo giống *Spirulina platensis* ở nồng độ 30% vào 300 ml môi trường dinh dưỡng khác nhau bao gồm : môi trường 1 : môi trường cơ bản (Zarrouk), môi trường 2 : môi trường 1 ml rỉ đường + 16,8 g NaHCO₃, môi trường 3 : môi trường 1,5 ml rỉ đường + 16,8 g NaHCO₃. Thí nghiệm được thực hiện lặp lại ba lần,

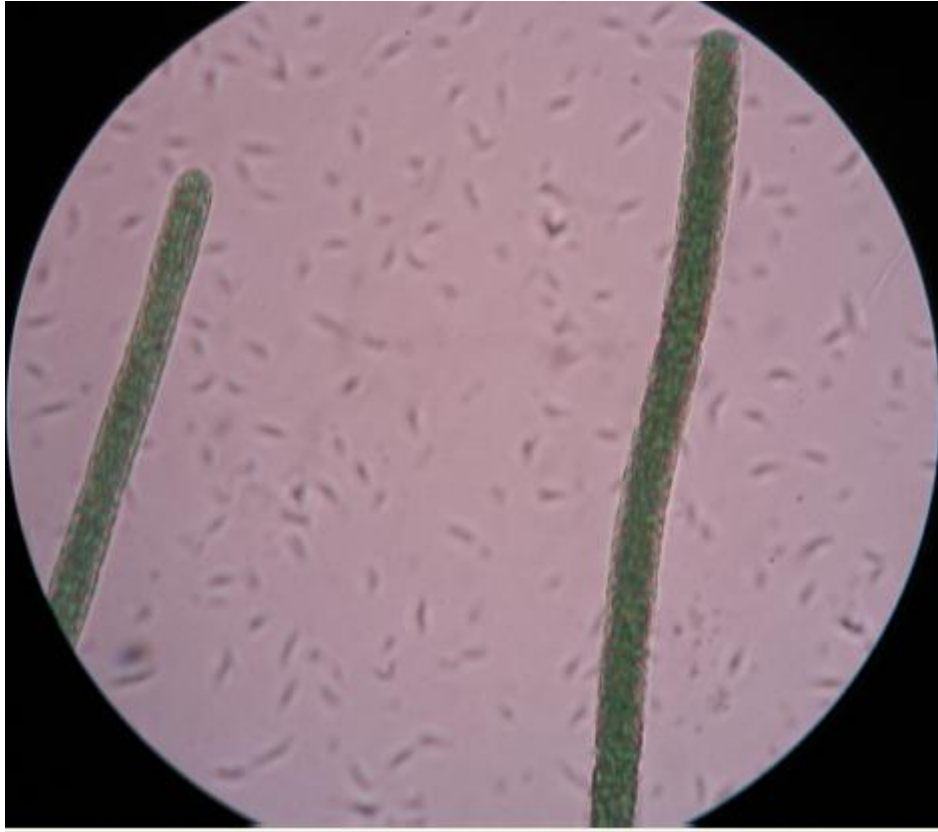
mỗi nghiệm thức tiến hành nuôi trong 3 chai nước biển. Sau 7 ngày nuôi cấy tiến hành thu hoạch bằng lưới lọc và cân trọng lượng tảo tươi (mỗi chai nước biển lấy một mẫu tảo tươi).

Bảng 4. 5 : Trọng lượng tảo tươi thu được sau 7 ngày nuôi cấy (Số g tảo tươi/1L môi trường) ở thí nghiệm 4

Đợt TN	Các môi trường nuôi cấy								
	Môi trường cơ bản (Zarrouk)			Môi trường 1 ml rỉ đường + 16.8 g NaHCO ₃			Môi trường 1,5 ml rỉ đường + 16.8 g NaHCO ₃		
Đợt I	20	20	23	13	17	23	23	23	17
Đợt II	23	17	23	27	23	20	13	13	10
Đợt II	23	13	13	20	17	17	17	20	20

Kết quả thu được đồng nghĩa với việc tảo *Spirulina platensis* có thể sinh trưởng và phát triển tốt trong cả 3 loại môi trường (môi trường cơ bản (Zarrouk), môi trường 1 ml rỉ đường + 16,8 g NaHCO₃, môi trường 1,5 ml rỉ đường + 16,8 g NaHCO₃).

Có sự khác biệt về phương diện thống kê học ($P < 0,05$) trọng lượng tảo tươi thu được nuôi trong điều kiện các môi trường khác nhau (môi trường cơ bản (Zarrouk), môi trường 1 ml rỉ đường + 16,8 g NaHCO₃, môi trường 1,5 ml rỉ đường + 16,8 g NaHCO₃) khi xử lý số liệu với phần mềm stagraphic. Tức là sự phát triển sinh khối của tảo trong các môi trường khác nhau là khác nhau.



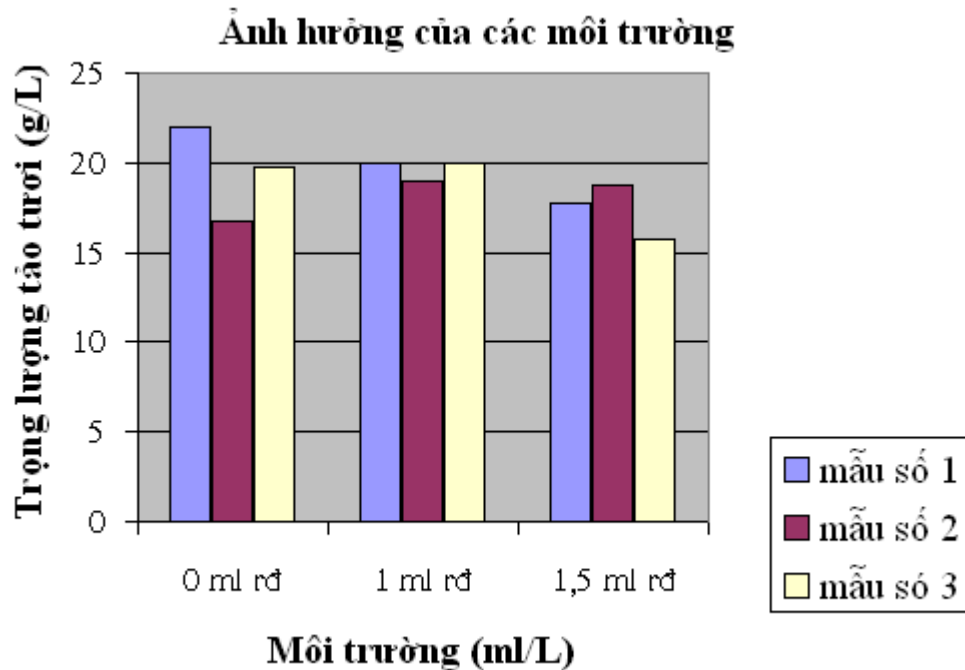
**Hình 4. 10 : Hình thái sợi tảo trong môi trường có sử dụng rỉ đường 1ml
quan sát ở x400**



Sự hình thành các bọt khí không tan trong chai tảo do sinh khối phát triển nhiều

Hình 4. 11 : Khả năng lên sinh khối cao và đặc của tảo trong môi trường 1ml rỉ đường + 16,8g NaHCO₃

Người ta nghiên cứu và tìm ra rất nhiều các môi trường nhân tạo đơn giản dễ kiếm mà vẫn đầy đủ dưỡng chất cho sự phát triển của tảo *Spirulina platensis*, và môi trường rỉ đường cũng có thể là một trong những môi trường có thể thay thế môi trường cơ bản. Vậy kết quả thực nghiệm khảo sát là tương đối phù hợp với thí nghiệm đã đưa ra.



Đồ thị 4. 4 : Biểu đồ so sánh trọng lượng tảo tươi thu được ở điều kiện môi trường khác nhau (môi trường cơ bản (Zarrouk), môi trường 1 ml rỉ đường + 16,8 g NaHCO₃, môi trường 1,5 ml rỉ đường + 16,8 g NaHCO₃).

Nhận xét : từ biểu đồ trên nhận thấy ở môi trường chứa 1ml rỉ đường + 16,8g NaHCO₃ thì trọng lượng tảo tươi thu hoạch được là nhiều nhất và chất lượng tương đối ổn định qua ba lần thí nghiệm. Như vậy nuôi *Spirulina platensis* ở trong phòng thí nghiệm với việc kiểm soát và ổn định một số yếu tố nhiệt độ phòng 34 – 37°C, pH = 8 – 11, cường độ ánh sáng 3000 – 3500 lux, tốc độ khuấy sục 500 ml/phút thì có thể dùng môi trường 1 ml rỉ đường + 16,8 g NaHCO₃ thay thế cho môi trường cơ bản (Zarrouk) mà tảo vẫn sinh trưởng phát triển tốt, sinh khối thu được cao.

4.2 Phương pháp thu hoạch tảo

Trong quá trình làm thí nghiệm nhận thấy *Spirulina* là một trong những đối tượng dễ dàng thu hoạch bằng các lưới lọc với đường kính lỗ thích hợp. Có thể nói lưới lọc là công cụ thu hoạch tảo vừa tiện lợi vừa dễ kiểm, mà chi phí lại không cao quá. Việc thu hoạch tảo tốt, hiệu quả cao thì sinh khối thu được là một điều hết sức đơn giản cho các công đoạn chế biến tảo sau này.

Trên thế giới, người ta thu hoạch tảo theo nhiều phương pháp khác nhau.

♦ Phương pháp ly tâm với việc sử dụng chất lắng đọng

Theo Glueke và Oswald (1965) đã nghiên cứu ảnh hưởng của phèn, cacbonmetyl-xenluloz bentonid và vôi đến hiệu quả thu hồi tảo bằng phương pháp ly tâm, họ đã rút ra kết luận là khi cho các chất phụ gia đó vào dung dịch và đưa độ pH tới 6,8 thì việc thu hồi tảo bằng việc ly tâm khá tốt.

Nhưng giá thành khi thu hoạch tảo có thể sử dụng phụ gia khá cao, chứng tỏ phương pháp này không kinh tế.

♦ Phương pháp kết tụ và tuyển nổi

Nhiều nhà khoa học đã sử dụng thành công phương pháp kết tụ và tuyển nổi để thu hoạch tảo. Theo phương pháp này đầu tiên người ta cho phèn (là chất kết tụ) để kết tụ tảo lại sau đó sục không khí vào để các cụm kết tủa đó nổi lên và người ta vớt ra ngoài. Tuy nhiên theo phương pháp này phải tiêu tốn khá nhiều hoá chất (liều lượng phèn tới 70 – 100 mmg/1 lít dung dịch), do hàm lượng phèn cao như vậy trong sản phẩm có thể gây độc hại đối với các động vật nuôi.

♦ Phương pháp tự kết tủa

Tự kết tủa là hiện tượng lắng đọng tảo sau một thời gian nuôi cấy do độ pH tăng lên rất cao. Vì tảo tiêu thụ CO_2 nên độ pH tăng lên dần dần tới việc kết tủa của hydroxyt magie ($\text{Mg}(\text{OH})_2$) và carbonatcanxi (CaCO_3) sẽ kéo theo tảo lắng xuống. Việc thu hoạch tảo theo phương pháp này có một số nhược điểm : do thu hoạch bằng lắng trọng lực dẫn tới yêu cầu phải tuyệt đối tĩnh, nhiệt độ và thời tiết có thể ảnh hưởng tới việc tăng cao pH do đó ảnh hưởng tới việc lắng đọng tảo, mặt khác theo phương pháp này cần một diện tích khá rộng.

♦ Phương pháp kết hợp nhờ tác dụng của trọng lực và lọc ly tâm

Năm 1967 công ty SOSA (Mêhicô) đưa ra một phương pháp thu hoạch tảo khá kinh tế : Dịch tảo đầu tiên được lọc trên các tấm nghiêng nhờ tác dụng của trọng lực. Sau đó dịch tảo được lọc tinh trên máy lọc trống quay hoặc ly tâm. Theo phương pháp này không phải tiêu tốn hoá chất, sản phẩm tảo thu được đảm bảo vệ sinh, sạch sẽ, thiết bị thu hoạch khá đơn giản. (Nguyễn Anh Dũng, 1982).



Hình 4. 12: Tảo *Spirulina Platensis* thu hoạch bằng lưới lọc

Như vậy theo kết quả thực nghiệm thí nghiệm và thống kê các phương pháp đưa ra, thì vấn đề thu hoạch tảo bằng lưới lọc là phù hợp với các thí nghiệm dung tích nhỏ trong điều kiện phòng thí nghiệm. Lưới lọc với đường kính lỗ lọc phù hợp đảm bảo được các thông số như đảm bảo vệ sinh, an toàn, hiệu quả, không gây độc hại, thiết bị đơn giản ít tốn kém kinh tế.

4.3 Máy khuấy dung tích nhỏ

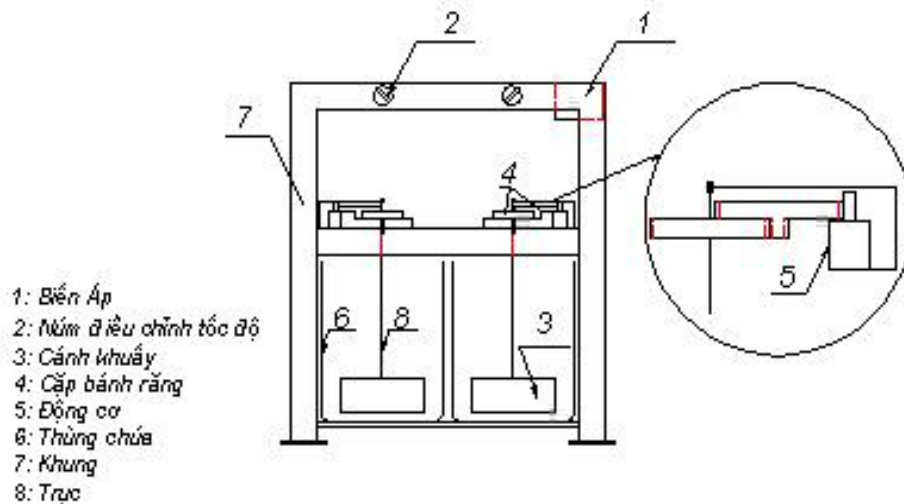
4.3.1 Nguyên tắc cấu tạo

Thiết bị khuấy gồm các bộ phận cơ bản sau :

Thùng khuấy hay còn gọi là thùng chứa (6) hình trụ với đáy tròn, được làm từ thùng nước thể tích tối đa có thể chứa là 21L, bên trong là môi trường dịch lỏng nuôi tảo chứa đầy đủ các chất dinh dưỡng cần thiết. Theo đường tâm của thùng lắp trục khuấy (8) với cánh khuấy (3). Trục khuấy xuyên qua nắp và để hở phần trên bởi một trong hai chiếc trong cặp bánh răng (4). Truyền chuyển động cho trục khuấy từ động cơ (5) qua núm điều chỉnh tốc độ (2) để tạo tốc độ thích hợp cho cánh khuấy. Biện nắp (1) có nhiệm vụ ổn định khi dòng điện chạy qua tới và làm quay động cơ. Khung số (7) có tác dụng nâng

đỡ và điêm tựa cho toàn bộ thiết bị khuấy, bên trên có đậy nắp bằng bìa cactong cứng để giảm sự ảnh hưởng của điều kiện bên ngoài tới môi trường nuôi.

Thiết bị khuấy dung tích nhỏ này được chế tạo theo dạng hờ, tức là không có sự ngăn cách giữa môi trường nuôi tảo với môi trường bên ngoài.



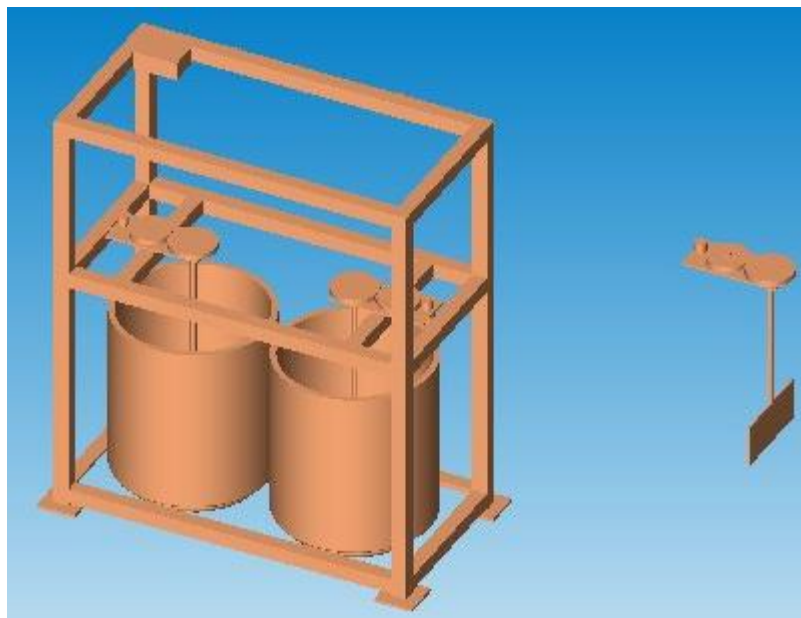
Hình 4. 13 : Nguyên tắc cấu tạo máy khuấy

4.3.2 Nguyên lý hoạt động

Khi có dòng điện xoay chiều chạy qua biến áp chuyển đổi thành dòng một chiều làm quay động cơ. Động cơ truyền chuyển động và làm quay trục khuấy thông qua truyền chuyển động cho cặp bánh răng. Cánh khuấy được gắn một cách chắc chắn ở trục khuấy, vì vậy khi trục khuấy quay kéo theo sự quay của cánh khuấy tạo chuyển động tròn trong dung dịch nuôi của thùng chứa. Như vậy trong môi trường nuôi tảo sẽ hình thành một khối dịch lỏng chuyển động thống nhất, chất dinh dưỡng sẽ gặp tiếp xúc với tảo ở các vị trí khác nhau, không làm lắng đọng tảo, tảo sẽ sinh trưởng và phát triển tốt.



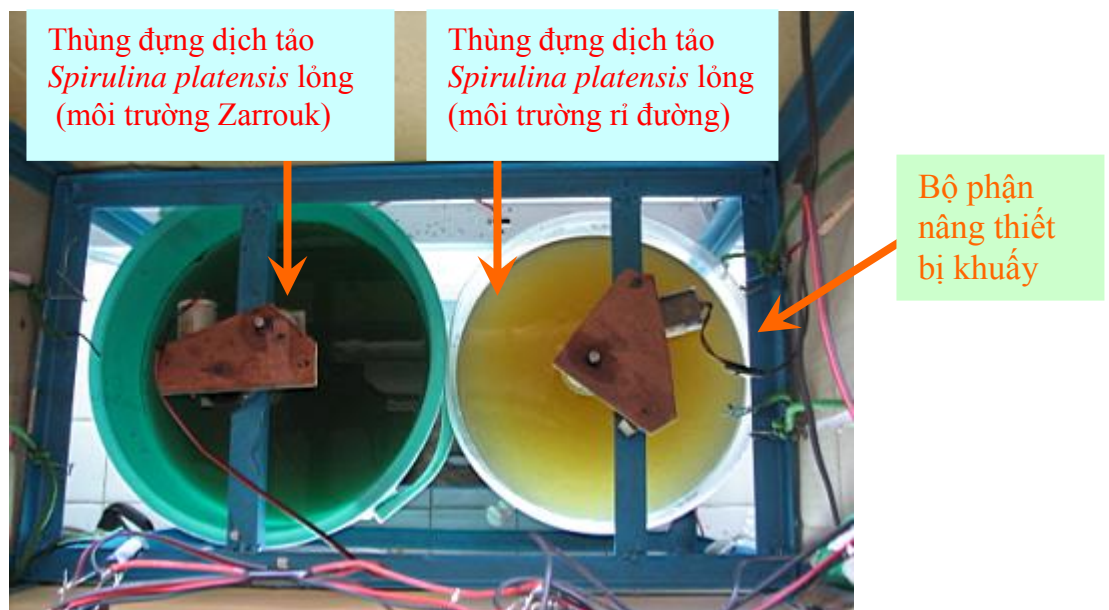
Hình 4. 14: Nuôi tảo trong các bình nhựa thể tích 10L



Hình 4. 15: Mô hình 3D máy khuấy dung tích nhỏ

4.3.3 Ứng dụng nuôi tảo thể tích nhỏ

Với thể tích chứa trong bình chứa từ 20 – 50 L, máy khuấy tảo này có thể áp dụng để nuôi *Spirulina platensis* trong phòng thí nghiệm. Nếu thùng chứa là thùng nhựa dung tích tối đa khoảng 20 L, đặt được hai thùng trong khung của máy khuấy với một khoảng cách thích hợp như hình 4.15, mỗi thùng sẽ được khuấy với các cánh khuấy riêng. Nhờ vậy, trong mỗi thùng dung dịch tảo sẽ là một hỗn hợp chuyển động đồng nhất dưới tác dụng của thiết bị khuấy, tránh được hiện tượng phân tầng tảo trong dịch nuôi cấy. Khi thu hoạch sinh khối tảo có thể nâng phần giá đỡ hệ thống của thiết bị khuấy, hai thùng môi trường nuôi tảo sẽ được kéo ra dễ dàng, thuận tiện cho việc bổ sung môi trường cũng như cung cấp giống hay thu hoạch tảo. Ngoài ra ta có thể thay hệ thống hai thùng chứa bằng một tủ kính chứa bằng kính dung tích từ 20 – 50L, khi đó sẽ hình thành hai luồng chuyển động của dịch tảo trong tủ kính, tảo sẽ có điều kiện tiếp xúc với chất dinh dưỡng sinh trưởng và phát triển ổn định.



Hình 4. 16: Máy khuấy ứng dụng nuôi tảo *Spirulina platensis*

PHẦN V : KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

5.1 Kết luận

Qua quá trình khảo sát bằng thực nghiệm một số phương pháp tăng sinh khối tảo *Spirulina platensis* qui mô phòng thí nghiệm chúng tôi rút ra một số kết luận sau :

5.1.1 Thí nghiệm tăng sinh khối *Spirulina platensis*

- Với các khoảng nồng độ nuôi cấy ban đầu thì sự gia tăng sinh khối tảo tỷ lệ thuận với nồng độ nuôi cấy. Cụ thể nồng độ cấy tảo giống ban đầu là 20%, 25%, 30% thì ở 30% trọng lượng tảo tươi thu hoạch được nhiều nhất, và tảo có màu xanh đậm hơn so với ở nồng độ 20%, 25%. Như vậy có sự ảnh hưởng của nồng độ tảo giống ban đầu tới khả năng thu hoạch tảo tươi.

- Ánh sáng ảnh hưởng đến sự gia tăng sinh khối tảo. Với các nghiệm thức 1500 – 1750 lux, 3000 - 3500 lux, 4500 – 5250 lux hằng định tảo *Spirulina platensis* có thể sống và sinh trưởng tốt, trong điều kiện cường độ ánh sáng từ 1500 – 5250 lux. Trong đó ở khoảng cường độ từ 3000 – 3500 lux tảo sinh trưởng và phát triển mạnh và tốt nhất.

- Hàm lượng muối bicarbonat trong môi trường nuôi cấy có ảnh hưởng tới khả năng tăng sinh khối tảo. Tảo *Spirulina platensis* có thể sống và tồn tại, phát triển mạnh trong điều kiện môi trường dinh dưỡng có chứa hàm lượng NaHCO_3 từ 16 – 17g. Ở điều kiện môi trường chứa 17g NaHCO_3 , thì trọng lượng tảo tươi thu được nhiều nhất và chất lượng tương đối ổn định qua ba lần lặp lại thí nghiệm.

- Môi trường khác nhau có ảnh hưởng tới việc tăng sinh khối tảo (môi trường Zarrouk, môi trường 1 ml rỉ đường + 16,8 g NaHCO_3 , môi trường 1,5 ml rỉ đường + 16,8g NaCHO_3). *Spirulina platensis* có thể tăng sinh và phát triển tốt trong cả ba loại môi trường trên. Môi trường 1 ml rỉ đường + 16,8 g NaHCO_3 và môi trường 1,5 ml rỉ đường + 16,8g NaCHO_3 có thể thay thế được môi trường cơ bản Zarrouk mà hàm lượng sinh khối tảo vẫn cao. Trong đó môi trường 1 ml rỉ đường + 16,8 g NaHCO_3 trọng lượng tảo tươi thu hoạch được là nhiều và tương đối ổn định hơn so với hai môi trường còn lại.

5.1.2 Phương pháp thu hoạch tảo

Theo thống kê và thu thập thì có rất nhiều phương pháp khác nhau để thu hoạch tảo *Spirulina platensis*. Trong quá trình thực hiện đề tài, chúng tôi thấy phương pháp thu hoạch bằng lưới lọc là tốt nhất vì đường kính lưới lọc phù hợp thì phương pháp này vẫn cho khả năng thu hoạch cao, hiệu quả, an toàn, vệ sinh, không độc hại và ô nhiễm môi trường. Bằng khảo sát thực nghiệm trong các thí nghiệm tăng sinh khối tảo thấy nên dùng lưới lọc để thu hoạch *Spirulina platensis*.

5.1.3 Máy khuấy tảo dung tích nhỏ

Có thể thiết kế các máy khuấy tảo dung tích nhỏ từ 20 – 50L ở qui mô phòng thí nghiệm vẫn có khả năng tăng sinh khối tảo tốt. *Spirulina platensis* có thể khuấy trong môi trường dịch lỏng trong điều kiện khảo sát thí nghiệm cho kết quả sinh trưởng ổn định sinh khối nhiều. Máy khuấy tảo là một trong những ứng dụng cho việc nuôi tảo ở thể tích 20 – 50L, ngoài ra còn hạn chế được việc nổi váng tảo của các quá trình sục khí khi nuôi tảo ở các bình nhựa thể tích từ 5 – 20L.

5.2. Đề nghị

- ✓ Trong quá trình thu hoạch tảo cần tìm cách khử mùi tanh của tảo, xử lý các hoá chất của môi trường nuôi.
- ✓ Thử nghiệm các phương pháp gây nuôi tăng sinh khối tảo ở quy mô sản xuất.
- ✓ Bố trí thí nghiệm ở các điều kiện nhiệt độ thấp và cao hơn (ngoài khoảng nhiệt độ 34 – 37°C).
- ✓ Khảo sát thêm tác động cộng gộp của các yếu tố lý hóa trong khi nuôi cấy *Spirulina platensis* ở phòng thí nghiệm.
- ✓ Nên tiến hành xử lý dịch nuôi (sau khi đã thu hoạch tảo) để tránh làm ô nhiễm môi trường và các hệ sinh thái.
- ✓ Bố trí thí nghiệm thu hoạch tảo với nhiều cỡ lưới lọc để việc thu hoạch đạt kết quả tối ưu.
- ✓ Chất lượng tảo sau khi thu hoạch cần được kiểm định về vệ sinh an toàn thực phẩm.
- ✓ Cần thử nghiệm nuôi tảo với điều kiện khuấy trên bề mặt.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

TIẾNG VIỆT

1. William S. Gunther (2001) : “ Aphoto- Bioreactor With On- Line Biomass and Growth Rate Estimations for Optimization of Light Intensity in Cultures of Phototrophic Microorganisms”. Masters Thesis Department of Life Science Aalborg University Sohngaardsholmsvej 49 DK- 9000 Aalborg.
2. Vũ Bá Minh (2004) : “ Kỹ thuật phản ứng”. Quá trình và thiết bị công nghệ hoá học & thực phẩm trường Đại Học Quốc gia TP.HCM.
3. Ree Chou (1993) : “ Aquafeeds and feedinh strateries in Singapore”. Tài liệu mạng
4. Qiang Hu and Milton Sommerfeld (2004) : “ Selection of hight performance microalgae for bioremediation of nitrate- contaminated groundwater”. School of Life Sicences Arizona State University Tempe, AZ 85287- 4501.
5. Phạm Đình Thanh Nhân, Hoàng Thanh Phương (2005) : “Tác động của chất kích thích sinh sản lên sự gia tăng số lượng luân trùng (*Brachionus plicatilis*)”. Luận văn tốt nghiệp trường Đại Học Nông Lâm TP.HCM.
6. Phạm Hoàng Hộ (1972) : “ Tảo học”. Trung tâm học liệu Bộ giáo dục.
7. O. Pulz (2001) : “ Photobiorectors : production systém for phototrophic microoganism”. IGV Institute for Cereal Processing, Arthur- Scheunert- Alee 40/41, 14558 Bergholz- Rehbrucke, Germany.
8. Nguyễn Văn Lụa (1999) : “ Các quá trình và thiết bị cơ học quyển I : Khuấy – Lắng lọc”. Các quá trình và thiết bị trong công nghiệp hoá chất và thực phẩm trường Đại Học Kỹ Thuật TP.HCM.
9. Nguyễn Thanh Tùng (1998) : “ Tài nguyên và sinh thái rong”. Tủ sách trường Đại Học Khoa Học Tự Nhiên Đại Học Quốc gia TP.HCM.
10. Nguyễn Đức Lượng (2002) : “ Vi sinh vật học công nghiệp”. Công nghệ vi sinh tập II trường Đại Học Bách Khoa Đại Học Quốc gia TP.HCM.

11. Nguyễn Anh Dũng, (1982) : “ Nghiên cứu, thiết kế cơ sở sản xuất tảo Spirulina từ nguồn nước khoáng Vĩnh Hảo- Thuận Hải”. Đồ án tốt nghiệp trường Đại Học Bách Khoa Hà Nội.
12. Đặng Đình Kim, Đặng Hoàng Phước Hiền (1999) : “ Công nghệ sinh học vi tảo”. Trung tâm khoa học tự nhiên và Công nghệ Quốc gia.
13. Malcolm R. Brown (2002) : “ Nutritional values and Use of Microalgae in Aquaculture”. CISRO Marine Research, GPO Box 1538, Hobart, 7001 Australia.
14. Lê Thanh Hùng (2000) : “ Dinh dưỡng và thức ăn thủy sản”. Bài giảng trường Đại Học Nông Lâm TP.HCM.
15. Lê Thị Phương Hồng (1996) : “ Góp phần tìm hiểu sự tăng trưởng của tảo lam Spirulina platensis (Nordst.) Geitler.”. Luận văn thạc sỹ khoa học khoa học chuyên ngành vi sinh trường Đại Học Khoa Học Tự Nhiên Đại Học Quốc gia TP.HCM.
16. Lê Đình Lãng (1999) : “ Spirulina nuôi trồng sử dụng trong y dược & dinh dưỡng”. Sách chuyên khảo phục vụ Công nghệ sinh học Y tế Nhà xuất bản Y học chi nhánh TP.HCM.
17. Eirik O. Duer, Augustin Molnar, and Vernon Sato (1998) : “ Cultured microalgae as aquaculture feeds”. The Oceanic Institute, Makapuu Point, Waimanalo, HI 96795, USA.
18. Ed- Hanun Chang and Shang- Shyng Yang (2002) : “ Some characteristics of microalgae isolated in Taiwan for biofixation of carbon dioxide”. Department of Agricultural Chemistry, National Taiwan University, Taipei, Taiwan 1067.
19. Dương Tiến Đức (1996) : “ Phân loại vi khuẩn lam ở Việt Nam”. Nhà xuất bản Nông nghiệp.
20. Bùi Minh Trí (2005) : “ Vi tảo trong công nghệ sinh học”. Bài giảng Công nghệ sinh học thực vật trường Đại Học Nông Lâm TP.HCM.
21. Nguyễn Văn Tuyên (2003) : “ Đa dạng tảo trong thủy vực nội địa Việt Nam triển vọng và thử thách”. Nhà xuất bản nông nghiệp.

PHỤ LỤC

Phụ lục 1 : Môi trường Zarrouk nuôi tảo (Đặng Đình Kim, Đặng Hoàng Phước Hiền, 1999).

STT	Thành Phần	Đơn vị (g/L)
1	NaCl	1
2	MgSO ₄ .7H ₂ O	0,2
3	CaCl ₂	0,04
4	FeSO ₄ .7H ₂ O	0,01
5	EDTA	0,08
6	KH ₂ PO ₄	0,5
7	NaNO ₃	2,5
8	K ₂ SO ₄	1
9	NaHCO ₃	16,8

Phụ lục 2 : Trọng lượng tảo tươi thu được trong thí nghiệm 1 (g/L)

Đợt Tn	Nồng độ nuôi cấy tảo giống <i>Spirulina platensis</i> ban đầu								
	20%			25%			30%		
Đợt I	10	13	10	13	13	17	17	13	17
Đợt II	7	10	10	13	13	17	17	17	17
Đợt III	13	10	7	10	17	10	17	17	20

Phụ lục 3 : Trọng lượng tảo tươi thu được trong thí nghiệm 3 (g/L)

Đợt Tn	Các cường độ chiếu sáng khác nhau								
	1500 – 1750 lux			3000 – 3500 lux			4500 – 5250 lux		
Đợt I	17	17	20	20	17	20	23	27	20
Đợt II	17	17	13	23	23	20	17	17	10
Đợt III	20	20	13	20	20	20	17	23	23

Phụ lục 4 : Trọng lượng tảo tươi thu được trong thí nghiệm 3 (g/L)

Đợt Tn	Các hàm lượng muối bicarbonat trong môi trường nuôi cấy (g/L)								
	16g NaHCO ₃			16g NaHCO ₃			16g NaHCO ₃		
Đợt I	20	20	17	10	13	20	17	20	17
Đợt II	17	13	13	20	17	20	27	17	27
Đợt III	17	17	17	20	17	17	17	27	13

Phụ lục 5 : Trọng lượng tảo tươi thu được trong thí nghiệm 4 (g/L)

Đợt Tn	Các loại môi trường khác nhau (ml/L)								
	0 ml rỉ đường (Zarrouk)			1 ml rỉ đường + 16,8g NaHCO ₃			1,5 ml rỉ đường +16,8g NaHCO ₃		
Đợt I	20	20	23	13	17	23	23	23	17
Đợt II	23	17	23	27	23	20	13	13	10
Đợt III	23	13	13	20	17	17	17	20	20

Phụ lục 6 : Bảng Anova của thí nghiệm 1

One-Way Analysis of Variance

Data: NONGDO1.tro_ng_1__

Level codes: NONGDO1.no_ng__o__

Labels:

Means plot: LSD Confidence level: 95 Range test: LSD

Analysis of variance

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
Between groups	213.85185	2	106.92593	20.882	.0000
Within groups	122.88889	24	5.12037		
Total (corrected)	336.74074	26			

0 missing value(s) have been excluded.

Phụ lục 7 : Bảng trung bình của thí nghiệm 1

Table of means for NONGDO1.tro_ng_1__ by NONGDO1.no_ng__o__

Level	Count	Average	Std. Error (internal)	Std. Error (pooled s)	95 % LSD intervals for mean
0.2	9	10.000000	.7071068	.7542745	8.898952 11.101048
0.25	9	13.666667	.9279607	.7542745	12.565619 14.767715
0.3	9	16.888889	.5879447	.7542745	15.787841 17.989937
Total	27	13.518519	.4354806	.4354806	12.882828 14.154209

Phụ lục 8 : Trắc nghiệm chi tiết của thí nghiệm 1

Multiple range analysis for NONGDO1.tro_ng_1__ by NONGDO1.no_ng_o__

Method: 95 Percent LSD

Level Count Average Homogeneous Groups

0.2	9	10.000000	X
0.25	9	13.666667	X
0.3	9	16.888889	X

contrast	difference	limits
0.2 - 0.25	-3.66667	2.20210 *
0.2 - 0.3	-6.88889	2.20210 *
0.25 - 0.3	-3.22222	2.20210 *

* denotes a statistically significant difference.

Phụ lục 9 : Bảng Anova của thí nghiệm 2

One-Way Analysis of Variance

Data: ANHSAN1.Tro_ng_1__

Level codes: ANHSAN1.as

Labels:

Means plot: LSD Confidence level: 95 Range test: LSD

Analysis of variance

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
Between groups	280.07407	18	15.559671	2.114	.1407
Within groups	58.88889	8	7.361111		
Total (corrected)	338.96296	26			

0 missing value(s) have been excluded.

Phụ lục 10 : Bảng trung bình của thí nghiệm 2

Table of means for ANHSAN1.Tro_ng_1__ by ANHSAN1.as

Level	Count	Average	Std. Error (internal)	Std. Error (pooled s)	95 % LSD intervals for mean
1500 – 1	9	17.111111	.9043789	.9043789	15.636026 18.586196
3000 – 3	1	20.000000	.0000000	2.7131368	15.574745 24.425255
3001 – 3	1	17.000000	.0000000	2.7131368	12.574745 21.425255
3002 – 3	1	20.000000	.0000000	2.7131368	15.574745 24.425255
3003 – 3	1	23.000000	.0000000	2.7131368	18.574745 27.425255
3004 – 3	1	23.000000	.0000000	2.7131368	18.574745 27.425255
3005 – 3	1	20.000000	.0000000	2.7131368	15.574745 24.425255
3006 – 3	1	20.000000	.0000000	2.7131368	15.574745 24.425255
3007 – 3	1	20.000000	.0000000	2.7131368	15.574745 24.425255
3008 – 3	1	20.000000	.0000000	2.7131368	15.574745 24.425255
4500 – 5	1	23.000000	.0000000	2.7131368	18.574745 27.425255
4501 – 5	1	27.000000	.0000000	2.7131368	22.574745 31.425255
4502 – 5	1	20.000000	.0000000	2.7131368	15.574745 24.425255
4503 – 5	1	17.000000	.0000000	2.7131368	12.574745 21.425255
4504 – 5	1	17.000000	.0000000	2.7131368	12.574745 21.425255
4505 – 5	1	10.000000	.0000000	2.7131368	5.574745 14.425255
4506 – 5	1	17.000000	.0000000	2.7131368	12.574745 21.425255
4507 – 5	1	23.000000	.0000000	2.7131368	18.574745 27.425255
4508 – 5	1	23.000000	.0000000	2.7131368	18.574745 27.425255
Total	27	19.037037	.5221434	.5221434	18.185396 19.888678

Phụ lục 11 : Trắc nghiệm chi tiết của thí nghiệm 2

Multiple range analysis for ANHSAN1.Tro_ng_1__ by ANHSAN1.as

Method: 95 Percent LSD

Level Count Average Homogeneous Groups

4505 - 5	1	10.000000	X
3001 - 3	1	17.000000	XX
4503 - 5	1	17.000000	XX
4504 - 5	1	17.000000	XX
4506 - 5	1	17.000000	XX
1500 - 1	9	17.111111	X
3000 - 3	1	20.000000	XX
3002 - 3	1	20.000000	XX
3005 - 3	1	20.000000	XX
3006 - 3	1	20.000000	XX
3007 - 3	1	20.000000	XX
3008 - 3	1	20.000000	XX
4502 - 5	1	20.000000	XX
3003 - 3	1	23.000000	XX
3004 - 3	1	23.000000	XX
4500 - 5	1	23.000000	XX
4507 - 5	1	23.000000	XX
4508 - 5	1	23.000000	XX
4501 - 5	1	27.000000	X

contrast		difference	+/-	limits
1500 - 1750 lux - 3000 - 3500	1	-2.88889		6.59678
1500 - 1750 lux - 3001 - 3500	1	0.11111		6.59678
1500 - 1750 lux - 3002 - 3500	1	-2.88889		6.59678
1500 - 1750 lux - 3003 - 3500	1	-5.88889		6.59678
1500 - 1750 lux - 3004 - 3500	1	-5.88889		6.59678
1500 - 1750 lux - 3005 - 3500	1	-2.88889		6.59678
1500 - 1750 lux - 3006 - 3500	1	-2.88889		6.59678
1500 - 1750 lux - 3007 - 3500	1	-2.88889		6.59678
1500 - 1750 lux - 3008 - 3500	1	-2.88889		6.59678
1500 - 1750 lux - 4500 - 5250	lu	-5.88889		6.59678
1500 - 1750 lux - 4501 - 5250	lu	-9.88889		6.59678 *
1500 - 1750 lux - 4502 - 5250	lu	-2.88889		6.59678
1500 - 1750 lux - 4503 - 5250	lu	0.11111		6.59678
1500 - 1750 lux - 4504 - 5250	lu	0.11111		6.59678
1500 - 1750 lux - 4505 - 5250	lu	7.11111		6.59678 *

1500 – 1750 lux - 4506 – 5250 lu	0.11111	6.59678
1500 – 1750 lux - 4507 – 5250 lu	-5.88889	6.59678
1500 – 1750 lux - 4508 – 5250 lu	-5.88889	6.59678
3000 – 3500 lux - 3001 – 3500 l	3.00000	8.85051
3000 – 3500 lux - 3002 – 3500 l	0.00000	8.85051
3000 – 3500 lux - 3003 – 3500 l	-3.00000	8.85051
3000 – 3500 lux - 3004 – 3500 l	-3.00000	8.85051
3000 – 3500 lux - 3005 – 3500 l	0.00000	8.85051
3000 – 3500 lux - 3006 – 3500 l	0.00000	8.85051
3000 – 3500 lux - 3007 – 3500 l	0.00000	8.85051
3000 – 3500 lux - 3008 – 3500 l	0.00000	8.85051
3000 – 3500 lux - 4500 – 5250 lu	-3.00000	8.85051
3000 – 3500 lux - 4501 – 5250 lu	-7.00000	8.85051
3000 – 3500 lux - 4502 – 5250 lu	0.00000	8.85051
3000 – 3500 lux - 4503 – 5250 lu	3.00000	8.85051
3000 – 3500 lux - 4504 – 5250 lu	3.00000	8.85051
3000 – 3500 lux - 4505 – 5250 lu	10.0000	8.85051 *
3000 – 3500 lux - 4506 – 5250 lu	3.00000	8.85051
3000 – 3500 lux - 4507 – 5250 lu	-3.00000	8.85051
3000 – 3500 lux - 4508 – 5250 lu	-3.00000	8.85051
3001 – 3500 lux - 3002 – 3500 l	-3.00000	8.85051
3001 – 3500 lux - 3003 – 3500 l	-6.00000	8.85051
3001 – 3500 lux - 3004 – 3500 l	-6.00000	8.85051
3001 – 3500 lux - 3005 – 3500 l	-3.00000	8.85051
3001 – 3500 lux - 3006 – 3500 l	-3.00000	8.85051
3001 – 3500 lux - 3007 – 3500 l	-3.00000	8.85051
3001 – 3500 lux - 3008 – 3500 l	-3.00000	8.85051
3001 – 3500 lux - 4500 – 5250 lu	-6.00000	8.85051
3001 – 3500 lux - 4501 – 5250 lu	-10.0000	8.85051 *
3001 – 3500 lux - 4502 – 5250 lu	-3.00000	8.85051
3001 – 3500 lux - 4503 – 5250 lu	0.00000	8.85051
3001 – 3500 lux - 4504 – 5250 lu	0.00000	8.85051
3001 – 3500 lux - 4505 – 5250 lu	7.00000	8.85051
3001 – 3500 lux - 4506 – 5250 lu	0.00000	8.85051
3001 – 3500 lux - 4507 – 5250 lu	-6.00000	8.85051
3001 – 3500 lux - 4508 – 5250 lu	-6.00000	8.85051
3002 – 3500 lux - 3003 – 3500 l	-3.00000	8.85051
3002 – 3500 lux - 3004 – 3500 l	-3.00000	8.85051

3002 – 3500 lux - 3005 – 3500 l	0.00000	8.85051
3002 – 3500 lux - 3006 – 3500 l	0.00000	8.85051
3002 – 3500 lux - 3007 – 3500 l	0.00000	8.85051
3002 – 3500 lux - 3008 – 3500 l	0.00000	8.85051
3002 – 3500 lux - 4500 – 5250 lu	-3.00000	8.85051
3002 – 3500 lux - 4501 – 5250 lu	-7.00000	8.85051
3002 – 3500 lux - 4502 – 5250 lu	0.00000	8.85051
3002 – 3500 lux - 4503 – 5250 lu	3.00000	8.85051
3002 – 3500 lux - 4504 – 5250 lu	3.00000	8.85051
3002 – 3500 lux - 4505 – 5250 lu	10.0000	8.85051 *
3002 – 3500 lux - 4506 – 5250 lu	3.00000	8.85051
3002 – 3500 lux - 4507 – 5250 lu	-3.00000	8.85051
3002 – 3500 lux - 4508 – 5250 lu	-3.00000	8.85051
3003 – 3500 lux - 3004 – 3500 l	0.00000	8.85051
3003 – 3500 lux - 3005 – 3500 l	3.00000	8.85051
3003 – 3500 lux - 3006 – 3500 l	3.00000	8.85051
3003 – 3500 lux - 3007 – 3500 l	3.00000	8.85051
3003 – 3500 lux - 3008 – 3500 l	3.00000	8.85051
3003 – 3500 lux - 4500 – 5250 lu	0.00000	8.85051
3003 – 3500 lux - 4501 – 5250 lu	-4.00000	8.85051
3003 – 3500 lux - 4502 – 5250 lu	3.00000	8.85051
3003 – 3500 lux - 4503 – 5250 lu	6.00000	8.85051
3003 – 3500 lux - 4504 – 5250 lu	6.00000	8.85051
3003 – 3500 lux - 4505 – 5250 lu	13.0000	8.85051 *
3003 – 3500 lux - 4506 – 5250 lu	6.00000	8.85051
3003 – 3500 lux - 4507 – 5250 lu	0.00000	8.85051
3003 – 3500 lux - 4508 – 5250 lu	0.00000	8.85051
3004 – 3500 lux - 3005 – 3500 l	3.00000	8.85051
3004 – 3500 lux - 3006 – 3500 l	3.00000	8.85051
3004 – 3500 lux - 3007 – 3500 l	3.00000	8.85051
3004 – 3500 lux - 3008 – 3500 l	3.00000	8.85051
3004 – 3500 lux - 4500 – 5250 lu	0.00000	8.85051
3004 – 3500 lux - 4501 – 5250 lu	-4.00000	8.85051
3004 – 3500 lux - 4502 – 5250 lu	3.00000	8.85051
3004 – 3500 lux - 4503 – 5250 lu	6.00000	8.85051
3004 – 3500 lux - 4504 – 5250 lu	6.00000	8.85051
3004 – 3500 lux - 4505 – 5250 lu	13.0000	8.85051 *
3004 – 3500 lux - 4506 – 5250 lu	6.00000	8.85051

3004 – 3500 lux - 4507 – 5250 lu	0.00000	8.85051
3004 – 3500 lux - 4508 – 5250 lu	0.00000	8.85051
3005 – 3500 lux - 3006 – 3500 l	0.00000	8.85051
3005 – 3500 lux - 3007 – 3500 l	0.00000	8.85051
3005 – 3500 lux - 3008 – 3500 l	0.00000	8.85051
3005 – 3500 lux - 4500 – 5250 lu	-3.00000	8.85051
3005 – 3500 lux - 4501 – 5250 lu	-7.00000	8.85051
3005 – 3500 lux - 4502 – 5250 lu	0.00000	8.85051
3005 – 3500 lux - 4503 – 5250 lu	3.00000	8.85051
3005 – 3500 lux - 4504 – 5250 lu	3.00000	8.85051
3005 – 3500 lux - 4505 – 5250 lu	10.0000	8.85051 *
3005 – 3500 lux - 4506 – 5250 lu	3.00000	8.85051
3005 – 3500 lux - 4507 – 5250 lu	-3.00000	8.85051
3005 – 3500 lux - 4508 – 5250 lu	-3.00000	8.85051
3006 – 3500 lux - 3007 – 3500 l	0.00000	8.85051
3006 – 3500 lux - 3008 – 3500 l	0.00000	8.85051
3006 – 3500 lux - 4500 – 5250 lu	-3.00000	8.85051
3006 – 3500 lux - 4501 – 5250 lu	-7.00000	8.85051
3006 – 3500 lux - 4502 – 5250 lu	0.00000	8.85051
3006 – 3500 lux - 4503 – 5250 lu	3.00000	8.85051
3006 – 3500 lux - 4504 – 5250 lu	3.00000	8.85051
3006 – 3500 lux - 4505 – 5250 lu	10.0000	8.85051 *
3006 – 3500 lux - 4506 – 5250 lu	3.00000	8.85051
3006 – 3500 lux - 4507 – 5250 lu	-3.00000	8.85051
3006 – 3500 lux - 4508 – 5250 lu	-3.00000	8.85051
3007 – 3500 lux - 3008 – 3500 l	0.00000	8.85051
3007 – 3500 lux - 4500 – 5250 lu	-3.00000	8.85051
3007 – 3500 lux - 4501 – 5250 lu	-7.00000	8.85051
3007 – 3500 lux - 4502 – 5250 lu	0.00000	8.85051
3007 – 3500 lux - 4503 – 5250 lu	3.00000	8.85051
3007 – 3500 lux - 4504 – 5250 lu	3.00000	8.85051
3007 – 3500 lux - 4505 – 5250 lu	10.0000	8.85051 *
3007 – 3500 lux - 4506 – 5250 lu	3.00000	8.85051
3007 – 3500 lux - 4507 – 5250 lu	-3.00000	8.85051
3007 – 3500 lux - 4508 – 5250 lu	-3.00000	8.85051
3008 – 3500 lux - 4500 – 5250 lu	-3.00000	8.85051
3008 – 3500 lux - 4501 – 5250 lu	-7.00000	8.85051
3008 – 3500 lux - 4502 – 5250 lu	0.00000	8.85051

3008 – 3500 lux - 4503 – 5250 lu	3.00000	8.85051
3008 – 3500 lux - 4504 – 5250 lu	3.00000	8.85051
3008 – 3500 lux - 4505 – 5250 lu	10.0000	8.85051 *
3008 – 3500 lux - 4506 – 5250 lu	3.00000	8.85051
3008 – 3500 lux - 4507 – 5250 lu	-3.00000	8.85051
3008 – 3500 lux - 4508 – 5250 lu	-3.00000	8.85051
4500 – 5250 lux - 4501 – 5250 lu	-4.00000	8.85051
4500 – 5250 lux - 4502 – 5250 lu	3.00000	8.85051
4500 – 5250 lux - 4503 – 5250 lu	6.00000	8.85051
4500 – 5250 lux - 4504 – 5250 lu	6.00000	8.85051
4500 – 5250 lux - 4505 – 5250 lu	13.0000	8.85051 *
4500 – 5250 lux - 4506 – 5250 lu	6.00000	8.85051
4500 – 5250 lux - 4507 – 5250 lu	0.00000	8.85051
4500 – 5250 lux - 4508 – 5250 lu	0.00000	8.85051
4501 – 5250 lux - 4502 – 5250 lu	7.00000	8.85051
4501 – 5250 lux - 4503 – 5250 lu	10.0000	8.85051 *
4501 – 5250 lux - 4504 – 5250 lu	10.0000	8.85051 *
4501 – 5250 lux - 4505 – 5250 lu	17.0000	8.85051 *
4501 – 5250 lux - 4506 – 5250 lu	10.0000	8.85051 *
4501 – 5250 lux - 4507 – 5250 lu	4.00000	8.85051
4501 – 5250 lux - 4508 – 5250 lu	4.00000	8.85051
4502 – 5250 lux - 4503 – 5250 lu	3.00000	8.85051
4502 – 5250 lux - 4504 – 5250 lu	3.00000	8.85051
4502 – 5250 lux - 4505 – 5250 lu	10.0000	8.85051 *
4502 – 5250 lux - 4506 – 5250 lu	3.00000	8.85051
4502 – 5250 lux - 4507 – 5250 lu	-3.00000	8.85051
4502 – 5250 lux - 4508 – 5250 lu	-3.00000	8.85051
4503 – 5250 lux - 4504 – 5250 lu	0.00000	8.85051
4503 – 5250 lux - 4505 – 5250 lu	7.00000	8.85051
4503 – 5250 lux - 4506 – 5250 lu	0.00000	8.85051
4503 – 5250 lux - 4507 – 5250 lu	-6.00000	8.85051
4503 – 5250 lux - 4508 – 5250 lu	-6.00000	8.85051
4504 – 5250 lux - 4505 – 5250 lu	7.00000	8.85051
4504 – 5250 lux - 4506 – 5250 lu	0.00000	8.85051
4504 – 5250 lux - 4507 – 5250 lu	-6.00000	8.85051
4504 – 5250 lux - 4508 – 5250 lu	-6.00000	8.85051
4505 – 5250 lux - 4506 – 5250 lu	-7.00000	8.85051
4505 – 5250 lux - 4507 – 5250 lu	-13.0000	8.85051 *

4505 – 5250 lux - 4508 – 5250 lu	-13.0000	8.85051 *
4506 – 5250 lux - 4507 – 5250 lu	-6.00000	8.85051
4506 – 5250 lux - 4508 – 5250 lu	-6.00000	8.85051
4507 – 5250 lux - 4508 – 5250 lu	0.00000	8.85051

□ denotes a statistically significant difference.

Phụ lục 12 : Bảng Anova của thí nghiệm 3

One-Way Analysis of Variance

Data: KHOILU1.Tro_ng_1__

Level codes: KHOILU1.kho_i_1__2

Labels:

Means plot: LSD Confidence level: 95 Range test: LSD

Analysis of variance

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
Between groups	446.96296	4	111.74074	999.999	.0000
Within groups	.00000	22	.00000		
Total (corrected)	446.96296	26			

0 missing value(s) have been excluded.

Phụ lục 13 : Bảng trung bình của thí nghiệm 3

Table of means for KHOILU1.Tro_ng_1__ by KHOILU1.kho_i_1__1

Level	Count	Average	Std. Error (internal)	Std. Error (pooled s)	95 % LSD intervals for mean
-------	-------	---------	-----------------------	-----------------------	-----------------------------

16 g	9	16.777778	.8296214	1.3298566	14.836527	18.719028
16,8 g	9	17.111111	1.1837375	1.3298566	15.169860	19.052362
17 g	9	20.222222	1.7933347	1.3298566	18.280972	22.163473
<hr/>						
Total	27	18.037037	.7677931	.7677931	16.916255	19.157819

Phụ lục 14 : Trắc nghiệm chi tiết của thí nghiệm 3

Multiple range analysis for KHOILU1.Tro_ng_1__ by KHOILU1.kho_i_1__1

Method: 95 Percent LSD

Level Count Average Homogeneous Groups

16 g	9	16.777778	X
16,8 g	9	17.111111	X
17 g	9	20.222222	X

contrast	difference	limits
16 g - 16,8 g	-0.33333	3.88250
16 g - 17 g	-3.44444	3.88250
16,8 g - 17 g	-3.11111	3.88250

* denotes a statistically significant difference.

Phụ lục 15 : Bảng Anova của thí nghiệm 4

One-Way Analysis of Variance

Data: MOITRU1.Tro_ng_1__

Level codes: MOITRU1.Kho_i_1__1

Labels:

Means plot: LSD Confidence level: 95 Range test: LSD

Analysis of variance

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
Between groups	29.85185	2	14.925926	.792	.4644
Within groups	452.22222	24	18.842593		
Total (corrected)	482.07407	26			

0 missing value(s) have been excluded.

Phụ lục 16 : Bảng trung bình của thí nghiệm 4

Table of means for MOITRU1.Tro_ng_1__ by MOITRU1.Kho_i_1__1

Level	Count	Average	Std. Error (internal)	Std. Error (pooled s)	95 % LSD intervals for mean
0 ml	9	19.444444	1.3955396	1.4469352	17.332289 21.556600
1 ml	9	19.666667	1.4043583	1.4469352	17.554511 21.778822
1,5 ml	9	17.333333	1.5365907	1.4469352	15.221178 19.445489
Total	27	18.814815	.8353884	.8353884	17.595361 20.034268

Phụ lục 17 : Trắc nghiệm chi tiết của thí nghiệm 4

Multiple range analysis for MOITRU1.Tro_ng_1__ by MOITRU1.Kho_i_1__1

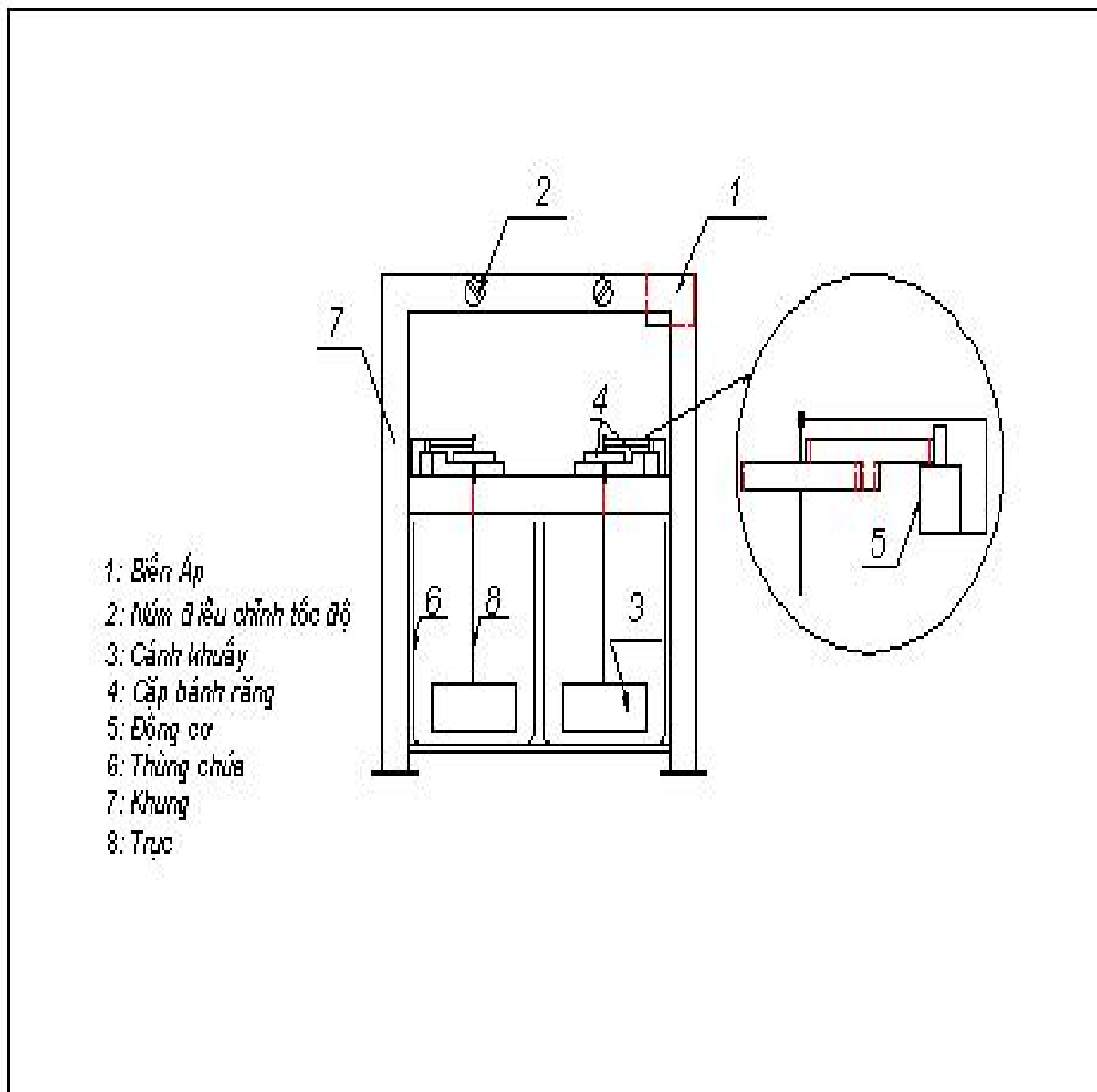
Method: 95 Percent LSD

Level	Count	Average	Homogeneous Groups
1,5 ml	9	17.333333	X
0 ml	9	19.444444	X
1 ml	9	19.666667	X

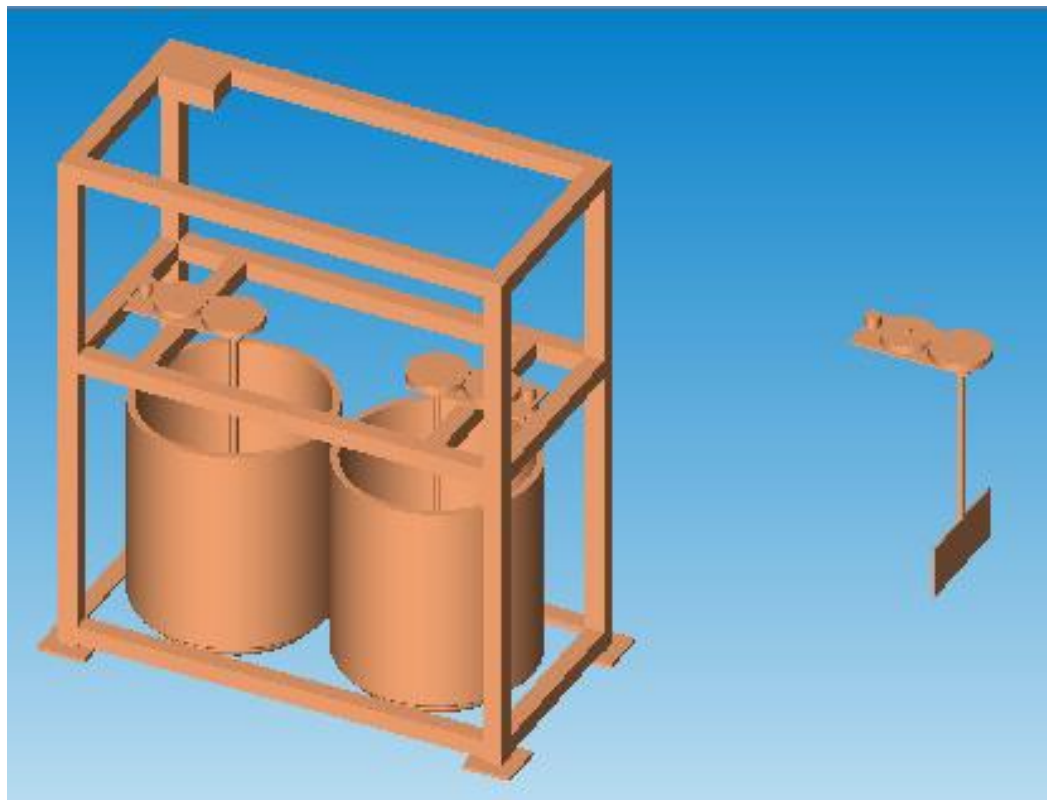
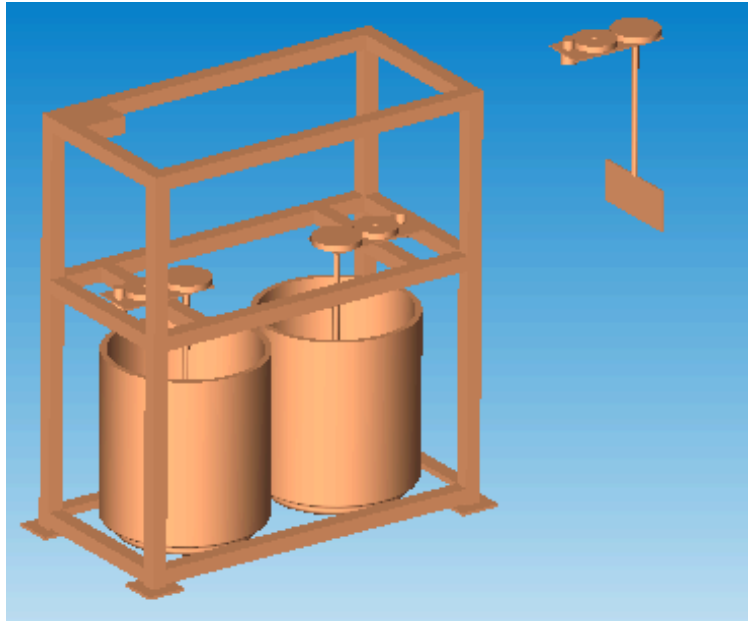
contrast	difference	limits
0 ml - 1 ml	-0.22222	4.22431
0 ml - 1,5 ml	2.11111	4.22431
1 ml - 1,5 ml	2.33333	4.22431

□ denotes a statistically significant difference.

Phụ lục 18 : Bản vẽ nguyên tắc cấu tạo của máy khuấy



Phụ lục 19 : Mô hình 3D của máy khuấy



LỜI CẢM ƠN

Thành kính gửi lời cảm ơn đến :

* Ban giám hiệu trường Đại học Nông Lâm thành phố Hồ Chí Minh, Ban chủ nhiệm bộ môn Công nghệ Sinh học, cùng tất cả quý Thầy Cô đã truyền đạt kiến thức quý báu cho em trong suốt quá trình học tập tại trường.

* Cô Lê Thị Phương Hồng đã tận tình hướng dẫn, giúp đỡ và tạo mọi điều kiện cho em thực hiện và hoàn tất khóa luận tốt nghiệp này.

* Cô Phạm Thị Hồng Hạnh, cô Võ Thị Thanh Bình, cô Đặng Thị Thanh Hòa, cô Trần Hồng Thủy khoa Thủy Sản đã tạo mọi điều kiện giúp đỡ em trong suốt quá trình thực hiện đề tài tại phòng thí nghiệm 305.

* Các bạn lớp Công nghệ Sinh học 28 đã đồng viên, giúp đỡ tôi khi khó khăn cũng như chia sẻ những niềm vui nỗi buồn trong suốt thời gian học tập.

* Bạn Hà Tân lớp Nuôi trồng Thủy sản 28, bạn Tuấn Anh lớp Cơ khí 28A đã giúp đỡ tôi trong suốt thời gian thực hiện đề tài.

* Cuối cùng con xin gửi lời cảm ơn sâu sắc chân thành nhất tới sự cố vũ và động viên của gia đình, bố mẹ và em đã đang và sẽ mãi là điểm tựa, chỗ dựa vững chắc cả về tinh thần lẫn vật chất, cho con niềm tin và động lực vào chính bản thân để vươn lên.

TÓM TẮT

Ứng dụng của *Spirulina platensis* trong thực tiễn y sinh học lẫn đời sống của con người ngày càng được mở rộng nhiều hơn. Các nghiên cứu nhằm tăng sinh khối và khảo nghiệm ảnh hưởng của các điều kiện khác nhau lên tảo này được chú ý và quan tâm đặc biệt. Vấn đề đặt ra là làm sao để tăng sinh khối *Spirulina* trong quá trình nuôi cấy ở điều kiện phòng thí nghiệm nhằm đáp ứng tốt các ứng dụng quan trọng trên.

Xuất phát từ đó chúng tôi đã tiến hành các nghiên cứu nhằm tăng sinh khối *Spirulina platensis*. Thí nghiệm 1 : đánh giá ảnh hưởng của nồng độ nuôi cấy ban đầu lên khả năng thu hoạch tảo. Thí nghiệm 2 : đánh giá ảnh hưởng của chế độ chiếu sáng lên sự tăng sinh khối tảo. Thí nghiệm 3 : đánh giá ảnh hưởng của khối lượng muối bicarbonat trong môi trường nuôi cấy lên sự tăng sinh khối tảo *Spirulina*. Thí nghiệm 4 : đánh giá ảnh hưởng của các môi trường nuôi cấy khác nhau lên sự tăng sinh khối tảo *Spirulina*. Quá trình thực hiện các nghiên cứu trên kết hợp với việc đưa ra phương pháp thu hoạch tảo thích hợp, đề xuất và thử nghiệm mô hình máy khuấy tảo dung tích nhỏ áp dụng cho nuôi *Spirulina platensis* qui mô phòng thí nghiệm.

Kết quả thu được sau khi xử lý số liệu chúng tôi nhận thấy năng suất tảo *Spirulina platensis* tăng theo sự tăng của nồng độ nuôi cấy ban đầu trong khoảng nồng độ cấy từ 20% - 30%. Sự ảnh hưởng của cường độ chiếu sáng tới tăng sinh khối của tảo là có cơ sở, cường độ ánh sáng thích hợp nhất để nuôi tảo *Spirulina platensis* trong điều kiện phòng thí nghiệm là 3000 – 3500 lux, tuy nhiên tảo vẫn có khả năng tăng trưởng và phát triển tốt trong điều kiện chiếu sáng từ 1500 – 5250 lux. Khối lượng muối bicarbonat (NaHCO_3) có ảnh hưởng tới môi trường nuôi tảo, *Spirulina platensis* có thể sống được với hàm lượng muối NaHCO_3 từ 16 - 17g/L môi trường nuôi. Môi trường rỉ đường có thể thay thế được môi trường cơ bản (Zarrouk) trong nuôi tảo *Spirulina platensis*, nên pha môi trường 1ml rỉ đường + 16,8g NaHCO_3 để tăng sinh tảo *Spirulina*. Phương pháp thích hợp nhất trong các thí nghiệm để thu hoạch tảo *Spirulina* là dùng lưới lọc. Máy khuấy tảo dung tích nhỏ có thể được dùng để nuôi *Spirulina platensis* với thể tích chứa từ 20 – 50L nuôi trong điều kiện phòng thí nghiệm

MỤC LỤC

LỜI CẢM ƠN.....	iii
TÓM TẮT.....	iv
MỤC LỤC.....	v,vi,vii
DANH SÁCH CÁC BẢNG.....	viii
DANH SÁCH CÁC HÌNH VÀ ĐỒ THỊ.....	ix,x
PHẦN I : MỞ ĐẦU.....	1
1.1 Đặt vấn đề.....	3
1.2 Mục đích nghiên cứu.....	3
1.3 Yêu cầu.....	4
PHẦN II : TỔNG QUAN TÀI LIỆU.....	3
2.1 Tảo <i>Spirulina platensis</i>	5
2.1.1 Lịch sử phát triển và các công trình gây nuôi tảo <i>Spirulina</i> trong và ngoài nước.....	5
2.2.1 Phân loại.....	9
2.2.2 Phân bố.....	9
2.2.3. Hình thái và cấu tạo.....	10
2.2.4. Đặc điểm dinh dưỡng của <i>Spirulina platensis</i>	10
2.2.5. Đặc điểm sinh sản của <i>Spirulina platensis</i>	13
2.3 Điều kiện nuôi cấy và các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình nuôi tảo <i>Spirulina platensis</i>	14
2.3.1 Ảnh hưởng của ánh sáng.....	14
2.3.2 Nhiệt độ.....	15
2.3.3 Thông số pH.....	15
2.4 Thành phần hoá học của <i>Spirulina platensis</i>	15
2.5 Vai trò, vị trí của tảo <i>Spirulina</i> trong công nghệ sinh học (CNSH).....	18
2.6 Mật ri (hay ri đường).....	21

2.7 Các kiểu thiết bị lên men có thể ứng dụng trong nuôi tảo.....	23
2.7.1 Thiết bị có cánh khuấy	23
2.7.2 Thiết bị có hệ thống thổi khí	26
PHẦN III : VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP.....	24
3.1 Địa điểm và thời gian tiến hành đề tài	27
3.2 Vật liệu.....	27
3.2.1 Nguồn tảo giống	27
3.2.2 Hoá chất.....	27
a/ Môi trường Zarrouk là môi trường hoá chất cơ bản cung cấp các thành phần dinh dưỡng thiết yếu cho <i>Spirulina</i> :	27
b/ Môi trường rỉ đường.....	27
3.2.3 Dụng cụ thí nghiệm.....	28
3.3 Phương pháp nghiên cứu	28
3.3.1. Phương pháp bố trí thí nghiệm.....	28
3.3.1.1 Thí nghiệm 1 : Ảnh hưởng của nồng độ nuôi cấy lên khả năng thu hoạch tảo <i>Spirulina</i>	28
3.3.1.2 Thí nghiệm 2 : Ảnh hưởng của chế độ chiếu sáng lên sự tăng sinh khối tảo <i>Spirulina</i>	29
3.3.1.3 Thí nghiệm 3 : Ảnh hưởng của khối lượng muối bicarbonat trong môi trường nuôi cấy lên sự tăng sinh khối tảo <i>Spirulina</i> :	29
3.3.1.4 Thí nghiệm 4 : Ảnh hưởng của các môi trường nuôi cấy khác nhau lên sự tăng sinh khối tảo <i>Spirulina</i> :.....	30
3.3.2 Phương pháp theo dõi chỉ tiêu chất lượng môi trường nuôi cấy và điều kiện nuôi cấy tảo <i>Spirulina</i>	30
3.3.3 Phương pháp xử lý số liệu.....	31
3.4 Thiết kế máy khuấy dung tích nhỏ 40 –50 l	31
PHẦN IV : KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN.....	28
4.1. Các thí nghiệm tăng sinh khối tảo	32

4.1.1 Một số yếu tố lý hoá ảnh hưởng đến thí nghiệm khảo sát tăng sinh khối <i>Spirulina</i>	32
4.1.1.1 Nhiệt độ	33
4.1.1.2 Độ pH	33
4.1.1.3 Tốc độ khuấy sục.....	34
4.1.2 Ảnh hưởng của các phương pháp gây nuôi khác nhau lên sự gia tăng sinh khối, thu hoạch tảo <i>Spirulina platensis</i>	34
4.1.2.1 Thí nghiệm 1 : Thí nghiệm đánh giá ảnh hưởng của nồng độ nuôi cấy ban đầu lên khả năng thu hoạch tảo <i>Spirulina</i>	36
4.1.2.2 Thí nghiệm 2 : Thí nghiệm đánh giá ảnh hưởng của chế độ chiếu sáng lên sự tăng sinh khối tảo <i>Spirulina</i>	40
4.1.2.3 Thí nghiệm 3 : Thí nghiệm đánh giá ảnh hưởng của khối lượng muối bicarbonat trong môi trường nuôi cấy lên sự tăng sinh khối tảo <i>Spirulina</i>	43
4.1.2.4 Thí nghiệm 4 : Thí nghiệm đánh giá ảnh hưởng của các môi trường nuôi cấy khác nhau lên sự tăng sinh khối tảo <i>Spirulina</i> :.....	46
4.2 Phương pháp thu hoạch tảo.....	50
4.3 Máy khuấy dung tích nhỏ	52
4.3.1 Nguyên tắc cấu tạo	52
4.3.2 Nguyên lý hoạt động	53
4.3.3 Ứng dụng nuôi tảo thể tích nhỏ.....	55
PHẦN V : KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ	56
5.1 Kết luận.....	56
5.1.1 Thí nghiệm tăng sinh khối <i>Spirulina platensis</i>	56
5.1.2 Phương pháp thu hoạch tảo	57
5.1.3 Máy khuấy tảo dung tích nhỏ.....	57
5.2. Đề nghị.....	57
TÀI LIỆU THAM KHẢO.....	57
PHỤ LỤC.....	

DANH SÁCH CÁC BẢNG

Bảng 2. 1 : Thành phần hoá học của tảo <i>Spirulina</i>	16
Bảng 2. 2 : Thành phần vitamin của tảo <i>Spirulina</i>	16
Bảng 2. 3: Thành phần khoáng của tảo <i>Spirulina</i>	17
Bảng 2. 4 : Thành phần axit amin của tảo <i>Spirulina</i>	18
Bảng 2. 5: Thành phần hoá học và một số tính chất quan trọng của hai loại mật rỉ.....	22
Bảng 3. 1: Thành phần môi trường Zarrouk	27
Bảng 3. 2 : Thành phần các môi trường rỉ đường.....	28
Bảng 4. 1 : Một số yếu tố lý hoá trong quá trình nuôi cấy:	33
Bảng 4. 2: Trọng lượng tảo tươi thu được sau 7 ngày nuôi cấy (Số g tảo tươi/1L môi trường) ở thí nghiệm 1	38
Bảng 4. 3 : Trọng lượng tảo tươi thu được sau 7 ngày nuôi cấy (Số g tảo tươi/1L môi trường) ở thí nghiệm 2.....	41
Bảng 4. 4 : Trọng lượng tảo tươi thu được sau 7 ngày nuôi cấy (Số g tảo tươi/1L môi trường) ở thí nghiệm 3.....	44
Bảng 4. 5 : Trọng lượng tảo tươi thu được sau 7 ngày nuôi cấy (Số g tảo tươi/1L môi trường) ở thí nghiệm 4.....	47

DANH SÁCH CÁC HÌNH VÀ ĐỒ THỊ

Hình 4. 1: Sơ đồ nhân sinh khối <i>Spirulina</i> từ nguồn tảo giống ban đầu.....	36
Hình 4. 2 : Tảo giống được trữ trong điều kiện lạnh trước khi đem ra tiến hành các thí nghiệm.	37
Hình 4. 3 Tảo nuôi trong thí nghiệm 1 ở ngày thứ 5.....	37
Hình 4. 4 Tảo nuôi trong thí nghiệm 1 ở ngày thu hoạch thứ 7	38
Hình 4. 5 : Hình thái sợi tảo <i>Spirulina platensis</i> quan sát ở x400	39
Hình 4. 6 : Tảo <i>Spirulina platensis</i> nuôi ở ngày thứ 5 trong điều kiện ánh sáng từ 3000 – 3500lux	41
Hình 4. 7: Tảo nuôi ở điều kiện ánh sáng 1500 – 1750 lux trong ngày 1 của thí nghiệm	42
Hình 4. 8 : Tảo nuôi ở điều kiện ánh sáng 1500 – 1750 lux trong ngày 5 của thí nghiệm	42
Hình 4. 9 : Sự hình thành các thể hoại bào màu vàng của <i>Spirulina platensis</i>	45
Hình 4. 10 : Hình thái sợi tảo trong môi trường có sử dụng ri đường 1ml quan sát ở x400	48
Hình 4. 11 : Khả năng lên sinh khối cao và đặc của tảo trong môi trường 1ml ri đường + 16,8g NaHCO ₃	49
Hình 4. 12: Tảo <i>Spirulina Platensis</i> thu hoạch bằng lưới lọc.....	52
Hình 4. 13 : Nguyên tắc cấu tạo máy khuấy	53
Hình 4. 14: Nuôi tảo trong các bình nhựa thể tích 10L	54
Hình 4. 15 : Mô hình 3D máy khuấy dung tích nhỏ	Error! Bookmark not defined.
Hình 4. 16: Máy khuấy ứng dụng nuôi tảo <i>Spirulina platensis</i>	54
Đồ thị 4. 1 Biểu đồ so sánh trọng lượng tảo tươi thu được ở các nồng độ nuôi cấy ban đầu khác nhau (20%, 25%, 30%).	40
Đồ thị 4. 2: Biểu đồ so sánh trọng lượng tảo tươi thu được ở điều kiện cường độ chiếu sáng khác nhau (1500 – 1750 lux, 3000 – 3500 lux, 4500 – 5250 lux).	43

Đồ thị 4. 3: Biểu đồ so sánh trọng lượng tảo tươi thu được ở điều kiện môi trường chứa hàm lượng muối bicarbonat khác nhau (16g NaHCO ₃ , 16,8g NaHCO ₃ , 17g NaHCO ₃).	46
Đồ thị 4. 4: Biểu đồ so sánh trọng lượng tảo tươi thu được ở điều kiện môi trường khác nhau (môi trường cơ bản (Zarrouk), môi trường 1 ml rỉ đường + 16,8 g NaHCO ₃ , môi trường 1,5 ml rỉ đường + 16,8 g NaHCO ₃).	50