

DOI:10.22144/jvn.2017.045

KHẢ NĂNG PHÁT TRIỂN CỦA TẢO *Chlorella* SP. TRONG ĐIỀU KIỆN DỊ DƯỠNG

Trần Sương Ngọc, Huỳnh Thị Ngọc Hiền và Phạm Thị Tuyết Ngân
 Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ

ABSTRACT

This study was performed to find out the best of trophic conditions and glucose concentration for *Chlorella* sp. growth. Two experiments were set-up in laboratory with temperature at 25 - 28°C. *Chlorella* were cultured in 8L glass vessel with salinity of 25‰ and Walne medium. Initial density of algae was 2 million cells/mL. In the first experiment, *Chlorella* sp. were cultured in 3 different trophic conditions: phototrophic, mixotrophic and heterotrophic. Glucose was supplied as organic carbon source for mixotrophic and heterotrophic cultivation in 10g/L concentration. In the second experiment, *Chlorella* sp. were cultured with different glucose concentrations of 5g/L, 10g/L and 15g/L in mixotrophic condition. Results showed that mixotrophic treatment obtained highest density ($106,53 \pm 0,69 \times 10^6$ cells/mL) and significantly different from others ($p < 0.05$). In the second experiment, *Chlorella* sp. grew best in glucose concentration of 10g/L, maximal density ($99,66 \pm 1,77 \times 10^6$ cells/mL) was significantly different from other treatments ($p < 0,05$). As the results, *Chlorella* sp. grew best in mixotrophic with glucose of 10g/L.

Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 28/09/2016

Ngày nhận bài sửa: 21/11/2016

Ngày duyệt đăng: 26/06/2017

Title:

Development of *Chlorella* sp. in heterotrophic cultivation

Từ khóa:

Chlorella sp., glucose, quang dị dưỡng

Keywords:

Chlorella sp., glucose, heterotrophic

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện nhằm tìm ra điều kiện dinh dưỡng và hàm lượng glucose sử dụng thích hợp cho sự phát triển của tảo *Chlorella* sp. Nghiên cứu gồm hai thí nghiệm được tiến hành trong phòng với nhiệt độ 26-28°C, tảo được nuôi trong bình thủy tinh 8 lít với mật độ ban đầu 2×10^6 tế bào/mL ở độ mặn 25‰ và môi trường nuôi cấy là Walne. Thí nghiệm 1 được tiến hành gồm 3 nghiệm thức với 3 lần lặp lại trong điều kiện: quang dưỡng, quang dị dưỡng và dị dưỡng, trong đó nguồn carbon hữu cơ cung cấp trong điều kiện quang dị dưỡng và dị dưỡng là glucose với hàm lượng 10g/L. Ở thí nghiệm 2, tảo *Chlorella* sp. được nuôi trong điều kiện quang dị dưỡng với hàm lượng glucose khác nhau: 5g/l, 10g/L và 15g/L. Kết quả thí nghiệm 1 cho thấy tảo *Chlorella* sp. phát triển tốt nhất ở nghiệm thức quang dị dưỡng, mật độ cao nhất $106,53 \pm 0,69 \times 10^6$ tế bào/mL, khác biệt có ý nghĩa thống kê với các nghiệm thức còn lại. Ở thí nghiệm 2, tảo *Chlorella* sp. ở nghiệm thức glucose 10g/L đạt mật độ $99,66 \pm 1,77 \times 10^6$ tế bào/mL, cao hơn có ý nghĩa so với các nghiệm thức còn lại.

Trích dẫn: Trần Sương Ngọc, Huỳnh Thị Ngọc Hiền và Phạm Thị Tuyết Ngân, 2017. Khả năng phát triển của tảo *Chlorella* sp. trong điều kiện dị dưỡng. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 50b: 127-132.

1 GIỚI THIỆU

Chlorella là tảo có tốc độ phát triển nhanh và được xem như nguồn dinh dưỡng có giá trị cao

trong tương lai với hàm lượng protein cao khoảng 50% và chứa hầu hết các acid amin thiết yếu như lysine, ethionine, tryptophan, arginine, histidine....

lipid của tảo thay đổi từ 10-20% với đa số các acid béo không no. *Chlorella* có chứa hầu hết các vitamin: A, B₁, B₂, B₆, B₁₂, C, D, K, acid nicotinic, acid pantotenic... đặc biệt rất giàu vitamin C. Trong thủy sản, *Chlorella* thường được sử dụng như nguồn thức ăn thích hợp cho luân trùng, moina, ấu trùng cá... ngoài ra *Chlorella* còn được sử dụng trong hệ thống nước xanh ương ấu trùng các loài tôm, cá... với tác dụng ổn định môi trường, hạn chế sự tạo thành các hợp chất độc hại và đặc biệt *Chlorella* có khả năng sản sinh chlorellin là một hợp chất từ các acid béo có khả năng hạn chế sự phát triển của một số vi khuẩn gram dương và gram âm (Pratt *et al.*, 1948). Ngoài ra, trong *Chlorella* còn chứa chất tăng trưởng CGF (Chlorella growth factor), CGF là một chuỗi peptid nucleotide được sản sinh ra và giúp cho *Chlorella* tăng khả năng quang hợp, phát triển nhanh chóng, có hiệu quả kích thích tăng trưởng, phục hồi sau bệnh (Chen, 1996; Lee, 1997). Theo báo cáo của Hasegawa *et al.* (1994) và Kim *et al.* (2008) thì *Chlorella* còn có khả năng chống ung thư, chống oxy hóa và có tác dụng làm sáng da và được sử dụng như một thực phẩm chức năng, đây cũng là nguồn nguyên liệu trong sản xuất dầu sinh học (Xu *et al.*, 2006; Xiong *et al.*, 2008; Zheng 2013). Với nhiều lợi ích cho thủy sản và cho đời sống con người, *Chlorella* được gây nuôi trong nhiều hệ thống khác nhau tuy nhiên sản xuất tảo thông qua quá trình quang hợp ở cả hai hệ thống ngoài trời và trong phòng thí nghiệm đều tốn nhiều chi phí cho việc cung cấp năng lượng cho quá trình quang hợp, năng suất thấp, mật độ cực đại thấp (1-2 g/L). Nhằm nâng cao hiệu quả sản xuất tảo, phương pháp nuôi cấy thông qua quá trình lên men, dị dưỡng được thực hiện nhằm nghiên cứu khả năng phát triển của tảo *Chlorella* sp. trong điều kiện dinh dưỡng dị dưỡng để phục vụ cho nhu cầu sử dụng. Theo Xu *et al.* (2006) hàm lượng chất béo trong tảo *C. protothecoides* nuôi dị dưỡng cao hơn gấp bốn lần so với nuôi tảo tự dưỡng trong điều kiện tương tự. Ở tảo *Tetraselmis* sp.; *Nitzschia laevis* thì khả năng sản xuất EPA và DHA trong điều kiện dị dưỡng cao hơn quang dưỡng (Wen and Chen, 2003; Chen *et al.*, 2007). Theo Perez-Garcia *et al.* (2011), glucose thường được sử dụng như một nguồn cung cấp carbon trong nuôi dị dưỡng tảo do quá trình chuyển hóa của glucose tạo ra nhiều năng lượng hơn so với các nguồn carbon khác. Liều lượng glucose sử dụng thường phụ thuộc vào loài tảo, thích hợp cho *Chlorella vulgaris* là 10g/L, *Scenedesmus acutus* là 1 g/L (Ogawa and Aiba, 1981), *C. saccharophila* là 2,5 g/L (Tan and Johns, 1991).

2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Thí nghiệm 1: Khả năng phát triển của tảo *Chlorella* sp. bằng các hình thức dinh dưỡng khác nhau

Thí nghiệm được tiến hành với ba nghiệm thức nuôi tảo *Chlorella* ở điều kiện quang dưỡng, quang dị dưỡng và dị dưỡng, trong đó mỗi nghiệm thức được lặp lại 3 lần. Tảo *Chlorella* sp. được nuôi trong bình thủy tinh 8 lít ở nhiệt độ 26-28°C, sục khí liên tục, ở độ mặn 25‰ với mật độ tảo ban đầu $2,07 \times 10^6$ tb/mL môi trường nuôi cấy là Walne được bổ sung một lần duy nhất vào ngày đầu của thí nghiệm với liều lượng 16 mL/bình (Coutteau, 1996). Trong quá trình nuôi tảo, nước cất được bổ sung khi lượng nước trong bình mất đi do bốc hơi. Trong điều kiện quang dưỡng, ánh sáng được cung cấp từ 3 ngọn đèn huỳnh quang 1,2 m như nguồn năng lượng cho quá trình quang hợp (cường độ ánh sáng trung bình 3.947 ± 180 lux). Ở điều kiện dị dưỡng, tảo sử dụng năng lượng từ nguồn carbon hữu cơ với hàm lượng glucose 10 g/L (Coelho *et al.*, 2014) được che tối hoàn toàn và điều kiện quang dị dưỡng là sự kết hợp giữa hai điều kiện có ánh sáng và bổ sung glucose 10 g/L một lần duy nhất trong suốt thời gian thí nghiệm. Glucose anhydrous do công ty Xilong Scientific, Trung Quốc sản xuất.

2.2 Thí nghiệm 2: Ảnh hưởng của hàm lượng glucose khác nhau lên sự phát triển của tảo *Chlorella* sp.

Thí nghiệm được tiến hành trong điều kiện giống như thí nghiệm 1 gồm 3 nghiệm thức với 3 lần lặp lại được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với các hàm lượng glucose là 5, 10 và 15g/L.

2.3 Các chỉ tiêu theo dõi: Nhiệt độ, pH, đo 1 lần/ngày vào lúc 8 giờ, các chỉ tiêu NO₂⁻, TAN thu 3 ngày/lần và được phân tích theo phương pháp Indo-phenol blue, Salicylate, trọng lượng 2540-D (APHA, 1999).

Mật độ tảo được xác định hằng ngày bằng buồng đếm Burkner được tính theo công thức: Số tế bào tảo/mL = $((n_1 + n_2)/160) \times 10^6 \times d$ (Coutteau, 1996).

Trong đó, n₁: Số tế bào tảo ở buồng đếm thứ nhất; n₂: Số tế bào tảo ở buồng đếm thứ hai; d: Hệ số pha loãng.

Kích thước tảo được xác định lúc bắt đầu thí nghiệm và khi tảo đạt pha tăng trưởng: đường kính của 30 tế bào tảo được đo ngẫu nhiên bằng thước vi thị kính ở vật kính 40 với độ phóng đại 400.

2.3 Phân tích và xử lý số liệu

Số liệu được thu thập và xử lý bằng phần mềm Excel. So sánh thống kê được thực hiện qua phân tích one-way ANOVA và so sánh các giá trị trung bình với phép thử Duncan ở mức ý nghĩa $p \leq 0,05$ bằng phần mềm Statistica 7.0.

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Thí nghiệm 1: Khả năng phát triển của tảo *Chlorella* sp. bằng các hình thức dinh dưỡng khác nhau

3.1.1 Các yếu tố môi trường

Nhiệt độ: trung bình nhiệt độ giữa các nghiệm thức dao động từ 26,4 - 28,7°C. Theo Liao *et al.*

Bảng 1: Các yếu tố môi trường trong thí nghiệm 1

Chỉ tiêu	NT Quang dưỡng	NT Quang-Dị dưỡng	NT Dị dưỡng
Nhiệt độ (°C)	26,7 ± 0,97 ^a	28,7 ± 0,74 ^b	26,4 ± 1,13 ^a
pH	8,7 ± 0,27 ^b	6,1 ± 1,05 ^a	5,0 ± 1,66 ^a
TAN (mg/L)	0,54 ± 0,37	0,45 ± 0,27	1,09 ± 0,86
PO ₄ ³⁻ (mg/L)	0,26 ± 0,35	0,42 ± 0,43	0,37 ± 0,48
NO ₃ ⁻ (mg/L)	15,30 ± 3,12	5,67 ± 7,79	8,37 ± 7,43

TAN: Hàm lượng TAN ban đầu ở các nghiệm thức quang dưỡng, quang dị dưỡng, dị dưỡng tương đối thấp và không có sự khác biệt thống kê (dao động trong khoảng 0,85-1,18 mg/L) do được cung cấp từ môi trường dinh dưỡng Walne. TAN có khuynh hướng giảm trong quá trình thí nghiệm và tăng nhẹ vào cuối thời gian thí nghiệm với hàm lượng trung bình là 0,54±0,37 mg/L, 0,45±0,27 mg/L và 1,09±0,86 mg/L ở các nghiệm thức tương ứng.

PO₄³⁻: Hàm lượng PO₄³⁻ ngày đầu ở các nghiệm thức quang dưỡng, quang dị dưỡng và dị dưỡng được cung cấp từ cùng môi trường dinh dưỡng Walne nên không có sự khác biệt và đạt các giá trị lần lượt là 1,11±0,03 mg/L, 1,09±0,01 mg/L và 1,21±0,01 mg/L. Đến cuối thí nghiệm hàm

(1983), nhiệt độ thích hợp cho sự phát triển của tảo *Chlorella* là 25 - 35°C. Như vậy, trong thí nghiệm này, nhiệt độ nằm trong khoảng thích hợp cho sự phát triển của tảo.

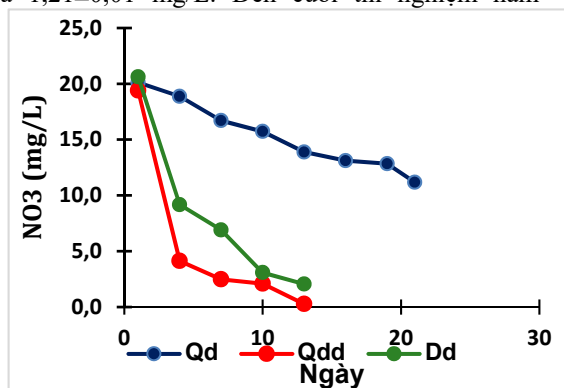
pH: Giá trị pH trung bình ở nghiệm thức quang dưỡng là 8,7±0,27 cao hơn và khác biệt có ý nghĩa ($p < 0,05$) so với các nghiệm thức quang dị dưỡng và dị dưỡng với pH trung bình lần lượt là 6,1±1,05 và 5,0±1,66 (Bảng 1). Điều này có thể do nghiệm thức quang dị dưỡng và dị dưỡng được bổ sung thêm glucose nên xảy ra quá trình đường phân và quá trình pentose-phosphate, quá trình này sẽ giải phóng ra nhiều CO₂ và H⁺ làm giảm pH của nước.

lượng PO₄³⁻ đều giảm ở cả 3 nghiệm thức tương ứng còn 0,08±0,01 mg/L, 0,19±0,03 mg/L và 0,08±0,00 mg/L.

NO₃⁻: Hàm lượng NO₃⁻ ngày đầu ở các nghiệm thức quang dưỡng, quang dị dưỡng và dị dưỡng khác biệt không có ý nghĩa ($p > 0,05$) với giá trị lần lượt là 20,11±0,12 mg/L, 19,4±1,00 mg/L và 20,63±0,40 mg/L. Hàm lượng NO₃⁻ ở nghiệm thức quang dị dưỡng và dị dưỡng giảm nhanh trong suốt thời gian nuôi do tảo hấp thu và phát triển nhanh ở hai nghiệm thức này.

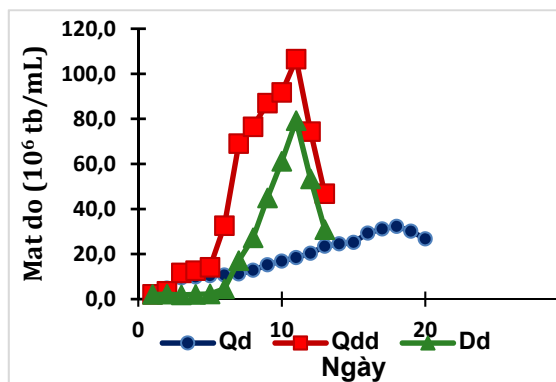
3.1.2 Mật độ tảo

Mật độ tảo ban đầu được bố trí khác biệt không có ý nghĩa ($p > 0,05$) giữa các nghiệm thức với mật độ trung bình là $2,07 \pm 0,05 \times 10^6$ tb/mL.



Hình 1: Hàm lượng NO₃⁻ ở thí nghiệm 1

Thí nghiệm cho kết quả mật độ tảo đạt cao nhất ở nghiệm thức quang dị dưỡng vào ngày thứ 11



Hình 2: Mật độ tảo ở thí nghiệm 1

($106,53 \pm 0,69 \times 10^6$ tb/mL) và khác biệt có ý nghĩa so với các nghiệm thức còn lại ($p < 0,05$). Mật độ

tảo đạt thấp nhất ở nghiệm thức quang dưỡng vào ngày thứ 18 với $32,27 \pm 3,94 \times 10^6$ tb/mL. Kết quả cho thấy trong điều kiện quang dị dưỡng tảo *Chlorella* sp. đạt mật độ cao hơn gấp nhiều lần và có tốc độ phát triển nhanh hơn so với điều kiện quang dưỡng. Theo Ogawa và Aiba (1981), tảo được nuôi trong điều kiện quang dị dưỡng thu được sinh khối lớn và tốc độ phát triển nhanh. Tảo *Chlorella* phát triển trong điều kiện dị dưỡng có mật độ tảo cao hơn so với tảo phát triển trong điều kiện quang dưỡng do trong quá trình đường phân tạo ra nhiều ATP hơn. Điều này cũng phù hợp với nhận định của Yang *et al.* (2000) dưới điều kiện dị dưỡng có thể sản sinh ra ATP cao gấp 16 lần so với điều kiện quang dưỡng. Mật độ tảo đạt cao nhất ở nghiệm thức dị dưỡng vào ngày thứ 11 ($79,20 \pm 1,00 \times 10^6$ tb/mL) thấp hơn so với nghiệm thức quang dị dưỡng ($106,53 \pm 0,69 \times 10^6$ tb/mL). Theo Kaplan *et al.* (1986), chế độ phát triển của tảo ở điều kiện quang dị dưỡng khác với dị dưỡng, vì trong điều kiện quang dị dưỡng CO₂ và nguồn carbon hữu cơ đồng thời được đồng hóa, hoạt động trao đổi chất, hô hấp và quang hợp cùng xảy ra đồng thời nên mật độ tảo cao hơn ở điều kiện dị dưỡng. Trong 6 ngày đầu thí nghiệm, mật độ tảo ở nghiệm thức dị dưỡng tăng rất ít từ $2,05 \pm 0,08 \times 10^6$ tb/mL lên $4,58 \pm 0,11 \times 10^6$ tb/mL còn ở nghiệm thức quang dị dưỡng mật độ tảo tăng nhanh hơn từ $2,12 \pm 0,06 \times 10^6$ tb/mL lên $32,63 \pm 1,45 \times 10^6$ tb/mL. Điều này có thể do nguồn tảo giống ban đầu được nuôi trong điều kiện có ánh sáng nên khi đưa tảo vào nuôi trong điều kiện tối hoàn toàn tảo cần thời gian thích nghi với môi trường mới. Hơn nữa, khi sử dụng glucose cần phải trải qua quá trình đường phân để tạo ra nguồn năng lượng cho tổng hợp chất hữu cơ, vì vậy quần thể tảo phát triển chậm hơn (Hình 2). Từ sau ngày thứ 7 của thí nghiệm mật độ tảo ở nghiệm thức dị dưỡng tăng nhanh, đạt mật độ cao nhất vào ngày thứ 11 với $79,20 \pm 1,00 \times 10^6$ tb/mL.

3.1.3 Kích thước tế bào tảo

Kích thước trung bình của nguồn tảo *Chlorella* sp. giống ban đầu là $4,72 \pm 0,93$ μm khác biệt không có ý nghĩa thống kê với nghiệm thức quang dưỡng ($5,27 \pm 1,04$ μm). Ở nghiệm thức quang dị dưỡng, hình dạng tảo ở cuối thí nghiệm có 2 dạng là hình elip và hình tròn với kích thước trung bình lần lượt là $5,98 \pm 1,16 \times 4,07 \pm 0,83$ μm và $5,25 \pm 0,91$ μm. Vào cuối thí nghiệm, hình dạng tảo ở nghiệm thức dị dưỡng biến đổi hoàn toàn sang dạng elip và có kích thước trung bình $6,30 \pm 1,28 \times 4,58 \pm 1,03$ μm. Màu sắc tế bào tảo ở cuối thí nghiệm cũng có sự

thay đổi, ở nghiệm thức quang và quang dị dưỡng tế bào có màu xanh lục trong khi tế bào tảo ở nghiệm thức dị dưỡng có màu nhạt hơn. Kết quả này phù hợp với kết quả của Endo *et al.* (1974) khi nuôi tảo *Chlorella regularis* ở điều kiện quang dưỡng có hàm lượng Chlorophyll là 4 % trong khi ở điều kiện dị dưỡng thấp hơn (2 %). Theo Martinez *et al.* (1991), việc bổ sung glucose vào môi trường nuôi cũng kích thích thay đổi sinh lý bên trong tảo *Chlorella*, ảnh hưởng đến quá trình đồng hóa carbon dẫn đến những thay đổi về kích thước tế bào tảo và các vật chất dự trữ bên trong tế bào (tinh bột, lipid, protein, chlorophyll, vitamin...). Vì vậy, việc bổ sung glucose có thể đã ảnh hưởng đến hình dạng của tế bào tảo.

3.2 Thí nghiệm 2: Ảnh hưởng của hàm lượng glucose khác nhau lên sự phát triển của tảo *Chlorella* sp. trong điều kiện quang dị dưỡng

3.2.1 Các yếu tố môi trường

Nhiệt độ: Trung bình nhiệt độ ở thí nghiệm 2 dao động từ 27,0- 28,9°C nằm trong khoảng thích hợp cho sự phát triển của tảo (Bảng 2). Nhiệt độ trung bình ở cả 3 nghiệm thức đều khác biệt có ý nghĩa ($p < 0,05$). Ở nghiệm thức glucose 15g/L có nhiệt độ trung bình cao nhất ($28,9 \pm 0,37^\circ\text{C}$), nhiệt độ thấp nhất ở nghiệm thức glucose 5g/L ($27,0 \pm 0,41^\circ\text{C}$). Điều này có thể do quá trình chuyển hóa của glucose trong môi trường nuôi tạo ra năng lượng. Theo Boyle and Morgan (2009), năng lượng được tạo ra từ glucose là 2,8 kJ/mol, vì vậy lượng glucose bổ sung càng nhiều càng tạo nhiều năng lượng đã dẫn đến nhiệt độ tăng cao, tuy nhiên nhiệt độ vẫn nằm trong khoảng thích hợp cho sự phát triển của tảo.

pH: Trung bình pH ở các nghiệm thức tỉ lệ nghịch với hàm lượng glucose bổ sung. Ở nghiệm thức glucose 5g/L có pH trung bình là $7,7 \pm 1,06$, cao hơn có ý nghĩa ($p < 0,05$) so với nghiệm thức glucose 15g/L ($4,8 \pm 1,4$). Nguyên nhân có thể do hàm lượng glucose bổ sung càng nhiều thì quá trình đường phân xảy ra càng nhiều và khả năng tạo ra nhiều H⁺ làm cho pH giảm, tuy nhiên càng về cuối thí nghiệm do sự phát triển của tảo ở các nghiệm thức làm cho pH tăng. So sánh với kết quả ở thí nghiệm 1 giữa nghiệm thức bổ sung 10g/L trong điều kiện quang dị dưỡng cho thấy pH trung bình ở hai thí nghiệm 1 và 2 tương đương nhau, với giá trị tương ứng là $6,1 \pm 1,05$ và $6,0 \pm 1,3$. pH ở nghiệm thức bổ sung 15 g/L đạt thấp do đó đã hạn chế sự phát triển của tảo, theo Coutteau (1996) pH thích hợp cho sự phát triển của tảo từ 7-9.

Bảng 2: Các yếu tố môi trường ở thí nghiệm 2

	Hàm lượng glucose bổ sung (g/L)		
	5	10	15
Nhiệt độ (°C)	27,0 ± 0,41 ^a	27,9 ± 0,39 ^b	28,9 ± 0,37 ^c
pH	7,7 ± 1,06 ^b	6,0 ± 1,37 ^{ab}	4,8 ± 1,4 ^a
PO ₄ ³⁻ (mg/L)	0,85±1,56	1,00 ±1,75	0,84±1,69
NO ₃ ⁻ (mg/L)	4,55±3,58	5,73±8,31	7,36±8,22

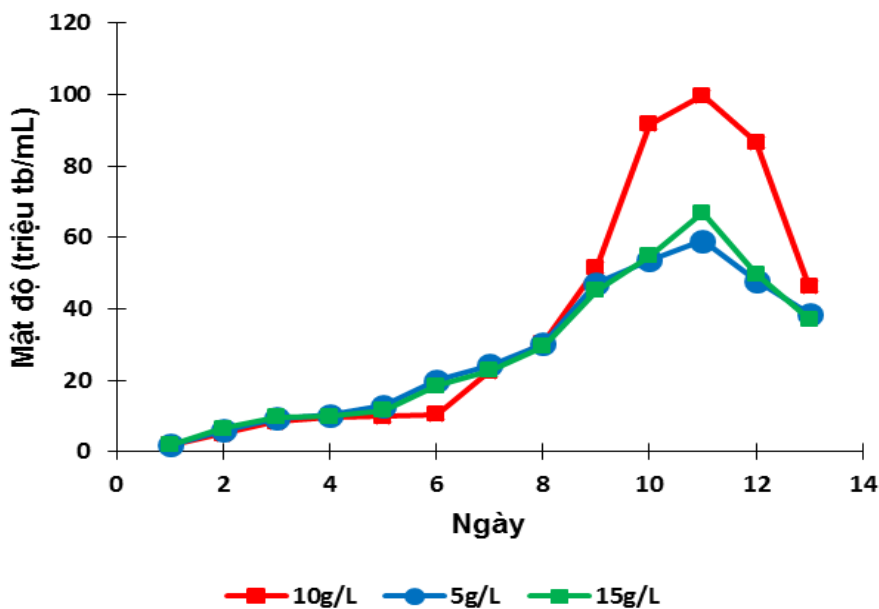
Các giá trị trung bình trong cùng một hàng có chữ cái khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa ($p < 0,05$)

PO₄³⁻: Hàm lượng PO₄³⁻ trung bình không có sự khác biệt giữa các nghiệm thức đạt giá trị 0,85±1,56; 1,00 ±1,75 và 0,84±1,69 mg/L tương ứng với hàm lượng glucose từ thấp đến cao. Hàm lượng PO₄³⁻ ở tất cả các nghiệm thức có xu hướng giảm dần trong suốt quá trình thí nghiệm theo sự hấp thụ và phát triển của tảo.

NO₃⁻: Trong quá trình thí nghiệm hàm lượng NO₃⁻ ở các nghiệm thức đều giảm từ đầu cho đến

cuối thí nghiệm do sự hấp thụ của tảo cho quá trình tăng trưởng, đặc biệt ở nghiệm thức bổ sung glucose 10 g/L. Hàm lượng NO₃⁻ ban đầu ở các nghiệm thức glucose 5g/L, 10g/L và 15g/L lần lượt là 19,95±0,20 mg/L, 20,38±0,19 mg/L và 21,55±1,05 mg/L đến cuối thí nghiệm hàm lượng giảm còn 1,10±0,00 mg/L, 1,03±0,03 mg/L và 1,08±0,06 mg/L.

3.2.2 Mật độ tảo



Hình 3: Mật độ tảo ở thí nghiệm 2

Mật độ tảo ở nghiệm thức glucose 10g/L đạt cao nhất, đạt tối đa 99,66±1,77×10⁶ tb/mL vào ngày thứ 11, khác biệt có ý nghĩa so với các nghiệm thức còn lại (Hình 3). Nghiệm thức glucose 15g/L có mật độ tảo cao thứ hai với 66,97±5,64×10⁶ tb/mL. Nghiệm thức glucose 5g/L có mật độ thấp nhất (59,16±2,56×10⁶ tb/mL). Theo Perez-Garcia *et al.* (2011) trong nuôi cấy tảo dị dưỡng, hàm lượng glucose cao hay thấp quá đều hạn chế sự phát triển của tảo. Hàm lượng glucose thích hợp cho sự phát triển của tảo phụ thuộc vào

loài tảo, hệ thống nuôi và điều kiện môi trường trong đó loài tảo được xem là yếu tố chính. Sự kết hợp của các yếu tố này sẽ dẫn đến mức glucose thích hợp khác nhau. Kết quả ở thí nghiệm này phù hợp với thí nghiệm của Ogawa and Aiba (1981) có hàm lượng glucose thích hợp cho sự phát triển *Chlorella vulgaris* là 10g/L trong khi ở báo cáo của Shi *et al.* (1999) ở tảo *C. protothecoides* là 85g/L. Như vậy, trong điều kiện quang dị dưỡng, tảo *Chlorella* sp. phát triển tốt nhất ở hàm lượng glucose 10g/L. So sánh cùng nghiệm thức cho thấy kết quả ở thí nghiệm 1 và 2 gần tương đương nhau,

đều đạt mật độ cao vào ngày thứ 11 của thí nghiệm.

4 KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT

4.1 Kết luận

Tảo *Chlorella* đạt mật độ cao nhất trong điều kiện quang dị dưỡng ($106,53 \pm 0,69 \times 10^6$ tế bào/mL) và thấp nhất ở nghiệm thức quang dưỡng ($32,27 \pm 3,94 \times 10^6$ tế bào/mL).

Trong điều kiện quang dị dưỡng, tảo *Chlorella* sp. đạt mật độ cao nhất ở nghiệm thức glucose 10g/L ($99,66 \pm 1,77 \times 10^6$ tb/mL) và thấp nhất ở nghiệm thức glucose 5g/L ($59,16 \pm 2,56 \times 10^6$ tb/mL).

4.2 Đề xuất

Có thể nuôi tảo *Chlorella* sp. trong điều kiện quang dị dưỡng với hàm lượng glucose 10g/L cho mật độ tảo cao nhằm thu sinh khối lớn phục vụ cho nhu cầu sử dụng.

Nghiên cứu sử dụng tảo *Chlorella* sp. nuôi trong điều kiện quang dị dưỡng và dị dưỡng làm thức ăn cho luân trùng và các đối tượng động vật phiêu sinh khác.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Boyle, N.R. and Morgan J.A., 2009. Flux balance analysis of primary metabolism in *Clamydomonas reinhardtii*. BMC Systems Biology, 3:4.
- Chen F., 1996. High cell density culture of microalgae in heterotrophic growth. Trends in biotechnology 14: 412-426.
- Chen, G. Q., Jiang Y. and Chen, F., 2007. Fatty acid and lipid class composition of the eicosapentaenoic acid producing microalga, *Nitzschia laevis*. Food chemistry 104: 1580-1585.
- Coutteau, P., 1996. Micro-algae. In: Patrick Lavens and Patrick Sorgeloos (Eds). Manual on the production and use of live food for aquaculture. Published by Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, 361pages.
- Endo H., Nakajima K., Chino R. and Shirota M., 1974. Growth characteristic and cellular components of *Chlorella regularis*, heterotrophic fast growing strain. Agricultural and Biological Chemistry 38 (1): 9-18.
- Kaplan, D., Richmond, A.E., Dubinsky, Z., Aaronson, S., 1986. Algal nutrition. In: Richmond, A. (Ed.), Handbook for Microalgal Mass Culture. CRC Press, Boca Raton, FL., USA: 147-198.
- Lee, Y.K., 1997. Commercial production of microalgae in the Asia-Pacific rim. Journal of Applied Phycology 9: 403-411.
- Liao, I.C., Su H.M. and Lin J.H., 1983. Larval foods for penaeus prawns. In: CRC handbook of mariculture.VI: Crustacean Aquaculture, Jame, P. (Eds): 43-69.
- Martinez, F., Ascaso C. and Orus M.I., 1991. Morphometric and stereologic analysis of *Chlorella vulgaris* under heterotrophic growth conditions. Ann. Bot. 67. 67: 239-245.
- Ogawa, T. and Aiba S., 1981. Bioenergetic analysis of mixotrophic growth in *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus acutus*. Biotechnology and Bioengineering 23: 1121-1132.
- Perez-Garcia O., Escalante F.M.E., de-Bashan L. E. and Bashan Y., 2011. Heterotrophic cultures of microalgae: Metabolism and potential products. Water reasearch 45: 11-36.
- Pratt, R., 1948. Studies on *Chlorella vulgaris*: XI. Relation between surface tension and accumulation of Chlorellin. Am. J. Bot. 35: 634-637.
- Shi, X. M., Liu H.J., Zhang X.W. and Chen F., 1999. Production of biomass and lutein by *Chlorella protothecoides* at various glucose concentrations in heterotrophic cultures. Process Biochem.34: 341-347.
- Tan, C. K and Johns M. R., 1991. Fatty acid production by heterotrophic eicosapentaenoic acid production. Journal of Applied Phycology 8: 59-64.
- Wen, Z.Y. and Chen, F., 2003. Heterotrophic production of eicosapentaenoic acid by microalgae. Biotechnology advances 21: 273-294.
- Xiong, W., Li X., Xiang J. and Wu Q., 2008. High-density fermentation of microalgae *Chlorella protothecoides* in bioreactor for microbio-diesel production. Applied Microbiology and Biotechnology 78: 29-36.
- Xu H., Miao X. X., Wu Q., 2006. High quality biodiesel production from a microalga *Chlorella protothecoides* by heterotrophic growth in fermenters. Journal of Biotechnology 126: 499-507.
- Yang, C., Hua, Q., Shimizu, K., 2000. Energetics and carbon metabolism during growth of microalgal cells under photoautotrophic, mixotrophic and cyclic light-autotrophic/dark-heterotrophic. Applied Microbiology and Biotechnology 91:31-46.