

NUÔI TRỒNG THỬ NGHIỆM 2 CHỦNG TẢO LAM *SPIRULINA PLATENSIS* CNT VÀ *SPIRULINA PLATENSIS* C1 TRONG CÁC LOẠI NƯỚC KHOÁNG THẠCH THÀNH - THANH HÓA, THANH TÂN - THỪA THIÊN - HUẾ VÀ THANH LIÊM - HÀ NAM

HOÀNG SỸ NAM, ĐẶNG ĐIỂM HỒNG

Viện Công nghệ sinh học

Nguồn nước khoáng có hàm lượng HCO_3^- cao như nước khoáng Vĩnh Hảo là không phổ biến ở nước ta [4]. Với mong muốn tận dụng được các nguồn nước khoáng sẵn có của Việt Nam nhằm tìm ra một môi trường dinh dưỡng không những vừa rẻ tiền, phù hợp với quy mô nuôi trồng công nghiệp tảo lam *Spirulina platensis* có năng suất sinh khối cao, đồng thời đảm bảo được chất lượng của tảo tốt, chúng tôi đã tiến hành nuôi trồng thử nghiệm 2 chủng tảo lam *S. platensis* CNT và *S. platensis* C1 trong các loại nước khoáng được lấy tại huyện Thạch Thành (tỉnh Thanh Hóa), huyện Thanh Tân (tỉnh Thừa Thiên - Huế) và huyện Thanh Liêm (tỉnh Hà Nam) nhằm mục đích đánh giá khả năng sinh trưởng và chất lượng của các chủng tảo này trong 3 môi trường nước khoáng nêu trên, đánh giá các chỉ tiêu lý hóa của môi trường trước và sau khi nuôi tảo, làm cơ sở cho việc thiết lập quy trình bổ sung liên tục nguồn dinh dưỡng trong quá trình nuôi đại trà để giảm chi phí đầu tư, kéo dài thời gian và thu sinh khối tảo tối đa giữa các đợt nuôi.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Vật liệu

Chúng tôi sử dụng 2 chủng *Spirulina platensis* CNT (hình 1) được nhập từ Pháp (năm 1972) và chủng *Spirulina platensis* C1 (hình 2) được nhập từ Nhật Bản (2005). Hiện nay, 2 chủng tảo này được giữ giống trong môi trường Zarrouck, tại Phòng Công nghệ tảo, Viện Công nghệ sinh học.

Nguồn nước khoáng được lấy từ các suối nước khoáng: thuộc huyện Thạch Thành (tỉnh Thanh Hóa); huyện Thanh Tân (tỉnh Thừa Thiên - Huế) và huyện Thanh Liêm (tỉnh Hà Nam) với

ký hiệu tương ứng là TH, HU và HN.

Các hóa chất có độ tinh sạch cao được dùng để pha môi trường Zarrouck. Phân hóa học N: P: K (5: 10: 3) của nhà máy sản xuất phân bón Lâm Thao được dùng để pha môi trường Zarrouck cải tiến. Các hóa chất chuyên dùng để tách chiết clô-rô-phin, carotênôit, lipit như: axêton, clorôphoroc, mêtanôn... Ngoài ra, chúng tôi còn dùng một số loại thuốc thử để phân tích hàm lượng các chất có trong môi trường nuôi tảo.

Thiết bị đã được sử dụng trong thí nghiệm bao gồm: máy nén khí (Trung Quốc), kính hiển vi quang học Olympus CH 02 (Nhật Bản), cân kỹ thuật Precisa XB 1200C, cân phân tích Precisa XT 220A, máy khuấy từ Kika Labortechnik (Đức), pH kế Melter Toledo (Đức), máy đo mật độ quang học UV-1601 Shimadzu (Nhật Bản), tủ sấy Cornthem (New Zealand), máy lactic IKA KS 260 basic (Đức), máy ly tâm Sorvall^(®) (Đức) và một số dụng cụ khác.

2. Phương pháp

- Các công thức thí nghiệm được chỉ ra trên bảng 1.

Trong đó, môi trường Zarrouck cải tiến (MT cải tiến) có thành phần như sau: NaHCO_3 - 8,50 (g/l); NaNO_3 - 1,50 (g/l); K_2HPO_4 - 0,50 (g/l); N: P: K (5: 10: 3) - 0,60 (g/l) do Phòng Thí nghiệm nghiên cứu ứng dụng tảo - trường đại học ChiangMai, Thái Lan công bố [6].

- Thí nghiệm nuôi trồng được tiến hành với cả 3 loại nước khoáng nêu trên và được ký hiệu bằng tên môi trường cùng với tên viết tắt của 3 loại nước khoáng tương ứng. Ví dụ như MT1 TH - môi trường MT1 được pha bằng nước khoáng Thanh Hóa, MT2 TH - môi trường MT2 được pha bằng nước khoáng Thanh Hóa... (bảng 1). Mỗi công thức thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

Các công thức thí nghiệm

Ký hiệu	Công thức thí nghiệm
Đối chứng - ĐC	Môi trường Zarrouck pha bằng nước cất
MT1 TH, MT1 HU, MT1 HN	MT Zarrouck pha bằng nước khoáng TH, HU, HN
MT2 TH, MT2 HU, MT2 HN	MT Zarrouck cải tiến pha bằng nước khoáng TH, HU, HN
MT3 TH, MT3 HU, MT3 HN	Nước khoáng TH, HU, HN

- Nuôi thử nghiệm 2 chủng CNT và C1 với các điều kiện thí nghiệm như sau: nhiệt độ từ 27-30°C; pH môi trường ban đầu từ 8,5-9,0; sục khí liên tục; chiếu sáng có cường độ 10 Klux; chu kỳ sáng tối: 12h/12h; thể tích dịch nuôi: 400 ml; mật độ ban đầu được đo ở bước sóng 420 nm - OD₄₂₀: 0,13; thời gian nuôi: 30 ngày.

- Chụp ảnh hình thái nhờ kính hiển vi quang học Olympus CH 02 (Nhật Bản) và máy ảnh kỹ thuật số Canon IXY Digital 70 (Nhật Bản).

- Xác định tốc độ sinh trưởng thông qua đo mật độ quang học ở bước sóng 420 nm (OD₄₂₀) bằng máy UV - 1601 Shimadzu (Nhật Bản).

- Xác định trọng lượng khô ở 105°C bằng cân phân tích Precisa XT 220A (max 220 g; e = 0,001 g; min 0,01 g; d = 0,0001 g) (Nhật Bản).

- Xác định nitơ tổng số bằng phương pháp microkjeldahl, sau đó nhân với hệ số 6,25 để tính protein tổng số. Hg được xác định theo phương pháp đo quang phổ hấp thụ nguyên tử bay hơi lạnh; chỉ tiêu Pb, As và Cd được xác định bằng phương pháp đo quang phổ hấp thụ

nguyên tử điện nhiệt. Các phương pháp này được trích dẫn từ "Standard methods for the examination of water and waste water", 1997, 20th edition [3].

- Xác định sắc tố theo Dương Trọng Hiền, 1999 [2]. Xác định lipid tổng số theo phương pháp Bligh và Dyer, có một số cải tiến phù hợp với điều kiện tại Việt Nam [1]. Xác định các yếu tố môi trường theo các phương pháp chuẩn xác định thành phần hóa lý trong môi trường nước [3]. Xử lý kết quả thu được bằng phương pháp thống kê sinh học.

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Thành phần hoá học của 3 loại nước khoáng TH, HU và HN

Để có thể khẳng định 3 loại nước khoáng được thu thập nêu trên có thể sử dụng để nuôi trồng *S. platensis* hay không, chúng tôi tiến hành phân tích chất lượng của nước khoáng. Kết quả phân tích chất lượng của 3 loại nước khoáng thử nghiệm được chỉ ra ở bảng 2.

Bảng 2

Thành phần lý hoá của 3 loại nước khoáng TH, HU và HN

STT	Chỉ tiêu	Loại nước khoáng		
		TH	HU	HN
1	Độ cứng (CaCO ₃) (mg/l)	268,0	392,0	236,0
2	HCO ₃ ⁻ (mg/l)	280,0	244,0	244,0
3	Fe ²⁺ (mg/l)	0,086	0,112	0,018
4	PO ₄ ³⁻ (mg/l)	2,436	2,040	1,190
5	NO ₃ ⁻ (mg/l)	3,828	0,216	0,521
6	Na ⁺ (mg/l)	4,250	74,730	8,040
7	K ⁺ (mg/l)	0,572	0,808	0,613
8	Hg (µg/l)	0,160	0,310	0,300
9	Pb (µg/l)	3,990	2,310	1,980
10	As (µg/l)	2,440	4,480	2,340
11	Cd (µg/l)	0,990	0,460	0,370
12	pH	7,7- 8,00	8,16	8,1

Kết quả trong bảng 2 cho thấy loại nước khoáng TH có độ cứng trung bình so với 2 loại nước khoáng HU và HN. Hàm lượng HCO_3^- của nước khoáng TH có giá trị cao nhất so với nước khoáng HU và nước khoáng HN. Điều này phản ánh nước khoáng TH sẽ cho khả năng nuôi trồng tảo thích hợp hơn so với nước khoáng HU và nước khoáng HN. Fe^{2+} là ion quan trọng cho nhu cầu dinh dưỡng của tảo; hàm lượng ion này theo thứ tự giảm dần trong 3 loại nước khoáng nêu trên như sau: $\text{HU} > \text{TH} > \text{HN}$. PO_4^{3-} cần thiết cho sinh trưởng của tảo và có nồng độ giảm dần trong 3 loại nước khoáng tương ứng $\text{TH} > \text{HU} > \text{HN}$; song, nhìn chung chúng không khác nhau nhiều ở cả 3 loại nước khoáng. Hàm lượng NO_3^- giảm dần ở 3 loại nước khoáng theo thứ tự $\text{TH} > \text{HN} > \text{HU}$. Nước khoáng TH có hàm lượng NO_3^- cao hơn nước khoáng HU và nước khoáng HN là 17,72 và 7,35 lần, tương ứng. Nước khoáng HU lại có hàm lượng Na^+ cao hơn nước khoáng TH và nước khoáng HN là 17,58 và 9,29 lần, tương ứng. Hàm lượng K^+ có giá trị gần như nhau ở cả 3 loại nước khoáng.

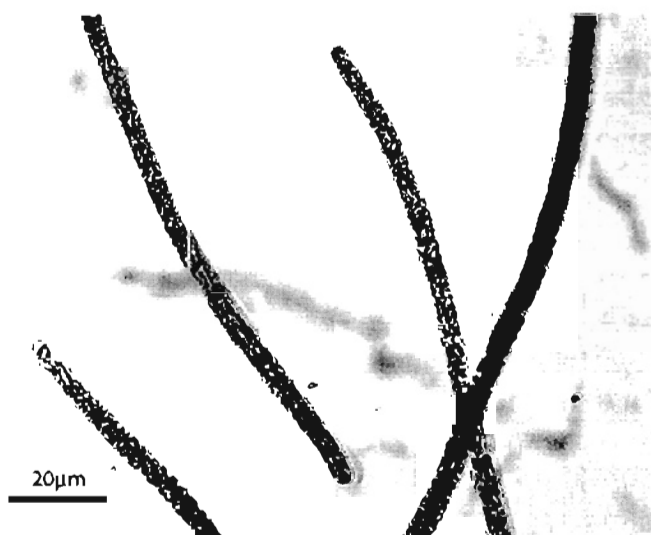
Mặc dù hàm lượng Na^+ của loại nước khoáng HU (74,73 mg/l tương ứng 0,07473 g/l) cao hơn rất nhiều so với 2 loại nước khoáng còn lại, nhưng so với giới hạn cho phép của hàm lượng Na^+ khi nuôi tảo là 5 g/l thì hàm lượng này thấp hơn 66,9 lần. Ngoài ra, tỷ lệ K^+/Na^+ của các loại nước khoáng này nhỏ hơn 5 (tỷ lệ K^+/Na^+ là 0,135, 0,0108 và 0,0762 tương ứng

với 3 loại nước khoáng TH, HU và HN), cũng đều nằm trong giới hạn cho phép sử dụng nguồn nước trên để nuôi trồng tảo. Vì khi tỷ lệ K^+/Na^+ lớn hơn 5 sẽ làm chậm sinh trưởng của tảo, còn khi tỷ lệ đó quá cao thì sẽ phá hủy cấu trúc của tế bào tảo [4]. Hàm lượng các nguyên tố kim loại nặng (KLN) trong 3 loại nước khoáng thấp hơn nhiều lần so với giới hạn cho phép của tiêu chuẩn Việt Nam [TCVN 5944 (1995)] đối với nước dùng cho nuôi trồng thủy hải sản. Ngoài ra, chúng tôi cũng đã tiến hành phân tích hàm lượng H_2S trong các loại nước khoáng nêu trên theo phương pháp như đã mô tả trong [3]. Kết quả thu được về hàm lượng H_2S trong cả 3 loại nước khoáng nêu trên là rất thấp, hầu như không xác định được (kết quả không chỉ ra ở đây). Như vậy, về cơ bản, cả 3 loại nước nêu trên đều đạt tiêu chuẩn là nguồn nước khoáng và có thể sử dụng chúng vào việc nuôi trồng tảo.

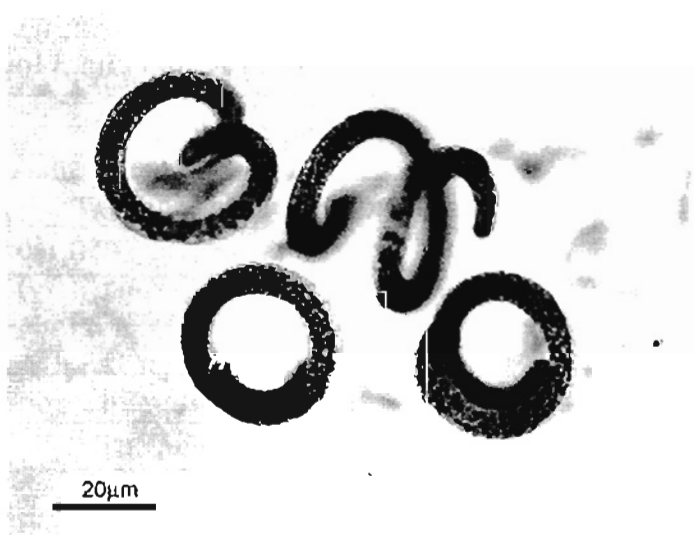
Trong 3 loại nước khoáng được sử dụng cho nuôi trồng thử nghiệm tảo, nước khoáng TH có thành phần dinh dưỡng tốt nhất (giàu HCO_3^- , NO_3^- , PO_4^{3-}) cho nuôi trồng tảo. Hai loại nước khoáng HU và HN có thành phần các thông số lý hoá gần tương tự nhau.

2. Hình thái của 2 chủng tảo được CNT và C1

Hình thái của 2 chủng tảo CNT và C1 được chỉ ra ở hình 1 và 2.



Hình 1. Hình thái của chủng *S. platensis* CNT



Hình 2. Hình thái của chủng *S. platensis* C1

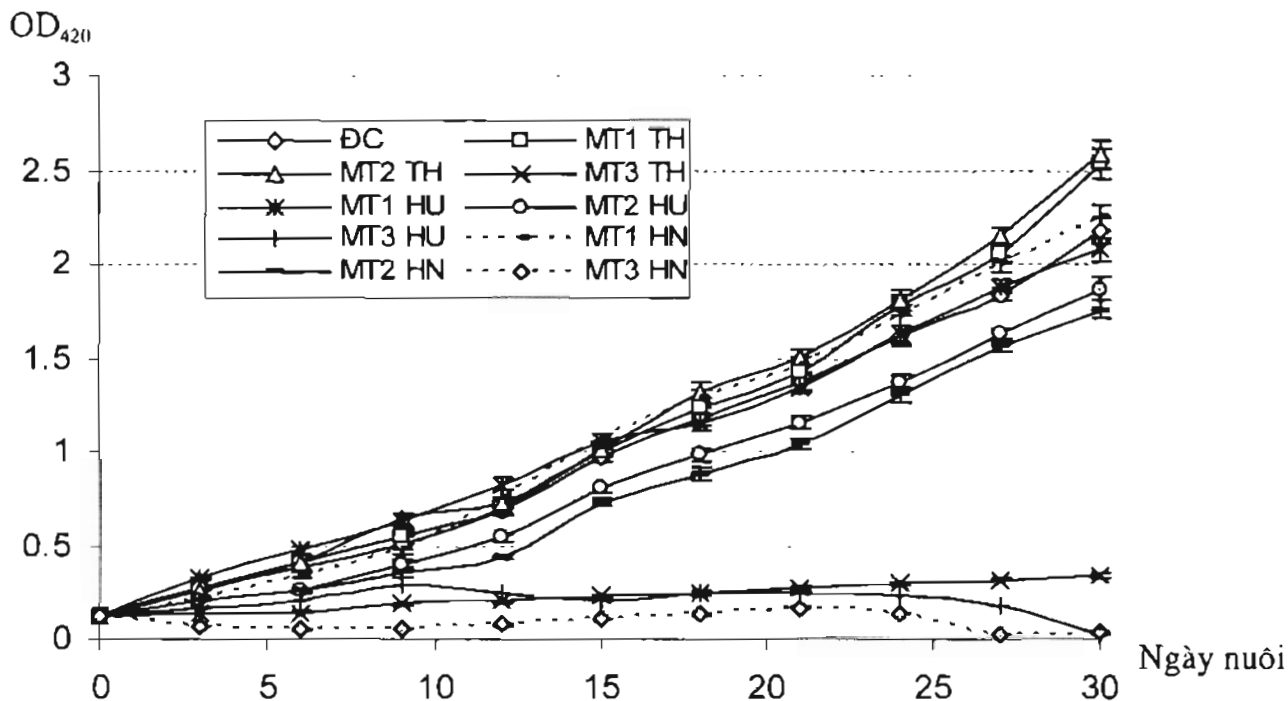
Hình thái sợi tế bào giữa hai chủng CNT và C1 có khác nhau, được chỉ ra trên các hình 1 và

2. Đối với chủng C1, các trichom cuộn tròn có đường kính khoảng 35 đến 40 μm , cho phép dễ

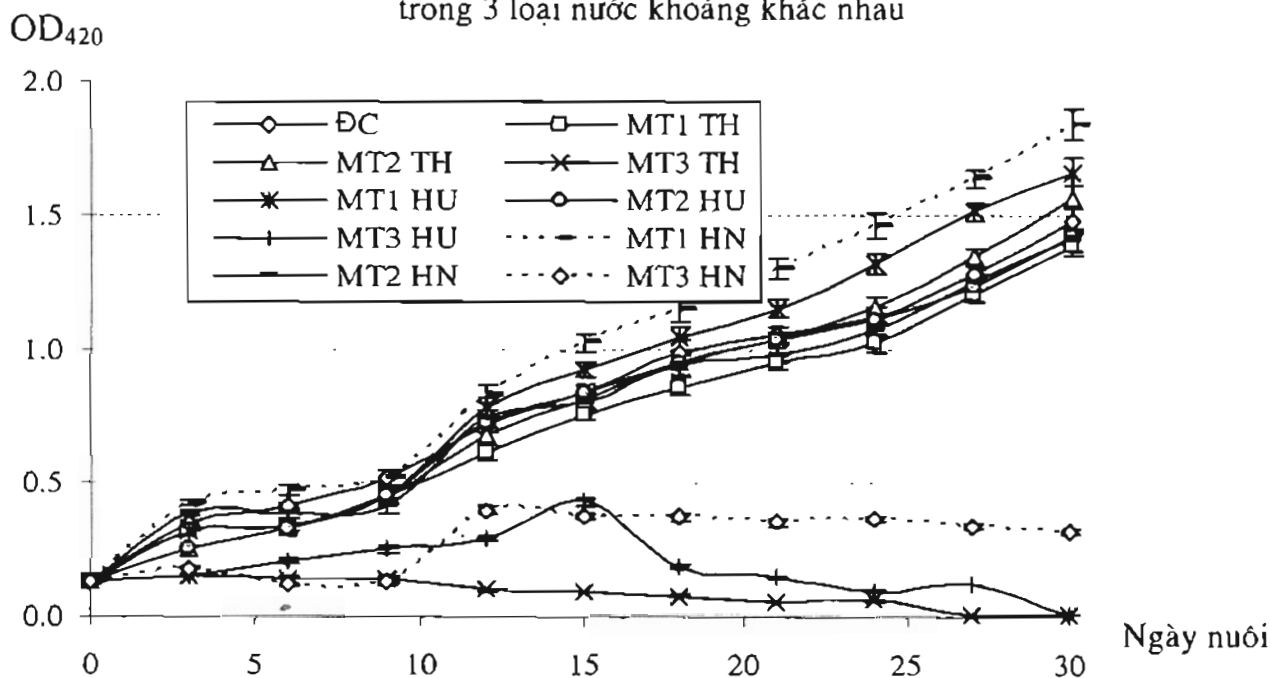
dàng thu hoạch nhờ lưới vớt có kích thước $2a = 40$ đến $50 \mu\text{m}$. Trong quá trình thí nghiệm đối với mỗi chủng, chúng tôi không phát hiện thấy sự thay đổi hình thái của tế bào tảo giữa các công thức thí nghiệm và đối chứng.

3. Tốc độ sinh trưởng của 2 chủng tảo CNT và C1

Tốc độ sinh trưởng của 2 chủng tảo CNT và C1 sau 30 ngày nuôi trồng được chỉ ra trên các bảng 3 và 4, thông qua thông số OD_{420} .



Hình 3. Tốc độ sinh trưởng của chủng CNT được nuôi trồng sau 30 ngày trong 3 loại nước khoáng khác nhau



Hình 4. Tốc độ sinh trưởng của chủng C1 được nuôi trồng sau 30 ngày trong 3 loại nước khoáng khác nhau

Hình 3 chỉ ra rằng với chủng CNT, ở hai công thức MT1 TH và MT2 TH, sau 30 ngày tảo vẫn phát triển tốt, đang ở pha log. Mật độ tảo ở hai công thức này (OD_{420} đạt khoảng 2,5 và 2,6,

tương ứng) cao hơn ở công thức ĐC (OD_{420} đạt 2,2). Ở hai công thức MT1 HU và MT2 HU, chủng CNT có OD_{420} đạt 2,1 và 1,9, tương ứng sau 30 ngày nuôi và thấp hơn so với công thức

ĐC. Ở công thức MT1 HN sau 15 ngày nuôi, tốc độ sinh trưởng của chủng CNT có cao hơn ở công thức ĐC, tiếp theo tảo duy trì ở mức tương đương với công thức ĐC sau 30 ngày nuôi trồng (OD_{420} đạt 2,3 và 2,2, tương ứng). Ở công thức MT2 HN, chủng CNT có tốc độ sinh trưởng thấp hơn so với công thức ĐC và có OD_{420} đạt 1,8. Còn ở các công thức MT3 TH, MT3 HU và MT3 HN, chủng CNT nuôi trong cả 3 loại nước khoáng không có bổ sung gì thì tảo sinh trưởng không được lâu, sau đó là tàn lụi dần.

Hình 4 chỉ ra rằng với chủng C1 được nuôi trong nước khoáng TH, tảo có tốc độ sinh trưởng cao ở công thức MT2 TH so với hai công thức ĐC và MT1 TH, với giá trị OD_{420} đạt 1,6; 1,5 và 1,4 tương ứng. Với nước khoáng HU, chủng C1 ở công thức MT1 HU có tốc độ sinh trưởng (OD_{420} đạt 1,7) cao hơn so với hai công thức ĐC và MT2 HU (OD_{420} đạt 1,4). Còn với nước khoáng HN ở công thức MT1 HN, chủng C1 có tốc độ cao nhất với mật độ tảo OD_{420} đạt 1,8, còn ở hai công thức ĐC và MT2 HN, tảo có tốc độ sinh trưởng gần như nhau (OD_{420} đạt gần 1,5). Cũng giống như chủng CNT, nếu chỉ nuôi trồng chủng C1 trong 3 loại nước khoáng nêu trên (MT3 TH, MT3 HU và MT3 HN) thì tảo cũng không sinh trưởng được lâu, sau vài ngày tảo sẽ tàn lụi dần. Điều này cho thấy, nếu chỉ sử dụng nguồn nước khoáng để nuôi trồng *S. platensis* là chưa đủ nguồn dinh dưỡng để cung cấp cho sự sinh trưởng và phát triển của tảo.

Như vậy, kết quả chỉ ra trên các hình 3 và 4 cho chúng ta một số nhận xét chính như sau:

- Cả 3 loại nước khoáng TH, HU và HN đều có thể sử dụng để nuôi trồng tảo *S. platensis*; tuy nhiên, trong 3 loại nước khoáng nêu trên thì nước khoáng TH cho tốc độ sinh trưởng của tảo là cao nhất. Điều này phù hợp với nhận xét đã được nêu ở trên (dựa trên kết quả phân tích thành phần hoá lý) là trong 3 loại nước khoáng được sử dụng cho nuôi trồng *S. platensis*, nước khoáng TH có thành phần dinh dưỡng tốt nhất cho nuôi trồng tảo này.

- Sau 30 ngày thí nghiệm, chủng CNT có tốc độ sinh trưởng cao hơn hẳn chủng C1 ở hầu hết tất cả các công thức thí nghiệm với cả 3 loại nước khoáng TH, HU và HN. Ở công thức MT2 TH, chủng CNT có tốc độ sinh trưởng cao nhất (OD_{420} đạt 2,6) so với tất cả các công thức thí

nhệm và công thức ĐC và so với cả chủng C1 (có OD_{420} cao nhất ở MT1 HN, đạt 1,8). Do vậy, có thể chọn chủng CNT và nước khoáng TH để nuôi trồng thu sinh khối tảo.

- Với nước khoáng TH, cả hai chủng tảo nuôi tại công thức MT2 TH có tốc độ sinh trưởng cao hơn cả so với công thức ĐC và môi trường Zarrouck đầy đủ - MT1 TH. Điều này cho thấy với một số mục đích nuôi trồng nhất định, có thể sử dụng môi trường Zarrouck cải tiến do Phòng Thí nghiệm nghiên cứu ứng dụng tảo của trường đại học Chiang Mai, Thái Lan để nuôi trồng tảo. Với môi trường này, chi phí cho việc nuôi tảo được giảm đi 1/2 so với nuôi bằng môi trường Zarrouck chuẩn vì có hàm lượng $NaHCO_3$ giảm 1/2 so với MT Zarouck chuẩn (MT1 TH) sử dụng nhiều loại hoá chất tinh khiết và quyết định chính đến giá thành của sản phẩm *S. platensis* thu được. Song về chất lượng, tảo được nuôi trong cả 2 môi trường MT1 TH và MT2 TH vẫn tương tự nhau.

4. Thành phần sinh hoá của 2 chủng tảo CNT và C1 được nuôi trồng ở các công thức thí nghiệm khác nhau

Nhằm đánh giá chất lượng của sinh khối tảo sau khi nuôi trồng 30 ngày ở tất cả các công thức thí nghiệm và công thức ĐC, thành phần sinh hoá của sinh khối tảo của các chủng CNT và C1 đã được phân tích. Kết quả thu được chỉ ra trên các bảng 3 và 4.

Kết quả ở bảng 3 cho thấy trọng lượng khô, giá trị OD_{420} , nitơ tổng số và prô-tê-in của chủng CNT ở các công thức MT2 TH và MT1 TH là cao nhất, song hàm lượng lipit, clô-rô-phin a và carôtênôit ở công thức MT2 TH lại thấp hơn so với công thức ĐC. Trong các công thức thí nghiệm khác, hàm lượng nitơ tổng số cũng như prôtêin đều thấp hơn ở công thức ĐC. Hàm lượng sắc tố clô-rô-phin a và carôtênôit ở các công thức MT1 của cả 3 loại nước khoáng (MT1 TH, MT1 HU và MT1 HN) đều cao hơn công thức ĐC, song ở các công thức MT2 TH, MT2 HU, MT2 HN lại thấp hơn so với công thức ĐC. Có sự khác nhau nhiều về hàm lượng lipit giữa các công thức thí nghiệm. Khác với hàm lượng prôtêin, hàm lượng lipit cao nhất ở 2 công thức MT1 HN và MT2 HN của nước khoáng HN, còn ở các công thức thí nghiệm khác, hàm lượng này lại không có sự khác nhau nhiều.

**Thành phần sinh hoá, trọng lượng khô của chủng CNT
thu được sau 30 ngày nuôi trồng ở các công thức thí nghiệm**

Công thức thí nghiệm	OD ₄₂₀	TLK (g/l)	Nitơ tổng số (% TLK)	Prô-tê-in (% TLK)	Li-pit (% TLK)	Clô-rô-phin (% TLK)	Ca-rô-tê-nôit (% TLK)
ĐC	2,2 ± 0,07	0,84 ± 0,03	8,49 ± 0,38	53,06 ± 2,39	11,52 ± 0,69	2,00 ± 0,08	0,57 ± 0,02
MT1 TH	2,5 ± 0,08	1,03 ± 0,03	9,12 ± 0,45	57,00 ± 2,85	10,74 ± 0,43	2,17 ± 0,09	0,67 ± 0,03
MT2 TH	2,6 ± 0,08	1,06 ± 0,03	10,40 ± 0,62	65,00 ± 3,90	10,23 ± 0,51	1,53 ± 0,05	0,48 ± 0,01
MT3 TH	0,3 ± 0,01	KPT	KPT	KPT	KPT	KPT	KPT
MT1 HU	2,1 ± 0,06	0,78 ± 0,02	8,34 ± 0,50	52,13 ± 3,13	11,86 ± 0,47	2,03 ± 0,12	0,60 ± 0,04
MT2 HU	1,9 ± 0,06	0,66 ± 0,02	8,23 ± 0,37	51,44 ± 2,31	10,86 ± 0,65	0,98 ± 0,05	0,46 ± 0,02
MT3 HU	0,1 ± 0,00	KPT	KPT	KPT	KPT	KPT	KPT
MT1 HN	2,3 ± 0,07	0,87 ± 0,03	6,48 ± 0,39	40,55 ± 2,43	11,60 ± 0,58	2,05 ± 0,08	0,61 ± 0,02
MT2 HN	1,8 ± 0,05	0,61 ± 0,02	8,09 ± 0,40	50,56 ± 2,53	14,00 ± 0,84	1,95 ± 0,10	0,57 ± 0,03
MT3 HN	< 0,05	KPT	KPT	KPT	KPT	KPT	KPT

Ghi chú: KPT. Không phân tích: đối với các công thức thí nghiệm MT3 TH, MT3 HU và MT3 HN có mật độ tảo khi kết thúc thí nghiệm rất thấp do vậy không đủ sinh khối để phân tích.

Hàm lượng clô-rô-phin a và carôtênoit ở chủng CNT được nuôi trồng ở nước khoáng TH (MT2 TH) thấp hơn so với công thức ĐC, song sinh khối tảo (thể hiện ở giá trị OD₄₂₀ và TLK) lại cao hơn so với công thức ĐC. Sở dĩ như vậy có thể là do ở công thức MT2 TH, sau 30 ngày nuôi trồng, tảo có mật độ cao hơn so với các công thức sử dụng nước khoáng HU và HN, do vậy cường độ ánh sáng thực tế đến từng tế bào tảo ở công thức MT2 TH giảm đi rất nhiều do có sự che chắn ánh sáng của các tế bào tảo với

nhau. Điều này dẫn tới giảm cường độ ánh sáng chiếu đến tế bào tảo trong môi trường sử dụng nước khoáng TH ở những giai đoạn này so với khi mật độ tế bào thấp. Do vậy, khi đó cường độ ánh sáng đã trở thành yếu tố giới hạn cho sự sinh tổng hợp clô-rô-phin a và carôtênoit. Điều này giải thích phần nào vì sao hàm lượng clô-rô-phin a và carôtênoit ở công thức MT2 TH thấp hơn so với công thức ĐC và các công thức khác có sử dụng nước khoáng HU và HN, trong khi sinh khối tảo lại cao hơn.

**Thành phần sinh hoá, trọng lượng khô của chủng CI
thu được sau 30 ngày nuôi trồng ở các công thức thí nghiệm**

Công thức thí nghiệm	OD _{420nm}	TLK (g/l)	Nitơ tổng số (% TLK)	Protein (% TLK)	Lipit (% TLK)	Clô-rô-phin a (% TLK)	Carôtênoit (% TLK)
ĐC	1,5 ± 0,04	0,68 ± 0,03	8,90 ± 0,45	54,49 ± 2,78	10,17 ± 0,81	1,85 ± 0,06	0,52 ± 0,02
MT1 TH	1,4 ± 0,06	0,58 ± 0,03	8,01 ± 0,48	50,06 ± 3,00	9,55 ± 0,48	1,82 ± 0,32	0,48 ± 0,01
MT2 TH	1,6 ± 0,05	0,74 ± 0,05	9,50 ± 0,76	58,14 ± 4,75	8,77 ± 0,38	1,26 ± 0,57	0,46 ± 0,01
MT3 TH	< 0,05	KPT	KPT	KPT	KPT	KPT	KPT
MT1 HU	1,7 ± 0,05	0,81 ± 0,04	9,40 ± 0,66	57,53 ± 4,11	7,50 ± 0,47	1,68 ± 0,47	0,46 ± 0,01
MT2 HU	1,4 ± 0,04	0,64 ± 0,02	11,19 ± 0,56	68,50 ± 3,50	10,55 ± 0,78	1,68 ± 0,45	0,53 ± 0,02
MT3 HU	< 0,05	KPT	KPT	KPT	KPT	KPT	KPT
MT1 HN	1,8 ± 0,06	0,95 ± 0,06	7,97 ± 0,32	52,71 ± 1,99	8,97 ± 0,56	1,58 ± 0,48	0,44 ± 0,01
MT2 HN	1,4 ± 0,04	0,63 ± 0,03	6,90 ± 0,41	45,62 ± 2,59	10,17 ± 0,35	1,80 ± 0,28	0,46 ± 0,01
MT3 HN	0,3	KPT	KPT	KPT	KPT	KPT	KPT

Ghi chú: KPT. Không phân tích: đối với các công thức thí nghiệm MT3 TH, MT3 HU và MT3 HN có mật độ tảo khi kết thúc thí nghiệm thấp do vậy không đủ sinh khối để phân tích.

Kết quả thu được ở bảng 4 cho thấy, sau 30 ngày, mật độ và trọng lượng khô của chủng C1 đạt cao nhất ở môi trường MT1 HN (OD_{420} : 1,8 và TLK: 0,95 g/l). Còn các giá trị này ở các công thức thí nghiệm khác hầu hết chỉ xấp xỉ hoặc tương đương với công thức ĐC (trừ ở MT1 TH, MT2 HN lại có TLK thấp hơn đối chứng với giá trị 0,58 g/l và 0,63 g/l, tương ứng). Hàm lượng nitơ tổng số và hàm lượng prôtêin tổng số ở công thức MT2 HU đạt giá trị cao nhất với giá trị 11,19% và 65,50%, tương ứng, rồi đến các công thức MT2 TH, MT1 HU với các giá trị 9,5%, 58,14% và 9,4%, 57,53% tương ứng. Còn ở các công thức thí nghiệm khác đều có giá trị thấp hơn công thức ĐC. Các thông số này thấp nhất ở công thức MT1 TH với giá trị TLK

0,58 g/l, nitơ 8,01% và prôtêin tổng số 50,6%. Hàm lượng lipit, clô-rô-phin a và carôtênoit ở tất cả các công thức thí nghiệm đều bằng hoặc thấp hơn so với công thức ĐC.

Nhìn chung chủng C1 ở các công thức MT2 TH và MT1 HU có các chỉ số OD_{420} , TLK, hàm lượng nitơ và prôtêin tổng số cao hơn ở công thức ĐC, song hàm lượng lipit, clô-rô-phin a, và carôtênoit lại thấp hơn so với công thức ĐC.

5. Phân tích hàm lượng kim loại nặng trong sinh khối của hai chủng tảo CNT và C1

Kết quả phân tích hàm lượng kim loại nặng (KLN) tích lũy trong sinh khối của 2 chủng CNT và C1 khi được nuôi trồng ở các công thức MT1 TH và MT1 HU được chỉ ra ở bảng 5.

Bảng 5

Hàm lượng KLN tích lũy trong sinh khối của 2 chủng CNT và C1 khi nuôi ở các công thức MT1 TH và MT1 HU sau 30 ngày nuôi trồng

Hàm lượng KLN (ppm)	As	Hg	Cd	Pb
Chủng CNT được nuôi trồng ở công thức MT1 TH	0,057	0,0061	0,035	0,313
Chủng C1 được nuôi trồng ở công thức MT1 HU	0,062	0,0075	0,030	0,415
Tảo <i>Spirulina platensis</i> được nuôi trồng ở Vĩnh Hảo - Bình Thuận*	8,50	1,25	0,4	0,7
<i>Spirulina</i> được sản xuất ở México**	2,20	0,24	0,1	0,4

Ghi chú: (*). Theo tài liệu phân tích *S. platensis* được nuôi trồng ở Vĩnh Hảo - Bình Thuận do Nguyễn Diệu Minh, Trung tâm vật liệu năng lượng nguyên tử quốc gia công bố (Nguyễn Hữu Thước, 1988) [4]; (**). Theo tài liệu của Christopher Hill (1980), với tảo *Spirulina* được sản xuất ở México [4].

Trong số các nguyên tố KLN, người ta thường quan tâm đầu tiên đến 4 nguyên tố: As, Hg, Cd và Pb. Bởi vì, các nguyên tố này có vai trò hết sức quan trọng, quyết định đến việc định hướng ứng dụng của tảo *Spirulina* nuôi trồng được vào các mục đích sử dụng chúng làm thực phẩm chức năng cho người và động vật nuôi.

Kết quả thu được trên bảng 5 cho chúng ta thấy hàm lượng kim loại nặng của 4 nguyên tố chính là As, Hg, Cd và Pb trong sinh khối của tảo đều nằm trong giới hạn cho phép theo tiêu chuẩn chất lượng của Mỹ và Nhật Bản [5, 7, 8] và có thể sử dụng sinh khối tảo này làm thực phẩm chức năng cho người và động vật nuôi. Kết quả trong bảng 5 cũng hoàn toàn phù hợp với kết quả chỉ ra trong bảng 2 với kết luận rằng cả 3 loại nước khoáng đều đảm bảo chất lượng tốt để sử dụng cho việc nuôi trồng tảo. Như chúng ta đều biết, KLN được tích lũy trong sinh khối của tảo chủ yếu đi từ nguồn nước dùng để

nuôi tảo và các hoá chất sử dụng để nuôi trồng. Trong thí nghiệm này, chúng tôi sử dụng loại nước khoáng TH và HU và các hoá chất tinh khiết để pha môi trường Zarrouck. Do vậy, điều này cũng lý giải cho việc hàm lượng KLN có trong 2 chủng CNT và C1 rất thấp so với giới hạn cho phép [8]. Như vậy, sinh khối tảo nuôi trồng được có chất lượng bảo đảm cho việc sử dụng làm thực phẩm chức năng cho người và động vật nuôi.

6. Phân tích một số yếu tố của môi trường trước và sau khi nuôi trồng chủng tảo CNT

Chúng tôi đã tiến hành phân tích một số yếu tố của môi trường trước và sau khi nuôi trồng chủng CNT. Các thông số này có ý nghĩa rất quan trọng cho việc quyết định có bổ sung các chất dinh dưỡng cho môi trường nuôi tảo hay không, cũng như thời điểm cần thu hoạch tảo

trong quy trình công nghệ nuôi trồng đại trà sau này, nhằm tận dụng có hiệu quả các chất dinh dưỡng có trong môi trường nuôi để thu được tối đa sinh khối tảo.

Kết quả phân tích các yếu tố của môi trường (chi tiết không được chỉ ra ở đây) đã cho thấy: sau 30 ngày nuôi, thể tích môi trường giảm từ 400 ml xuống 230 ml do bay hơi nước trong quá trình nuôi (thể tích môi trường giảm 43%). Hàm lượng $N-NO_3^-$ trong các công thức ĐC, MT1 và MT2 còn lại rất cao (khoảng > 70%) so với nồng độ ban đầu. Vì vậy, nếu thiết lập quy trình nuôi như trên thì môi trường còn lại sau khi thu hoạch tảo có thể sử dụng để nuôi tiếp hoặc chỉ cần bổ sung thêm một lượng hoá chất tương đương với liều lượng tiêu hao.

Nếu chuẩn thể tích sau khi nuôi về thể tích ban đầu (từ 230 ml về 400 ml), chúng tôi tính được phân trăm tiêu hao sau khi nuôi, cụ thể: thành phần $N-NO_3^-$ có lượng tiêu hao từ 45 đến 57%, thành phần $P-PO_4^{3-}$ có lượng tiêu hao từ 87-91%. Số liệu này có thể giúp các nhà sản xuất ước lượng được năng suất sản phẩm của họ. Ngoài ra, có thể tái sử dụng môi trường sau khi thu hoạch sinh khối tảo để nuôi tiếp hoặc sử dụng vào mục đích làm phân bón cho cây trồng.

Đối với môi trường MT3 - chỉ sử dụng các loại nước khoáng và không bổ sung chất dinh dưỡng, tảo không phát triển được mặc dù hàm lượng HCO_3^- cao.

III. KẾT LUẬN

1. Trong 3 loại nước khoáng TH, HU và HN được sử dụng để nuôi trồng tảo *S. platensis*, nước khoáng TH có thành phần dinh dưỡng tốt nhất (giàu HCO_3^- , NO_3^- , PO_4^{3-}) để nuôi trồng tảo này. Hai loại nước khoáng HU và HN có thành phần các thông số lý hoá gần tương tự nhau.

2. Cả 3 loại nước khoáng TH, HU và HN đều có thể sử dụng để nuôi trồng tảo *S. platensis*, trong đó nước khoáng TH cho tốc độ sinh trưởng của tảo cao nhất.

3. Có thể sử dụng nước khoáng TH để nuôi trồng cả hai chủng tảo *S. platensis* CNT và C1 với công thức môi trường MT2. Với môi trường này, chi phí cho nuôi tảo có thể giảm được 1/2 mà chất lượng tảo vẫn đảm bảo so với nuôi bằng môi trường Zarrouck chuẩn. Tuy nhiên, trong

hai chủng CNT và C1; chủng CNT có tốc độ sinh trưởng cao gấp 1,5 lần so với chủng C1.

4. Thành phần sinh hóa của hai chủng tảo CNT và C1 khi được nuôi trong các môi trường khác nhau có khác nhau. Song, vẫn đảm bảo được chất lượng để làm thực phẩm cho người và động vật nuôi.

Lời cảm ơn: Công trình hoàn thành với sự hỗ trợ kinh phí của đề tài cơ sở định xuất A của Viện Công nghệ sinh học. Tác giả xin cảm ơn ông Nguyễn Trọng Giao, Bộ Nông nghiệp và phát triển Nông thôn đã cung cấp 3 loại nước khoáng dùng trong thí nghiệm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bligh E. G. and Dyer, 1959: Can. J. Biochem. Physiol., 37: 911-917.
2. Dương Trọng Hiền, 1999: Nghiên cứu một số chỉ tiêu sinh lý, hoá sinh của tảo *Spirulina platensis* dưới tác động của NaCl. Luận án tiến sỹ sinh học, Viện Công nghệ sinh học, Hà Nội.
3. Lenore S. Clesceri, Arnold E. Greenberg, Andrew D. Eaton, 1997: Standard methods for the examination of water and waste water, 20th edition.
4. Nguyễn Hữu Thước, 1988: Tảo *Spirulina* - nguồn dinh dưỡng và dược liệu quý. Nxb. Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.
5. Pulz O., 2004: Proceeding of the tenth International Congress for Cultrure Collection: 195-200. Edited by Watanabe M.M., Seki T., Sukuki K..
6. Sao Sythuon, 2005: A thesis submitted to the Graduate School in partial fulfillment of the requirements for the degree of master of science in environmental science, Chiang Mai University, Thailand.
7. Vonshak A. and Tomaselli L., 2000: *Arthrospira (Spirulina)*: systematic and ecophysiology, In The ecology of Cyanobacteria: their diversity in time and space. Whitton B. A. and Potts M. (eds). Kluwer Academic Publisher, Dordrecht.
8. [Http://www.spirulinasource.com/earthfoods/tan1.html](http://www.spirulinasource.com/earthfoods/tan1.html).

TRIAL CULTIVATION OF TWO STRAINS *SPIRULINA PLATENSIS* CNT AND *SPIRULINA PLATENSIS* C1 IN MEDIUM WITH DIFFERENT MINERAL WATER RESOURCES SUCH AS THACHTHANH - THANHHOA, THANHTAN - THUATHIEN - HUE AND THANHLIEM - HANAM PROVINCE

HOANG SY NAM, DANG DIEM HONG

SUMMARY

Spirulina is a predominant alga in market of biomass because it not only high nutritive values, to be useful for prevention and treatment of disease of human and domestic animals but also very important for wastewater treatment. Nowadays, the cost of commercial products made from *Spirulina* is very expensive, because cultural media in large culture scale request pure and expensive chemicals. In this report, we present the preliminary results of trial cultivation of two strains of *Spirulina platensis* CNT and *Spirulina platensis* C1 on 4 media which were designated control, MT1, MT2, MT3 together with different mineral water resources such as Thachthanh (Thanhhoa province), Thanhtan (Thuathien - Hue province) and Thanhliem (Hanam province). Our purpose is utilization of available mineral water sources in Vietnam in order to find a nutritive medium formula that would have cheaper cost, higher yield of biomass with good quality of *Spirulina platensis* for their use as nourish food, functional food for human and domestic animals.

Ngày nhận bài: 20-6-2007