

KHẢO SÁT MỘT SỐ YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG ĐẾN QUÁ TRÌNH NUÔI TRỒNG VI KHUẨN LAM SPIRULINA PLATENSIS SỬ DỤNG NƯỚC THẢI CHĂN NUÔI HEO SAU BIOGAS THEO PHƯƠNG PHÁP THỦY CANH CẢI TIẾN

Nguyễn Thanh Tuyền⁽¹⁾, Nguyễn Thị Liên⁽¹⁾

(1) Trường Đại học Thủ Dầu Một

Ngày nhận bài 09/04/2019; Ngày gửi phản biện 12/04/2019; Chấp nhận đăng 30/05/2019

Email: hshtuyen@gmail.com

Tóm tắt

Nghiên cứu đã đề xuất một phương pháp mới “phương pháp thủy canh cải tiến” trong nuôi trồng vi khuẩn lam *Spirulina platensis* sử dụng nước thải chăn nuôi heo sau biogas. Kết quả cho thấy cường độ ánh sáng và tỷ lệ giống ban đầu có ảnh hưởng đến sự gắn kết và tăng trưởng của vi khuẩn lam *S. platensis* trên bề mặt vật liệu hỗ trợ. Sau 7 ngày nuôi năng suất sinh khối cao nhất trên vật liệu hỗ trợ đạt được 3,48 g/m²/ngày, tỷ lệ bám dính lên bề mặt vật liệu hỗ trợ 42,79 %, hiệu suất xử lý PO₄³⁻, NO₃⁻, NH₄⁺ lần lượt là 87,02; 94,99; 97,55%.

Từ khóa: *Spirulina platensis*, quá trình sản xuất vi tảo, năng suất sinh khối, tỷ lệ bám dính.

Abstract

THE INFLUENCE OF FACTORS ON THE CULTIVATION OF CYANOBACTERIA SPIRULINA PLATENSIS USING ANAEROBIC DIGESTED PIG EFFLUENT BY THE MODIFIED HYDROPONIC SYSTEM

For this study, a new technique “modified hydroponic system” in cyanobacteria *Spirulina platensis* cultivation system used anaerobic digested pig effluent. The results indicated that the light intensity and the initial microalgae biomass have impact on both the adhesion rate and the adhesion biomass productivity of cyanobacteria *S. platensis*. After 7 days of culture at 100% of effluent and 20% of algae, the highest efficiency was achieved: NO₃⁻ (94,99%), PO₄³⁻ (87,02%), NH₄⁺ (97,55%), the adhesion biomass productivity of 3,48 g/m²/day and adhesion rate of 42,79%.

1. Đặt vấn đề

Hiện nay chất thải từ hoạt động chăn nuôi heo được xem là nguồn gây ô nhiễm lớn đến môi trường, ước tính trong phân heo có chứa khoảng 5,4-6,3 kg N/tấn phân và 2,23 kg P/tấn phân (Olguín và cs., 2003). Thành phần dinh dưỡng trong nước thải chăn nuôi heo tương tự như thành phần của môi trường nuôi cấy vi tảo và nó hỗ trợ tốt cho sự tăng trưởng của một số chủng vi tảo (Zhou và cs., 2014). Nước thải sau biogas chỉ loại bỏ được phần lớn các hợp chất hữu cơ, nhưng không loại bỏ được nitơ (N) và phốt pho (P) (Nguyễn Thị Hồng và Phạm Khắc Liệu, 2012; Vũ Đình Tôn và cs., 2008). Phương pháp sử dụng vi tảo để xử lý các chất ô nhiễm từ nước thải chăn

nuôi đặc biệt là xử lý N và P, đang được áp dụng rộng rãi trên thế giới, đạt hiệu quả cao, chi phí thấp nhưng lại an toàn với môi trường (Christenson và Sims, 2011; Hoffmann và cs., 1998).

Spirulina platensis thường gọi là vi khuẩn lam (trước còn được gọi là tảo lam, blue- green algae, cyanobacteria). Vi khuẩn lam *S. platensis* được xem là nguồn dinh dưỡng của thiên nhiên với đầy đủ các thành phần thiết yếu như protein, lipid, carbohydrate cùng nhiều loại khoáng đa và vi lượng, vitamin và nhiều loại acid amin không thể thay thế như: lysine, methionine, tryptophan (Enzing và cs., 2014). Nó đã được chứng minh là nguồn thực phẩm bổ sung phổ biến trên toàn thế giới và bổ dưỡng nhất cho con người (Sajilata và ctv, 2008; Ogbonda và cs., 2007; Konstantinos, 2008). Hiện nay, vi khuẩn lam *S. platensis* còn làm nguồn nguyên liệu tiềm năng không chỉ cho quá trình trích ly các hợp chất có giá trị sinh học như β -caroten và phycocyanin, nguồn thức ăn cho ngành chăn nuôi mà còn là nguồn nguyên liệu cho quá trình sản xuất nhiên liệu sinh học (Konstantinos, 2008). Trước những giá trị mà vi khuẩn lam *S. platensis* mang lại thì các nghiên cứu về xây dựng những mô hình nuôi trồng, chế biến và chiết xuất các chất có hoạt tính sinh học từ vi khuẩn lam này nhằm phục vụ cho con người ngày càng được quan tâm. Hầu hết những mô hình nuôi trồng tảo hiện nay đều sử dụng phương pháp thủy canh truyền thống. Tuy nhiên, nhược điểm của các hệ thống này là năng suất sinh khối thấp và để thu hoạch vi tảo từ các hệ thống này thì chi phí cho quá trình loại nước khá cao chiếm từ 21-30% trên tổng chi phí sản phẩm và tốn nhiều thời gian (Davis và cs., 2011).

Xuất phát từ thực tế nêu trên mà nghiên cứu “Khảo sát một số yếu tố ảnh hưởng đến quá trình nuôi trồng vi khuẩn lam *Spirulina platensis* sử dụng nước thải chăn nuôi heo sau biogas theo phương pháp thủy canh cải tiến” được thực hiện. Mô hình nuôi này được xem là một lựa chọn hợp lý, một hướng mới khắc phục được những hạn chế của phương pháp thủy canh truyền thống hứa hẹn mang lại hiệu quả cao.

2. Nội dung và phương pháp nghiên cứu

2.1. Địa điểm nghiên cứu.

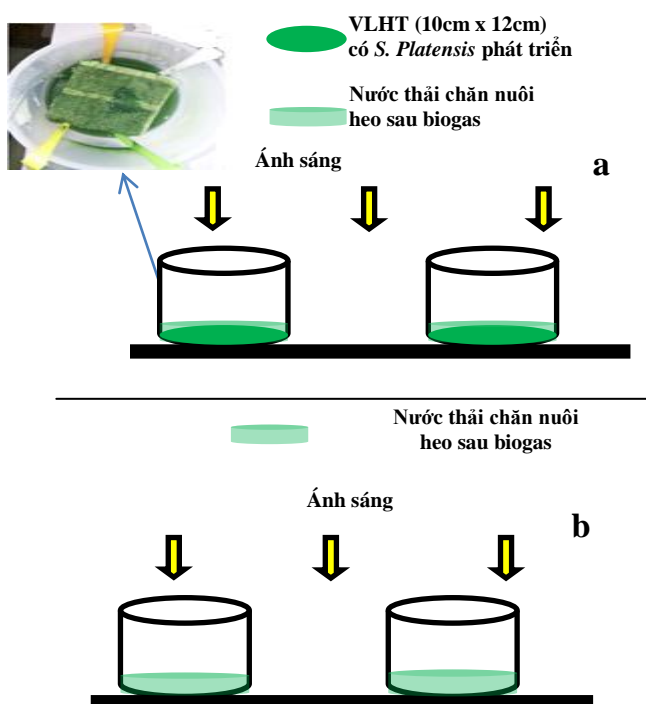
Đề tài được thực hiện tại Phòng thí nghiệm Trường Đại học Thủ Dầu Một.

2.2. Vật liệu và phương pháp.

Vật liệu: Vi khuẩn lam (VKL) *S. platensis* được cung cấp từ Viện Nuôi trồng Thủy Sản 2 Tp.Hồ Chí Minh. Mẫu nước thải chăn nuôi heo sau biogas được lấy tại Tp. Thủ Dầu Một. Vật liệu hỗ trợ (VLHT): vải cotton+ polystyrene foam (xốp) (Johnson và Wen, 2010; Gross và cs., 2013). Môi trường Zarrouk được sử dụng để nuôi cấy và tăng sinh chủng vi khuẩn lam *S.platensis* (Vonshak và cs., 1982; Zarrouk, 1996)

Phương pháp: Xác định hàm lượng ẩm bằng phương pháp sấy khô đến khối lượng không đổi theo TCVN 1867:2001. Xác định hàm lượng NH_4^+ theo TCVN6179-1 : 1996. Xác định hàm lượng PO_4^{3-} theo phương pháp SMEWW 4500-P E:2012. Xác định hàm lượng NO_3^- theo phương pháp SMEWW 4500- NO_3^- E:2012

Phương pháp xử lý số liệu: Các thí nghiệm đều được lặp lại 3 lần để đảm bảo độ tin cậy. Sử dụng phần mềm Statgraphics plus 3.0 để phân tích thống kê số liệu thí nghiệm và đánh giá sự khác biệt giữa các mẫu. Tiến hành bố trí thí nghiệm của 2 phương pháp thủy canh truyền thống (TCCT) và thủy canh cải tiến (TCCT) được thiết kế theo như hình 1.



Hình 1. Mô hình nuôi VKL *S. platensis* theo phương pháp TCCT (a) và TCTT (b)

Nước thải chăn nuôi heo sau biogas sẽ được lọc để loại bỏ các hạt và vật chất rắn sau đó tiến hành hấp khử trùng trước khi được sử dụng để nuôi VKL *S. platensis*. Kết quả cần đạt: Xác định năng suất sinh khối thu được, tỷ lệ bám dính trên VLHT và hiệu suất xử lý PO_4^{3-} , NO_3^- , NH_4^+ của VKL *S. platensis*

Thí nghiệm 1: Khảo sát cường độ ánh sáng phù hợp cho nuôi VKL *S. platensis*: Thông số nuôi cố định: tỷ lệ nước thải 100%, tỷ lệ giống ban đầu 20%, thời gian nuôi 7 ngày, nhiệt độ 25-27°C, tốc độ sục khí 2-5 lít/phút và VLHT là vải cotton+ polystyrene foam (xốp). Thông số khảo sát: Cường độ ánh sáng thay đổi lần lượt là 3000, 4000, 5000, 6000, 7000 Lux

Thí nghiệm 2: Khảo sát tỷ lệ giống ban đầu phù hợp cho nuôi VKL *S. platensis*: Thông số nuôi cố định: tỷ lệ nước thải 100%, thời gian nuôi 7 ngày, cường độ chiếu sáng (kết quả từ thí nghiệm 1), nhiệt độ 25-27°C, tốc độ sục khí 2-5 lít/phút và vật liệu hỗ trợ là vải cotton+ polystyrene foam (xốp). Thông số khảo sát: Tỷ lệ giống ban đầu thay đổi lần lượt là 5, 10, 15, 20, 25, 30%

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Thí nghiệm 1: Khảo sát cường độ ánh sáng phù hợp cho nuôi VKL *S. platensis*

Trong thí nghiệm này, cường độ ánh sáng thay đổi lần lượt là 3000, 4000, 5000, 6000, 7000 Lux. Kết quả thí nghiệm được trình bày trong bảng 1.

Cường độ ánh sáng có ảnh hưởng trực tiếp đến sự phát triển và quang hợp của vi tảo. Việc sử dụng cường độ ánh sáng quá cao trong quá trình nuôi vi khuẩn lam *S. platensis* có thể dẫn đến những tác hại chính sau: ức chế quá trình quang hợp, giảm tốc độ tăng trưởng của tế bào, gây tổn thương tế bào nghiêm trọng và trong trường hợp nặng làm giảm hiệu suất nuôi (Vonshak và cs., 1994). Ánh

sáng cần cho quá trình quang hóa để sản xuất Adenosine triphosphate (ATP). Để cho vi tảo phát triển cần một cường độ ánh sáng nhất định, tuy nhiên, khi cường độ ánh sáng quá cao thì làm tổn thương bộ máy quang hợp dẫn đến hiện tượng quang ức chế 'photoinhibition' (Brody và Vatter, 1959; Al-Qasmi và cs., 2012). Ngoài khi cường độ ánh sáng quá cao cũng là nguyên nhân gây ra sự bất hoạt các enzyme liên quan đến quá trình cố định carbon dioxide (Iqbal và Zafar, 1993). Theo Gordillo và cộng sự, tốc độ tăng trưởng của *Dunaliella viridis* giảm xuống 63% khi tăng cường độ ánh sáng từ 700 đến 1500 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$.

Bảng 1. Ảnh hưởng của cường độ ánh sáng lên sự tăng trưởng và gắn kết lên VLHT của VKL *S. platensis*

Cường độ ánh sáng (Lux)	Tỷ lệ bám dính VKL trên VLHT (%)	Năng suất sinh khối VKL trên VLHT ($\text{g/m}^2/\text{ngày}$)	Hiệu suất xử lý (%)		
			PO_4^{3-}	NO_3^-	NH_4^+
3000	33,99±5,04 ^a	1,15±0,26 ^a	70,53±0,02 ^a	76,43±0,003 ^a	97,65±0,002 ^b
4000	46,00±0,92 ^b	3,46±0,13 ^b	88,66±0,01 ^b	94,79±0,001 ^b	98,43±0,002 ^d
5000	39,01±1,69 ^a	2,74±0,20 ^c	71,69±0,06 ^a	88,60±0,02 ^c	98,27±0,0002 ^{cd}
6000	37,73±2,88 ^a	1,58±0,20 ^d	72,00±0,02 ^a	79,94±0,01 ^d	97,91±0,004 ^b _c
7000	37,86±1,22 ^a	0,80±0,04 ^e	63,73±0,02 ^e	72,85±0,01 ^e	96,14±0,002 ^a

* Trong cùng một cột, các giá trị được đánh dấu bởi các chữ cái giống nhau thì sự khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê theo phân tích ANOVA ($\alpha = 0,05$).

Trong thí nghiệm này thì cường độ ánh sáng 4000 Lux là cho tỷ lệ bám dính, năng suất sinh khối cũng như hiệu quả loại bỏ N, P cao nhất.

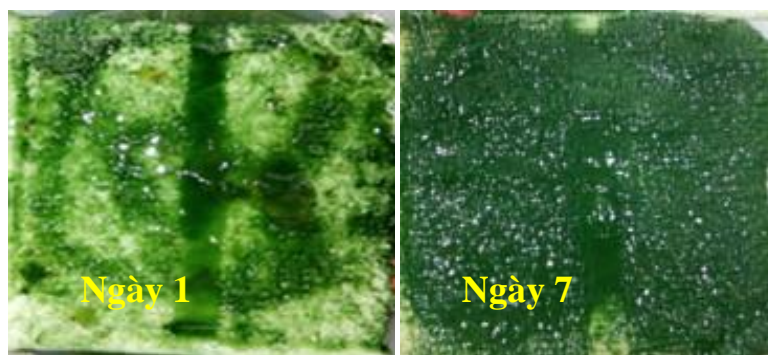
3.2. Thí nghiệm 2: Khảo sát tỷ lệ giống ban đầu phù hợp cho nuôi VKL *S. platensis*

Tiếp tục thực hiện khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ giống ban đầu lên sự gắn kết lên VLHT và tăng trưởng VKL *S. platensis*. Kết quả thí nghiệm được trình bày trong bảng 2

Bảng 2. Ảnh hưởng của tỷ lệ giống ban đầu lên sự gắn kết lên VLHT và tăng trưởng VKL *S. platensis*

Tỷ lệ giống ban đầu (%)	Tỷ lệ bám dính VKL trên VLHT (%)	Năng suất sinh khối VKL trên VLHT ($\text{g/m}^2/\text{ngày}$)	Hiệu suất xử lý (%)		
			PO_4^{3-}	NO_3^-	NH_4^+
5	23,67±1,06 ^a	0,11±0,007 ^a	58,36±0,013 ^a	77,74±0,008 ^a	73,35±0,007 ^a
10	26,34±1,42 ^b	0,46±0,03 ^b	63,76±0,01 ^b	79,57±0,004 ^b	76,68±0,014 ^b
15	39,41±1,53 ^c	2,01±0,13 ^c	69,04±0,012 ^c	85,11±0,006 ^c	89,23±0,003 ^c
20	42,79±1,59 ^d	3,48±0,23 ^d	87,02±0,013 ^e	94,99±0,005 ^d	97,55±0,004 ^d
25	42,71±0,08 ^d	3,31±0,01 ^d	77,50±0,011 ^d	94,12±0,01 ^d	95,98±0,013 ^d
30	42,04±0,12 ^d	3,42±0,02 ^d	78,46±0,016 ^d	94,00±0,005 ^d	96,24±0,007 ^d

* Trong cùng một cột, các giá trị được đánh dấu bởi các chữ cái giống nhau thì sự khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê theo phân tích ANOVA ($\alpha = 0,05$).



Hình 2. Sự phát triển của VKL *S. platensis* trên bề mặt VLHT

Kết quả thí nghiệm cho thấy tỷ lệ bám dính và năng suất sinh khối tăng khi tỷ lệ giống ban đầu tăng từ 5% đến 20%. Nếu tiếp tục tăng tỷ lệ giống thì nồng độ sinh khối VKL *S. platensis* thu được sẽ giảm, điều này có thể giải thích là do cùng một hàm lượng chất dinh dưỡng, một thể tích môi trường nuôi nếu tiếp tục tăng tỷ lệ giống thì nguồn dinh dưỡng sẽ bị hạn chế. Sinh khối VKL *S. platensis* thấp dẫn đến hiệu quả loại bỏ N, P giảm. Như vậy, ở tỷ lệ giống ban đầu 20% thì cho năng suất sinh khối đạt cao nhất là 3,48 g/m²/ngày, tỷ lệ bám dính 42,79%. Kết quả này cao hơn so với nghiên cứu của Shen và cs. (2013) khi nuôi *Chlorococcum* sp. sử dụng nước thải theo phương pháp sử dụng VLHT thì năng suất sinh khối đạt được thấp hơn 3 g/m²/ngày. Shen và cs. (2014) cũng đã nuôi *Nannochloropsis oculata* theo phương pháp sử dụng VLHT bằng môi trường có bổ sung nitrate ở các nồng độ khác nhau 0,372; 0,744; 1,116; 1,488 g/l. Kết quả thu được năng suất sinh khối thu được dao động từ 1,77 đến 3,87 g/m²/ngày – năng suất sinh khối này tương đương với kết quả của thí nghiệm (3,48 g/m²/ngày), tuy nhiên tỷ lệ bám dính chỉ dao động từ 20,02 đến 35,85% - tỷ lệ này thấp hơn nhiều so với kết quả của thí nghiệm (42,79%).

Vì vậy, đối với thí nghiệm này thì tỷ lệ giống ban đầu 20% là cho tỷ lệ bám dính, năng suất sinh khối cũng như hiệu quả loại bỏ N, P cao nhất.

4. Kết luận

- Cường độ ánh sáng 4000 Lux cho hiệu quả cao nhất: tỷ lệ bám dính 46,00%, năng suất sinh khối 3,46 g/m²/ngày, hiệu suất xử lý PO₄³⁻, NO₃⁻, NH₄⁺ lần lượt là 88,66; 94,79; 98,43%;

- Tỷ lệ giống ban đầu 20% cho kết quả tối ưu: tỷ lệ bám dính 42,79%, năng suất sinh khối 3,48 g/m²/ngày, hiệu suất xử lý PO₄³⁻, NO₃⁻, NH₄⁺ lần lượt là 87,02; 94,99; 97,55%;

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Al-Qasmi M., Member N. R., Jaeng, Talebi S., Al-Rajhi S. and Al-Barwani T., (2012). A Review of Effect of Light on Microalgae Growth. Proceedings of the World Congress on Engineering Vol I.
- [2] Brody M. and Vatter A.E. (1959). Observations on cellular structures of *Porphyridium cruentum*. J. Biophys. Biochem. Cytol, 5, 289–294.
- [3] Christenson L. and Sims R. (2011). Production and harvesting of microalgae for wastewater treatment, biofuels, and bioproducts. *Biotechnology Advances* 29, 686–702.
- [4] Davis R., Aden A. and Pienkos P. (2011). Techno-economic analysis of autotrophic microalgae for fuel production. *Appl. Energy* 88, 3524–3531

- [5] Enzing C., Ploeg M., Barbosa M. and Sijtsma L. (2014). Microalgae-based products for the food and feed sector: an outlook for Europe. IPTS – Institute for Prospective technological Studies, JRC
- [6] Gordillo F. J. L., Goutx M., Figueroa F. L. and Niell F. X. (1998). Effects of light intensity, CO₂ and nitrogen supply on lipid class composition of *Dunaliella viridis*. *J. Appl. Phycol.* 10, 135–144.
- [7] Gross M., Henry W., Michael C. and Wen Z. (2013). Development of a rotating algal biofilm growth system for attached microalgae growth with in situ biomass harvest. *Bioresource Technology* 150, 195–201
- [8] Hoffmann J. P. (1998). Wastewater treatment with suspended and nonsuspended algae. *Journal of Philosophy* 34,757–763.
- [9] Iqbal M. and Zafar S. (1993). Effects of photon flux density, CO₂, aeration rate, and inoculum density on growth and extracellular polysaccharide production by *Porphyridium cruentum*. *FoliaMicrobiol*, 38, 509–514.
- [10] Johnson M. B. and Wen Z. (2010). Development of an attached microalgal growth system for biofuel production. *Appl Microbiol Biotechnol* 85, 525–534
- [11] Konstantinos N. and Papadopoulos (2008). Food Chemistry Research Developments: microalge in novel food products. Nova Science Publishers, Inc
- [12] Nguyễn Thị Hồng và Phạm Khắc Liệu (2012). Đánh giá hiệu quả xử lý nước thải chăn nuôi lợn bằng hầm biogas quy mô hộ gia đình ở Thừa Thiên Huế. *Tạp chí khoa học, Đại học Huế*, 73(4), 83-91
- [13] Ogbonda K. H., Aminigo R. E. and Abu G. O. (2007). Influence of temperature and pH on biomass production and protein biosynthesis in a putative *Spirulina sp.* *Bioresour. Technol.* 98, 2207–2211
- [14] Olgún E. J., Galicia S., Mercado G., and Pérez T. (2003). Annual productivity of *Spirulina* (Arthrospira) and nutrient removal in a pig wastewater recycling process under tropical conditions. *J. Appl. Phycol.* 15, 249-257
- [15] Sajilata M. G., Singhal R. S. and Kamat M. Y. (2008). Fractionation of lipids and purification of α -linolenic acid (GLA) from *Spirulina platensis*. *Food Chem.* 109(3), 580–586
- [16] Shen Y., Chen C., Chen X. and Xu X. (2014). Attached culture of *Nannochloropsis oculata* for lipid production. *Bioprocess Biosyst Eng.* doi: 10.1007/s00449-014-1147-z
- [17] Shen Y., Xu X., Zhao Y. and Lin X. (2013). Influence of algae species, substrata and culture conditions on attached microalgal culture. *Bioprocess Biosyst Eng.* doi:10.1007/s00449-013-1011-6
- [18] Vonshak A., Abeliovich A., Boussiba S., Arad S. and Richmond A. (1982). Production of *Spirulina* biomass: effects of environmental factors and population density. *Biomass* 2, 175-185
- [19] Vonshak A., Torzillo G. and Tomaseli L. (1994). Use of chlorophyll fluorescence to estimate the effect of photoinhibition in outdoor cultures of *Spirulina platensis*. *J. Appl. Phycol.* 6: 31–34.
- [20] Vũ Đình Tôn, Lại Thị Cúc và Nguyễn Văn Duy (2008). Đánh giá hiệu quả xử lý chất thải bằng bể Biogas của một số trang trại chăn nuôi lợn vùng đồng bằng sông Hồng. *Tạp chí Khoa học và Phát triển*, 6(6), 556-561.
- [21] Zarrouk C. (1996). Contribution a l'étude du cyanophycée. Influence de divers facteurs physiques et chimiques sur la croissance et la photosynthèse de *Spirulina maxima* (Setch et Gardner) Geitl., PhD, Paris
- [22] Zhou, W., Chen, P., Min, M., Ma, X., Wang, J., Griffith, R., Hussain, F., Peng, P., Xie, Q., Li, Y., Shi, J., Meng, J., Ruan and R. (2014). Environment-enhancing algal biofuel production using wastewaters. *Renew. Sust. Energ. Rev.* 36, 256-269