

ẢNH HƯỞNG CỦA HÀM LƯỢNG CO₂ LÊN SỰ PHÁT TRIỂN CỦA TẢO *Chaetoceros calcitrans*

Huỳnh Thị Ngọc Hiền¹, Nguyễn Văn Hòa¹

TÓM TẮT

Nghiên cứu nhằm tìm ra nồng độ CO₂ thích hợp để tăng năng suất sinh khối tảo. Thí nghiệm gồm 4 nghiệm thức được bố trí khối ngẫu nhiên với tỉ lệ bổ sung CO₂ lần lượt là 1%, 3%, 5% và không bổ sung CO₂ (đối chứng). Mỗi nghiệm thức lặp lại 3 lần trong điều kiện phòng thí nghiệm với ánh sáng tổng hợp lam + đỏ theo tỉ lệ 1 : 1 (3000 lux). Kết quả cho thấy mật độ tảo *C. calcitrans* có sự khác biệt giữa các nghiệm thức và đạt cực đại với tỉ lệ 1% ở ngày nuôi thứ 6 (23.08 × 10⁶ tb/mL), thấp nhất là 5% ở ngày nuôi thứ 6 (15,98 ± 0,69 × 10⁶ tb/mL). Mật độ tảo, trọng lượng khô và protein cao nhất ở nghiệm thức bổ sung 1% CO₂, trong khi đó hàm lượng lipid cao nhất ở nghiệm thức bổ sung 3% CO₂. Vì vậy, có thể kết luận rằng tỉ lệ bổ sung 1% CO₂ được đề nghị nhằm nâng cao năng suất sinh khối tảo *C. calcitrans* tại các trại giống thủy sản hiện nay.

Từ khóa: Tảo *Chaetoceros calcitrans*, nồng độ CO₂, lipid, protein

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tảo *Chaetoceros calcitrans* (Takano, 1968) là một trong những loài vi tảo nước mặn đang được sử dụng phổ biến làm thức ăn trong nuôi trồng thủy sản. Vi tảo có kích thước nhỏ (5 μm), giá trị dinh dưỡng cao nên phù hợp cho giai đoạn phát triển đầu của nhiều loài giáp xác và hai mảnh vỏ (Brown *et al.*, 1989). Tuy nhiên, ở các trại sản xuất giống thủy sản hiện nay đang gặp khá nhiều trở ngại trong việc nâng cao chất lượng cũng như năng suất sinh khối tảo để làm thức ăn cho các ấu trùng nuôi thủy sản. Trong điều kiện nuôi cấy tảo hiện nay, nếu chỉ sử dụng ánh sáng của đèn huỳnh quang và hệ thống sục khí thông thường thì năng suất sinh khối tảo không cao, mật độ tảo *C. calcitrans* đạt tối đa là 8,88 × 10⁶ tb/mL (Krichnavaruk *et al.*, 2005) và không thể quản lý được sự biến động của pH. CO₂ là một trong các yếu tố khá quan trọng làm thay đổi môi trường nước, chúng hiện diện trong nước là nguyên nhân gây ra pH giảm. Ánh sáng cũng là yếu tố ảnh hưởng đến sinh trưởng mật độ tảo; bước sóng của các loại ánh sáng có ảnh hưởng lên dinh dưỡng của tảo *Chaetoceros* sp. (Sánchez-Saavedra *et al.*, 2006). Trong khi đó, nghiên cứu của Trần Đình Huy và Trần Sương Ngọc (2018) chỉ ra rằng sự phát triển về mật độ của tảo *C. calcitrans* khi nuôi sinh khối sử dụng ánh sáng tổng hợp lam + đỏ cho kết quả tốt hơn ánh sáng trắng của đèn huỳnh quang. Từ thực tế trên cho thấy việc sử dụng ánh sáng tổng hợp và bổ sung CO₂ trong quá trình nuôi sinh khối tảo là rất quan trọng và cần được quan tâm nhiều và việc bổ sung CO₂ là giải pháp làm giảm pH và nâng cao năng suất sinh khối tảo. Tuy nhiên, lượng CO₂ cung cấp

trong quá trình nuôi vẫn còn chưa có nhiều thông tin. Do đó, nghiên cứu ảnh hưởng của hàm lượng CO₂ lên sự phát triển của tảo *Chaetoceros calcitrans* là rất cần thiết, nhằm làm cơ sở cho ứng dụng tỉ lệ bổ sung CO₂ để thu được lượng sinh khối tảo tươi có chất lượng cao nhất phục vụ cho sản xuất giống hiện nay.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Tảo giống *C. calcitrans* được lưu trữ trong ống nghiệm tại phòng thí nghiệm thức ăn tự nhiên, Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ. Nước cấy tảo có độ mặn 25‰ và nuôi cấy bằng môi trường Walne (Coutteau, 1996). Ánh sáng được cung cấp từ đèn LED với ánh sáng tổng hợp lam + đỏ theo tỉ lệ 1 : 1 (50% red, 50% blue) do công ty Rạng Đông cung cấp với công suất 25w/h, cường độ chiếu sáng 3.000 lux, , thời gian chiếu sáng 24/24 giờ và sục khí liên tục trong suốt thời gian thí nghiệm. Nước cất được bổ sung khi nước trong bình mất đi do quá trình bốc hơi.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Tảo *C. calcitrans* được nuôi trong bình 8 lít với mật độ ban đầu 2 × 10⁶ tb/mL, ở độ mặn 25‰ và nuôi cấy bằng môi trường dinh dưỡng Walne. Thí nghiệm gồm 4 nghiệm thức với tỉ lệ bổ sung CO₂ là 1% (NT1%), 3% (NT3%), 5% (NT5%) và không bổ sung CO₂ (NT0%), CO₂ tinh khiết đưa vào bể nuôi tảo thông qua lưu tốc khí và điều chỉnh tỉ lệ bổ sung CO₂ tương ứng theo từng nghiệm thức, mỗi nghiệm thức lặp lại 3 lần. Thí nghiệm được tiến hành trong

¹ Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ

điều kiện phòng thí nghiệm với nhiệt độ dao động từ 26 - 28°C. Thí nghiệm được kết thúc khi mật độ tảo giảm 2 ngày liên tục. Các nghiệm thức được thực hiện trên kệ có 3 ngăn, mỗi ngăn bố trí một nghiệm thức và được che chắn hoàn toàn nhằm đảm bảo nguồn sáng không bị ảnh hưởng lẫn nhau. Các giá trị nhiệt độ và pH được đo 1 lần/ngày vào lúc 8 giờ sáng, mật độ tảo được thu hàng ngày và xác định mật độ theo công thức của Coutteau (1996). Tiến hành đo chiều dài và chiều rộng của 30 tế bào tảo và được thu vào lúc bố trí và khi tảo đạt mật độ tối đa. Các chỉ tiêu protein và lipid được thu mẫu ở cuối giai đoạn tăng trưởng nhanh và phân tích theo phương pháp AOAC (2000), chỉ tiêu chất lượng nước: TAN, PO_4^{3-} , NO_3^- được thu mẫu 3 ngày/lần (mỗi lần thu 100 mL) và phân tích theo các phương pháp phân tích hiện hành (APHA, 1998).

2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 6 đến tháng 8 năm 2019 tại phòng thí nghiệm thức ăn tự nhiên của Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

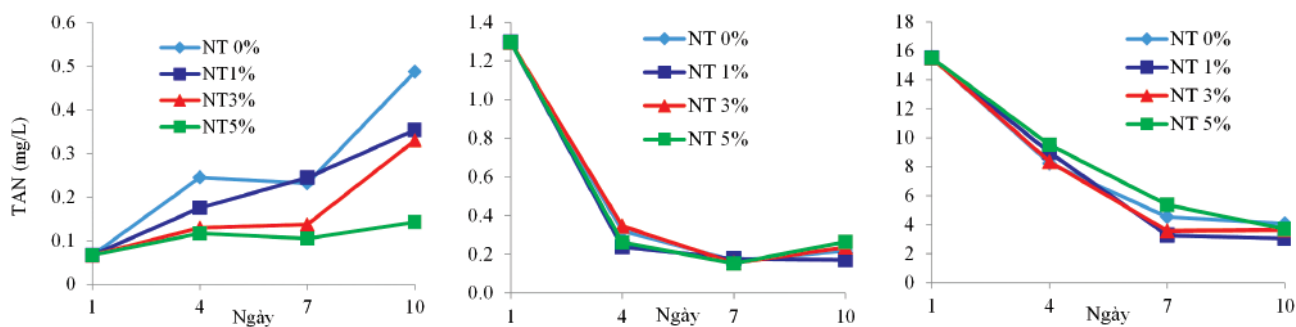
3.1. Chất lượng nước

Nhiệt độ thí nghiệm không có sự biến động lớn do được tiến hành trong phòng có máy điều hòa nhằm ổn định nhiệt độ. Nhiệt độ trung bình khác biệt không có ý nghĩa ($P > 0,05$) giữa các nghiệm thức (27,2 - 27,5°C), đây là khoảng nhiệt độ thích hợp cho sự phát triển của tảo *Chaetoceros*. Theo Brown và Farmer (1994), tảo *C. calcitrans* phát triển tốt ở nhiệt độ từ 10 - 30°C, lớn hơn 30°C thì tăng trưởng của tảo chậm lại (Raghavan *et al.*, 2008).

pH có sự biến động giữa các nghiệm thức, cao nhất ở nghiệm thức đối chứng NT 0% ($8,8 \pm 0,5$), thấp nhất ở nghiệm thức NT 5% hay bổ sung CO_2 với lượng 5% ($6,1 \pm 0,6$) và NT 3% hay bổ sung CO_2

với lượng 3% ($6,7 \pm 0,5$). Ở NT1% hay bổ sung CO_2 với lượng 1% có pH ($7,2 \pm 0,2$) ít biến động trong suốt quá trình phát triển của tảo. Kết quả cho thấy ở ngày đầu bố trí thí nghiệm pH ở các nghiệm thức tương tự nhau ($7,6 \pm 0,2$) và pH có sự biến động trong quá trình nuôi, pH giảm mạnh khi hàm lượng bổ sung CO_2 tăng lên. Theo Coutteau (1996), pH thích hợp cho sự phát triển của các loài tảo là 7 - 9, tối ưu là 8,2 - 8,7, do vậy pH biến động trong ngày ở các nghiệm thức vẫn nằm trong khoảng thích hợp cho sự phát triển của tảo, ngoại trừ nghiệm thức NT 0% thì pH nhiều ngày trong suốt quá trình nuôi đã vượt quá ngưỡng tối ưu cho tảo phát triển.

Hàm lượng TAN của các nghiệm thức tăng dần qua các đợt thu mẫu và khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$), dao động từ 0,067 - 0,487 mg/L, hàm lượng TAN thấp ở tất cả các nghiệm thức vào thời điểm bắt đầu bố trí thí nghiệm (0,067 mg/L) là do thí nghiệm sử dụng môi trường dinh dưỡng Walne với nguồn đạm chủ yếu là nitrate. Hàm lượng PO_4^{3-} giảm dần theo thời gian nuôi cấy tảo dao động từ 1,296 - 0,172 mg/L (Hình 1), hàm lượng này giảm từ ngày đầu bố trí thí nghiệm do sự hấp thu của tảo để phát triển mật độ và tăng nhẹ vào cuối chu kỳ thí nghiệm, điều này cho thấy do sự phân hủy của xác tảo chết. Hàm lượng NO_3^- ít biến động giữa các nghiệm thức trong các đợt thu mẫu và thấp nhất là 3 mg/L ở NT1%, cao nhất vào ngày đầu của thí nghiệm (15 - 16 mg/L), hàm lượng NO_3^- có xu hướng giảm nhanh từ ngày đầu đến ngày thứ 7, sau đó giảm đến cuối thí nghiệm (Hình 1), sự biến động này có liên quan đến việc NO_3^- có lợi cho sự phát triển của tảo, mặt khác do tảo lấy đạm từ NO_3^- cho quá trình phát triển nên vào những ngày cuối chu kỳ nuôi tảo có xu hướng giảm, tốc độ tăng trưởng giảm ở ngày 10 và do nguồn dinh dưỡng được cung cấp từ đầu thí nghiệm chủ yếu là đạm nên NO_3^- ban đầu cao.



Hình 1. Biến động các yếu tố TAN, PO_4^{3-} và NO_3^- ở các nghiệm thức

3.2. Mật độ tảo *C. calcitrans*

Mật độ tảo ban đầu bố trí giữa các nghiệm thức dao động từ $1,91 \times 10^6$ tb/mL - $1,99 \times 10^6$ tb/mL. Hình 2 cho thấy mật độ tảo tăng theo thời gian nuôi và đạt cực đại ở NT1% vào ngày thứ 6 ($23,08 \pm 0,66 \times 10^6$ tb/mL), thấp nhất ở NT5% ($15,98 \pm 0,69 \times 10^6$ tb/mL), NT0% và NT3% lần lượt là: $17,80 \pm 1,50 \times 10^6$ tb/mL và $19,29 \pm 2,08 \times 10^6$ tb/mL ở ngày thứ 8. Kết quả cũng cho thấy, ngày thứ hai có sự khác biệt có ý nghĩa ($P < 0,05$) giữa các nghiệm thức, thấp nhất ở NT5%, kết quả này cho thấy do bổ sung CO_2 với tỉ lệ cao làm pH giảm đột ngột từ 7,6 xuống 5,7 sẽ ức chế sự phát triển của tảo thông qua quá trình quang hợp. Theo Singh and Priyanka (2014), CO_2 khuếch tán vào môi trường nước thông qua quá trình sục khí với tỉ lệ 0,036%, trong khi đó ở NT0% pH có xu hướng tăng cao và đạt giá trị trung bình là $8,8 \pm 0,5$, điều này có thể do quá trình quang hợp, tảo hấp thụ CO_2 mạnh nhưng không được bổ sung từ các nguồn khác ngoài sục khí, do vậy đã làm CO_2 trong nước giảm, mật độ tảo đạt cực đại là $17,80 \pm 1,50 \times 10^6$ tb/mL vào ngày thứ 8.

Kết quả nghiên cứu cho thấy mật độ tảo ở nghiệm thức bổ sung 1% CO_2 đạt cao nhất vào ngày thứ 6, sớm hơn 2 ngày và cao gấp 1,3 lần so với NT 0% (không bổ sung CO_2). Mật độ tảo tăng lên do bổ sung CO_2 đã được chứng minh trong nuôi tảo *Nannochloropsis oculata*, tảo phát triển tốt khi bổ sung 2% CO_2 vào nước nuôi, nhưng tảo bị ức chế tăng trưởng khi nồng độ CO_2 tăng từ 5% trở lên (Chiu *et al.*, 2009). Điều này cho thấy trong quá trình nuôi cấy tảo nếu chỉ sử dụng CO_2 của không khí thì lượng CO_2 không đủ cung cấp cho quá trình quang hợp của tảo và dẫn đến thiếu hụt CO_2 trong môi trường nước nuôi, đây có thể là nguyên nhân làm pH tăng và dẫn đến kết quả gây ức chế sự phát triển của tảo.

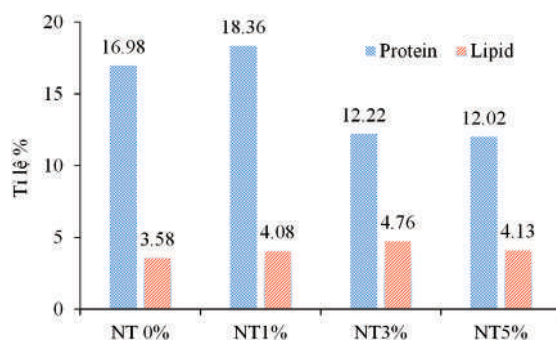
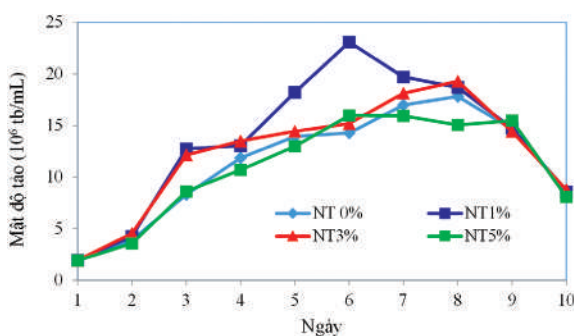
Kích thước (dài \times rộng) của tảo *C. calcitrans* ở ngày đầu bố trí có chiều dài $5,35 \pm 1,23 \mu m$ \times chiều rộng $3,85 \pm 0,94 \mu m$. Kích thước của tảo *C. calcitrans*

ở các NT0%, NT1%, NT3% và NT5% lần lượt là: $5,50 \pm 1,94 \times 4,35 \pm 1,82 \mu m$; $6,05 \pm 1,08 \times 4,15 \pm 1,09 \mu m$; $5,90 \pm 1,62 \times 3,95 \pm 1,21 \mu m$; $5,50 \pm 1,59 \times 3,65 \pm 1,09 \mu m$, ở NT1% có chiều dài lớn hơn so với các nghiệm thức còn lại, điều này cho thấy hàm lượng CO_2 cung cấp đầy đủ giúp quá trình quang hợp tăng cao và sự tích lũy vật chất trong cơ thể cũng tăng và kích thước này phù hợp với nhận định của Brown *et al.* (1997), kích thước tế bào của tảo *C. calcitrans* vào khoảng 3 - 6 μm .

3.3. Thành phần dinh dưỡng của tảo *C. calcitrans*

Trọng lượng khô trung bình của tế bào tảo *C. calcitrans* giữa các nghiệm thức dao động từ 0,16 - 2,19 g/L, trong đó NT1% cao hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức còn lại ($2,19 \pm 1,10$ g/l), NT5% nhỏ hơn và cũng khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức còn lại, tuy nhiên NT0% khác biệt không có ý nghĩa so với NT3%. Theo Chinnasamy và cộng tác viên (2009), khi bổ sung CO_2 6% trên tảo *Chlorella vulgaris* lượng sinh khối thu được cao gấp 20 lần so với CO_2 của không khí (0,036%).

Hàm lượng protein ở các nghiệm thức dao động từ 12,02 - 18,36% trọng lượng khô; lipid là 3,58 - 4,76% trọng lượng khô. Hình 2 cho thấy NT1% có hàm lượng protein cao nhất (18,36%), kể đến là NT0% (16,98%), ở NT3% và NT5% có hàm lượng protein thấp hơn, trong khi đó hàm lượng lipid ít khác biệt giữa các nghiệm thức. Điều này cho thấy khi bổ sung CO_2 với tỉ lệ cao sẽ ảnh hưởng đến sự tích lũy protein của vi tảo. Kết quả này cũng tương tự với báo cáo của Brown và cộng tác viên (1997), khi bổ sung với tỉ lệ CO_2 1% cho nhiều loài vi tảo thì hàm lượng protein tăng lên rất cao (100%) và lipid không bị ảnh hưởng. Đối với tảo *C. calcitrans* trong điều kiện không có bổ sung CO_2 và ở nhiệt độ là 30°C, độ mặn 25‰ tốc độ tăng trưởng tảo thấp, khi có bổ sung CO_2 làm tăng protein trong tảo, giảm carbohydrate (Raghavan *et al.*, 2008).



Hình 2. Biến động mật độ tảo *C. calcitrans* (Hình trái), hàm lượng protein và lipid (Hình phải) ở các nghiệm thức

IV. KẾT LUẬN

Trong quá trình nuôi cấy tảo *C. calcitrans*, bổ sung hàm lượng CO₂ với tỉ lệ 1% cho kết quả cao về mật độ tảo, trọng lượng khô, protein so với các nghiệm thức bổ sung CO₂ với tỉ lệ cao hoặc không bổ sung.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Trần Đình Huy và Trần Sương Ngọc**, 2018. Ảnh hưởng của màu sắc ánh sáng khác nhau lên sự phát triển của tảo *Chaetoceros calcitrans*. *Tạp chí khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 1b: 117-124.
- APHA**, 1998. *Standard methods for the examination of water and wastewater*. 20th Edition, American Public Health Association.
- AOAC**, 2000. *Official Methods of Analysis*. 17th ed. AOAC, Arlington, VA.
- Brown M.R., Jeffrey S.W. and Garland C.D.**, 1989. Nutritional aspects of microalgae used in mariculture: a literature review. *CSIRO Mar.Lab. Rep.*, No. 205, 44 pp.
- Brown M.R., Jeffrey S.W., Volkman J.K. and Dunstan G.A.**, 1997. Nutritional properties of microalgae for mariculture. *Aquaculture*, 151 (1997): 315-331.
- Brown, M.R. and Farmer C.A.**, 1994. Riboflavin content of six species of microalgae used in mariculture. *Journal of Applied Phycology*, 6: 61-65.
- Chinnasamy, S., Ramakrishnan, B., Bhatnagar, A. and Das, K.**, 2009. Biomass Production Potential of a Wastewater Alga *Chlorella vulgaris* under Elevated Levels of CO₂ and Temperature. *International Journal of Molecular Sciences*, 10 (2): 518-532.
- Chiu, S. Y., Kao, C. Y., Tsai, M. T., Ong, S. C., Chen, C. H. and Lin, C. S.**, 2009. Lipid accumulation and CO₂ utilization of *Nannochloropsis oculata* in response to CO₂ aeration. *Bioresour. Technol.* 100, 833-838.
- Coutteau, P.**, 1996. Micro-algae. In: Manual on the production and use of live food for aquaculture. Patrick Lavens and Patrick Sorgeloos (Eds). *FAO Fisheries Technical Paper*, 361: 7-26.
- Krichnavaruk, S., Loataweesup, W. Powtongsook, S., Pavasant, P.**, 2005. Optimal growth conditions and the cultivation of *Chaetoceros calcitrans* in airlift photobioreactor. *J. Chem. Eng.* 105: 91-98.
- Raghavan, G., Haridevi, C. K. and Gopinathan, C. P.**, 2008. Growth and proximate composition of the *Chaetoceros calcitrans* f. *pumilus* under different temperature, salinity and carbon dioxide levels. *Aquaculture Research*, 39 (10): 1053-1058.
- Sánchez-Saavedra, M., Del, P. and Voltolina, D.**, 2006. The growth rate, biomass production and composition of *Chaetoceros* sp. grown with different light sources. *Aquacultural Engineering*, 35 (2): 161-165.
- Singh and Priyanka**, 2014. Effect of CO₂ concentration on algae growth: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 38: 172-179.
- Swift, E. and Taylor, W.R.**, 1966. The effect of pH on the division of the coccolithophorid *Concosphaera elongate*. *J. Ph-col.*, 2: 12-121.

Effect of CO₂ concentration on growth of *Chaetoceros calcitrans*

Huynh Thi Ngoc Hien, Nguyen Van Hoa

Abstract

The study aimed to find out suitable concentration of CO₂ for increasing algae biomass. The experiment consisted of 4 treatments in correspondence of supplementary CO₂ at a ratio of 1%; 3%; 5%. The experiment without CO₂ supplement was used as a control (0%). Every treatment was collected three time in a laboratory with a light of combined light between blue + red light at a ratio of 1:1 (3000 lux). The results showed that there was difference between the density of *C. calcitrans* of the treatments and highest density was at 1% CO₂ in 6 days of culture (23.08 × 10⁶ cell/mL), lowest at 5% CO₂ in 6 days of culture (15,98 ± 0,69 × 10⁶ tb/mL).

Keywords: *Chaetoceros calcitrans*, CO₂ concentration, lipid, protein

Ngày nhận bài: 10/02/2020

Ngày phản biện: 21/02/2020

Người phản biện: TS. Huỳnh Trường Giang

Ngày duyệt đăng: 27/02/2020