

NGHIÊN CỨU THỬ NGHIỆM NUÔI VI TẢO BIỂN (*Nannochloropsis oculata*) BẰNG HỆ THỐNG QUANG SINH MÀNG KÉP (TL-PBR)

Bùi Trọng Tâm¹, Nguyễn Thị Tuyết Mai¹, Nguyễn Hữu Hoàng²,
Nguyễn Thị Kim Dung¹, Nguyễn Văn Nguyên¹

TÓM TẮT

Trong nghiên cứu này, hệ thống quang sinh màng kép được thiết kế cho nuôi sinh khối tảo *N. oculata* sử dụng các vật liệu dễ kiếm và phù hợp với điều kiện ở Việt Nam. Để đánh giá khả năng nuôi sinh khối tảo trong hệ thống quang sinh màng kép (TL-PBR), 4 loại lớp nền (80, 120, 160, 200 gsm) của buồng nuôi trong hệ thống được thử nghiệm để cố định nuôi sinh khối tảo *Nannochloropsis oculata* nhằm tìm ra chất lớp nền phù hợp cho sinh trưởng và phát triển của tảo. Bên cạnh đó, việc sử dụng hệ thống quang sinh màng kép để nuôi với các chủng tảo khác nhau (*N. oculata* VNPT và *N. oculata* NIES) nhằm lựa chọn chủng tảo phù hợp và đánh giá sự ổn định của hệ thống nuôi tảo. Tảo *N. oculata* được nuôi trong hệ thống quang sinh màng kép với môi trường dinh dưỡng f/2, độ mặn 28-30‰, sục khí liên tục và điều chỉnh pH 7,5-8,0. Các điều kiện về cường độ chiếu sáng 250-300 $\mu\text{mol photon m}^{-2}\text{s}^{-1}$, nhiệt độ 25-26°C được kiểm soát phù hợp cho nuôi sinh khối tảo *N. oculata*. Hệ thống màng kép được thiết kế với quy mô 1,2 m² màng, lắp đặt theo phương nghiêng 20° và vận hành nuôi với loài tảo *N. oculata*. Kết quả nghiên cứu ở lớp chất nền 160 gsm và 200 gsm phù hợp để cố định nuôi tảo *N. oculata*, sinh khối khô đạt 0,112 g m⁻² ngày⁻¹ và 0,109 g m⁻² ngày⁻¹ (p > 0,05). Kết quả đánh giá, lựa chọn chủng tảo *N. oculata* nuôi trên hệ thống màng kép cho thấy, chủng tảo *N. oculata* NIES cho sinh khối khô cao hơn đạt 1,725±0,033 g m⁻² so với chủng tảo *N. oculata* VNPT đạt sinh khối khô 1,575±0,012 g m⁻² (p < 0,05) sau 12 ngày nuôi trên hệ thống TL-PBR. Việc ứng dụng hệ thống quang sinh màng kép để nuôi sinh khối tảo *N. oculata* sẽ là giải pháp thay thế cho hiệu quả cao, giảm chi phí vận hành so với các mô hình truyền thống và có nhiều triển vọng ứng dụng mở rộng quy mô sản xuất.

Từ khóa: Hệ thống quang sinh màng kép, lớp nền, *Nannochloropsis oculata*, sinh khối.

1. BẬT VẤN ĐỀ

Công nghệ nuôi vi tảo đã được nghiên cứu từ lâu nhằm phục vụ nhiều mục đích như sản xuất thức ăn thủy sản, nhiên liệu sinh học, thực phẩm, mỹ phẩm và dược phẩm [6]. Nuôi vi tảo cũng là một phương pháp hiệu quả trong xử lý nước thải, giảm thiểu lượng CO₂ thải ra môi trường [13].

Hiện nay, vi tảo chủ yếu được nuôi bằng bể hở hoặc sử dụng hệ thống quang sinh. Trong những hệ thống này, các tế bào tảo phát triển trong môi trường dịch lỏng và cho mật độ tế bào tảo khá thấp: 0,5 g l⁻¹ trong hệ thống bể hở và 2 g l⁻¹ đến 6 g l⁻¹ trong hệ thống quang sinh. Để thu hoạch vi tảo từ dịch nuôi loãng, dịch nuôi thường được cô đặc bằng phương pháp kết lắng hoặc sử dụng chất kết bông (1% sinh khối khô), sau đó được ly tâm để đạt độ ẩm thấp hơn (20% sinh khối khô). Công nghệ trên rất tốn thời gian và giá thành cao. Một nghiên cứu gần đây nuôi tảo trong hệ thống bể hở phục vụ cho mục đích nhiên

liệu tính toán rằng chi phí thu hoạch chiếm đến 21% tổng chi phí nuôi [1].

Những năm gần đây, công nghệ nuôi vi tảo trên màng kép để tạo màng sinh học (biofilm) ra đời như một phương pháp hữu hiệu thay thế phương pháp nuôi dịch lỏng truyền thống. Biofilm là một tập hợp các vi sinh vật gắn trên một bề mặt của vật thể rắn hoặc bề mặt chất lỏng, tạo thành lớp màng bao phủ bề mặt đó. Trên đối tượng vi tảo, nghiên cứu ứng dụng công nghệ tạo biofilm từ vi tảo và đưa ra hàng loạt ưu điểm của công nghệ này, trong đó việc thu hoạch sinh khối đơn giản, không qua ly tâm là một lợi thế [3]. Công nghệ nuôi tảo trên hệ thống màng kép đã được nhiều tác giả nghiên cứu và phát triển ([7, 8, 11]. Trong hệ thống hai lớp, vi tảo được cố định bởi sự bám dính trên một bề mặt lớp nền ẩm, siêu nhỏ, siêu mỏng. Hỗ trợ lớp nền là một lớp nguồn bao gồm một mô sợi giúp cung cấp môi trường cho sự tăng trưởng của tế bào. Hai lớp màng có hiệu quả tách vi tảo khỏi phần lớn môi trường phát triển của chúng [11, 12]. Tuy nhiên, các nghiên cứu về sử dụng hệ thống màng kép để nuôi sinh khối tảo *N.*

¹Viện Nghiên cứu Hải sản

¹Viện Vi sinh vật và Công nghệ sinh học

oculata tại Việt Nam chưa được áp dụng. Do đó, việc phát triển được hệ thống quang sinh màng kép nuôi tảo phù hợp với điều kiện Việt Nam, với giá thành rẻ, dễ vận hành và đạt năng suất cao là rất cần thiết.

Mục đích của nghiên cứu này, nhằm thiết kế được hệ thống quang sinh màng kép TL-PBR nuôi vi tảo với vật liệu dễ kiếm, giá thành thấp phù hợp với điều kiện ở sản xuất trong nước, đồng thời xác định được lớp nền của buồng (chamber) nuôi tảo và chủng tảo *N. oculata* phù hợp cho năng suất sinh khối tảo cao nhất. Kết quả của nghiên cứu sẽ là cơ sở để lựa chọn và phát triển hệ thống quang sinh màng kép TL-PBR nuôi tảo *N. oculata* đạt năng suất cao để ứng dụng vào thực tiễn sản xuất.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Tảo *N. oculata* chứa các hoạt chất sinh học, axit béo PUFA và có nhiều tiềm năng ứng dụng trong sản xuất giống thủy sản, thực phẩm chức năng và mỹ phẩm. Các chủng tảo *N. oculata* VNPT, *N. oculata* NIES thu thập, thuần hóa, lưu giữ và được cung cấp bởi Phòng Nghiên cứu Công nghệ Sinh học biển, Viện Nghiên cứu Hải sản. Môi trường nuôi cấy được sử dụng môi trường f/2 [4].

Vật liệu thiết kế hệ thống quang sinh màng kép: tấm nhựa trong suốt mica acrylic 3-5 mm dùng thiết kế buồng (chamber) nuôi tảo. Tấm sợi bông thủy tinh không dệt, màng cellulose (giấy kraft). Hệ thống ống dẫn dịch môi trường, đầu nhỏ giọt (drifts), máy bơm cấp tuần hoàn (HP 2000, 1,2 l/ph). Bình PET chứa dung dịch môi trường nuôi tuần hoàn (Φ 250-300mm). Hệ thống khung thép lỗ đa năng (4 mm x 4 mm, 3 mm x 5 mm) sơn tĩnh điện. Keo gắn chuyên dụng, silicon, epoxy, cyanoacrylate (keo bền nhiệt). Hệ thống cấp khí bao gồm ống dẫn, dây, van khí, quả sủi, bình lọc khí, máy nén khí (ACO-318, 70l/ph, 35W). Các thiết bị khác bao gồm ống falcon, pipet, máy đo đa thông số môi trường (nhiệt độ, pH), máy đo cường độ ánh sáng photon kế, kính hiển vi Nikon, buồng đếm hồng cầu Neubauer (Đức) và máy ly tâm (Đức).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thiết kế và xây dựng hệ thống quang sinh màng kép (TL-PBR)

Phương pháp thiết kế và xây dựng hệ thống quang sinh màng kép dựa trên một số nghiên cứu trước đây [2, 5, 11, 12].

Căn cứ vào tổng quan các tài liệu về một số mô hình quang sinh màng đôi nuôi tảo [8, 11, 12] và qua khảo sát thực tế, đã lựa chọn tấm nhựa trong suốt acrylic 3-5 mm dùng thiết kế buồng (chamber) nuôi với những ưu điểm sử dụng cho nuôi tảo như sau: có khả năng dẫn truyền ánh sáng cao (> 95% ánh sáng truyền qua) giúp tảo phát triển nhanh; độ cứng tốt có thể chịu lực của màng, độ bền cao, dễ gắn bằng các keo chịu nhiệt, dễ thao tác và di chuyển. Các vật liệu để làm lớp nguồn, lớp nền (màng gắn tảo) cần phải bền, rẻ tiền, phổ biến rộng rãi tại Việt Nam và không độc hại; vật liệu có thể nâng cao năng suất màng sinh học sẽ được ưu tiên. Sợi bông thủy tinh và màng giấy được sử dụng làm lớp nguồn và lớp chất nền tương ứng trong thiết kế hệ thống màng kép sinh học.

Đối với hệ thống quang sinh màng kép sinh học của nghiên cứu này, sự phù hợp của vật liệu và độ nghiêng của buồng nuôi rất quan trọng để nâng cao năng suất thu sinh khối tảo [2, 10, 12]. Do vậy, hệ thống được thiết kế với góc nghiêng phù hợp 20° theo vật liệu lớp nguồn, lớp nền và khả năng thẩm nhỏ giọt tuần hoàn phù hợp cho nuôi tảo *N. oculata* đạt sinh khối cao.

Để tạo khung đỡ cho mô hình thiết bị, qua tổng quan và khảo sát thực tế nghiên cứu đã chọn vật liệu thép không gỉ được sơn tĩnh điện (thép V = 3 x 5 mm). Thiết kế và lắp đặt khung kích thước (KT = 0,6 m x 1,2 m x 2,4 m) đảm bảo chắc chắn và nâng đỡ được các hệ thống ánh sáng, buồng nuôi vi tảo và hệ thống máy bơm, sục khí và bình chứa môi trường dinh dưỡng [2].

2.2.2. Ảnh hưởng các lớp nền của hệ thống màng kép đến sinh trưởng, sinh khối tảo *N. oculata*

Dựa trên cơ sở tổng quan các tài liệu về các mô hình quang sinh màng kép, đã lựa chọn lớp nền bằng vật liệu giấy kraft để thiết kế và thử nghiệm đánh giá khả năng phù hợp cho sinh trưởng của tảo *N. oculata* [2, 8, 12]. Thí nghiệm được tiến hành nuôi tảo bằng hệ thống quang sinh màng kép quy mô 1,2 m², với các lớp nền màng giấy kraft khác nhau 80, 120, 160 và 200 gm²(gsm). Bố trí các thí nghiệm trên các chamber, tảo được cố định ở các ô lớp nền giấy kraft có diện tích 0,0064 m².

2.2.3. Thử nghiệm lựa chọn chủng tảo *N. oculata* nuôi trên hệ thống màng kép

Thí nghiệm được tiến hành nuôi đánh giá các chủng tảo *N. oculata* trên hệ thống quang sinh màng

kép quy mô 1,2 m², với 02 chủng tảo *N. oculata* VNPT và *N. oculata* NIES. Bố trí các thí nghiệm trên các chamber, tảo được cố định ở các ô lớp nền giấy kraft được lựa chọn phù hợp từ thí nghiệm ảnh hưởng lớp nền, mỗi ô thí nghiệm có diện tích 0,0064 m².

Điều kiện nuôi tảo ở các thí nghiệm [8, 11]: nước biển có độ mặn 28-30‰ được lọc qua bể, xử lý chlorine 30 ppm, sau đó lọc bằng túi lọc có kích thước (2-5 µm) và khử trùng bằng đèn cực tím, duy trì pH từ 7,5-8,0. Cường độ chiếu sáng 250-300 µmol photonm⁻²s⁻¹, nhiệt độ thí nghiệm dao động khoảng 25-26°C. Thu mẫu tảo từ các ô vào trong thời gian 12 ngày nuôi để xác định sinh khối và sinh trưởng của tảo. Các thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên và lặp lại 3 lần.

2.3. Thu và xác định sinh khối khô vi tảo

Tảo được thu mẫu và xác định sinh khối khô vào ngày thứ 4,8 và 12 sau khi cố định nuôi. Cân khối lượng mẫu lớp nền ban đầu (M_1), cân khối lượng mẫu lớp nền và sinh khối tảo nuôi theo thứ tự các ngày thu ở trên. Mẫu tảo được sấy ở 105°C, trong 2 giờ, làm nguội trong bình hút ẩm và cân. Lặp lại quy trình sấy đến khi khối lượng không đổi, được tổng khối lượng lớp nền và sinh khối tảo khô (M_2). Sinh khối khô vi tảo trên mỗi diện tích (m²) nuôi được tính theo công thức: $m \text{ (g m}^{-2}\text{)} = (M_2 - M_1) \text{ m}^{-2}$ [2, 8].

Xác định tốc độ tăng trưởng sinh khối khô theo ngày ($\text{g m}^{-2}\text{ngày}^{-1}$): $M_d = (M_t - M_i)/t$, trong đó M_i : sinh khối tảo sau thời gian t ngày nuôi và M_i : sinh khối tảo cố định nuôi ban đầu.

2.4. Phân tích số liệu

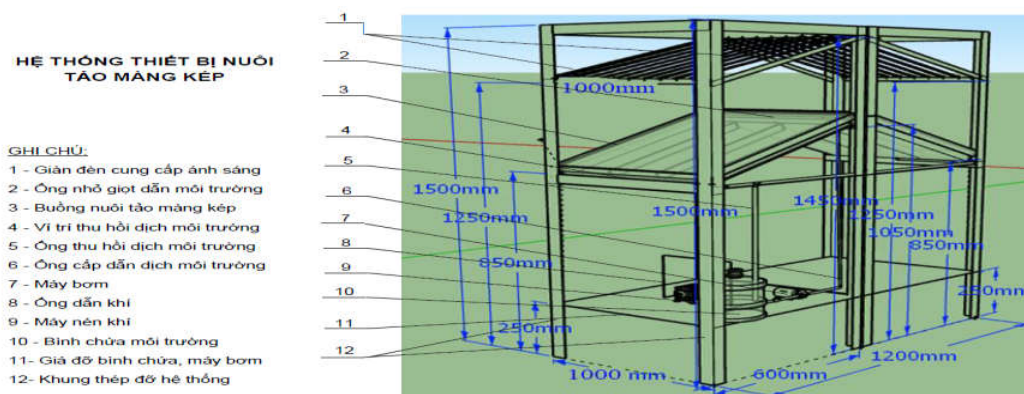
Số liệu thí nghiệm được lưu ở dạng file Microsoft Excel và xử lý bằng phần mềm SPSS version 18.0. Sự sai khác giữa các nghiệm thức được phân tích bằng ANOVA một nhân tố với mức ý nghĩa thống kê $\alpha = 0,05$ với phép kiểm định T-test. Các giá trị được trình bày ở dạng giá trị trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn (SD) của ít nhất 3 lần lặp lại nghiệm thức.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Hệ thống quang sinh dạng màng kép

Hệ thống nuôi tảo *N. oculata* màng kép 1,2 m² (02 buồng x 0,6 m²) được thiết kế bao gồm các bộ phận, thiết bị chính như buồng nuôi tảo; hệ thống ánh sáng; hệ thống máy cấp khí, hệ thống bơm cấp dinh dưỡng; hệ thống bình chứa, thu hồi dịch môi trường dinh dưỡng f/2; hệ thống khung thép sơn tĩnh điện (0,6 m x 1,2 m x 2,4 m). Mỗi buồng cố định nuôi tảo màng kép (0,6 m x 1,0 m) được chia thành 03 đơn vị diện tích nhỏ (0,6 m x 0,33 m) cấu tạo bởi lớp giá đỡ acrylic trong suốt độ dày 3-5mm (0,59 m x 0,32 m), lớp nguồn sợi bông thủy tinh không dệt (0,59 m x 0,32 m), lớp nền màng giấy kraft (120-160 gsm: 0,59 m x 0,32 m) và lớp màng sinh học (khu vực nuôi sinh khối tảo: 0,58 m x 0,31 m).

Hệ thống ánh sáng gồm các bóng đèn LED ánh sáng trắng được thiết kế, lắp đặt nối với nhau tạo thành giàn đèn (35-40 thanh LED, 144 bóng/thanh). Hệ thống máy bơm với công suất 0,2-0,5 l/ph được thiết kế đảm bảo phân phối môi trường tuần hoàn cho buồng nuôi vi tảo với diện tích > 1 m² màng. Thiết bị bình chứa dịch môi trường dinh dưỡng nuôi tảo: dung tích 20-30 l với các đầu kết nối để phân phối và thu hồi dịch môi trường. Đồng thời kết nối với hệ thống máy cấp khí và để đảo trộn dịch (Hình 1).



Hình 1. Sơ đồ thiết kế hệ thống quang sinh dạng màng kép (TL-BPR) nuôi tảo *N. oculata*

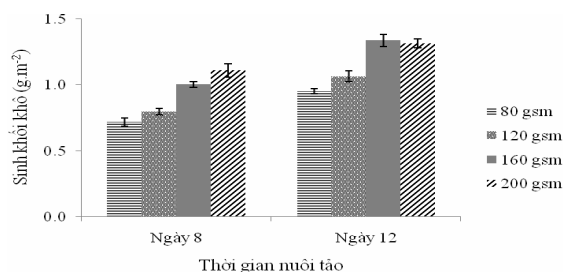
Nuôi tảo *N. oculata* bằng hệ thống quang sinh dạng màng kép (TL-BPR) có nhiều lợi thế vượt trội so với các mô hình truyền thống trước đây (dạng túi, bể, dạng ống...) về tiết kiệm năng lượng, nước, nhân lực và diện tích lắp đặt [3]. Hệ thống quy mô thí nghiệm được lắp đặt và vận hành thành công có nhiều triển vọng để phát triển mở rộng quy mô sản xuất công nghiệp với chi phí, giá thành rẻ và mang lại hiệu quả kinh tế [10].

3.2. Ảnh hưởng của các lớp chất nền đến sinh trưởng và sinh khối tảo *N. oculata* nuôi bằng hệ thống quang sinh dạng màng kép TL-BPR

Kết quả nghiên cứu về ảnh hưởng của các chất nền (kraft) khác nhau (80, 120, 160, 200 gsm) buồng nuôi tảo của hệ thống quang sinh dạng màng kép được thể hiện ở hình 2.

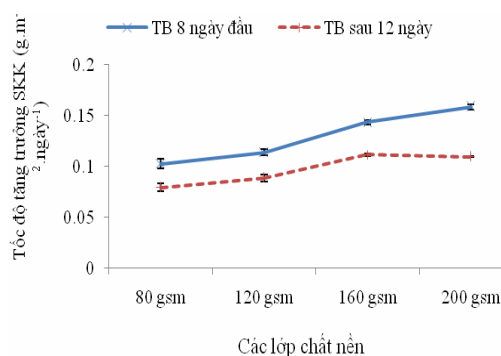
Từ hình 2 cho thấy, tảo *N. oculata* nuôi trong hệ thống quang sinh dạng màng kép với các loại lớp chất nền khác nhau có khả năng sinh trưởng khác nhau, cụ thể vào ngày nuôi thứ 8 ở mẫu lớp chất nền 160 gsm và 200 gsm cho sinh khối tảo đạt lần lượt $1,003 \pm 0,015 \text{ g m}^{-2}$ và $1,109 \pm 0,017 \text{ g m}^{-2}$. Ngược lại, ở các nghiệm thức với mẫu lớp chất nền 80 gsm và 120 gsm cho sinh khối tảo đạt thấp hơn hai nghiệm thức kể trên, đạt lần lượt là $0,718 \pm 0,031 \text{ g m}^{-2}$ và $0,7970 \pm 0,022 \text{ g m}^{-2}$.

Sinh trưởng của tảo *N. oculata* tiếp tục gia tăng vào các ngày tiếp theo và đạt lần lượt là $1,336 \pm 0,012 \text{ g m}^{-2}$, $1,319 \pm 0,006 \text{ g m}^{-2}$, $1,074 \pm 0,041 \text{ g m}^{-2}$ và $0,956 \pm 0,046 \text{ g m}^{-2}$ tương ứng ở các nghiệm thức lớp chất nền 160 gsm, 200 gsm, 120 gsm và 80 gsm. Có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa nghiệm thức 80 gsm, 120 gsm với hai nghiệm thức còn lại ($p < 0,05$). Giữa nghiệm thức 160 gsm và 200 gsm cho tổng sinh khối khô không có ý nghĩa thống kê sau 12 ngày nuôi ($p > 0,05$).



Hình 2. Sinh trưởng của tảo *N. oculata* nuôi với các lớp nền khác nhau

So sánh về tốc độ tăng trưởng ngày của tảo nuôi ở các nghiệm thức 80 gsm, 120 gsm, 160 gsm và 200 gsm cho thấy, tốc độ tăng trưởng trung bình theo ngày (8 ngày đầu tiên) của tảo đạt sinh khối khô cao nhất $0,138 \text{ g m}^{-2} \text{ ngày}^{-1}$ ở nghiệm thức 200 gsm, tiếp đến $0,125 \text{ g m}^{-2} \text{ ngày}^{-1}$ ở nghiệm thức 160 gsm. Các nghiệm thức còn lại 80 gsm và 120 gsm cho tốc độ tăng trưởng thấp hơn, đạt sinh khối khô $0,089$ và $0,099 \text{ g m}^{-2} \text{ ngày}^{-1}$ so với các nghiệm thức kể trên (Hình 3).



Hình 3. Tốc độ tăng trưởng của tảo *N. oculata* với các lớp nền kraft khác nhau

Kết quả từ hình 3 cho thấy, tảo *N. oculata* tiếp tục tăng trưởng khi nuôi ở các lớp nền sau 12 ngày, với nghiệm thức 160 gsm và 200 gsm đạt tốc độ tăng trưởng cao hơn tương ứng $0,112 \text{ g m}^{-2} \text{ ngày}^{-1}$ và $0,109 \text{ g m}^{-2} \text{ ngày}^{-1}$, trong khi nghiệm thức 80 gsm đạt $0,079 \text{ g m}^{-2} \text{ ngày}^{-1}$ và nghiệm thức 120 gsm đạt $0,088 \text{ g m}^{-2} \text{ ngày}^{-1}$. Như vậy, lớp chất nền giấy kraft loại 160 gsm và 200 gsm phù hợp cho nuôi tảo *N. oculata* đạt sinh khối cao với tốc độ tăng trưởng tốt trong hệ thống quang sinh màng kép của nghiên cứu này.

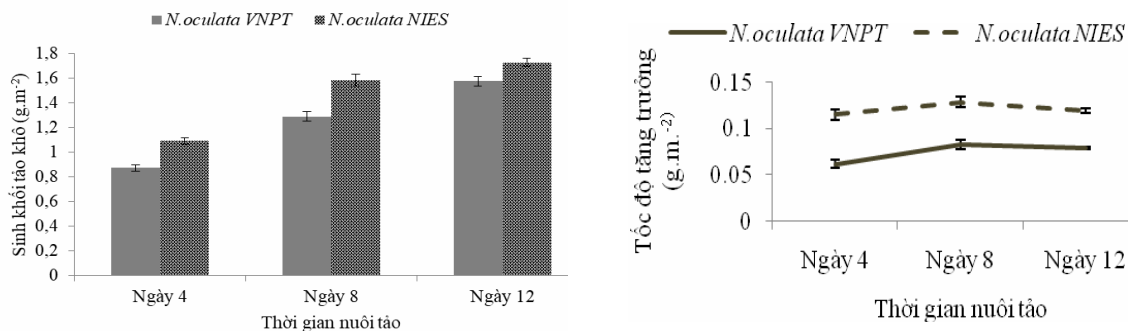
Các kết quả nghiên cứu trước đây cũng sử dụng các lớp chất nền khác nhau để đánh giá hiệu quả khi nuôi tảo bằng hệ thống quang sinh màng sinh học [2, 8]. Mỗi loại lớp chất nền (giấy in, giấy lọc, màng xenlulô, màng giấy kraft...) có ảnh hưởng tích cực đến sự phát triển của từng loại vi tảo khác nhau trong sinh trưởng và để tạo sinh khối [8]. Việc lựa chọn các vật liệu của nghiên cứu này cũng tương đồng với một số nghiên cứu trước đây về tiêu chí phù hợp với điều kiện thực tiễn nuôi tảo, dễ tìm, được sản xuất nhiều trên thị trường Việt Nam và giá thành rẻ [2, 12]. Nghiên cứu của Naumann và cộng sự (2013) cho thấy sử dụng giấy in làm lớp nền có tác dụng giúp tảo thẩm thấu dịch môi trường từ lớp nguồn và qua lớp nền, tạo màng bám cho tảo phát triển tạo sinh khối

khi nuôi tuần hoàn liên tục trên hệ thống màng kép[8]. Kết quả của các nghiên cứu khác để đánh giá so sánh nuôi sinh khối tảo trên hệ thống màng kép với các lớp chất nền giấy kraft và giấy lọc whatman, cũng cho thấy màng kraft cho độ thấm tốt, sinh khối cao tương tự giấy whatman, bền và giá thành rẻ [11, 12]. Như vậy, hệ thống quang sinh dạng màng kép sử dụng vật liệu lớp nền giấy kraft với khối lượng 160 gsm và 200 gsm là lựa chọn phù

hợp để cố định nuôi tảo *N. oculata* đạt tốc độ sinh trưởng và năng suất sinh khối cao.

3.3. Sinh trưởng và sinh khối các chủng tảo *N. oculata* VNPT và *N. oculata* NIES nuôi trên hệ thống quang sinh dạng màng kép TL-BPR

Kết quả nghiên cứu thử nghiệm nuôi các chủng tảo *N. oculata* VNPT và *N. oculata* NIES để đánh giá khả năng sinh trưởng và tạo sinh khối cố định nuôi trên hệ thống màng kép TL-PBR. được thể hiện ở hình 4.



Hình 4. Sinh khối và tốc độ tăng trưởng của chủng tảo *N. oculata* VNPT và *N. oculata* NIES

Kết quả từ hình 4 cho thấy, các chủng tảo khác nhau có tốc độ sinh trưởng và tạo sinh khối (tạo màng sinh học trên lớp nền) khác nhau khi cố định nuôi trên hệ thống quang sinh màng kép TL-BPR. Các chủng tảo *N. oculata* VNPT và *N. oculata* NIES sinh trưởng và phát triển, đạt sinh khối khô theo thứ tự $0,869 \pm 0,023 \text{ gm}^{-2}$ và $1,088 \pm 0,024 \text{ gm}^{-2}$ vào ngày thứ 4. Tảo tiếp tục phát triển đạt sinh khối $1,286 \pm 0,039 \text{ gm}^{-2}$ và $1,583 \pm 0,047 \text{ gm}^{-2}$ tương ứng với chủng tảo *N. oculata* VNPT và *N. oculata* NIES vào ngày thứ 8. Các chủng tảo *N. oculata* NIES và *N. oculata* VNPT nuôi trên hệ thống quang sinh màng kép TL-PBR sinh trưởng đạt sinh khối cao tương ứng $1,725 \pm 0,033 \text{ gm}^{-2}$ và $1,575 \pm 0,012 \text{ gm}^{-2}$ ($p < 0,05$) sau 12 ngày nuôi.

Về tốc độ tăng trưởng, tương tự như sinh khối tảo đạt được khi nuôi trên hệ thống quang sinh màng kép TL-PBR, chủng tảo *N. oculata* NIES có tốc độ tăng trưởng cao hơn so với chủng tảo *N. oculata* VNPT sau 12 ngày nuôi. Tốc độ tăng trưởng cao nhất đạt được $0,1287 \text{ gm}^{-2} \text{ ngày}^{-1}$ và $0,0826 \text{ g m}^{-2} \text{ ngày}^{-1}$ tương ứng với chủng tảo *N. oculata* NIES và *N. oculata* VNPT sau 8 ngày nuôi. Sinh trưởng của các chủng tảo có xu hướng giảm dần và đạt tốc độ sinh trưởng trung bình $0,1190 \text{ gm}^{-2} \text{ ngày}^{-1}$ đối với tảo *N.*

oculata NIES và $0,0791 \text{ gm}^{-2} \text{ ngày}^{-1}$ đối với chủng *N. oculata* VNPT sau 12 ngày nuôi.

Kết quả nghiên cứu cho thấy, việc nuôi thử nghiệm các chủng tảo *N. oculata* trên hệ thống quang sinh màng kép nhằm đánh giá được sự phù hợp của chủng tảo thông qua sinh trưởng, phát triển và tạo màng sinh học (sinh khối), qua đó lựa chọn được chủng tảo tốt nhất làm nguyên liệu giống nuôi thu sinh khối tảo. Trong nghiên cứu này, chủng tảo *N. oculata* NIES có tốc độ tăng trưởng và đạt sinh khối cao hơn so với chủng *N. oculata* VNPT. Nhiều nghiên cứu đã thử nghiệm nuôi các chủng tảo khác nhau trên hệ thống màng kép nhằm tìm ra loài, chủng tảo phù hợp phát triển nuôi trên màng kép để lựa chọn chúng làm nguyên liệu giống đầu vào cho sản xuất sinh khối phục vụ nuôi trồng thủy sản, xử lý nước thải và nhiều mục đích sản xuất khác nhau [2, 8, 9, 12]. Kết quả ứng dụng hệ thống quang sinh màng kép cố định nuôi tảo *Nannochloropsis* sp. cho thấy, tảo sinh trưởng và tạo sinh khối tốt, sản phẩm dễ thu hoạch, không phải qua công đoạn kết lắng và có độ ẩm 72-84% [8]. Như vậy, nghiên cứu này và một số nghiên cứu trước đây cho kết quả tương đồng về sử dụng tảo *Nannochloropsis* nuôi trên hệ thống

quang sinh màng kép, tạo sinh trưởng tốt và phù hợp, có nhiều triển vọng để mở rộng sản xuất.

4. KẾT LUẬN

Hệ thống quang sinh dạng màng kép đã được thiết kế và lắp đặt thành công với các ưu điểm chi phí đầu tư thấp, dễ vận hành, phù hợp để nuôi tảo *N. oculata* cho sinh khối và tốc độ tăng trưởng cao và ổn định. Trong đó, loại màng vật liệu giấy kraft 160 gsm và 200 gsm phù hợp sử dụng làm lớp nền buồng nuôi của hệ thống quang sinh màng kép TL-PBR, cho tốc độ tăng trưởng và sinh khối tảo *N. oculata* đạt cao nhất. Khi nuôi các chủng tảo *N. oculata* khác nhau trên hệ thống TL-PBR đã thiết kế, chủng tảo *N. oculata* NIES có tốc độ tăng trưởng và đạt sinh khối cao nhất. Việc ứng dụng thành công hệ thống quang sinh màng kép nuôi tảo, mở ra tiềm năng phát triển công nghệ mới sản xuất sinh khối tảo *N. oculata* tại Việt Nam.

LỜI CẢM ƠN

Công trình được sự hỗ trợ kinh phí của đề tài “Nghiên cứu công nghệ nuôi sinh khối vi tảo Nannochloropsis oculata bằng màng kép sinh học” của Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn, mã số 01/2020/ĐTTN-KHCN.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Davis, R., Aden, A., Pienkos, P., 2011. Techno-economic analysis of auto-trophic microalgae for fuel production. Appl Energy 88: 3524–3531.
2. Do, T.T., Ong, B.N., Nguyen Tran, M.L., Nguyen, D., Melkonian, M., & Tran, H.D., 2019. Biomass and Astaxanthin Productivities of *Haematococcus pluvialis* in an Angled Twin-Layer Porous Substrate Photobioreactor: Effect of Inoculum Density and Storage Time. Biology (Basel) 8, 3. doi:10.3390/biology8030068.
3. Gross, M., Darren, J., Hiyoo, W., 2015. Biofilm-based algal cultivation systems. Appl Microbiol Biotechnol 99: 5781-5789.
4. Guillard, R.R.L., 1975. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. In Smith W.L. and Chanley M.H (Eds.) Culture of Marine Invertebrate Animals. Plenum Press, New York, USA: 26-60.
5. Li, T., Strous, M., Melkonian M., 2017. Biofilm-based photobioreactors: Their design and improving productivity through efficient supply of dissolved inorganic carbon. FEMS Microbiol. Lett. 364.
6. Muhammad, I.K., Jin, H.S., Jong D.K., 2018. The promising future of microalgae: current status, challenges, and optimization of a sustainable and renewable industry for biofuels, feed, and other products. Microbial Cell Fact 17: 36.
7. Murphy, T.E, Berberoglu H., 2014. Flux balancing of light and nutrients in a biofilm photobioreactor for maximizing photosynthetic productivity. Biotechnol Progress 30: 348-59.
8. Naumann, T., Çebi Z., Podola, B., Melkonian, M., 2013. Growing microalgae as aquaculture feeds on twin-layers: a novel solid-state photobioreactor”, Journal of Applied Phycology 25, 5: 1413-1420.
9. Nowack E.C., Podola, B., Melkonian, M., 2005. The 96-well twin-layer system: a novel approach in the cultivation of microalgae. Protist 156: 239–251.
10. Podola, B., Li, T., Melkonian M., 2017. Porous substratebioreactors: a paradigm shift in microalgal biotechnology. Trends in Biotechnology 35, 2: 121-132.
11. Shi, J., Podola, B., Melkonian, M., 2007. Removal of nitrogen and phosphorus from wastewater using microalgae immobilized on twin layers: an experimental study. J Appl Phycol 19: 417-23.
12. Tran, H.D., Do, T.T., Le T.L., Tran-Nguyen, M.L., Pham, C.H., Melkonian, M., 2019. Cultivation of *Haematococcus pluvialis* for astaxanthin production on angled bench-scale and large-scale biofilm-based photobioreactors. Vietnam Journal of Science, Technology and Engineering 61: 61-70.
13. Worasaung, K., Yi-Hung, Y., Chih-Hung, H. and Chung-Sung, T., 2015. A Review: Microalgae and Their Applications in CO₂ Capture and Renewable Energy. Aerosol and Air Quality Research 15: 712–742.

MASS CULTIVATION OF MICROALGAE (*Nannochloropsis oculata*) IN TWIN - LAYER PHOTOBIOREACTOR SYSTEM

**Bui Trong Tam, Nguyen Thi Tuyet Mai, Nguyen Huu Hoang,
Nguyen Thi Kim Dung, Nguyen Van Nguyen**

Summary

In this study, twin - layer photobioreactor system was constructed for marine microalgae cultivation using the materials such as steel frame, acrylic glass, kraft paper and glass fiber nonwoven for algae attachment that needs to be durable, inexpensive, widely available, and non-toxic, material which can enhance biofilm yield should be preferred. However, cultivating microalgal biofilms requires the development of a purposefully designed cultivation system, especially due to interactions between cells and surface, persistent gradients in the biomass and the effects of flow, which play a critical role for biofilm productivity. Small-scale (1.2 m²) twin-layer photobioreactor systems arranged at an angle of 20° were successfully designed, assembled, and operated. Studies were conducted effect of four substrates layers (80, 120, 160, 200 gsm) of chamber on biomass efficiency of *N. oculata*. In addition the most suitable strain of *N. oculata* VNPT and *N. oculata* NIES were tested to assess system stability on the growth rate and biomass. Mass cultivation of *N. oculata* with f/2 medium was used as nutrient supply, continuously aeration, salinity was maintained at 28-30‰ and pH 7.5-8.0 was successfully controlled. In twin-layer photobioreactor system with the most appropriate substrates layers of 160 gsm and 200 gsm, growth rates in grams dry weight per square meter growth area were determined to be 0.112 and 0.109 g m⁻² d⁻¹ respectively, after 12 days of cultivation. The most suitable strain of microalgae was *N. oculata* NIES, with the average final dry biomass yield of *N. oculata* NIES was 1.725±0.033 gm⁻². Twin-layer photobioreactor system provides remarkable advantages compared with traditional suspended cultivation, such as in term of water, energy, and cultivation time saving.

Keywords: Biomass, *Nannochloropsis oculata*, substrates layers, twin-layer system.

Người phản biện: PGS.TS. Nguyễn Xuân Huân

Ngày nhận bài: 01/9/2021

Ngày thông qua phản biện: 4/10/2021

Ngày duyệt đăng: 11/10/2021