

NGHIÊN CỨU SỬ DỤNG CO₂ 5% TINH KHIẾT NUÔI SPIRULINA PLATENSIS CNT GIÀU DINH DƯỠNG

Đoàn Thị Oanh, Nguyễn Phương Tú, Trương Đức Cảnh
Trường Đại học Tài nguyên và Môi trường Hà Nội

Tóm tắt

Trong bài báo này, *S. platensis* CNT được nghiên cứu khả năng sinh trưởng và hấp thu khí CO₂ khi nuôi ở quy mô phòng thí nghiệm trong môi trường Zarrouk (16,8 gNaHCO₃/L), sục CO₂ 5% với tốc độ sục khí CO₂ là 0,1 L/phút trong 1h kết hợp sục không khí với tốc độ sục khí 1,2 L/L/phút trong 8h, nhiệt độ nuôi 30°C, cường độ ánh sáng 5000 lux. Sau 10 ngày nuôi chủng *S. platensis* CNT đạt tốc độ sinh trưởng riêng cực đại (μ_{max}), năng suất sinh khối cực đại (P_{max}), sinh khối khô đạt cực đại là 0,138/ngày, 0,047 g SKK/L/ngày, 0,612 g SKK/L, tương ứng. Ngoài ra, chủng này còn có khả năng hấp thu 84,2 mg CO₂/L/ngày ở nồng độ CO₂ 5% tương ứng với hiệu suất hấp thu CO₂ là 28,39 %. Một số thông số liên quan đến công nghệ nuôi *S. platensis* CNT như pH dịch môi trường, biến đổi hàm lượng carbon vô cơ trong dịch môi trường,...cũng được giới thiệu trong bài báo này.

Từ khóa: CO₂; Sinh khối; *Spirulina platensis*; Tốc độ sinh trưởng riêng; Vi khuẩn lam

Abstract

Utilization of pure CO₂ 5% for high nutrition Spirulina platensis CNT cultivation

In this paper, S. platensis CNT was studied on the ability to grow and absorb CO₂ when be cultured at a laboratory scale in Zarrouk's medium (16,8 g NaHCO₃/L), scouring CO₂ 5% at the rate of 0,1 L/min for 1 hour combined with aeration at the rate of 1,2 L/L/min for 8 hours, cultivating temperature of 30°C, light intensity of 5000 lux. After 10 days of culture, S. platensis CNT reached the maximum specific growth rate (μ_{max}), maximum biomass yield (P_{max}), maximum dry biomass of 0,138/day, 0,047 g dry biomass/L/day, 0,612 g dry biomass/L respectively. In addition, this inoculation also has the ability to absorb 84,2 mg of CO₂/L/day with CO₂ at the concentration of 5% corresponding to the CO₂ absorption efficiency of 28,39 %. Some parameters related to S. platensis CNT culture technology such as pH of the suspension, inorganic carbon content changing in medium, etc. are also introduced in this paper.

Key words: CO₂; Biomass; *Spirulina platensis*; Specific growth rate; Cyanobacteria.

1. Đặt vấn đề

Cuộc chiến chống biến đổi khí hậu gần đây đã trở thành một trong những chủ đề chính của các cuộc tranh luận quốc tế, được xác định là một thách thức lớn nhất phải đối mặt ở cấp độ toàn cầu [1]. Các khí nhà kính đã được xác định là nguyên nhân chính gây biến đổi khí hậu [2]. Vì thế, cần có sự phát triển của các công nghệ để kiểm soát sự phát

thải của các khí này. CO₂ chiếm tới một nửa khối lượng các khí nhà kính và đóng góp tới 60 % trong việc làm tăng nhiệt độ khí quyển [3]. Trên thực tế, công nghệ thu giữ và lưu trữ cacbon là một phần không thể thiếu của các biện pháp giảm thiểu khí nhà kính [4].

Các nghiên cứu gần đây cho thấy sự quan tâm ngày càng tăng đối với các loài vi khuẩn có khả năng cố định CO₂, đặc

Nghiên cứu

biệt là vi tảo và vi khuẩn lam [5]. Thông qua quá trình quang hợp, các loài vi tảo và vi khuẩn lam có khả năng cố định cacbon cao hơn nhiều hơn so với các loài thực vật trên cạn [6]. Các loài này có khả năng chuyển đổi CO₂ thành sinh khối, sử dụng CO₂ hiệu quả bởi vì chúng có thể sinh trưởng nhanh. Hơn nữa, sinh khối các loài này mang lại giá trị thương mại cao, có thể bù vốn cho quá trình nuôi. Ngoài thực phẩm chức năng, nhiên liệu sinh học, vi tảo cũng có thể làm thức ăn chăn nuôi giàu protein, phân bón nông nghiệp, polyme sinh học và nhựa sinh học, glycerine,...

Chính vì vậy, trong nghiên cứu này, CO₂ tinh khiết đã được tận dụng như một nguồn cacbon cho quá trình nuôi *S. platensis* CNT. Các kết quả về sinh trưởng, khả năng hấp thu CO₂ và chất lượng sinh khối của chủng *S. platensis* CNT, biến động giá trị pH, hàm lượng HCO₃⁻ và CO₃²⁻ của môi trường nuôi cũng được trình bày trong báo cáo này.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu

- *Nguồn CO₂*: CO₂ tinh khiết với nồng độ 5% được lấy từ CO₂ công nghiệp có độ sạch 99%.

- *Chủng vi khuẩn lam và môi trường nuôi*: Chủng *S. platensis* CNT được cung cấp từ Bộ sưu tập vi tảo và vi khuẩn lam của Viện Công nghệ Môi trường, Viện Hàn Lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Môi trường nuôi *Spirulina platensis*: môi trường Zarrouk chuẩn có chứa 16,8 g NaHCO₃/L.

- *Bố trí thí nghiệm*: Chủng *Spirulina platensis* CNT được nuôi trong các ống thủy tinh hình trụ 1 lít có chiều cao 412 mm, đường kính 60 mm. Môi trường

nuôi được sục không khí với tốc độ sục khí 1,2 L/L/phút trong 8h kết hợp với sục khí CO₂ tinh khiết 5 % với tốc độ sục khí 0,1 L/phút trong 1h; cường độ ánh sáng là 5000 lux với thời gian chiếu sáng 8 h/ ngày, nhiệt độ nuôi 30°C. Tỷ lệ cấp giống ban đầu là 0,15 g/L sinh khối khô (SKK). Thí nghiệm được theo dõi trong 10 ngày. Các công thức thí nghiệm như sau:

Đối chứng (ĐC): Môi trường Zarrouk 16,8 g/L NaHCO₃ + sục không khí;

Thí nghiệm (TN): Môi trường Zarrouk 16,8 g/L NaHCO₃ + sục CO₂ 5 % tinh khiết kết hợp sục không khí.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Xác định khả năng sinh trưởng của Spirulina platensis

Sự sinh trưởng của Vi khuẩn lam (VKL) được xác định dựa vào đồ thị chuẩn phản ánh mối tương quan giữa OD và trọng lượng khô (TLK) theo phương trình $y = 0,6136x + 0,004$ (trong đó x là OD_{445nm}, y là TLK có trong 1 lít dung dịch nuôi cấy (g/L)) và R² = 0,9997.

Tốc độ sinh trưởng riêng μ, Năng suất sinh khối P được xác định theo Seyedmahdi Hoseini và cộng sự, 2013 và Ravelonandro và cộng sự, 2011 [7, 8].

Đánh giá hiệu quả hấp thu CO₂ của Spirulina platensis

Hiệu suất hấp thu CO₂ được tính toán bằng năng suất khô của VKL, hàm lượng cacbon của *Spirulina platensis* và khối lượng mol của CO₂ và cacbon, khối lượng của CO₂ đầu vào [9].

Các phương pháp đánh giá về chất lượng sinh khối Spirulina platensis được tiến hành theo Đặng Đình Kim và đồng tác giả (2015) [10].

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Khả năng sinh trưởng và hiệu quả hấp thu CO₂ của chủng *Spirulina platensis* CNT trong môi trường có bổ sung CO₂ 5 % tinh khiết

Để đánh giá khả năng sinh trưởng của VKL, hàng ngày các mẫu được thu

Bảng 1. Các thông số sinh trưởng và hiệu quả hấp thu CO₂ của chủng *Spirulina platensis* CNT

Thí nghiệm	Các thông số						
	OD			C _{max} (g/L)	μ _{max} (ngày ⁻¹)	P _{max} (g/L/ ngày)	F (%)
	0 ngày	5 ngày	10 ngày				
ĐC	0,30 ± 0,01	0,41 ± 0,01	0,67 ± 0,02	0,416	0,076	0,022	20,82
TN	0,30 ± 0,01	0,56 ± 0,02	0,98 ± 0,01	0,612	0,138	0,047	28,39

Ghi chú: ĐC: Môi trường Zarrouk 16,8 g/L NaHCO₃ + sục không khí

TN: Môi trường Zarrouk 16,8 g/L NaHCO₃ + sục CO₂ 5 % tinh khiết kết hợp sục không khí

Các kết quả nghiên cứu được trình bày trên Bảng 1 cho thấy sau các mốc thời gian là 5 ngày và 10 ngày thực nghiệm, các thông số sinh trưởng và hiệu quả hấp thu CO₂ *Spirulina platensis* CNT ở công thức TN luôn cao hơn so với công thức ĐC. Điều này thể hiện ở sinh khối, tốc độ sinh trưởng riêng, năng suất sinh khối cực đại và hiệu quả hấp thu CO₂ sau 10 ngày nuôi của *Spirulina platensis* CNT ở công thức TN, đạt tương ứng là 0,612 g SKK/L; 0,138/ ngày; 0,047 g SKK/L/ngày và 28,39 %. Trong khi, sinh khối, tốc độ sinh trưởng riêng, năng suất sinh khối cực đại và hiệu quả hấp thu CO₂ sau 10 ngày nuôi của *Spirulina platensis* CNT ở công thức ĐC chỉ đạt tương ứng là 0,416 g SKK/L;

để đo mật độ quang học (OD) và xác định sinh khối khô. Dưới đây là các kết quả liên quan đến sinh trưởng và hiệu quả hấp thu CO₂ của *Spirulina platensis* CNT trong các điều kiện của hai nghiệm thức khác nhau ĐC và TN.

0,076/ ngày; 0,022 g SKK/L/ngày và 28,39 %. Kết quả này rất có ý nghĩa khoa học và thực tiễn vì VKL có thể khai thác nguồn cacbon để quang hợp từ CO₂ tinh khiết, gợi mở ý tưởng thu hồi CO₂ từ khí thải đốt than để vừa giảm thiểu khí nhà kính và vừa nuôi đại trà VKL giàu dinh dưỡng, mở ra triển vọng ứng dụng nguồn CO₂ rẻ tiền và hiệu quả để sản xuất sinh khối VKL.

3.2. Giá trị pH của môi trường nuôi *Spirulina platensis* CNT trong điều kiện sục CO₂ 5 % tinh khiết

Trong các nhân tố ảnh hưởng trực tiếp đến sinh trưởng của VKL như ánh sáng, nhiệt độ, dinh dưỡng, pH,... thì pH là một trong số những yếu tố nhạy cảm nhất.

Bảng 2. Diễn biến pH của môi trường nuôi *Spirulina platensis* CNT trong điều kiện sục CO₂ 5 % tinh khiết

Thời gian (ngày)	ĐC		TN		Thời gian (ngày)	ĐC		TN	
	pH-Tr	pH-Sa	pH-Tr	pH-Sa		pH-Tr	pH-Sa	pH-Tr	pH-Sa
0	7,77	7,77	7,92	7,63	5	8,35	8,35	8,46	8,40
1	7,87	7,86	7,86	7,51	6	8,41	8,41	8,65	8,61
2	8,04	8,04	7,88	7,54	7	8,53	8,53	8,79	8,75
3	8,16	8,16	7,95	7,69	8	8,62	8,62	8,85	8,82
4	8,24	8,24	8,19	8,05	9	8,66	8,66	8,91	8,88

Ghi chú: Tr: trước khi sục CO₂ hoặc không khí; Sa: sau khi sục CO₂ hoặc không khí

ĐC: Môi trường Zarrouk 16,8 g/L NaHCO₃ + sục không khí;

TN: Môi trường Zarrouk 16,8 g/L NaHCO₃ + sục CO₂ 5% tinh khiết kết hợp sục không khí

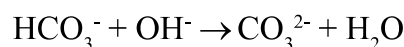
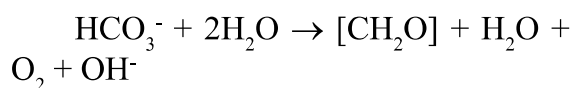
Nghiên cứu

Bảng 2 trình bày kết quả diễn biến pH môi trường nuôi *Spirulina platensis* CNT ở công thức ĐC và TN trong 10 ngày thực nghiệm. Giá trị pH ở công thức ĐC không thay đổi trước và sau khi sục ở tất cả các ngày thực nghiệm. Còn ở công thức TN, một vài ngày đầu nghiên cứu, pH giảm xuống dưới 8 do biến đổi trề khi lượng CO₂ cấp vào nhiều hơn so với nhu cầu nhưng sau đó nhanh chóng phục hồi về khoảng pH 8,5 - 9,0 thích hợp cho sự sinh trưởng của VKL [10]. Việc điều chỉnh pH của môi trường nuôi *Spirulina platensis* CNT bằng khí CO₂ về vùng thích hợp rất có ý nghĩa trong việc chuyển hóa các dạng cacbon vô cơ hòa tan trong môi trường. Phần tiếp theo nhóm tác giả

sẽ chứng minh sự thay đổi pH qua việc tái tạo ion HCO₃⁻ và giảm lượng CO₃²⁻.

3.3. Biến động của các dạng cacbon vô cơ môi trường nuôi chủng *Spirulina platensis* CNT

Thông thường *Spirulina platensis* sử dụng cacbon ở dạng HCO₃⁻ và hình thành các ion OH⁻, CO₃²⁻ dẫn tới việc pH trong dịch huyền phù luôn có xu hướng tăng lên. Nếu tiếp tục cấp CO₂ vào dịch nuôi thì pH sẽ giảm xuống theo các phương trình sau đây [11]:



Bảng 3. Sự biến động của HCO₃⁻ và CO₃²⁻ trong môi trường nuôi *Spirulina platensis* CNT

Thời gian (ngày)	ĐC				TN			
	HCO ₃ ⁻ - Tr	HCO ₃ ⁻ - Sa	CO ₃ ²⁻ - Tr	CO ₃ ²⁻ - Sa	HCO ₃ ⁻ - Tr	HCO ₃ ⁻ - Sa	CO ₃ ²⁻ - Tr	CO ₃ ²⁻ - Sa
0	12200,00	12200,10	42,00	41,95	12241,11	12241,11	42,00	21,78
1	12185,95	12186,05	48,91	48,86	12211,24	12252,35	36,47	16,25
2	12149,89	12149,99	66,64	66,59	12208,33	12249,44	37,90	17,68
3	12113,83	12113,93	84,38	84,33	12194,41	12235,52	44,75	24,53
4	12084,06	12084,16	99,02	98,97	12128,61	12169,72	77,11	56,89
5	12035,42	12035,52	122,94	122,89	11992,05	12033,17	144,27	124,05
6	11999,36	11999,46	140,68	140,63	11841,35	11882,46	218,39	198,17
7	11923,99	11924,09	177,74	177,69	11685,93	11727,04	294,82	274,60
8	11850,19	11850,29	214,04	213,99	11594,97	11636,08	339,56	319,34
9	11806,27	11806,37	235,64	235,59	11505,58	11546,70	383,52	363,30

Ghi chú: Tr: trước khi sục CO₂ hoặc không khí; Sa: sau khi sục CO₂ hoặc không khí

ĐC: Môi trường Zarrouk 16,8 g/L NaHCO₃ + sục không khí;

TN: Môi trường Zarrouk 16,8 g/L NaHCO₃ + sục 5% CO₂ tinh khiết kết hợp sục không khí

Kết quả nghiên cứu trình bày trên Bảng 3 chỉ ra rằng ở công thức ĐC, do trong không khí cũng có một lượng nhỏ khí CO₂ tuy nhiên nồng độ khá thấp khoảng 0,032% nên hàm lượng các ion HCO₃⁻ và CO₃²⁻ hầu như không thay đổi trước và sau khi sục. Điều này cũng thể hiện ở giá trị pH không thay đổi trước và sau sục không khí ở công thức thực nghiệm này trên Bảng 2. Ở nghiệm thức TN, với việc sử dụng CO₂ 5% tinh khiết,

pH của môi trường dần dần nằm trong khoảng thích hợp từ 8,5 - 9,5. Kết quả đạt được là do hàm lượng HCO₃⁻ trong ngày không ngừng được tái tạo và hàm lượng CO₃²⁻ trong ngày luôn giảm đi sau khi được sục CO₂. Cụ thể, ở ngày thực nghiệm đầu tiên, hàm lượng HCO₃⁻ là 12200,00 mg/L trước khi sục CO₂ và sau khi sục hàm lượng HCO₃⁻ được tái tạo đạt 12241,11 mg/L, bên cạnh đó hàm lượng CO₃²⁻ là 42,00 mg/L trước khi sục CO₂ và

sau khi sục hàm lượng CO_3^{2-} giảm xuống 21,78 mg/L. Như vậy, các kết quả nghiên cứu thể hiện trên Bảng 3 cho thấy việc bổ sung CO_2 vào môi trường nuôi để tái tạo nguồn HCO_3^- - nguồn cacbon chính và tạo pH thích hợp là đúng đắn cho sự sinh trưởng của *Spirulina platensis* [10]. Điều này cho thấy, có thể sử dụng CO_2 tinh khiết làm nguồn cacbon bổ sung cho quá trình nuôi *Spirulina platensis* CNT.

Bảng 4. Thành phần protein, hydratecarbon và lipit của sinh khối *S. platensis* CNT được nuôi trong môi trường sục khí CO_2 5% tinh khiết

Công thức	Protein	Hydratecarbon	Lipit
ĐC	49,35 ± 0,06	10,75 ± 0,68	12,78 ± 1,34
TN	51,48 ± 1,09	10,76 ± 0,63	8,65 ± 0,32

Các kết quả phân tích trên Bảng 4 cho thấy ở công thức TN hàm lượng protein, hydratecarbon và lipit trong VKL đạt 51,48 ± 1,09 %, 10,76 ± 0,63 % và lipit không quá 9%, trong khi đó ở công thức ĐC hàm lượng protein, hydratecarbon thấp hơn là 49,35 ± 0,06 %, 10,75 ± 0,68 % còn lipit cao trên 9%. Nhìn chung, chất lượng *Spirulina platensis* CNT được nuôi bằng khí CO_2 5 % tinh khiết là tốt, có thành phần protein, hydratecarbon và lipit tương đương với chất lượng *Spirulina platensis* đã được công bố bởi công ty Siam Algae (SAC) của Phòng nghiên cứu thực phẩm Nhật Bản [12]. Các kết quả nghiên cứu trên đây là cơ sở bước đầu đánh giá để sử dụng *Spirulina platensis* CNT như một thực phẩm dinh dưỡng hoặc là nguyên liệu cho các mục đích khác. Trong bối cảnh biến đổi khí hậu toàn cầu, *Spirulina platensis* CNT không chỉ đóng góp tích cực vào việc giảm lượng khí nhà kính mà còn có thể là sinh khối tốt cho các mục đích khác nhau.

4. Kết luận

Trong điều kiện phòng thí nghiệm, khí CO_2 5% có thể bổ sung vào môi trường

3.4. Đánh giá chất lượng sinh khối của chủng *Spirulina platensis* CNT

Trong sản xuất sinh khối *Spirulina platensis*, người ta không chỉ quan tâm đến năng suất sinh khối mà còn chất lượng sinh khối của loài VKL này. Liệu quá trình sục 5% khí CO_2 tinh khiết có ảnh hưởng đến chất lượng sinh khối VKL hay không? Số liệu trình bày trong Bảng 4 sẽ góp phần trả lời câu hỏi này.

nuôi *Spirulina platensis* CNT như một nguồn cacbon có giá trị. Trong đó, chủng *S. platensis* CNT đạt tốc độ sinh trưởng riêng tối đa (μ_{max}), năng suất sinh khối cực đại (P_{max}), sinh khối khô đạt cực đại ở nghiệm thức TN là 0,138/ngày, 0,047 g SKK/L/ngày, 0,612 g SKK/L, tương ứng. Ngoài ra, chủng này có khả năng hấp thu 84,20 mg CO_2 /L/ngày và có thể được định hướng cho các nghiên cứu liên quan đến khả năng sử dụng CO_2 từ khí thải đốt than. Chất lượng dinh dưỡng của *Spirulina platensis* CNT là cao khi nuôi bằng khí CO_2 5% như protein, hydratecarbon và lipit tương đương với chất lượng *Spirulina platensis* đã được công bố bởi công ty Siam Algae (SAC) của Phòng nghiên cứu thực phẩm Nhật Bản.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1]. Lowe JA, Huntingford C, Raper SCB, Jones CD, Liddicoat SK and Goar LK (2009). *How difficult is it to recover from dangerous levels of global warming?*. Environmental Research Letters, 4 (1). 014012 9 pages.

[2]. Solomon S, Qin D, Manning M, Chen Z, Marquis M, Averyt KB, Tignor M, Miller HL (2007). *IPCC: Summary for Policymakers, in Climate Change 2007:*

Nghiên cứu

The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change, Cambridge University Press, Cambridge.

[3]. Cousins A, Wardhaugh LT, Feron PHM (2011). *A survey of process flow sheet modifications for energy efficient CO₂ capture from fluegases using chemical absorption*. International Journal of Greenhouse Gas Control, article in press1.

[4]. Cao L, and Caldeira K (2010). *Atmospheric carbon dioxide removal: Long-term consequences and commitment*. Environ. Res. Lett., 5, 024011.

[5]. Fan LH, Zhang YT, Cheng LH, Zhang L, Tang DS, Chen HL (2007). *Optimization of carbon dioxide fixation by Chlorella vulgaris cultivated in a membrane-photobioreactor*. Chem Eng Technol 30 (8):1094-1099.

[6]. Jeong ML, Gillis JM and Hwang JY (2003). *Carbon dioxide mitigation by microalgal photosynthesis*. Bull. Korean Chem. Soc., 24: 1763-1766.

[7]. Hoseini S, Abbas A, Saeed A, Mohamad SH, Fatemeh M (2013). *Growth response of Spirulina platensis PCC 9108 to elevated CO₂ levels and flue gas*. Biological Journal of Microorganism 2nd Year, Vol. 2, No. 8, 29 - 36.

[8]. Ravelonandro PH, Dominique HR, Claire JC, Arsène I, Marson R (2011). *Improvement of the growth of Arthrospira (Spirulina) platensis from Toliara (Madagascar): Effect of agitation, salinity and CO₂ addition*. Food and bioproducts processing 89 209 - 216.

[9]. Jorge AVC, Michele GDM, Elisanaagela MR, Fabrício BS, Felipe C, Michele DRAZDS, Adriano AH, Ana PCDR and Lúcio B (2015). *Biofixation of carbon dioxide from coal station flue gas using Spirulina sp. LEB 18 and Scenedesmus obliquus LEB 22*. African Journal of Microbiology Research 9 (44): 2202 - 2208.

[10]. Đặng Đình Kim và đồng tác giả (2015). *Nghiên cứu công nghệ sử dụng khí thải đốt than để sản xuất sinh khối vi tảo có giá trị dinh dưỡng*. Báo cáo tổng kết đề tài KC08/2011 - 2015.

[11]. Iglesias-Rodriguez MD (2008). *Phytoplankton calcification in a high-CO₂ world*. Science, 320: 336 - 340.

[12]. Shimamatsu H (2004). *Mass production of Spirulina, an edible microalga. Asian Pacific Phycology in the 21st Century: Prospects and Challenges*. Kluwer Academic Publisher, Printed in Netherlands.

BBT nhận bài: 04/9/2019; Phản biện
xong: 20/9/2019