

ẢNH HƯỞNG CỦA CÁC NGUỒN NITƠ KHÁC NHAU ĐẾN SỰ SINH TRƯỞNG CỦA *ARTHROSPIRA (SPIRULINA) PLATENSIS*

Nhận bài:

14 – 08 – 2019

Chấp nhận đăng:

20 – 09 – 2019

<http://jshe.ued.udn.vn/>

Phan Nhật Trường^a, Trần Thị Tường Vy^b, Phạm Thị Mỹ^b, Trịnh Đăng Mậu^b

Tóm tắt: Tảo *Arthrospira (Spirulina) platensis* là một trong những nguồn thực phẩm có giá trị dinh dưỡng cao, hiện đang được nuôi trồng ở nhiều nơi trên thế giới. Nhằm tối ưu hóa môi trường nuôi cấy loài vi tảo này ở quy mô lớn, nghiên cứu về ảnh hưởng của các nguồn nitơ khác nhau lên sự sinh trưởng của tảo đã được tiến hành. Nguồn cung cấp nitơ từ các muối amoni, nitrit, nitrat với các nồng độ khác nhau đã được khảo sát. Kết quả cho thấy tảo *Spirulina* sinh trưởng tốt nhất ở môi trường bổ sung 25% Nitơ so với các nồng độ khác đối với tất cả các nguồn. So sánh hiệu quả của từng loại muối đến tốc độ sinh trưởng (μ) và sinh khối cực đại (DW_{max}) của tảo chỉ ra rằng NH_4Cl cho kết quả kém khả quan nhất, trong khi ở nhóm NH_4NO_3 , $NaNO_2$ và $NaNO_3$ ghi nhận được các giá trị cao hơn, tuy nhiên sự khác biệt trong nhóm này là không có ý nghĩa thống kê.

Từ khóa: *Arthrospira (Spirulina) platensis*; sinh trưởng; sinh khối; amoni; nitrat; nitrit.

1. Giới thiệu

Ngày nay, cùng với sự phát triển của khoa học và công nghệ, nhu cầu về chăm sóc sức khỏe của con người ngày càng được chú trọng. Con người không ngừng tìm cách đa dạng hóa các sản phẩm, nâng cao chất lượng thực phẩm theo hướng phát triển bền vững, thân thiện với môi trường bằng việc tìm kiếm những sản phẩm có nguồn gốc từ thiên nhiên, có giá trị dinh dưỡng và giá trị sinh học cao nhằm đáp ứng yêu cầu của con người. Trong số đó, tảo *Arthrospira (Spirulina) platensis* đang là một nguồn sinh khối nhận được nhiều sự quan tâm nhờ có hàm lượng dinh dưỡng rất cao. Loài tảo này đã được nhiều tổ chức về sức khỏe trên thế giới như WHO, FDA, EFSA công nhận là một trong những nguồn thực phẩm bổ sung dinh dưỡng an toàn cho sức khỏe con người (Seyidoglu & cs., 2017).

Các sản phẩm từ loài tảo này có chứa đầy đủ các thành phần như vitamin (B12, beta - caroten,

xanthophyll...), chất khoáng, các acid béo thiết yếu và acid amin (lysine, methionin, triptophan,...) giúp tăng cường sức khỏe cho con người (Trần Thị Lê Trang, 2016). Các nghiên cứu đã chỉ ra rằng, trong tảo *Spirulina* hàm lượng protein đạt khoảng 56-77% trọng lượng khô, cao hơn thịt bò và cá (15-25%), đậu tương (35%), bột sữa (35%), đậu phộng (25%), trứng (12%), ngũ cốc (8-14%) (Trần Thị Lê Trang, 2013; Trương Văn Lung, 2004). Tỷ lệ tiêu hoá và hấp thu protein đối với *Spirulina* là rất cao (85-95%) do nó không chứa cellulose trong thành tế bào (Trần Thị Lê Trang, 2013; Vonshak & cs., 1982; Ravindra, 2000).

Nhằm đáp ứng nhu cầu của thị trường, tảo *Spirulina* hiện đang được nuôi trồng quy mô lớn ở nhiều nơi trên thế giới để thu sinh khối (Trần Thị Lê Trang, 2013). Để việc nuôi *Spirulina* đạt được hiệu quả và chất lượng thành phẩm cao, các điều kiện môi trường để tảo sinh trưởng và phát triển tốt rất cần được chú trọng, trong đó có yếu tố về dinh dưỡng. Abeliovich và cộng sự đã nhấn mạnh sự quan trọng của môi trường nuôi cấy đến năng suất của tảo *Spirulina*, chúng đóng vai trò là nguồn cung cấp chất dinh dưỡng cho toàn bộ các quá trình sinh lí - hóa trong tế bào của tảo, đặc biệt là chất dinh dưỡng nitơ.

^aNhóm NC - GD Môi trường và Tài nguyên sinh vật - Đại học Đà Nẵng

^bTrường Đại học Sư phạm - Đại học Đà Nẵng

* Tác giả liên hệ

Trịnh Đăng Mậu

Email: tdmou@ued.udn.vn

Nitơ vừa có vai trò cấu trúc trong việc hình thành nên các amino axit, protein, chlorophyll và các sắc tố quang hợp khác, chiếm tổng cộng khoảng 10% khối lượng khô tảo lam, vừa là thành phần tham gia vào các quá trình sinh hóa quan trọng trong tảo, điển hình là quá trình tổng hợp các lipid và acid béo (Abeliovich, 1976; Choi & cs., 2003; Piorreck & cs. 1984). Trong nuôi trồng Spirulina người ta thường bổ sung thêm nitơ vào môi trường dưới dạng muối nitrate (NaNO_3), tuy nhiên NaNO_3 có giá thành khá cao làm tăng chi phí đầu tư nên ảnh hưởng đến hiệu quả kinh tế trong nuôi tảo.

Nhiều nghiên cứu hướng về ảnh hưởng của các nguồn Nitơ khác nhau lên sự sinh trưởng của tảo Spirulina đã được thực hiện nhằm tối ưu hóa môi trường dinh dưỡng trong nuôi trồng Spirulina. Điển hình như nghiên cứu của Rodrigues và cộng sự (2011) về năng suất, hàm lượng protein và lipid của tảo Spirulina dưới sự ảnh hưởng của amoni sunphat cho thấy sinh khối tích lũy thu được sau 13 ngày nuôi là 2,911g/l (Rodrigues & cs., 2011); hay trong nghiên cứu về ảnh hưởng của 4 nguồn nitơ gồm amonium, nitrat, nitrit và urê, amoni được nhận định là nguồn cung cấp nitơ giúp tảo đạt sinh khối khô cao nhất (4,5 g/l), trong khi đó môi trường chứa nitrat, nitrit và ure sinh khối đạt được thấp hơn, lần lượt là 4,05 g/l; 3 g/l và 2,825 g/l sau 30 ngày nuôi cấy (Choi & cs., 2003). Mashor đã tiến hành nuôi tảo trong các bể phản ứng dạng túi dưới điều kiện thời tiết của Malaysia, sau 8 ngày nuôi sinh khối đạt được cao nhất là 1,24 g/l khi bổ sung amoni nitrat, cao hơn so với môi trường sử dụng urê là 1,19 g/l (Mashor & cs., 2016). Nhìn chung, ảnh hưởng của các nguồn nitơ khác nhau tới tốc độ sinh trưởng của vi tảo *S.platensis* chưa đồng nhất trong các nghiên cứu. Điều này có thể do điều kiện nuôi cấy được áp dụng hoặc các chủng loại Spirulina được sử dụng trong các nghiên cứu trên là khác nhau. Vậy nên cần có một nghiên cứu tương tự mang tính địa phương (với điều kiện và giống của Việt Nam) nhằm cung cấp các kiến thức thực tiễn, phục vụ cho việc nuôi trồng hiệu quả loài tảo này ở nước ta. Do đó, chúng tôi đã tiến hành thực hiện đề tài “Ảnh hưởng của các nguồn nitơ khác nhau lên sự sinh trưởng của *Arthrospira (Spirulina) platensis*”.

2. Phương pháp nghiên cứu

Giống và điều kiện sinh trưởng

Giống *Arthrospira (Spirulina) platensis* được cung cấp bởi Viện Nông nghiệp Hà Nội, sau đó được làm thuần và lưu giữ tại Phòng Thí nghiệm Tảo, Khoa Sinh - Môi trường, Trường Đại học Sư phạm - Đại học Đà Nẵng.

Tảo được phân lập trên môi trường thạch dựa trên phương pháp tạo khuẩn lạc đơn, sau 3-5 ngày tiến hành thu nhận khuẩn lạc riêng rẽ để tách tảo thuần, loại trừ tảo lạ, vi khuẩn và động vật phù du. Tách và nhân nuôi tảo thuần bằng cách gieo gạt hoặc ria trực tiếp những sợi tảo phát triển đầu tiên trên mặt thạch chuyển vào môi trường lỏng Zarrouk (Zarrouk, 1966) ở thể tích nhỏ. Sau khoảng 1 tuần, các tế bào tảo thuần thu được chuyển qua nuôi trong môi trường lỏng có sử dụng máy lắc ngang. Nhân giống trong điều kiện phòng thí nghiệm với nhiệt độ 25-27°C, thời gian chiếu sáng sáng: tối là 16:8 với cường độ 2-2,5 klux.

Giống tảo Spirulina sau khi được làm thuần thì tiến hành nuôi trên môi trường Zarrouk chuẩn trong can nhựa 5l ở điều kiện ánh sáng trắng, cường độ 2 klux, với chế độ chiếu sáng là 16h sáng: 8h tối, nhiệt độ 25 - 27°C và được sử dụng trong tất cả các thí nghiệm.

Bố trí thí nghiệm

Spirulina được nuôi trong các chai thủy tinh 500ml, dưới điều kiện ánh sáng, nhiệt độ của phòng thí nghiệm và được theo dõi, kiểm tra hàng ngày.

Nồng độ nitơ cung cấp được xác định như sau: sử dụng nguồn cung cấp nitơ trong môi trường Zarrouk là NaNO_3 (2,5g/l) làm chuẩn và quy ước tại đó, nồng độ nitơ cung cấp là 100%. Dựa vào công thức hóa học, khối lượng phân tử và nồng độ mol để quy đổi và tính toán được khi giảm nồng độ nitơ xuống 75%, 50%, và 25% thì khối lượng các muối cung cấp nitơ cần bổ sung vào môi trường nuôi (Bảng 1).

Bảng 1. Khối lượng các nguồn cung cấp nitơ (g/l) cần bổ sung vào môi trường tương ứng với các nồng độ nitơ khác nhau

| Nồng độ Nitơ | | | | |
|-----------------|-------|------|-------|------|
| Nguồn | 25% | 50% | 75% | 100% |
| NaNO_3 | 0,625 | 1,25 | 1,875 | 2,5 |

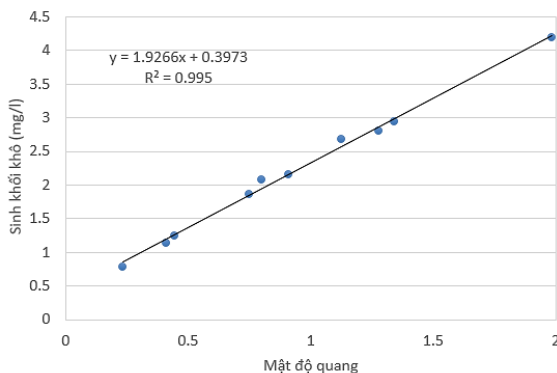
| | | | | |
|---------------------------------|------|------|------|------|
| NaNO ₂ | 0,51 | 1,02 | 1,52 | 2,03 |
| NH ₄ Cl | 0,39 | 0,79 | 1,18 | 1,57 |
| NH ₄ NO ₃ | 0,29 | 0,59 | 0,88 | 1,18 |

Nghiên cứu ảnh hưởng của các nguồn nitơ lên tảo Spirulina được tiến hành với 4 nguồn cung cấp nitơ khác nhau NaNO₃, NaNO₂, NH₄Cl và NH₄NO₃. Mỗi nguồn cung cấp nitơ được tiến hành nuôi với 4 nồng độ khác nhau (25%, 50%, 75%, 100%). Mỗi nghiệm thức lặp lại 3 lần.

Mật độ tảo và sinh khối khô được đánh giá hàng ngày.

Phương pháp xác định tốc độ sinh trưởng và sinh khối Sinh khối của tảo được đánh giá hàng ngày thông qua việc xác định giá trị mật độ quang (optical density - OD) của dung dịch tảo ở bước sóng 680 nm sử dụng máy đo quang phổ UV - VIS.

Đường chuẩn mối quan hệ giữa mật độ quang và khối lượng khô của tảo được xây dựng dựa trên phương pháp được đề xuất bởi Leduy và Therien (Leduy & Therien, 1977). Kết quả thực nghiệm cho thấy giữa sự sinh trưởng và sinh khối khô của tảo có một mối tương quan thuận chặt chẽ với nhau ($r^2=0.995$) (Hình 1). Do đó, dựa vào mật độ quang, có thể xác định được sinh khối tảo thu được thông qua phương trình $y = 1.9266x + 0.3973$.



Hình 1. Biểu đồ tương quan giữa mật độ quang và khối lượng khô của tảo Spirulina

Tốc độ sinh trưởng trung bình (μ) trong suốt thời gian nuôi cấy (hay năng suất) được xác định bằng công thức:

$$\mu = \frac{DW_t - DW_{t_0}}{t - t_0}$$

Trong đó DW_t , DW_{t_0} lần lượt là sinh khối khô ở ngày thứ t và thời điểm bắt đầu nuôi cấy t_0 .

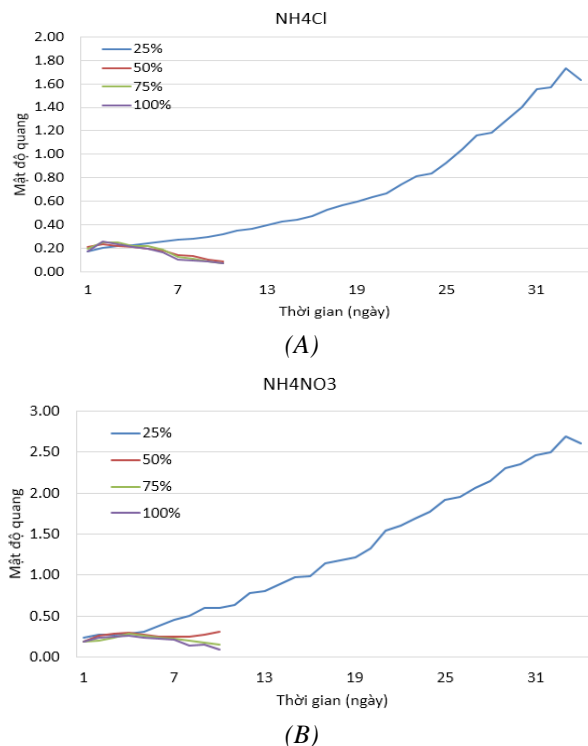
Phương pháp thống kê và xử lý số liệu

Dữ liệu thu được hàng ngày được thống kê mô tả. Phân tích phương sai 1 yếu tố (ANOVA) được áp dụng để đánh giá sự sai khác có ý nghĩa giữa các nghiệm thức.

3. Kết quả và đánh giá

3.1. Ảnh hưởng của muối amoni đến sự sinh trưởng và sinh khối của tảo

Kết quả của thí nghiệm đánh giá ảnh hưởng của nguồn nitơ từ hai loại muối amoni gồm amoni clorua (NH₄Cl) và amoni nitrat (NH₄NO₃) với các nồng độ nitơ khác nhau (25%, 50%, 75%, 100% khối lượng N) đến sự sinh trưởng và sinh khối của tảo được trình bày ở Hình 2.



Hình 2. Biểu đồ thể hiện sự sinh trưởng của Spirulina trong môi trường bổ sung 25%, 50%, 75%, 100% khối lượng Nitơ từ muối amoni clorua (A) và amoni nitrat (B)

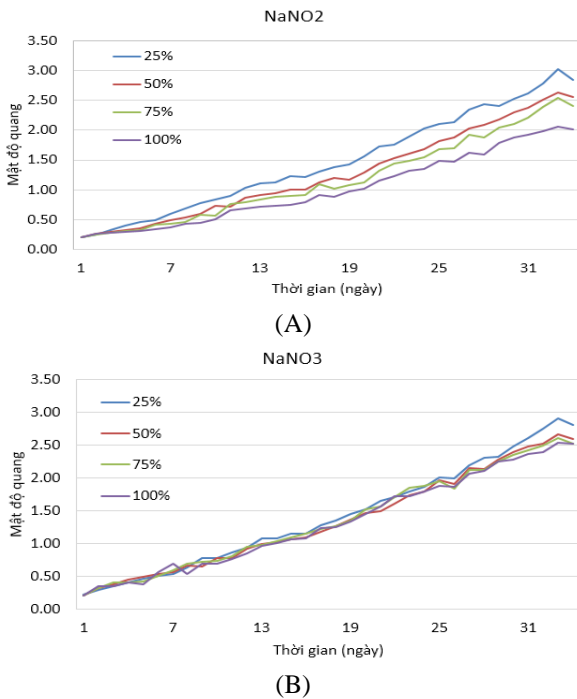
Trong thí nghiệm với cả 2 nguồn Nitơ từ amoni, tảo chỉ có thể thích nghi và sinh trưởng ở nghiệm thức có bổ sung 25% khối lượng Nitơ, cụ thể 0,39 g/l NH₄Cl và 0,29 g/l NH₄NO₃, và đạt sinh khối cực đại ở ngày nuôi thứ 33. Tốc độ sinh trưởng trung bình trong cả quá trình nuôi và sinh khối cực đại của tảo lần lượt là 0,077 mg/l/ngày và $5,587 \pm 0,041$ mg/l trong môi trường bổ

sung NH_4NO_3 , đạt $0,068 \text{ mg/l/ngày}$ và $3,742 \pm 0,401 \text{ g/l}$ trong môi trường bổ sung NH_4Cl .

Ngược lại, ở các nghiệm thức bổ sung 50%, 75% và 100% khối lượng Nitơ, tảo đều sinh trưởng rất chậm và hầu như không thể thích nghi. Tốc độ sinh trưởng trung bình của tảo giảm dần theo mức tăng nồng độ 50%, 75% và 100% trong thí nghiệm với NH_4Cl tương ứng lần lượt là $-0,095$; $-0,109$; $-0,117 \text{ mg/l/ngày}$ và trong thí nghiệm với NH_4NO_3 là $0,055$; $-0,024$; $-0,09 \text{ mg/l/d}$. Tảo chuyển sang pha suy vong sau khoảng 3 - 4 ngày nuôi cấy, vào ngày thứ 10 tảo gần như chết hoàn toàn (Hình 2).

3.2. Ảnh hưởng của muối nitrite và nitrate đến sự sinh trưởng và sinh khối của tảo

Ảnh hưởng muối nitrit và nitrat đến tốc độ sinh trưởng được thể hiện ở Hình 3.



Hình 3. Biểu đồ thể hiện sự sinh trưởng của *Spirulina* trong môi trường bổ sung 25%, 50%, 75%, 100% khối lượng Nitơ từ muối natri nitrit (A) và natri nitrat (B)

Hình 3 cho thấy khác với thí nghiệm sử dụng nguồn nitơ từ muối amoni, tảo có thể thích nghi và sinh trưởng tốt ở tất cả các nồng độ muối nitrat được bổ sung và sinh khối cực đại đều đạt được ở ngày nuôi thứ 33.

Bảng 2. Tốc độ sinh trưởng trung bình và sinh khối cực đại của *Spirulina* dưới các nồng độ Nitơ khác nhau từ natri nitrit và natri nitrat

| NaNO ₂ | | | | |
|--------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| Nồng độ | 25% | 50% | 75% | 100% |
| $\mu \text{ (mg/l/d)}$ | 0,079 | 0,076 | 0,075 | 0,069 |
| DW _{max} (mg/l) | 6,231a ± 0,092 | 5,471b ± 0,057 | 5,280b ± 0,09 | 4,356c ± 0,029 |
| NaNO ₃ | | | | |
| Nồng độ | 25% | 50% | 75% | 100% |
| $\mu \text{ (mg/l/d)}$ | 0,078 | 0,077 | 0,077 | 0,075 |
| DW _{max} (mg/l) | 6,019a ± 0,008 | 5,547b ± 0,054 | 5,421b ± 0,184 | 5,284b ± 0,026 |

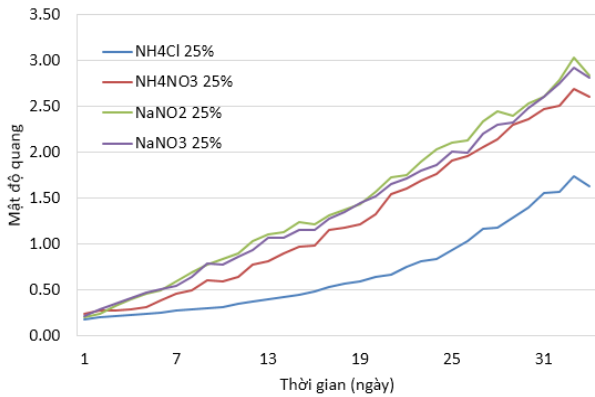
(Chú thích: các chữ cái khác nhau trong cùng một chỉ tiêu đánh giá chỉ sự sai khác có ý nghĩa thống kê với $P < 0,05$)

Tuy nhiên với các nồng độ nitơ bổ sung vào môi trường nuôi khác nhau thì tốc độ sinh trưởng trung bình và sinh khối khô lớn nhất của tảo *Spirulina* cũng khác nhau. Kết quả được thể hiện ở Bảng 2.

Đáng chú ý, ở cả 2 nghiệm thức với natri nitrit và natri nitrat, sinh khối thu được ở ngày thứ 33 của thí nghiệm đều có xu hướng giảm dần khi tăng nồng độ nitơ bổ sung. Cụ thể, đối với thí nghiệm bổ sung NaNO_2 , DW_{max} ghi nhận được ở nồng độ 25% khối lượng Nitơ là cao nhất với giá trị $6,231 \text{ mg/l}$, cao hơn so với giá trị của nghiệm thức bổ sung 50% ($5,471 \text{ mg/l}$), 75% ($5,280 \text{ mg/l}$) và 100% ($4,356 \text{ mg/l}$). Tương tự, trong thí nghiệm với NaNO_3 , giá trị DW_{max} cao nhất đạt được là $6,019 \text{ mg/l}$ trong nghiệm thức bổ sung 25% Nitơ và thấp nhất là $5,284 \text{ mg/l}$ đối với nghiệm thức 100%.

3.3. So sánh khả năng sinh trưởng của tảo trong điều kiện được bổ sung các nguồn nitơ khác nhau

Kết quả thí nghiệm chỉ ra rằng sự bổ sung Nitơ ở nồng độ thấp (25%) bằng muối amoni hay nitrat đều sẽ thúc đẩy sự sinh trưởng của tảo nhanh nhất và sinh khối cực đại sẽ lớn nhất. Tuy nhiên, phản ứng của tảo đối với các nguồn nitơ khác nhau là không giống nhau (Hình 4 và Bảng 3).



Hình 4. Biểu đồ so sánh đường cong sinh trưởng giữa các nghiệm thức sử dụng các nguồn Nito khác nhau

Tốc độ sinh trưởng và sinh khối tích lũy của tảo khi được bổ sung các nguồn nito khác nhau tăng theo thứ tự $\text{NH}_4\text{Cl} < \text{NH}_4\text{NO}_3 < \text{NaNO}_3 < \text{NaNO}_2$, trong đó, các giá trị của nghiệm thức NH_4Cl ($\mu = 0,068 \text{ mg/l/d}$ và $\text{DW}_{\text{max}} = 3,742 \pm 0,40 \text{ g/l}$) thấp hơn đáng kể so với các nhóm nghiệm thức còn lại ($\mu \geq 0,077 \text{ mg/l/d}$ và $\text{DW}_{\text{max}} \geq 5,587 \pm 0,041 \text{ g/l}$). Ngoài ra, sự sai khác giữa sinh khối cực đại ghi nhận được ở các nghiệm thức sử dụng NH_4NO_3 , NaNO_3 , NaNO_2 là nguồn nito cho tảo là không có ý nghĩa thống kê.

Bảng 3. So sánh tốc độ sinh trưởng trung bình và sinh khối cực đại giữa các nghiệm thức với các nguồn Nito khác nhau

| | Nguồn Nito (25%) | | | |
|------------------------------------|------------------------|--------------------------|-----------------------|-----------------------|
| | NH_4Cl | NH_4NO_3 | NaNO_2 | NaNO_3 |
| μ (mg/l/d) | 0,068 | 0,077 | 0,079 | 0,078 |
| DW_{max} (mg/l) | 3,742a $\pm 0,401$ | 5,587b $\pm 0,041$ | 6,231b $\pm 0,092$ | 6,019b $\pm 0,008$ |

(Chú thích: các chữ cái khác nhau trong cùng một chỉ tiêu đánh giá chỉ sự sai khác có ý nghĩa thống kê với $P < 0,05$)

3.4. Đánh giá

Nguồn nito ảnh hưởng rất lớn đến khả năng tăng trưởng, các quá trình sinh tổng hợp hình thành sản phẩm, đặc biệt là sự tích lũy protein và lipid của tảo. Do đó, các nồng độ nito khác nhau trong môi trường nuôi cấy ảnh hưởng lớn sự tăng trưởng, khả năng trao đổi chất, chất lượng dinh dưỡng của nhiều loài tảo, trong đó

có tảo *Spirulina* sp. (Choi & cs., 2003; Ravindra, 2000; Soni & cs., 2017; Fagiri & cs., 2013).

Kết quả của nghiên cứu này chỉ ra rằng *Spirulina* sinh trưởng tốt nhất ở nồng độ nito thấp (25% khối lượng Nito) đối với tất cả các dạng nito được bổ sung. Ngược lại ở các nồng độ cao hơn, sinh khối tích lũy và tốc độ tăng trưởng của tảo có xu hướng giảm trong thí nghiệm sử dụng muối nitrat và bị ức chế hoàn toàn sau khoảng 10 ngày nuôi cấy khi được bổ sung muối amoni. Nhiều nghiên cứu tương tự cũng đã nhấn mạnh rằng không chỉ thiếu hụt mà sự dư thừa hàm lượng nito trong môi trường nuôi cấy cũng có thể làm giảm khả năng sinh trưởng của tảo (Ravindra, 2000; Fagiri & cs., 2013). Ví dụ như trong nghiên cứu về ảnh hưởng của các nguồn nito khác nhau đến sự sinh trưởng tế bào và sự tích lũy lipid của tảo lục *Neochloris oleoabundans*, Li & cs. đã quan sát được tại nồng độ nito cao (15 và 20 mM), sự phát triển của tảo bị suy giảm đáng kể (Lo & cs., 2008).

Mặc dù nito trong môi trường tự nhiên tồn tại dưới dạng nitrate phổ biến hơn dạng amoni (Flores & Herrero, 1994), muối amoni lại được coi là nguồn nito được ưu tiên ở tảo nhờ vào trạng thái oxi hóa khử, tức là tảo sẽ tiêu tốn ít năng lượng hơn hấp thu và đồng hóa amoni (Chafin & cs., 2013; Muro-Pastor & cs., 2005). Sự có mặt của amoni trong môi trường gây ức chế quá trình đồng hóa các nguồn nito khác (ví dụ như các ion nitrat) thông qua việc cản trở các quá trình vận chuyển nito và hoạt động của các enzyme đồng hóa nito (Muro-Pastor & cs., 2005). Ngoài ra, amoni cũng được báo cáo có khả năng gây độc cho tảo với nồng độ lớn hơn 3mM (Li & cs., 2008). Trong nghiên cứu này, *Spirulina* sử dụng nito dưới dạng nitrat cho việc tăng sinh khối hiệu quả hơn so với nito dưới dạng amoni (Hình 4, Bảng 3). Điều này có thể giải thích do trong môi trường kiềm, gốc NH_4^+ bị thủy phân nhanh chóng tạo ra khí NH_3 , mật độ tảo ban đầu còn thấp không thể đồng hóa, hấp thu kịp thời dẫn đến hiện tượng ngộ độc NH_3 làm cho tảo chết (Mashor & cs., 2016). Nồng độ NH_4^+ cung cấp càng cao, lượng khí NH_3 sinh ra càng nhiều làm cho tốc độ chết của tảo càng nhanh (Hình 2). Các nghiên cứu của Madkour & cs. (2012), Muro-Pastor & cs. (2005) đã xác định được mối quan hệ giữa độc tính của amoni với pH, cụ thể khi $\text{pH} > 9,25$, hầu hết NH_4^+ được chuyển hóa thành amoniac dạng khí (NH_3) và gây ức chế đối với hệ thống quang hợp trong tế bào vi khuẩn lam, dẫn

đến sự ức chế sinh trưởng. Hơn nữa, độc tính có thể được khuếch đại khi tăng dần cường độ ánh sáng (Belkin & Boussiba, 1991).

Trong nghiên cứu này, tảo Spirulina cho thấy khả năng thích nghi tốt khi có thể sử dụng nguồn nitơ từ các dạng hợp chất khác nhau, điều cũng đã được đề cập trong nhiều nghiên cứu trước đây (Rodrigues & cs., 2011; Choi & cs., 2003; Mashor & cs., 2016). Đây là cơ sở để chọn ra các nguồn dinh dưỡng rẻ tiền hơn phục vụ cho việc nuôi trồng ở quy mô lớn. Mashor và cộng sự cho rằng cần thiết có một giai đoạn thích nghi trước khi sử dụng một nguồn nitơ mới để tối ưu hóa sự tăng trưởng và tích lũy sinh khối của tảo (Mashor & cs., 2017).

Những phản ứng của vi tảo đối với các nguồn nitơ hay các nồng độ nitơ khác nhau không chỉ được thể hiện qua tốc độ tăng trưởng và sinh khối tích lũy mà thành phần sinh hóa của tảo cũng có những thay đổi nhất định. Ví dụ như protein và carbohydrate được tổng hợp hiệu quả trong điều kiện đầy đủ nitơ và ngược lại, khi nitơ bị thiếu hụt, 2 thành phần này giảm mạnh trong khi hàm lượng lipids tăng (Markou & Muylaert, 2016; Fernández-Reiriz, 1989). Ngoài ra, ảnh hưởng của nitơ đến thành phần sinh hóa cũng phụ thuộc vào từng giai đoạn phát triển khác nhau của tảo (de Ciencias, 1995). Đây sẽ là những thông tin rất hữu ích để nâng cao hiệu quả nuôi trồng vi tảo ở quy mô lớn, nên cần được tập trung nghiên cứu trong tương lai.

4. Kết luận

Nghiên cứu này đã khảo sát ảnh hưởng của các nguồn nitơ amoni, nitrit, nitrat dưới các nồng độ cung cấp khác nhau (25%, 50%, 75%, 100%). Kết quả cho thấy khi cung cấp nitơ vào môi trường nuôi cấy ở nồng độ 25% ở tất cả nghiệm thức, sự sinh trưởng, phát triển của Spirulina là tốt nhất so với các nồng độ khác. Nghiên cứu cũng đã tiến hành so sánh ảnh hưởng của các nguồn nitơ khác nhau để chọn ra nguồn cung cấp nitơ tối ưu cho việc nuôi trồng ở quy mô lớn. Nghiệm thức bổ sung NH_4Cl ghi nhận năng suất sinh trưởng và tích lũy sinh khối của tảo là thấp nhất, thấp hơn nhiều so với các nghiệm thức sử dụng NaNO_3 , NaNO_2 , NH_4NO_3 . Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các giá trị thu được trong các nghiệm thức có nguồn nitơ từ muối nitrate và nitrit. Kết quả này cơ sở để lựa chọn nguồn cung cấp nitơ xây dựng công thức môi trường

nuôi tối ưu để áp dụng vào mô hình nuôi trồng Spirulina trong quy mô lớn. Tuy nhiên, chúng tôi kiến nghị cần thực hiện nhiều nghiên cứu hơn về sự ảnh hưởng của các nguồn dinh dưỡng khác nhau lên các quá trình sinh trưởng và thành phần sinh hóa của tảo để đưa ra được các đề xuất thực tiễn và hữu hiệu hơn.

Tài liệu tham khảo

- [1] Seyidoglu, N., Inan, S., & Aydin, C. (2017). A prominent superfood: Spirulina platensis. *Superfood and Functional Food The Development of Superfoods and Their Roles as Medicine*, 1-27.
- [2] Trần Thị Lê Trang (2016). Effect of light intensity on growth, protein and lipid content of Spirulina platensis (Geitler, 1925) culture in seawater. *Tạp chí Khoa học - Công nghệ Thủy sản*, (2), 124-129.
- [3] Trần Thị Lê Trang và Trần Văn Dũng (2013). Ảnh hưởng của các mức photpho khác nhau lên sinh trưởng, hàm lượng protein và lipid của tảo Spirulina platensis (Geitler, 1925) nuôi trong nước mặn. *Nghiên cứu và trao đổi Trường Đại học Nha Trang*, 58-63.
- [4] Trương Văn Lung (2004). *Công nghệ sinh học một số loài tảo kinh tế*. NXB Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội.
- [5] Trần Thị Lê Trang (2013). Ảnh hưởng của các mức nitơ khác nhau lên sinh trưởng, hàm lượng protein và lipid của tảo Spirulina platensis (Geitler, 1925) nuôi trong nước mặn. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, (26), 180-187.
- [6] Vonshak, A., Abeliovich, A., Boussiba, S., Arad, S., & Richmond, A. (1982). Production of Spirulina biomass: effects of environmental factors and population density. *Biomass*, 2(3), 175-185.
- [7] Ravindra, P. (2000). Value-added food: Single cell protein. *Biotechnology advances*, 18(6), 459-479.
- [8] Abeliovich, A., & Azov, Y. (1976). Toxicity of ammonia to algae in sewage oxidation ponds. *Appl. Environ. Microbiol.*, 31(6), 801-806.
- [9] Piorreck, M., Baasch, K. H., & Pohl, P. (1984). Biomass production, total protein, chlorophylls, lipids and fatty acids of freshwater green and blue-green algae under different nitrogen regimes. *Phytochemistry*, 23(2), 207-216.
- [10] Rodrigues, M. S., Ferreira, L. S., Converti, A., Sato, S., & De Carvalho, J. C. M. (2011). Influence of ammonium sulphate feeding time on fed-batch Arthrospira (Spirulina) platensis cultivation and biomass composition with and without pH control. *Bioresource technology*, 102(11), 6587-6592.
- [11] Choi, A., Kim, S. G., Yoon, B. D., & Oh, H. M. (2003). Growth and amino acid contents of Spirulina

- platensis with different nitrogen sources. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 8(6), 368-372.
- [12] Mashor, N., Yazam, M. S. M., Naqqiuddin, M. A., Omar, H., & Ismail, A. (2016). Different Nitrogen Sources Effects on the Growth and Productivity of Spirulina Grown In Outdoor Conditions. *Acta Biologica Malaysiana*, 5(1), 16-26.
- [13] Zarrouk, C. (1966). Contribution a l'etude d'une Cyanophyceae. Influence de Divers Facteurs Physiques et Chimiques sur la croissance et la photosynthese de Spirulina mixima. *Thesis, University of Paris, France*.
- [14] Madkour, F. F., Kamil, A. E. W., & Nasr, H. S. (2012). Production and nutritive value of Spirulina platensis in reduced cost media. *The egyptian journal of aquatic research*, 38(1), 51-57.
- [15] Belay, A. (2002). The potential application of Spirulina (Arthrospira) as a nutritional and therapeutic supplement in health management. *J Am Nutraceutical AssoC*, 5, 27-48.
- [16] Deschoenmaeker, F., Bayon-Vicente, G., Sachdeva, N., Depraetere, O., Pino, J. C. C., Leroy, B.,...& Wattiez, R. (2017). Impact of different nitrogen sources on the growth of Arthrospira sp. PCC 8005 under batch and continuous cultivation-A bioChemical, transcriptomic and proteomic profile. *Bioresource technology*, 237, 78-88.
- [17] Soni, R. A., Sudhakar, K., & Rana, R. S. (2017). Spirulina From growth to nutritional product: A review. *Trends in food science & technology*, 69, 157-171.
- [18] Leduy, A., & Therien, N. (1977). An improved method for optical density measurement of the semimicroscopic blue green alga Spirulina maxima. *Biotechnology and bioengineering*, 19(8), 1219-1224.
- [19] Fagiri, Y. M. A., Salleh, A., & El-Nagerabi, S. A. F. (2013). Impact of physico-chemical parameters on the physiological growth of Arthrospira (Spirulina platensis) exogenous strain UTEXLB2340. *African Journal of Biotechnology*, 12(35).
- [20] Li, Y., Horsman, M., Wang, B., Wu, N., & Lan, C. Q. (2008). Effects of nitrogen sources on cell growth and lipid accumulation of green alga Neochloris oleoabundans. *Applied microbiology and biotechnology*, 81(4), 629-636.
- [21] Flores, E., & Herrero, A. (1994). Assimilatory nitrogen metabolism and its regulation. *In The molecular biology of cyanobacteria*, 487-517. Springer, Dordrecht.
- [22] Chaffin, J. D., Bridgeman, T. B., & Bade, D. L. (2013). Nitrogen constrains the growth of late summer cyanobacterial blooms in Lake Erie. *Advances in Microbiology*, 3(06), 16.
- [23] Muro-Pastor, M. I., Reyes, J. C., & Florencio, F. J. (2005). Ammonium assimilation in cyanobacteria. *Photosynthesis research*, 83(2), 135-150.
- [24] Belkin, S., & Boussiba, S. (1991). Resistance of Spirulina platensis to ammonia at high pH values. *Plant and cell physiology*, 32(7), 953-958.
- [25] Markou, G., & Muylaert, K. (2016). Effect of light intensity on the degree of ammonia toxicity on PSII activity of Arthrospira platensis and Chlorella vulgaris. *Bioresource technology*, 216, 453-461.
- [26] Fernández-Reiriz, M. J., Perez-Camacho, A., Ferreiro, M. J., Blanco, J., Planas, M., Campos, M. J., & Labarta, U. (1989). Biomass production and variation in the biochemical profile (total protein, carbohydrates, RNA, lipids and fatty acids) of seven species of marine microalgae. *Aquaculture*, 83(1-2), 17-37.
- [27] Shifrin, N. S., & Chisholm, S. W. (1981). Phytoplankton lipids: interspecific differences and effects of nitrate, silicate and light dark cycles. *Journal of phycology*, 17(4), 374-384.
- [28] De Ciencias, F. (1995). Culture of the marine diatom Phaeodactylum tricornutum with different nitrogen sources: growth, nutrient conversion and biochemical composition. *Cah. Biol. Mar*, 36, 165-173.

EFFECT OF DIFFERENT NITROGEN SOURCES ON GROWTH OF ARTHROSPIRA (SPIRULINA) PLATENSIS

Abstract: *Arthrospira (Spirulina) platensis*, one of the most nutritious foods for humans, is currently being cultivated (in different countries around the world) globally. For sake of making improvement to the culture media)In order to improve the culture media for Spirulina cultivation, this study was conducted to investigate effects of different nitrogen sources, including ammonium, nitrate and nitrite, on Spirulina's growth. Result from experiments indicated that media with 25% Nitrogen added in any form was the best for the growth of this species compared to other concentrations. In the comparison among effects of different nitrogen sources on performance of Spirulina, average growth rate and maximum dry weight of microalgae in experiment with NH₄Cl was much lower than those in NH₄NO₃, NaNO₂ and NaNO₃. The difference in algal responses between the latter three were statically insignificant.

Key words: *Arthrospira (Spirulina) plantensis*; growth, dryweight; ammonium; nitrate; nitrite.