

QUY TRÌNH NUÔI VI TẢO

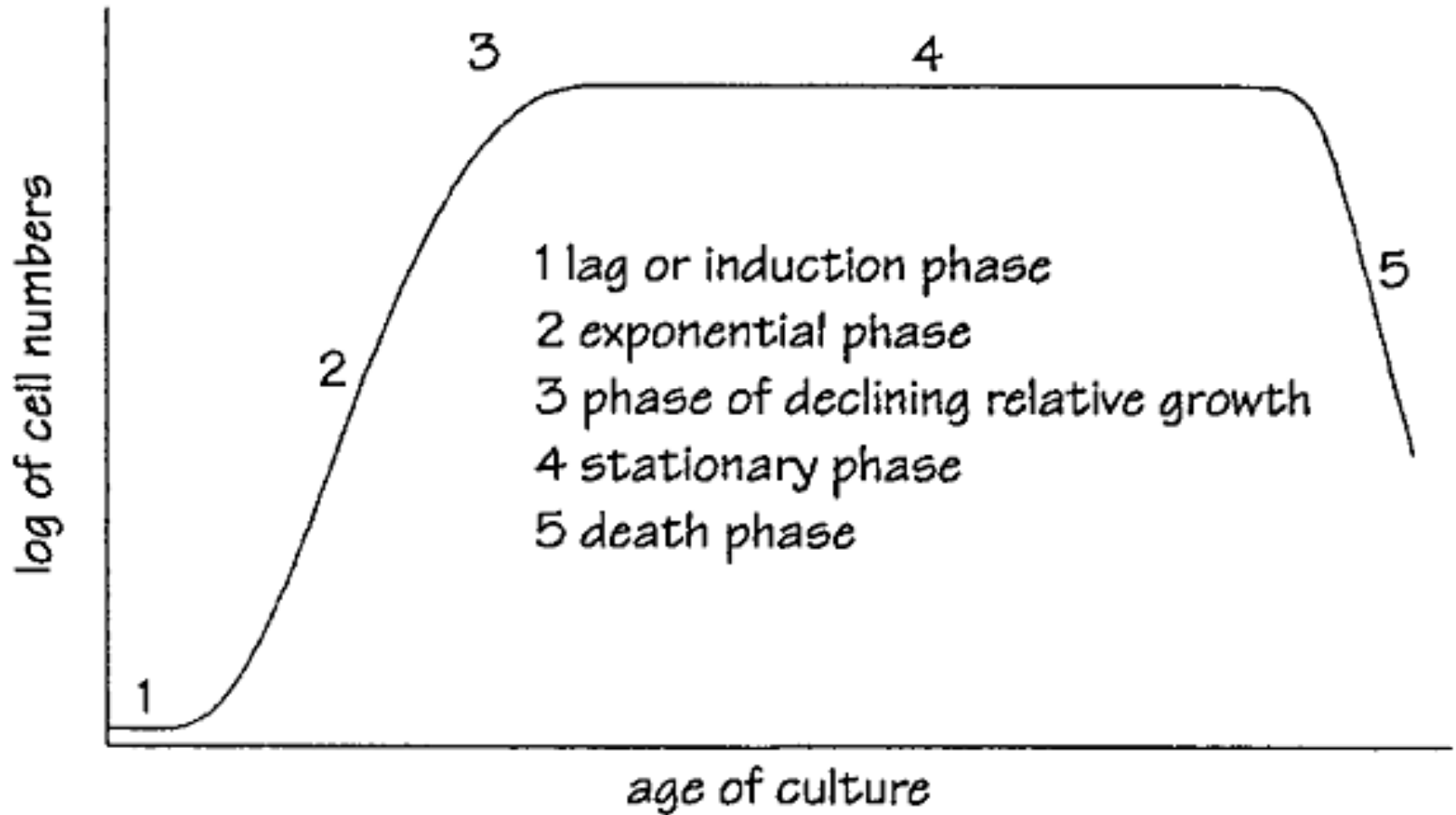
NỘI DUNG

- Vi tảo và các yếu tố môi trường ảnh hưởng đến sự phát triển của vi tảo
- Các phương pháp phân lập
- Các bước tăng sinh
- Các hệ thống nuôi trên quy mô lớn
- Các phương pháp giữ giống vi tảo
- Các ứng dụng vi tảo

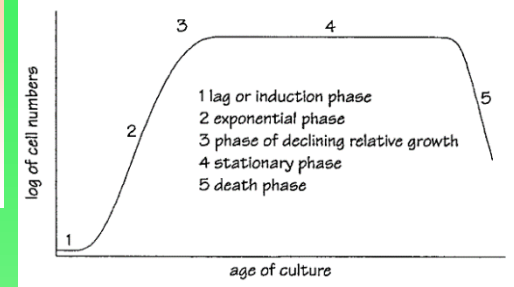
VI TẢO

- Vi tảo: những loài tảo phiêu sinh đơn bào hoặc đa bào, có kích thước hiển vi
 - Sinh sản bằng phân chia tế bào
 - Vài loài có thể tự di chuyển bằng roi hoặc di chuyển thụ động
 - Có thể tự dưỡng hoặc dị dưỡng

Động học của sự phát triển

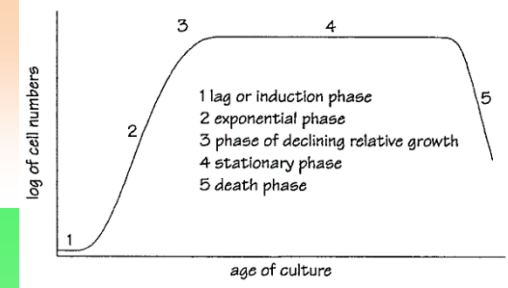


Động học của sự phát triển



- **Pha lag/Pha hoạt hóa:** mật độ tế bào tăng chậm trong thời gian dài do chuyển từ môi trường rắn sang lỏng
- **Pha log/Pha theo cấp số nhân:** mật độ tế bào tăng theo hàm logarit theo thời gian
- **Pha tốc độ tăng trưởng giảm dần:** sự phân chia tế bào chậm lại khi các chất dinh dưỡng, ánh sáng, pH, carbon dioxide hoặc các yếu tố vật lý và hóa học khác bắt đầu hạn chế sự tăng trưởng.

Động học của sự phát triển



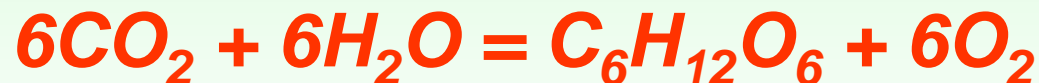
- **Pha ổn định:** các yếu tố giới hạn và tốc độ tăng trưởng được cân bằng, dẫn đến mật độ tế bào tương đối ổn định.
- **Pha suy giảm:** chất lượng nước và chất dinh dưỡng bị suy giảm → không thể duy trì được sự tăng trưởng. Mật độ tế bào giảm nhanh chóng và cuối cùng bị giảm hoàn toàn

Quang hợp

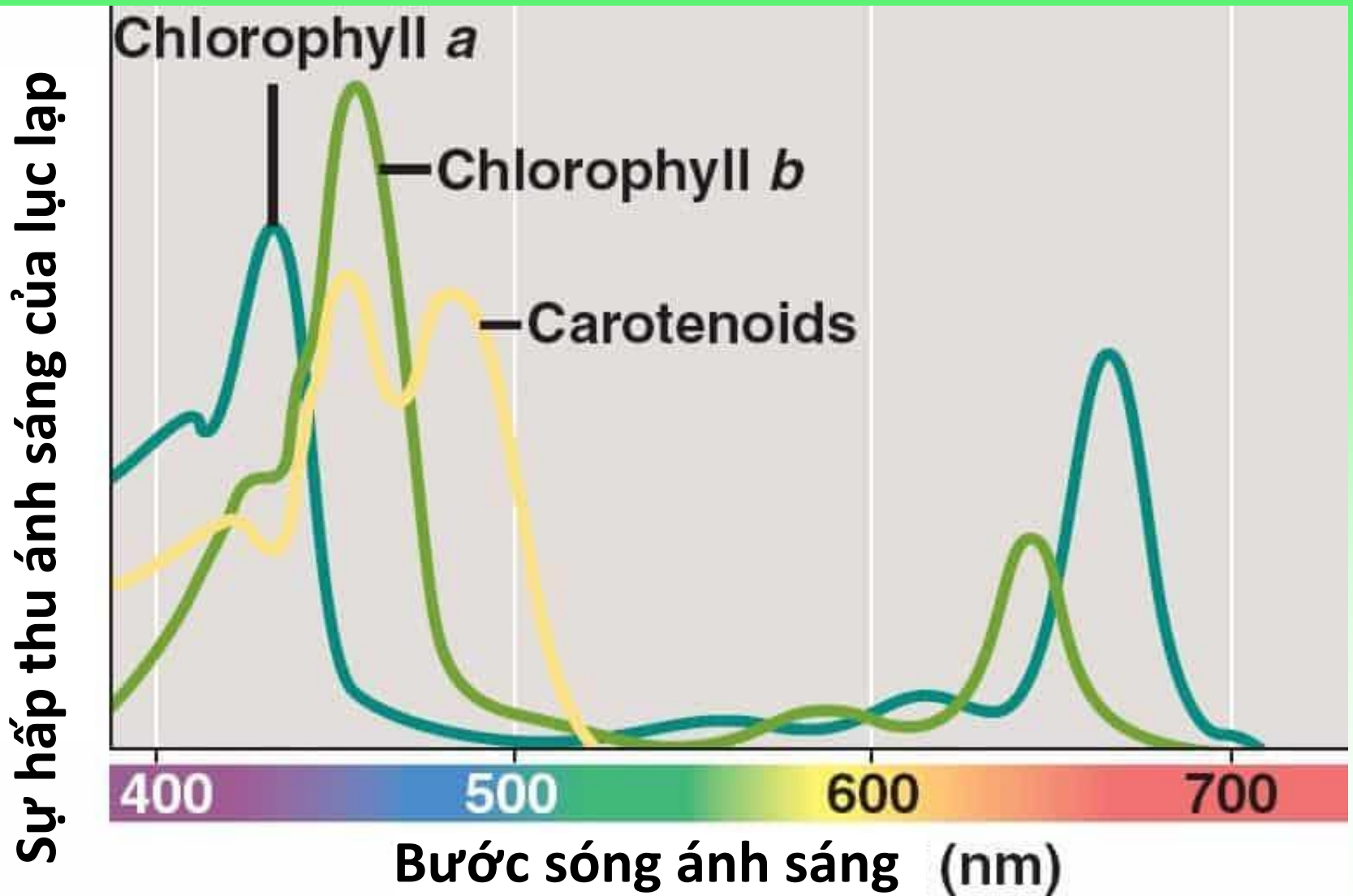
Tảo: sinh vật quang hợp => chuyển **carbon** thành **Chất hữu cơ**.

Ánh sáng là nguồn năng lượng, thúc đẩy phản ứng quang hợp bằng bước sóng → hoạt động trong giai đoạn sáng.

Photosynthesis:



Ánh sáng



ÁNH SÁNG

- Nguồn năng lượng
- Cường độ ánh sáng: 1000 – 10.000 lux
- Tự nhiên hoặc nhân tạo (huỳnh quang/led)
- Ánh sáng trắng hoặc ánh sáng xanh tím
- Thời gian chiếu sáng: ít nhất 18h/ngày

Dinh dưỡng

- Mật độ tế bào trong môi trường nuôi cấy thường cao hơn so với trong tự nhiên → môi trường nuôi phải giàu chất dinh dưỡng.
- Các chất dinh dưỡng đa lượng: nitrate: phosphate (6:1) và silicate.
- Các chất dinh dưỡng vi lượng: các kim loại và các vitamin thiamin (B1), cyanocobalamin (B12) và biotin .
- Môi trường Walne và môi trường F/2 của Guillard được sử dụng rộng rãi.

pH

pH được sử dụng trong nuôi cấy: 7-9,
tối ưu: 8,2-8,7.

pH thay đổi → biến đổi môi trường → hoạt động tăng trưởng bị gián đoạn.

Mật độ tảo cao → bổ sung CO_2 → pH tăng
(pH có thể lên đến 9).

Sự đảo trộn (Mixing)

- Ngăn chặn sự lắng đọng của tảo.
- Tất cả tảo được tiếp xúc với ánh sáng và chất dinh dưỡng.
- Tránh sự phân tầng nhiệt (ví dụ trong môi trường nuôi cấy ngoài trời)

Sự đảo trộn (Mixing)

- Cải thiện trao đổi khí giữa môi trường nuôi cấy và không khí -> Cung cấp CO_2 .
- CO_2 từ không khí (chứa 0,03% CO_2) hoặc bổ sung CO_2 tinh khiết vào nguồn khí (1% thể tích không khí).
- CO_2 : đệm nước ngăn thay đổi pH do cân bằng $\text{CO}_2/\text{HCO}^{3-}$.

Sự đảo trộn (Mixing)

- Tùy thuộc quy mô của hệ thống nuôi cấy
 - khuấy hàng ngày bằng tay (ống nghiệm, bình xít),
 - sục khí (túi, bể)
 - sử dụng bánh xe chèo (ao).
- Một vài loài không chịu được sự khuấy trộn.

Nhiệt độ

- Vi tảo chịu được nhiệt độ từ 16-27°C.
Nhiệt độ tối ưu: 20-24°C
- Dưới 16°C sẽ làm chậm sự tăng trưởng,
Trên 35°C gây tử vong cho một số loài.
- Làm mát: nước lạnh trên bề mặt bình nuôi cấy hoặc sử dụng các thiết bị điều hòa không khí.

Độ mặn

- Vi tảo biển chịu được những thay đổi về độ mặn.
- Phát triển tốt: độ mặn thấp hơn môi trường sống tự nhiên.
- Độ mặn tối ưu: 20-24‰ .

Tổng quát các điều kiện nuôi vi tảo

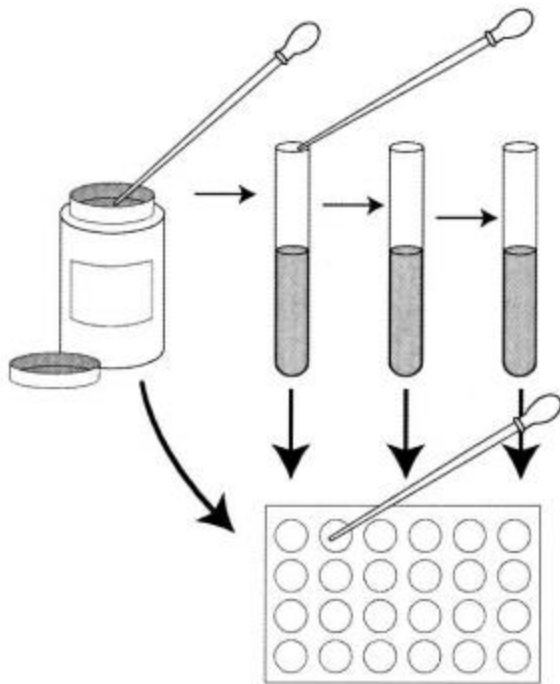
Điều kiện	Phạm vi	Tối ưu
Nhiệt độ (°C)	16-27	18-24
Độ mặn (g/L)	12-40	20-24
Cường độ ánh sáng	1.000-10.000 (tùy thuộc thể tích và mật độ)	2.500-5.000
Thời gian sáng:tối (giờ)		16:8 (ít nhất) 24:0 (lớn nhất)
pH	7-9	8,2 – 8,7

PHÂN LẬP VI TẢO TỪ MÔI TRƯỜNG

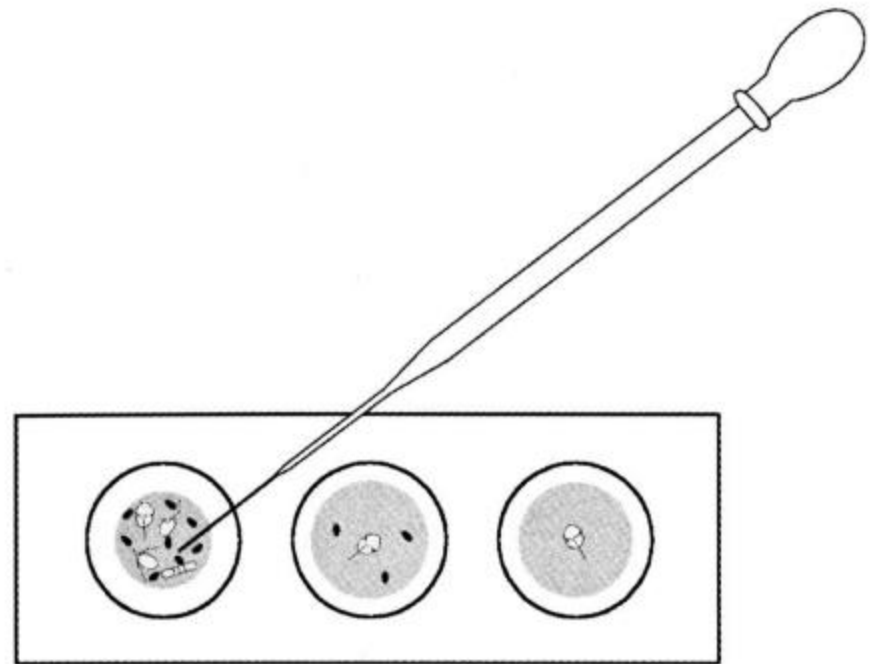
- Phương pháp pha loãng nhiều lần
- Phương pháp cấy trên đĩa thạch
- Phương pháp micropipette

Phương pháp phân lập vi tảo

1. Phương pháp Pha loãng nhiều lần



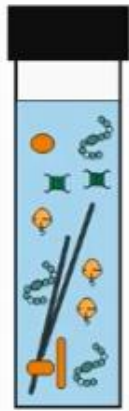
Isolation of single cells by serial dilution



Washing single cells in serial sterile drops of culture media

Phương pháp phân lập vi tảo

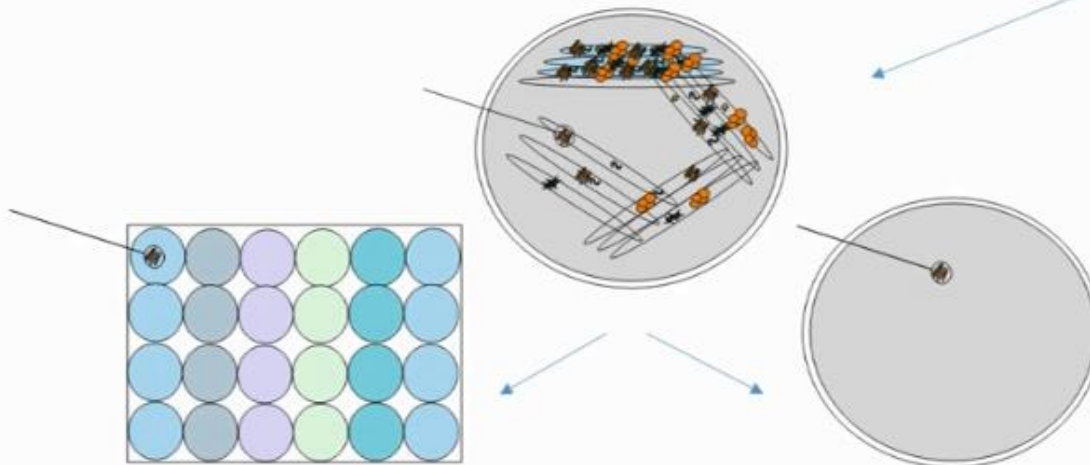
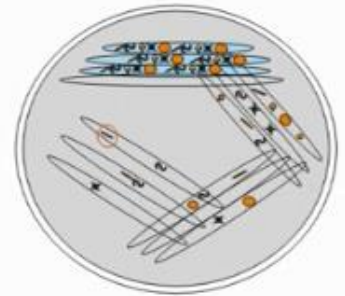
2. Phương pháp cấy trên đĩa thạch



Mẫu nước

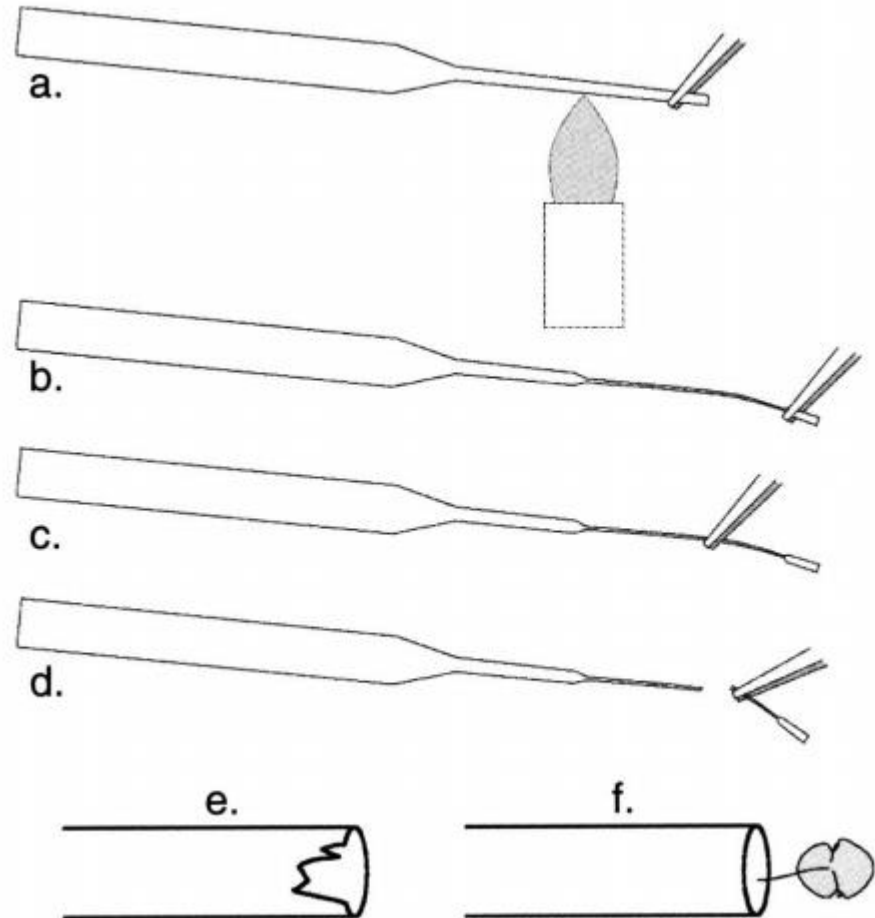
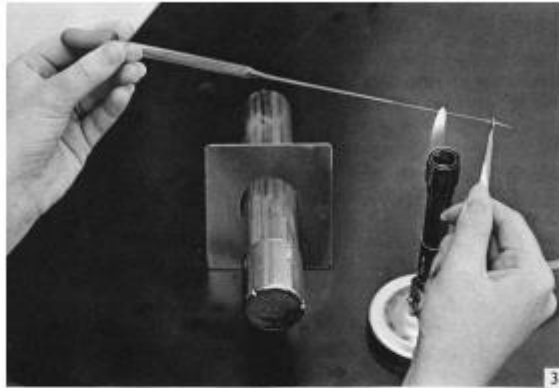


Mẫu nước được ria dọc trên bề mặt thạch

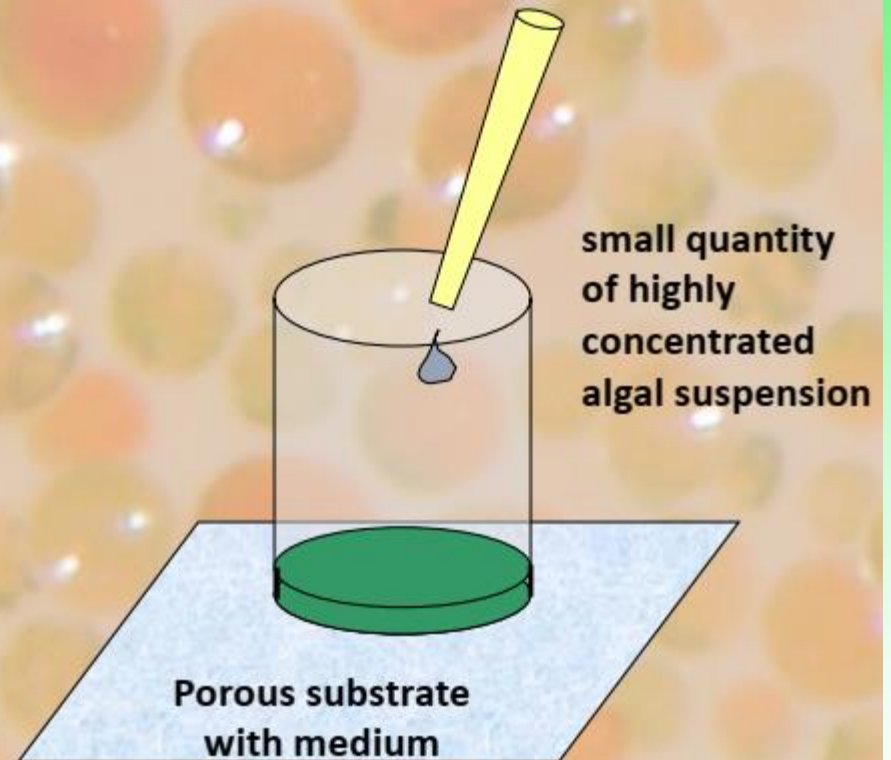


Phương pháp phân lập vi tảo

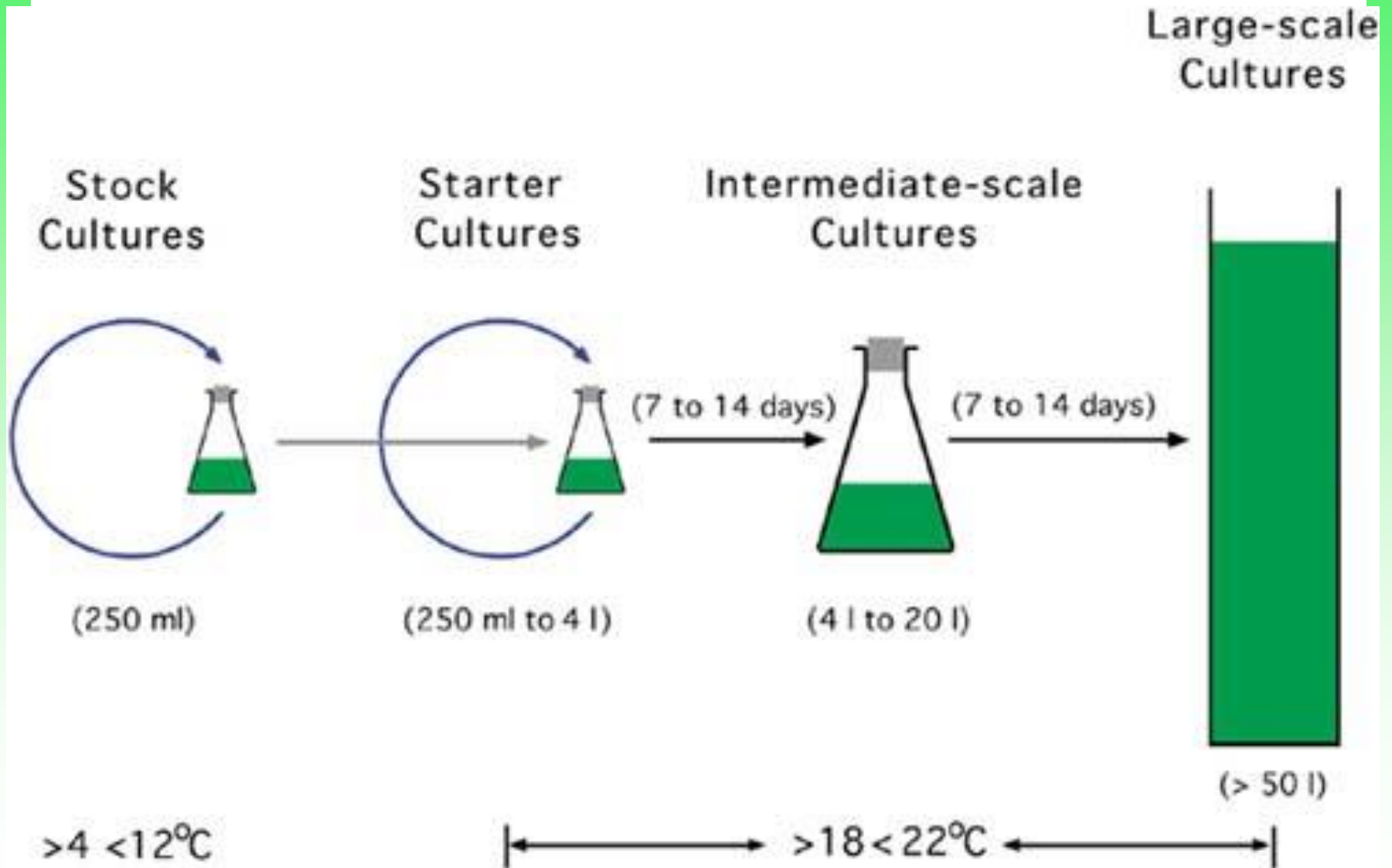
3. Phương pháp Micropipette



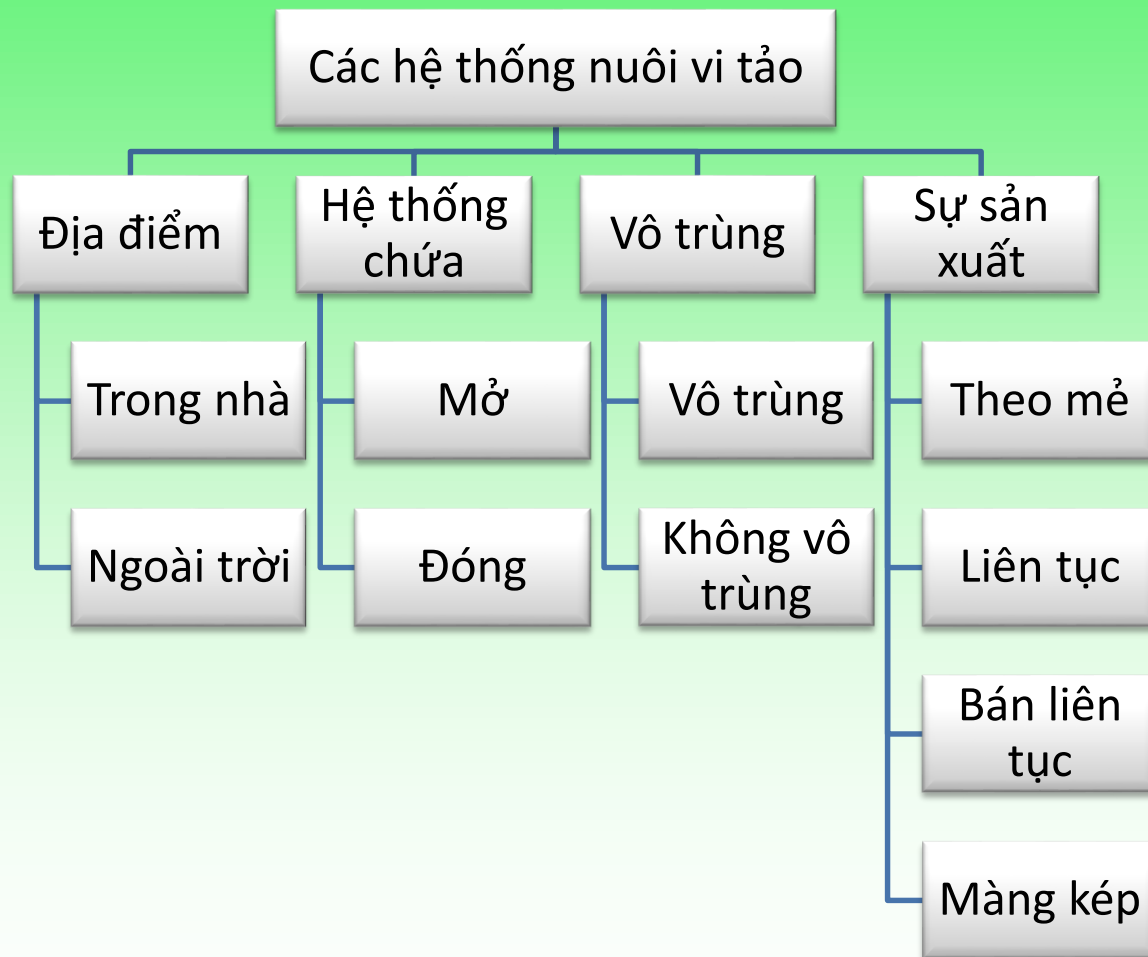
Tăng sinh vi tảo



Tăng sinh vi tảo



Các hệ thống nuôi vi tảo



Hệ thống nuôi Trong nhà – Ngoài trời

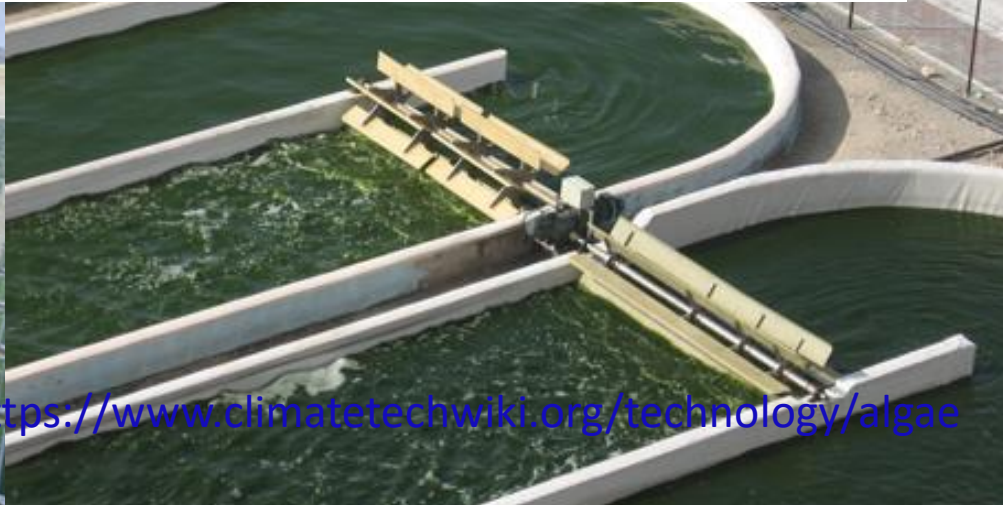
- **Indoor/Outdoor** → Indoor culture allows control over illumination, temperature, and competing algae, whereas outdoor algal systems make it difficult to grow specific algal cultures for extended periods.



Hệ thống nuôi trong nhà



Hệ thống nuôi ngoài trời



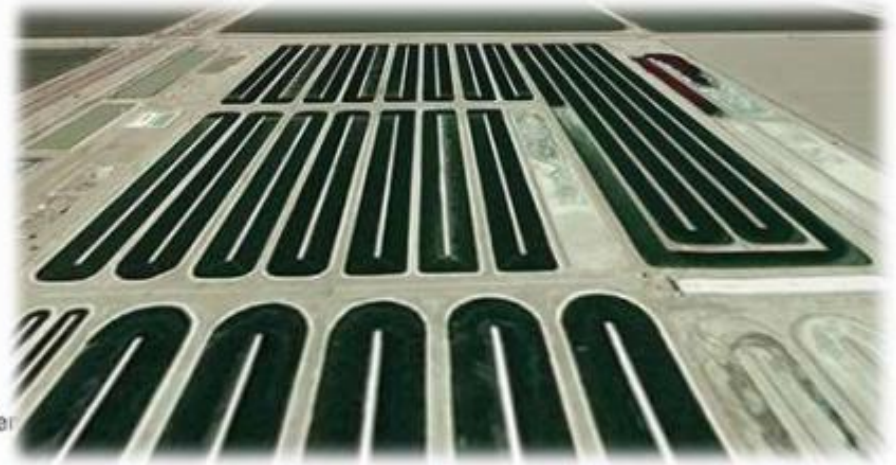
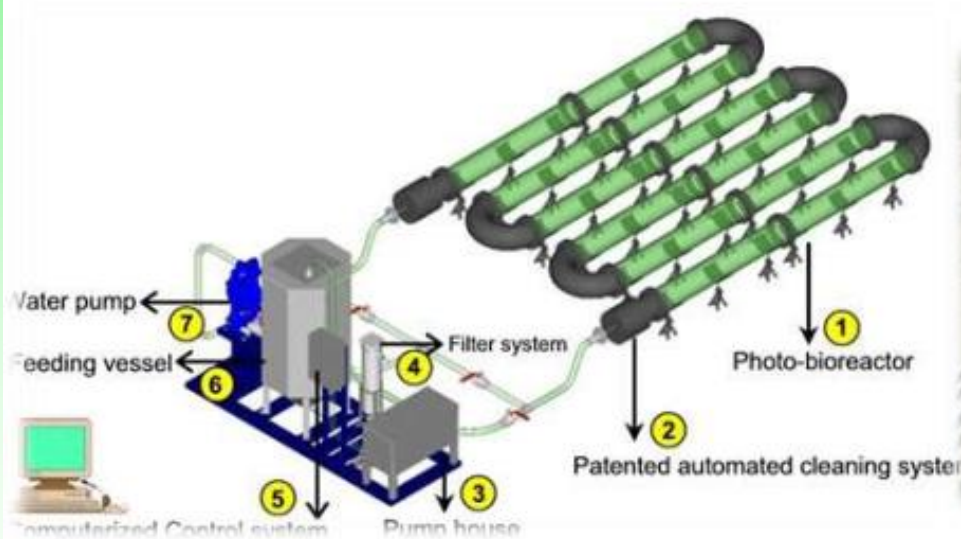
Hệ thống nuôi ngoài trời



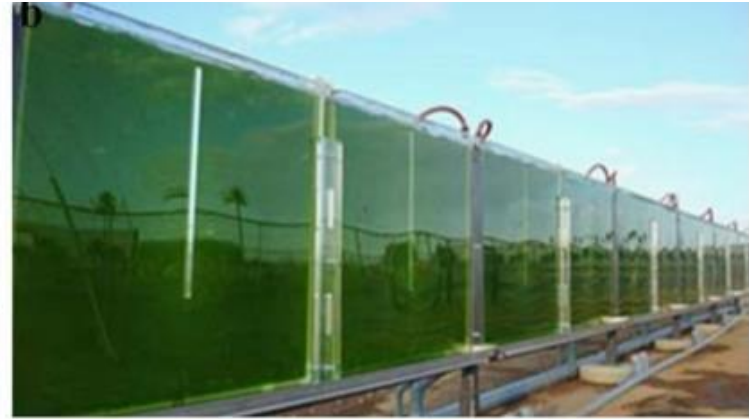
Raceway pond (a), flat-plate photobioreactor (b), column photobioreactor (c) and tubular photobioreactor (d)

Zhang L., Zhang B., Zhu X., Chang H., Ou S., Wang H. (2018)

Hệ thống nuôi Mở - Đóng



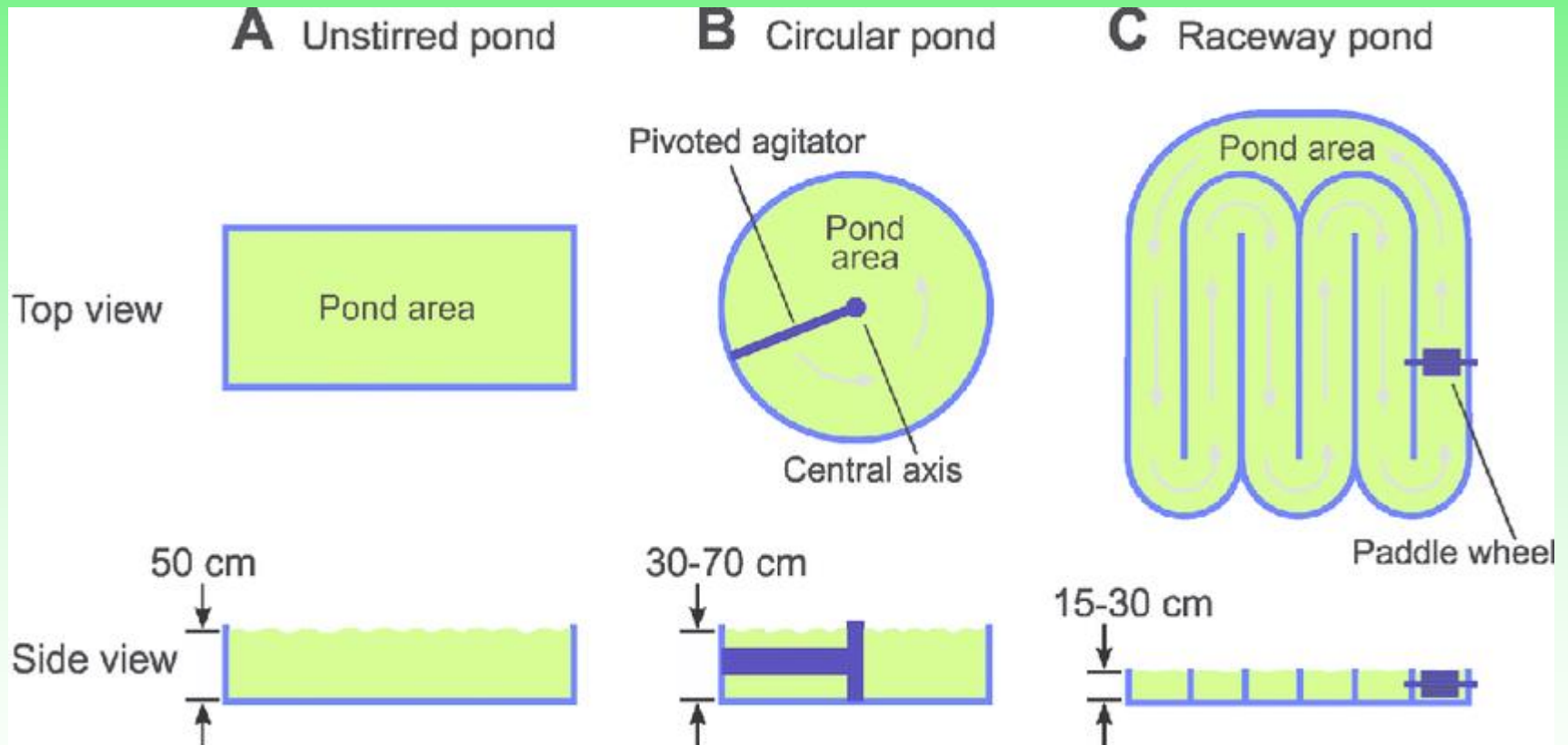
Hệ thống nuôi Mở - Đóng



Raceway pond (a), flat-plate photobioreactor (b), column photobioreactor (c) and tubular photobioreactor (d)

Zhang L., Zhang B., Zhu X., Chang H., Ou S., Wang H. (2018)

Hệ thống nuôi Mở



Hệ thống nuôi Đóng

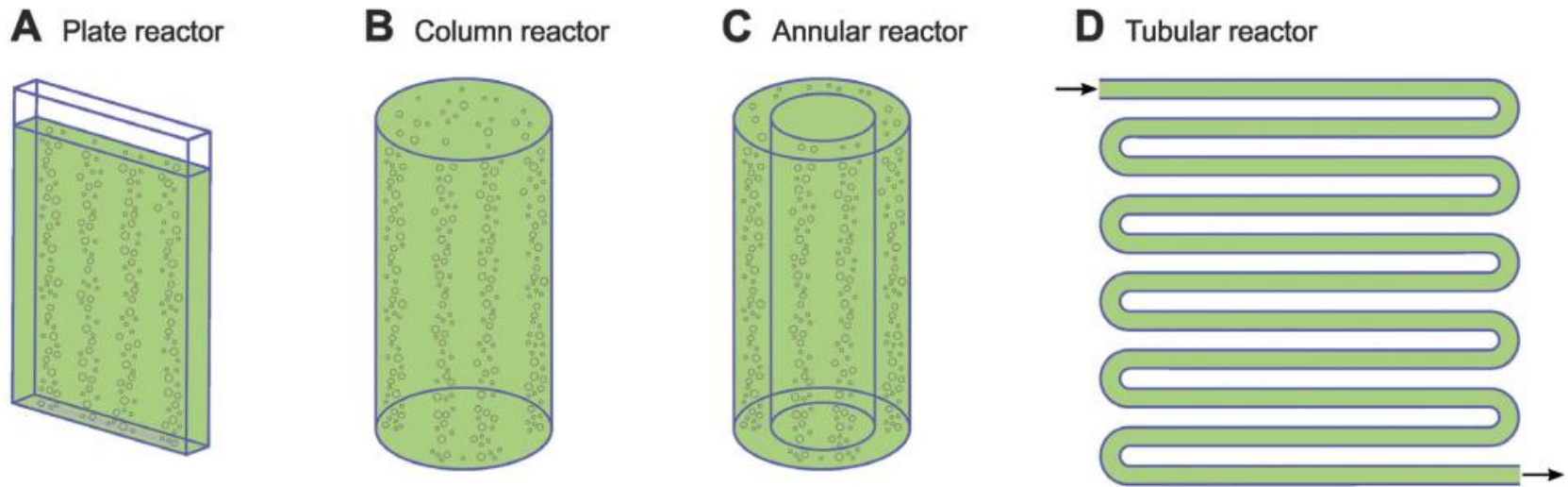
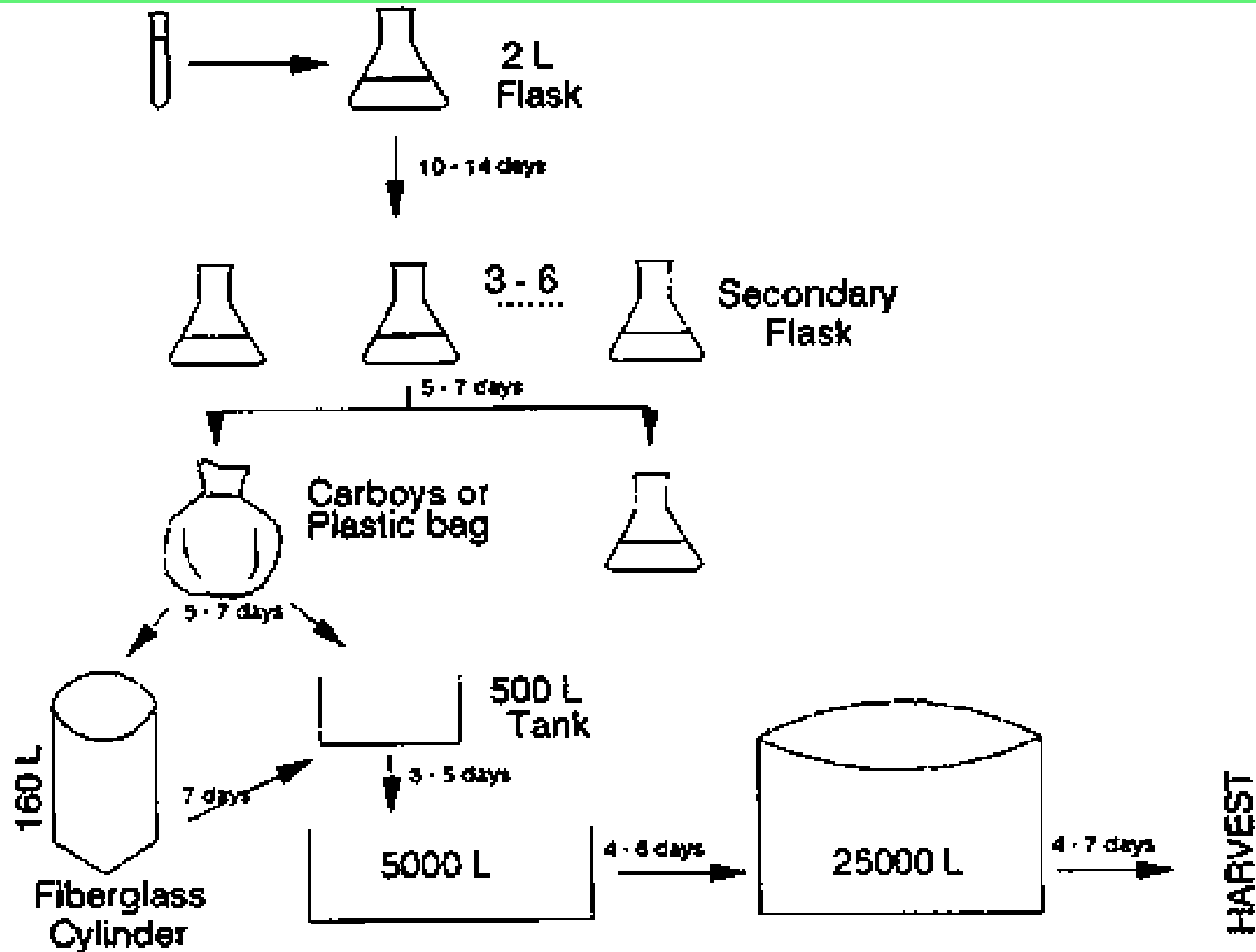


Fig. (4). Examples of common closed photobioreactor geometries. **A)** Plate reactor. **B)** Column reactor. **C)** Annular reactor. **D)** Tubular reactor. A to C: rising bubbles generate a flow as well as provide mixing and aeration. D: suspensions are typically driven by a pump. Aeration and mixing of tubular reactors are usually done by airpump or air-lift systems.

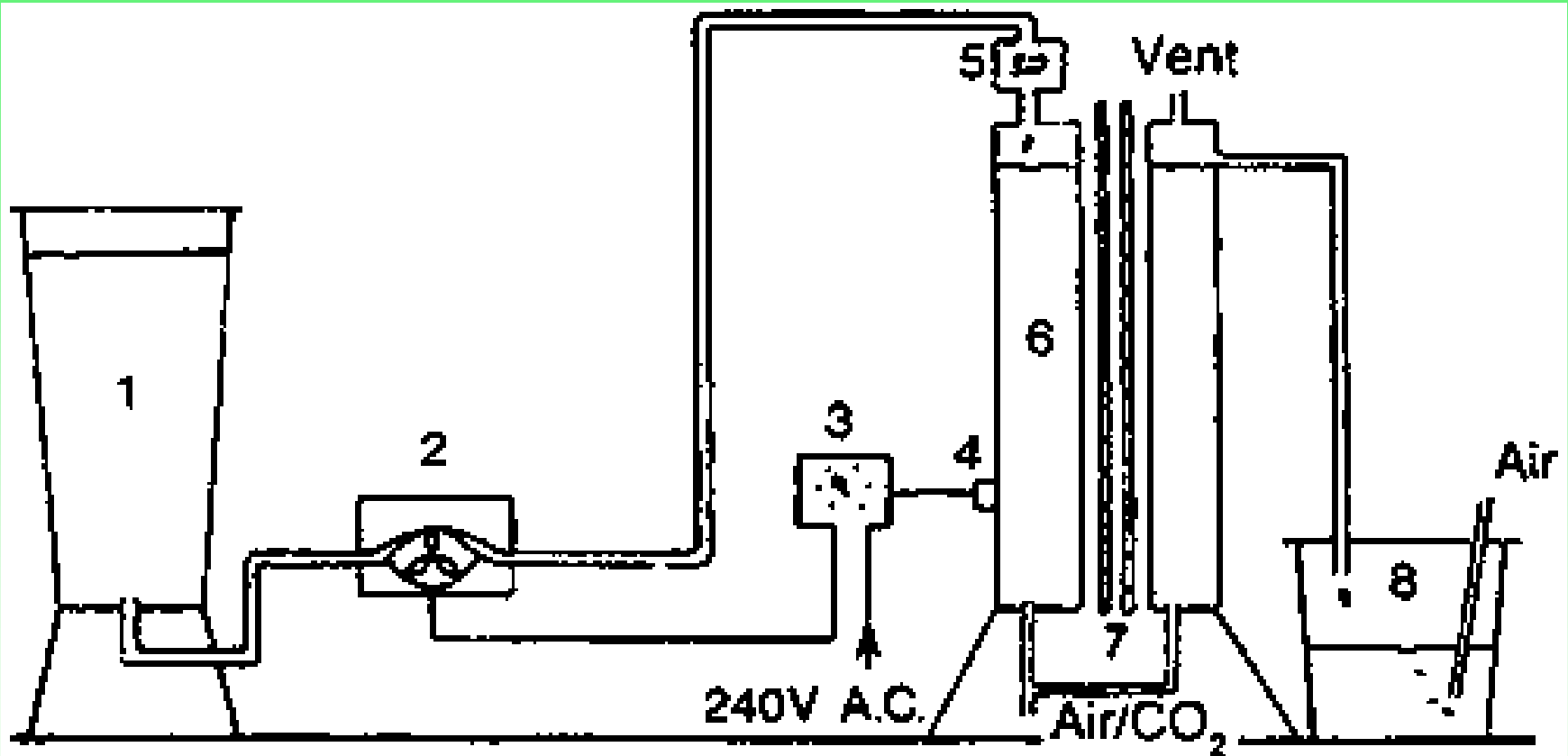
Hệ thống nuôi Vô trùng – Không vô trùng



Hệ thống nuôi theo mẻ



Hệ thống nuôi liên tục

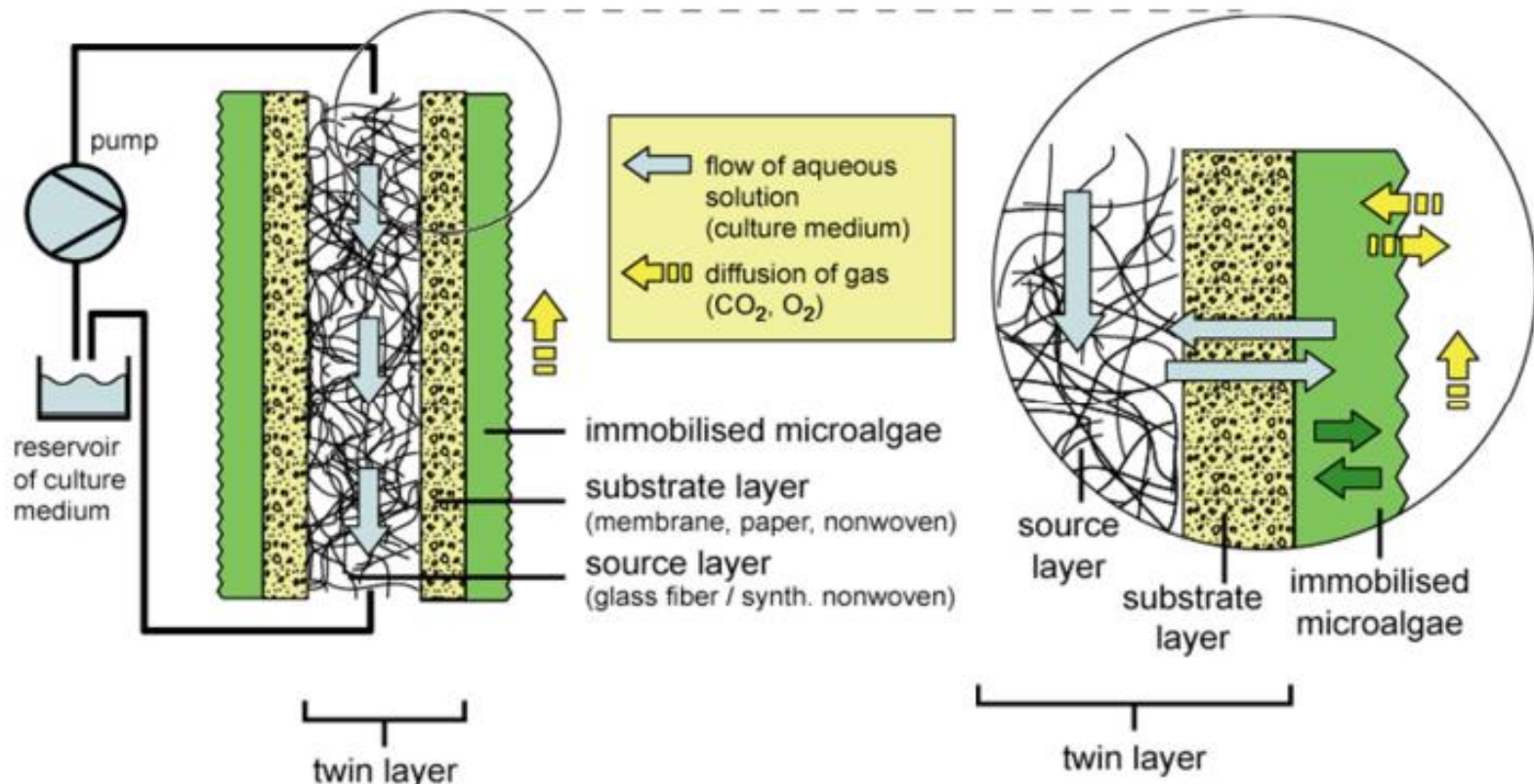


(1) enriched seawater medium reservoir (200 l); (2) peristaltic pump; (3) resistance sensing relay (50 - 5000 ohm); (4) light-dependent resistor (ORP 12); (5) cartridge filter (0.45 mm); (6) culture vessel (40 l); (7) six 80 W fluorescent tubes (Laing, 1991)

Hệ thống nuôi bán liên tục

- Thu hoạch định kỳ một phần → Bổ sung chất dinh dưỡng → đạt mật độ và thể tích ban đầu → Thu hoạch một phần.
- Trong nhà hoặc ngoài trời
- Các sinh vật cạnh tranh, một số động vật và/hoặc các chất gây ô nhiễm, các sản phẩm chuyển hóa → tích tụ → môi trường nuôi không phù hợp để sử dụng tiếp.
- Trong cùng kích thước bể nuôi, phương pháp bán liên tục thu được nhiều sinh khối hơn phương pháp mẻ.

Hệ thống nuôi màng kép



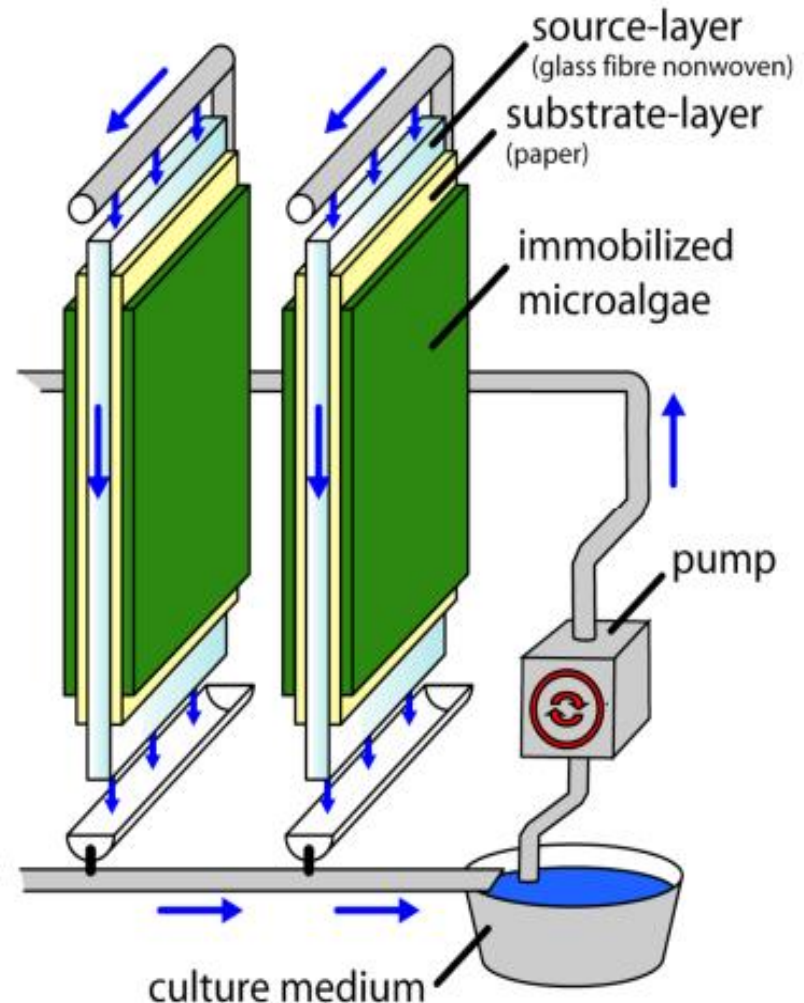
Principle of the Twin Layer: Effective separation of algae from culture medium

Hệ thống nuôi màng kép PBR

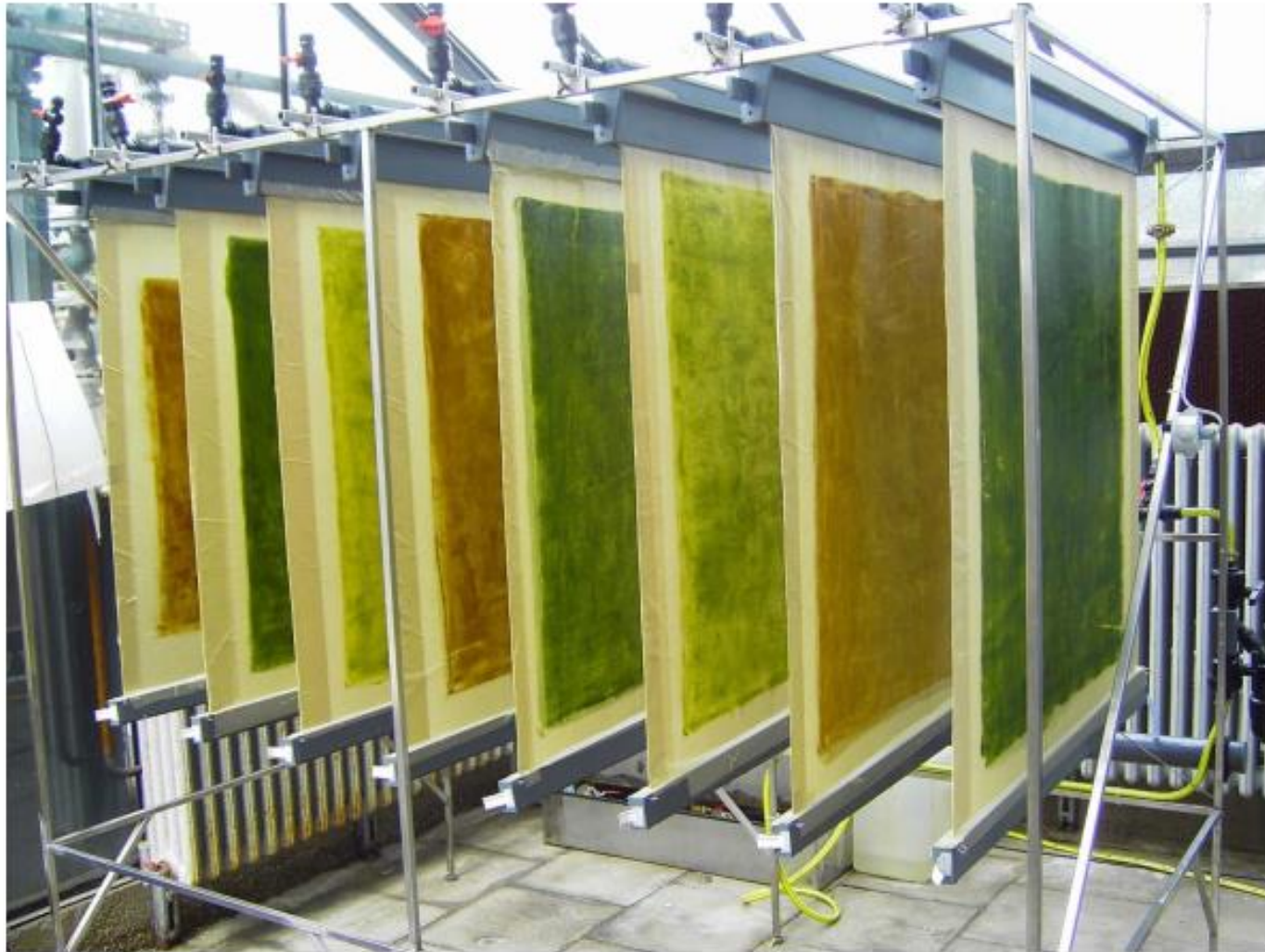


***Cosmarium pachydermum*:**
Application in Cosmetics (Make-Up)

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**: 1413-1420

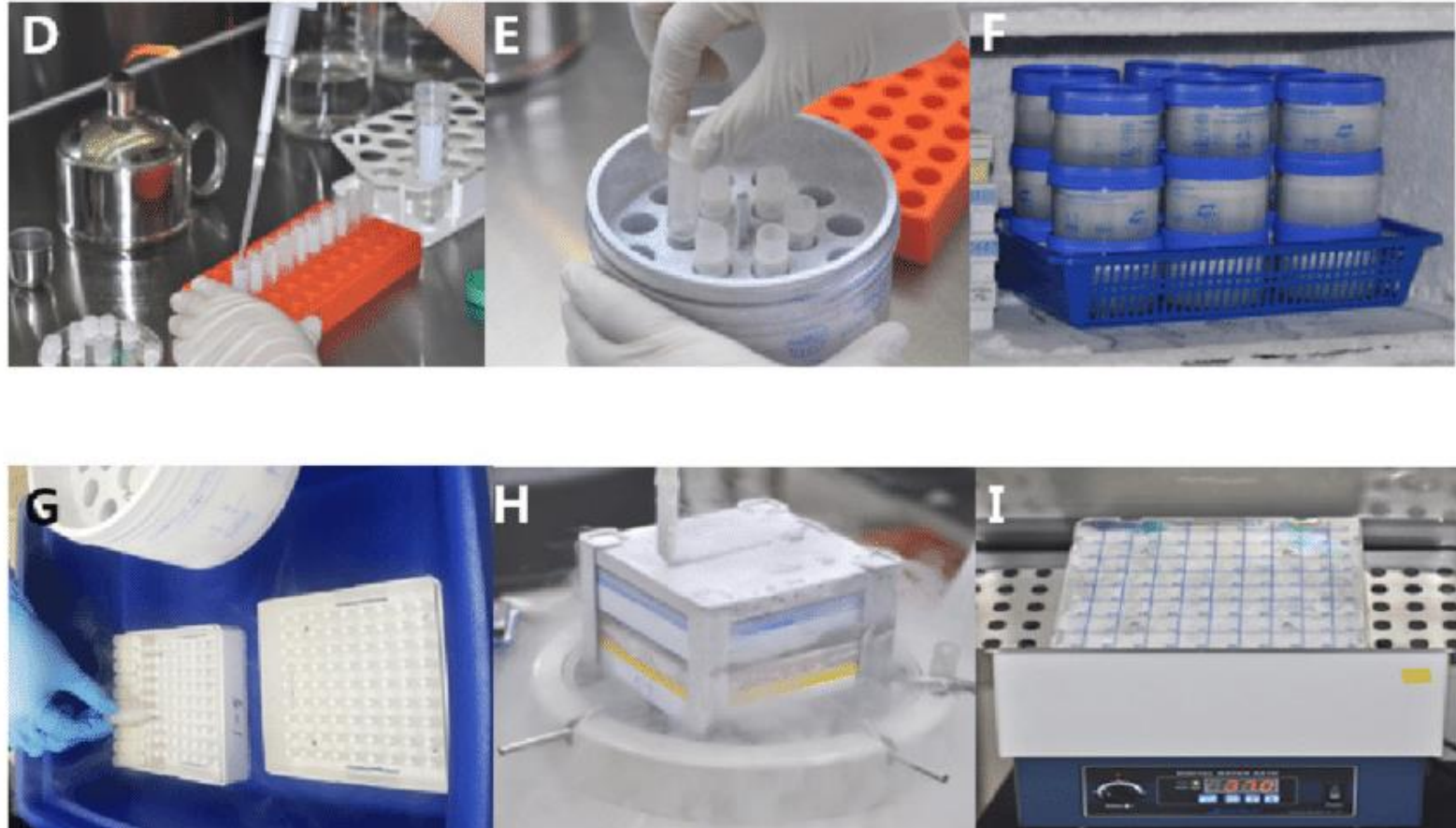


Hệ thống nuôi màng kép PBR



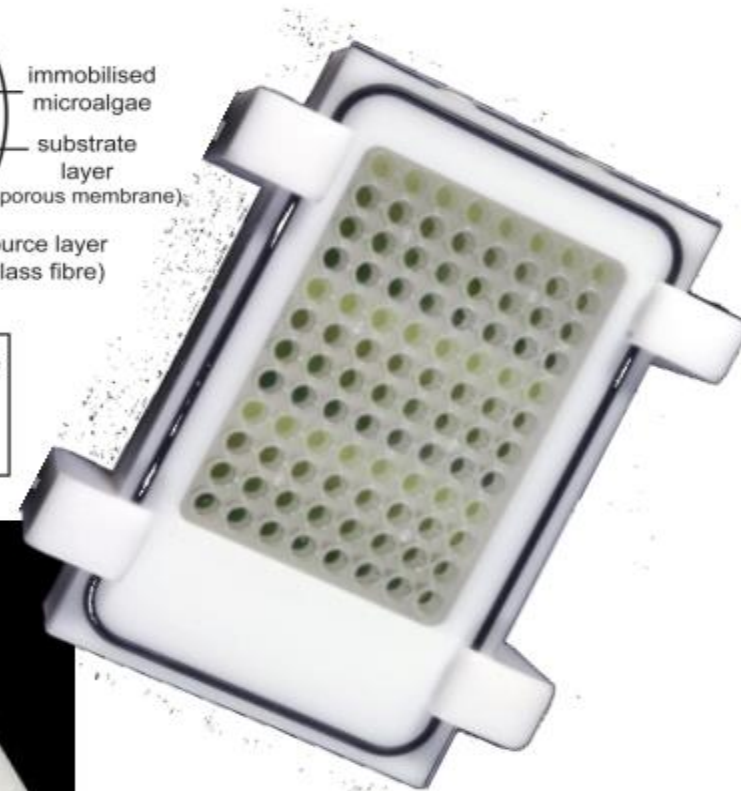
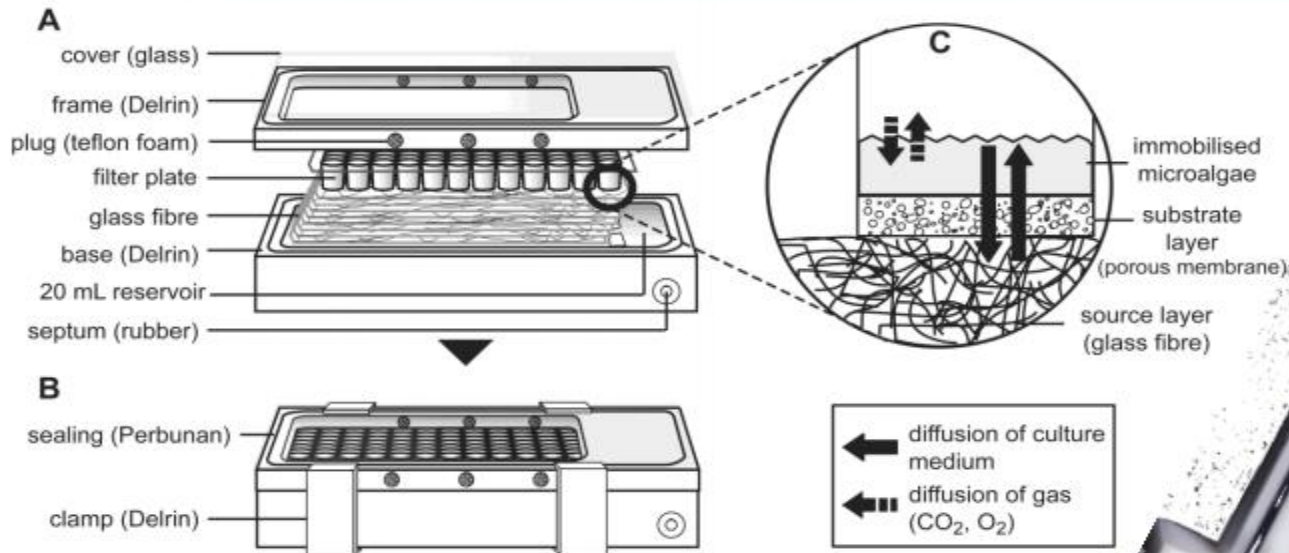
Phương pháp giữ giống

- Phương pháp dùng cryoprotectants (CPAs)



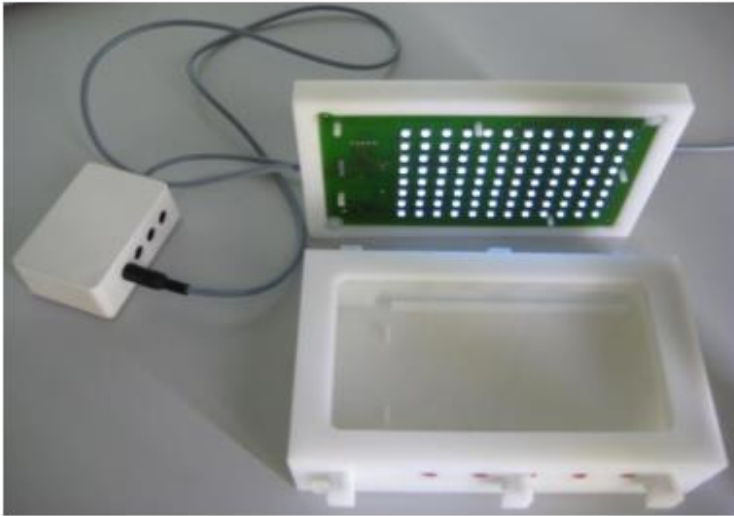
Phương pháp giữ giống

Phương pháp dùng Phycomat

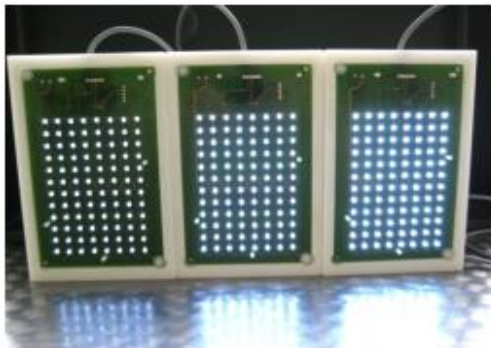


Phương pháp giữ giống

Phương pháp dùng Phycomat



with LED lid



Sản phẩm từ vi tảo

- Các chất béo nhóm sterol
- Các Polysaccharide
- Vitamin và chất khoáng
- Các acid béo không no
- Các chất chống oxi hóa và hợp chất pheonolic
- Các protein
- Các sắc tố (chlorophyll, carotenoid,...)

Một số ứng dụng vi tảo

- Nhiên liệu sinh học
- Thức ăn cho chăn nuôi
- Nguồn phân bón
- Dầu thực vật
- Thực phẩm (acid amin, chất khoáng, vitamin,...) cho con người
- Dược phẩm (kháng ung thư, kháng virus,...)
- Mỹ phẩm
- Nguồn bio-plastic
- Xử lý môi trường (xử lý nước thải, giảm khí CO₂)