An Giang University Journal of Science – 2017, Vol. 16 (4), 40 – 47

Tạp chí Khoa học Trường Đại học An Giang

ISSN 0866 - 8086

ẢNH HƯỞNG CỦA SỰ THIẾU NITƠ, PHOSPHO LÊN QUÁ TRÌNH TÍCH LŨY DẦU CỦA VI TẢO *SCENEDESMUS DESERTICOLA*

Phạm Duy Thanh[1], Trần Thị Hậu[1], Diệp Thanh Toàn[1]

[1]*Trường Đại học Công nghiệp Thực phẩm Hồ Chí Minh*

Thông tin chung:
Ngày nhận bài: 25/04/2016
Ngày nhận kết quả bình duyệt: 30/06/2016
Ngày chấp nhận đăng: 08/2017

Title:
The effect of nitrogen or phosphorus deficiency on the lipid accumulation in micro-algae Scenedesmus Deserticola

Keywords:
Micro-algae, Scenedesmus Deserticola, lipid, biodiesel, biofuel

Từ khóa:
Vi tảo, Scenedesmus deserticola, lipid, diesel sinh học, nhiên liệu sinh học

ABSTRACT

A strain of Scenedesmus Deserticola was studied and isolated from samples of natural populations in Hoc Mon district, Ho Chi Minh city. Scenedesmus Deserticola was cultivated in Bold's Basal Medium (BBM), and then, transferred into the nitrogen or phosphorus depletion medium. The amount of lipid in both nitrogen or phosphorus depletion medium was higher than that was in BBM. It had 18.85% and 38.39% after 7 days. The lipid of Scenedesmus Deserticola contained fatty acids ranging from C12 to C24 and high levels of unsaturated fatty acids, such as oleic acid (10.24%), linolenic acid (7.98%), and linoleic acid (7.82%). The result showed that Scenedesmus Deserticola is considered a suitable material of producing biodiesel oil.

TÓM TẮT

Nghiên cứu đã tiến hành thu mẫu và phân lập loài vi tảo Scenedesmus deserticola thuộc ngành Tảo lục trên địa bàn huyện Hóc Môn, thành phố Hồ Chí Minh. Scenedesmus deserticola được nuôi trong môi trường Bold's Basal Medium (BBM) sau đó chuyển sang môi trường BBM thiếu nito và môi trường BBM thiếu phospho. Sự tích lũy dầu tảo trong môi trường thiếu phospho và thiếu nitơ cao hơn so với môi trường BBM và có giá trị tương ứng là 18,85% và 38,39% sinh khối sau 7 ngày nuôi. Dầu tảo Scenedesmus deserticola chứa các axit béo có mạch cacbon từ 12 – 24 và hàm lượng lớn axít béo không bão hòa bao gồm axit oleic (10,24%), axit linolenic (7,98%) và axit linoleic (7,82%). Kết quả nghiên cứu cho thấy vi tảo Scenedesmus deserticola có thể là nguồn nguyên liệu trong sản xuất dầu diesel sinh học.

1. GIỚI THIỆU

Nhiên liệu hóa thạch là nguồn tài nguyên hữu hạn. Đốt nhiên liệu hóa thạch để tạo năng lượng là nguyên nhân chính gây ô nhiễm môi trường không khí và sự nóng lên toàn cầu (Klass, 2004). Sử dụng nhiên liệu sinh học thay thế nhiên liệu hóa thạch không những sẽ góp phần làm giảm ô nhiễm môi trường, ngăn chặn sự nóng lên toàn cầu mà còn giúp các quốc gia chủ động về nguồn năng lượng, đảm bảo phát triển kinh tế và xã hội.

Diesel sinh học là nhiên liệu đã được sử dụng ở nhiều quốc gia trên thế giới. Diesel sinh học được sản xuất từ dầu thực vật hoặc mỡ động vật từ quá trình chuyển este. Trong phản ứng này, dầu hoặc mỡ tác dụng với rượu (thường là methanol) để tạo ra sản phẩm có tên gọi là este của axit béo (fatty acid methyl este: FAME) và glycerin.

Thực vật có hàm lượng dầu cao như cây cải dầu, cây hướng dương, đậu tương, cây cọ, dừa có thể làm nguyên liệu để sản xuất dầu diesel sinh học. Tuy nhiên, khả năng cung cấp của các loài thực vật làm nguyên liệu cho sản xuất nhiên liệu này không phải là vô hạn. Sử dụng những loài cây này để sản xuất nhiên liệu sinh học sẽ góp phần làm tăng giá thực phẩm, thiếu đất canh tác nông nghiệp, gia tăng nạn phá rừng và gây ô nhiễm đất. Mặc dù vi tảo cũng nuôi trong môi trường nước nhưng sử dụng ít nước hơn so với thực vật và có khả năng sản xuất quanh năm. Ngoài ra, vi tảo có thể được nuôi ở những vùng nước ngọt, nước mặn, nước thải và vùng đất không có khả năng canh tác. Không giống như thực vật trên cạn khi mà chỉ có hạt được thu hoạch để lấy dầu, mỗi tế bào tảo chứa lipid và vì thế sản lượng dầu vi tảo cao hơn.

Trong những năm gần đây, sử dụng dầu vi tảo để tổng hợp diesel sinh học đã được nhiều tác giả nghiên cứu (Gouveia & Oliveira, 2009; Trương Vĩnh, 2011). Khi thiếu một số chất dinh dưỡng trong môi trường nuôi hoặc dưới tác động bất lợi của các điều kiện môi trường như ánh sáng, nhiệt độ dẫn đến sự tích lũy lipid trong tế bào vi tảo (Spilling, 2011). Xin et al. (2010) đã nghiên cứu về sự tăng trưởng và tích lũy lipid của vi tảo nước ngọt *Scenedesmus sp.* trong những điều kiện nhiệt độ môi trường nuôi khác nhau. Sen et al. (2009) nghiên cứu về ảnh hưởng của nguồn nitơ lên sự tích lũy lipid của vi tảo *Scenedesmus dimorphus và Chlorella protothecoides.* Belotti et al. (2013) đã nghiên cứu ảnh hưởng của sự thiếu nitơ và phospho đến sự tích lũy lipid của vi tảo *Chlorella vulgaris* trong các kiểu nuôi dị dưỡng, tự dưỡng và hỗn dưỡng.

Nghiên cứu này thực hiện thu mẫu, phân lập loài tảo lục *Scenedesmus deserticola*. *Scenedesmus deserticola* được nuôi trong môi trường Bold's Basal Medium (BBM) thiếu nitơ và môi trường BBM thiếu phospho để khảo sát khả năng tích lũy dầu tảo. Thành phần axít béo của dầu tảo *Scenedesmus deserticola* cũng được phân tích trong nghiên cứu này.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Vật liệu

Vật liệu trong nghiên cứu này là loài tảo lục *Scenedesmus deserticola* được phân lập tại một số thủy vực ở địa bàn huyện Hóc Môn, Thành phố Hồ Chí Minh (TP.HCM).

2.2 Phương pháp nghiên cứu

2.2.1 Thu mẫu, phân lập vi tảo

Thu mẫu: Vi tảo được thu bằng lưới vớt phiêu sinh thực vật, kích thước mắt lưới 5 µm. Mẫu được thu tại một số thủy vực trên địa bàn huyện Hóc Môn, TP.HCM. Mẫu được trữ trong các chai nhựa và chuyển về phòng thí nghiệm để tiến hành quá trình phân lập vi tảo.

Phân lập: Vi tảo được phân lập bằng phương pháp pha loãng trong môi trường BBM. Dịch chứa tảo được pha loãng thành các nồng độ khác nhau để đạt được mật độ tế bào khoảng 3 tế bào/ml, sau đó chuyển vào môi trường BBM trong các ống eppendorf, sau 3 – 4 tuần kiểm tra sự phát triển của vi tảo.

2.2.2 Định danh vi tảo và bảo quản mẫu

Định danh bằng phương pháp hình thái: Vi tảo sẽ được mô tả, đo kích thước, chụp hình và so sánh hình thể dựa vào các tài liệu phân loại vi tảo của các tác giả Shirota (1966), Bourrelly (1968), Dương Đức Tiến và Võ Hoành (1997), Nguyễn Văn Tuyên (2003) và Wehr & Sheath (2003).

Định danh bằng sinh học phân tử: Định danh bằng phương pháp giải trình tự gen 18S rARN của vi tảo. Sau đó, tra kết quả giải trình tự gen trên Blast search để định danh loài. Mẫu được định danh tại Công ty Nam Khoa, Quận 7, TP.HCM.

Bảo quản mẫu: Sau khi phân lập, vi tảo được chuyển sang môi trường BBM được bổ sung chất khử khuẩn chloramphenicol với nồng độ 30 µg/ml môi trường (Putri và cs., 2011). Sau 24 – 48 giờ, chuyển toàn bộ tế bào đã xử lý sang bình tam giác 100 ml trong môi trường BBM không có chất khử khuẩn, kiểm tra sự nhiễm vi khuẩn trong quá trình nuôi cấy sau 3 tuần. Mẫu sau đó được giữ trong môi trường nuôi BBM, ở điều kiện 25 ^oC, với cường độ ánh sáng 2500 lux, chu kì chiếu sáng là 12:12. Mẫu được dùng để chuẩn bị cho các thí nghiệm tiếp theo.

2.2.3 Phương pháp xác định lipid

Trong nghiên cứu này, lipid được xác định theo phương pháp Folch (Abubakar và cs., 2012; Jones và cs., 2012). Các bước phân tích được thực hiện theo thứ tự sau:

B_1. Cho một lượng sinh khối tảo (m_1) vào hỗn hợp dung môi chloroform/methanol (2/1, v/v) theo tỉ lệ 1:20 (g mẫu/ml dung môi) trong ống nghiệm. Vortex hỗn hợp trong 15 phút.

B_2. Ly tâm hỗn hợp (4000 vòng/phút; 12 phút) hoặc lọc. Chuyển dung môi ở phần trên sang ống nghiệm khác, thu sinh khối.

B_3. Gom toàn bộ hỗn hợp dung môi thu được vào ống nghiệm.

B_4. Cho lượng thể tích dung dịch muối NaCl 0.5% vào hỗn hợp dung môi để có tỷ lệ thể tích chloroform/methanol/nước là 8:4:3.

B_5. Vortex 1 phút, sau đó ly tâm hỗn hợp để tách pha (4000 vòng/phút; 12 phút).

B_6. Dùng micropipet loại bỏ pha trên, thu pha chloroform (lớp dưới) chứa lipid và chuyển sang petri đã biết khối lượng.

B_7. Chloroform được cho bay hơi ở 55 ^oC trong tủ hút. Khi khối lượng petri không giảm, toàn bộ chloroform đã được bay hơi. Cân petri và tính khối lượng lipid (m_2).

B_8. Lipid vi tảo được xác định trực tiếp bằng phương pháp khối lượng và thể hiện bằng tỉ lệ phần trăm trọng lượng sinh khối khô theo công thức sau:

Hàm lượng lipid (%) = lượng lipid (g)/khối lượng mẫu (g) x 100 (%) = m_2/m_1 x 100 (%).

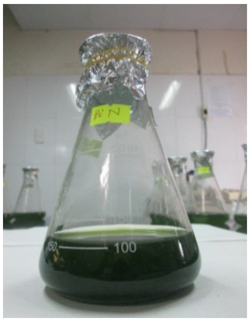
2.2.4 Phân tích axit béo trong dầu tảo

Sinh khối vi tảo được thu vào ngày thứ 7 trong mẻ nuôi ở môi trường thiếu nitơ dùng để tách dầu theo phương pháp trên (mục 2.2.3). Dầu tảo sẽ được chuyển thành diesel sinh học theo phương pháp ISO 5009:94. Sau đó, mẫu sẽ được dùng để phân tích sắc kí khí xác định thành phần axit béo. Mẫu được phân tích tại trung tâm dịch vụ phân tích thí nghiệm TP.HCM, Sở Khoa học và Công nghệ TP.HCM.

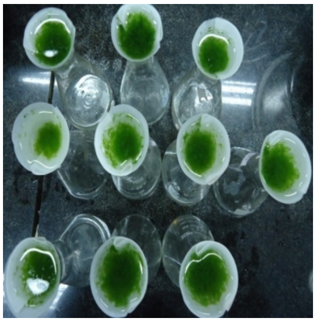
2.2.5 Nuôi vi tảo trong môi trường BBM thiếu nitơ và môi trường BBM thiếu phospho

Môi trường: Để tìm hiểu ảnh hưởng của nitơ lên sự tích lũy lipid, vi tảo được nuôi trong môi trường Bold's Basal Medium (BBM) thiếu nitơ. Cụ thể, môi trường BBM trong trường hợp này sẽ không có $NaNO_3$. Tương tự, môi trường BBM thiếu phospho sẽ không có K_2HPO_4 khi nuôi vi tảo. Sinh khối được thu ở các thời gian khác nhau là 3, 5, 7 và 9 ngày; và được dùng để phân tích hàm lượng lipid.

Phương pháp nuôi: Trong nghiên cứu này, phương pháp nuôi theo mẻ được áp dụng. Một cách tóm tắt, các công đoạn của quá trình nuôi được thực hiện như sau: giống vi tảo được nhân lên trong bình tam giác 100 ml trong 3 tuần, sau đó tiếp tục nuôi thích nghi trong các bình tam giác 250 ml trong 2 tuần. Dịch vi tảo được chuyển sang bình 5 lít có chứa 3.5 lít môi trường BBM và nuôi trong 2 tuần. Sau đó tắt máy sục khí và để lắng 24 giờ, gạn bỏ phần dịch trong phía trên. Phần đáy chứa dịch tảo được lọc qua giấy lọc định tính hiệu New Star có đường kính 110 mm, kích thước lỗ lọc lớn nhất dao động từ 15 – 20 µm. Sinh khối tảo được chuyển sang môi trường BBM thiếu nitơ hoặc thiếu phospho để tiến hành thí nghiệm (Hình 1).



a. Vi tảo trong bình tam giác



b. Lọc thu sinh khối vi tảo

c. Bình nuôi vi tảo

Hình 1. Chuyển vi tảo sang môi trường nuôi

Điều kiện nuôi: Cường độ ánh sáng là 2500 ÷ 3000 lux, nhiệt độ dao động 25 ÷ 30 ^oC, thời gian chiếu sáng 12 giờ/ngày. Trong quá trình thí nghiệm, máy sục khí hiệu Rampo EP – 9000, công suất 5.6 W được sử dụng để khuấy đều môi trường nuôi. Các thí nghiệm được thực hiện tại phòng thí nghiệm Công nghệ Sinh học Thực vật và Trung tâm Thí nghiệm Thực hành, Trường Đại học Công nghiệp Thực phẩm TP.HCM.

2.2.6 Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được xử lý bằng phần mềm Microsofl Exel Office 2007 và Statgraphics XV, Version 15.1.02. Sử dụng phương pháp phân tích ANOVA và Multiple Range Tests với độ tin cậy 95% để xác định sự khác biệt có ý nghĩa giữa các giá trị trung bình mẫu.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

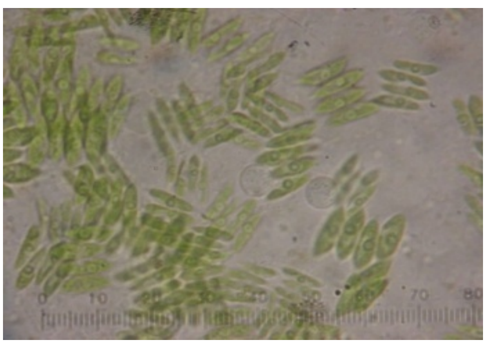
3.1 Định danh vi tảo

Định danh bằng phương pháp hình thái

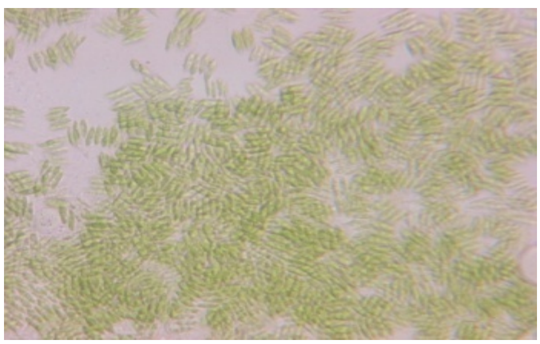
Mô tả hình thái vi tảo: Cộng đơn bào gồm 2, 4 hoặc 8 tế bào, nhưng thường là 4 tế bào. Các tế bào gắn với nhau ở phần giữa tế bào và xếp trên cùng một hàng. Tế bào hình thoi, đầu tế bào thắt nhọn, đôi khi tế bào hơi thắt nhọn và uốn cong vào phía trong. Kích thước tế bào 2 ÷ 4 x 6 ÷ 12 µm (Hình 2). Dựa vào đặc điểm hình thái và kết hợp với mô tả trong các tài liệu phân loại, vi tảo này thuộc giống Scenedesmus, họ Scenedesmaceae, bộ tảo lục Chlorococcales, Lớp chlorophyceae, ngành Chlorophyta.

Kết quả định danh bằng sinh học phân tử

Dựa vào kết quả giải trình tự gen 18S rARN và tra cứu trên Blast search cho thấy giống nhau đến 99% *Scenedesmus deserticola*. Như vậy, loài vi tảo thu được là loài *Scenedesmus deserticola*.



Scenedesmus deserticola (x100)



Scenedesmus deserticola (x40)

Hình 2. Scenedesmus deserticola

3.2 Dầu vi tảo trong các môi trường nuôi

Như đã đề cập, môi trường BBM được dùng để nuôi vi tảo trong thí nghiệm này. *Scenedesmus deserticola* được nuôi trong thời gian 9 ngày. Dịch chứa sinh khối vi tảo được thu vào ngày thứ 3, 5, 7 và 9 để phân tích hàm lượng lipid.

- **Hàm lượng lipid *Scenedesmus deserticola* trong môi trường BBM thiếu nitơ**

Hàm lượng lipid của vi tảo trong môi trường thiếu nitơ được trình bày trong bảng sau.

Bảng 1. Hàm lượng lipid trong môi trường thiếu nitơ (% sinh khối)

Thời gian (ngày)	Ngày 1	Ngày 3	Ngày 5	Ngày 7	Ngày 9
Bình 1	19,79	20,36	26,86	37,14	19,78
Bình 2	18,15	23,45	28,57	39,69	21,42
Bình 3	18,62	21,73	29,07	38,35	18,18
Trung bình	18,85 ± 0,84[(a)]	21,85 ± 1,55[(b)]	28.17 ± 1,16[(c)]	38,39 ± 1,28[(d)]	19,79 ± 1,62[(ab)]

** Các kí tự khác nhau trong cùng 1 hàng thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa ở độ tin cậy 95%*

Kết quả phân tích cho thấy, lượng lipid vi tảo tăng trong môi trường thiếu nitơ. Sự tăng lượng dầu tảo đạt cao nhất vào ngày thứ 7, có giá trị là 38.39% sinh khối khô. So với môi trường BBM, lượng lipid vi tảo đã tăng lên gấp đôi (2.03 lần). Kết quả phân tích ANOVA một nhân tố cho thấy có sự khác biệt hàm lượng lipid vi tảo theo thời gian ở mức ý nghĩa $\alpha = 5\%$ ($p = 0.00$).

Nghiên cứu về sự tích lũy dầu tảo trong môi trường thiếu nitơ đã được một số tác giả nghiên cứu. Nghiên cứu của Nigam, Rai và Shrama (2011) về vi tảo *Chlorella pyrenoidosa* chỉ ra rằng khi nồng độ nitrat trong môi trường giảm, sinh khối vi tảo giảm nhưng gia tăng sự tích lũy lipid. Hàm lượng lipid cao nhất đạt 25% được ghi nhận trong môi trường có 0.05 g/l KNO_3. Nghiên cứu của Gouviea và Oliveira (2009) cho thấy, hàm lượng lipid của vi tảo *Scenedesmus obliquus* đạt 43% khi chuyển sang môi trường thiếu nitrat trong 7 ngày nuôi; trong khi đó Yasemin và cs. (2011) ghi nhận được sự tăng lipid lên đến 3 lần đối với loài *Chlorella vulgaris* khi nuôi trong môi trường không có nitơ (trích trong Nigam S. và cs., 2011, tr. 127).

Nói chung, sự thiếu nguồn dinh dưỡng trong môi trường nuôi có thể dẫn tới việc tăng hàm lượng lipid vi tảo, nhưng không phải đối với tất cả các loài vi tảo (Veillette et al., 2012). Sự thiếu hụt chất dinh dưỡng trong môi trường nuôi (nitơ, phospho, hay silic – đối với khuê tảo) hoặc dưới tác động bất lợi của các yếu tố môi trường (cường độ ánh sáng, chế độ chiếu sáng, nhiệt độ, sốc áp suất thẩm thấu) làm cho vi tảo ngừng tăng trưởng và phát triển; lúc này chúng hướng sang tích lũy năng lượng dưới dạng lipid (Spilling, 2011). Nhưng trong điều kiện môi trường nuôi cấy thiếu nitơ quá dài dẫn đến việc vi tảo sẽ sử dụng lipid dự trữ làm nguồn năng lượng và cacbon, kết quả là hàm lượng lipid giảm (Cantin, 2010). Trong nghiên cứu này, hàm lượng lipid giảm sau 9 ngày nuôi trong môi trường thiếu nitơ và có giá trị là 19,79% sinh khối.

- **Hàm lượng lipid *Scenedesmus deserticola* trong môi trường BBM thiếu phospho**

Bên cạnh việc khảo sự biến đổi hàm lượng dầu tảo trong môi trường thiếu nitơ, đề tài cũng thực hiện thí nghiệm tìm hiểu sự tích lũy lipid vi tảo trong môi trường thiếu phospho. Kết quả về lượng lipid của *S.deserticola* trong môi trường thiếu phospho được trình bày trong bảng sau.

Bảng 2. Hàm lượng lipid trong môi trường thiếu phospho (% sinh khối)

Thời gian (ngày)	Ngày 1	Ngày 3	Ngày 5	Ngày 7	Ngày 9
Bình 1	19,06	20,29	25,29	30,13	22,50
Bình 2	17,02	22,89	24,59	30,30	23,91
Bình 3	18,06	22,64	25,92	32,35	23,88
Trung bình	18,05 ±1,02[(a)]	21,94 ±1,43[(b)]	25,27 ± 0,67[(c)]	30,93 ±1,24[(d)]	23,43 ±0,81[(bc)]

** Các kí tự khác nhau trong cùng 1 hàng thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa ở độ tin cậy 95%*

Nghiên cứu khả năng tích lũy lipid của vi tảo *Scenedesmus sp.* trong môi trường thiếu phospho đã được Xin et al. (2010) thực hiện. Kết quả cho thấy, hàm lượng lipid của vi tảo này là 53,00% và 23,55% trong môi trường nuôi có nồng độ phospho tương ứng là 0,14 mg/l, và 0,37 mg/l (trích trong Veillette và cs., 2012, tr. 251).

Ở nghiên cứu này, sự tích lũy lipid của vi tảo tăng theo thời gian nuôi như trong trường hợp môi trường thiếu nitơ. Giá trị dầu tảo đạt cực đại vào ngày thứ 7, hàm lượng lipid là 32,35% sinh khối khô. So với môi trường BBM, lượng lipid vi tảo đã tăng lên gấp 1,71 lần, thấp hơn so với môi trường thiếu nitơ (2,03 lần). Kết quả phân tích ANOVA một nhân tố cũng cho thấy có sự khác biệt hàm lượng lipid vi tảo theo thời gian ở mức ý nghĩa $\alpha = 5\%$ ($p = 0.00$).

Từ kết quả trên, có thể đề xuất mô hình nuôi vi tảo *Scenedesmus deserticola* để thu lipid theo phương pháp hai giai đoạn. Giai đoạn đầu tiên được thiết kế để tối ưu hóa tăng trưởng tạo sinh khối tối đa, trong khi đó giai đoạn thứ hai vi tảo được nuôi trong điều kiện môi trường thiếu nitơ để kích thích tăng sự tích lũy lipid, sinh khối sẽ được thu ở ngày thứ 7 và dùng để tách dầu làm nguyên liệu cho sự tổng hợp dầu diesel sinh học.

3.3 Thành phần axit béo trong dầu tảo

Dầu tảo sẽ được chuyển thành biodiesel theo phương pháp ISO 5009:94. Sau đó, mẫu sẽ được dùng để phân tích sắc kí khí xác định thành phần axit béo. Kết quả được trình bày trong Bảng 3.

Kết quả bảng phân tích cho thấy, dầu vi tảo *Scenedesmus deserticola* gồm các axit béo mạch dài ($C_{12} – C_{24}$), trong đó các axit palmitic (C16:0), axit oleic (C18:1), axit linoleic (C18:2), axit linolenic (C18:3) chiếm tỉ lệ tương ứng là 12,6%; 10,24%; 7,82% và 7,98% (Bảng 3). Các axit palmitic, axit stearic, axit oleic và axit linoleic là những axit thường gặp nhất trong dầu diesel sinh học (Knothe, 2008).

Khi nghiên cứu về thành phần axít béo của tảo lục *Botryococcus braunii*, tác giả Dayananda et al. (2007) cho thấy, hàm lượng axit oleic, axit linoleic và axit linolenic tương ứng là 22,29%; 14,46% và 13,20%. Kết quả nghiên cứu của Fakhry và Maghraby (2013) cho thấy, thành phần axit béo không no (C16:1, C18:1, C18:2, C183, C22:1 và C22:6) của vi tảo *Dunaliella salina* chiếm 32,6%. Trong nghiên cứu này, các axit không no của *Scenedesmus deserticola* chiếm 33.49%. Tuy nhiên, hàm lượng và thành phần axit béo của dầu tảo còn phụ thuộc vào thành phần dinh dưỡng trong môi trường nuôi (Chader và cs., 2011), điều kiện môi trường(Widjaja và cs., 2008; Xin và cs., 2010) và phương pháp nuôi tự dưỡng, hỗn dưỡng hay dị dưỡng (Balotti và cs., 2013).

Bảng 3. Thành phần axít béo trong dầu tảo

STT	Tên axit	Công thức phân tử	Tỉ lệ (% sắc kí đồ)
1	Axit lauric (C12:0)	$C_{12}H_{24}O_2$	0,20
2	Axit myristic (C14:0)	$C_{14}H_{28}O_2$	0,52
3	Axit pentadecanoic (C15:0)	$C_{15}H_{30}O_2$	0,33
4	Axit palmitic (C16:0)	$C_{16}H_{32}O_2$	12,66
5	Axit palmitoleic (C16:1)	$C_{16}H_{30}O_2$	6,38
6	Axit margeric (C17:0)	$C_{17}H_{34}O_2$	0,29
7	Axit stearic (C18:0)	$C_{18}H_{36}O_2$	1,15
8	Axit oleic (C18:1)	$C_{18}H_{34}O_2$	10,24
9	Axit linoleic (C18:2)	$C_{18}H_{32}O_2$	7,82
10	Axit linolenic (C18:3)	$C_{18}H_{30}O_2$	7,98
11	Axit lignoceric (C24:0)	$C_{24}H_{48}O_2$	0,31
12	Axit docosahexaenoic (C22:6)	$C_{22}H_{32}O_2$	1,07

Tóm lại, vi tảo *Scenedesmus deserticola* có hàm lượng lipid 18,85% sinh khối trong môi trường BBM, và có thể tích lũy lipid tăng gấp 2.03 lần, đạt giá trị 38,39% trong môi trường thiếu nitơ. Cùng với những đặc điểm về thành phần axit béo cho thấy đây là loài tảo lục có tiềm năng trong quá trình sản xuất diesel sinh học.

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã tiến hành thu mẫu và phân lập được loài vi tảo thuộc ngành tảo lục trên địa bàn huyện Hóc Môn, TP.HCM. Kết quả định danh bằng phương pháp hình thái và giải trình tự gen cho thấy loài khảo sát là *Scenedemus deserticola*.

Scenedesmus deserticola có hàm lượng lipid cao, đạt 18.05% sinh khối khi nuôi trong môi trường BBM. Khi chuyển sang nuôi ở môi trường BBM thiếu phospho, sự tích lũy lipid của *Scenedesmus deserticola* cao hơn 1.71 lần, có giá trị 30,93% sinh khối. Đặc biệt hơn, lượng dầu vi tảo tăng lên gấp 2.03 lần, đạt 38.39% sinh khối khi nuôi trong môi trường BBM thiếu nitơ sau 7 ngày.

Trong thành phần dầu tảo *Scenedesmus deserticola*, axit palmitic chiếm tỉ lệ cao nhất là 12,66%, kế đến là axit oleic (10,24%), axit linolenic (7,98%) và axit linoleic (7,82%).

Kết quả trên cho thấy, *Scenedesmus deserticol* là loài vi tảo tiềm năng trong việc sử dụng để nuôi thu dầu làm nguyên liệu điều chế dầu diesel sinh học. Ngoài ra có thể ứng dụng kết hợp loài vi tảo này trong quá trình xử lý nước thải và thu sinh khối để sản xuất nhiên liệu sinh học.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Abubakar, L.U., Mutie, A.M., Kenya, E.U., Muhoho, A. (2012). Characterization of alge oil and its potential as biofuel in Kenya. *Journal of Applied Phytotechnology in Environmental Sanitation*, 147 – 153.

Belotti, G., Bravi, M., Caprariis, B., Filippis, P., Scarsella, M. (2013). Effect of nitrogen and phosphorus starvation on chlorella vulgaris lipids productivity and quality under different trophic regimes for biodiesel production. *American Journal of Plant Sciences*, 4, pp 44 – 51.

Bourrelly, P. (1968). *Tome I, Les algues vertes*. Edt N. Boubée et Cie.

Cantin, I. (2010). *La production de biodiesel à partir des microalgues ayant un métabolisme hétérotrophe*. Université de Sherbrooke, Québec, Canada, pp 16 – 20.

Chader, S., Mahmah, B., Chetehouna, K., Mignolet, E. (2011). Biodiesel production using Chlorella sorokiniana a green microalga. *Revue des Energies Renouvelables*. Vol. 14 No 1, pp 21 – 26.

Dayananda, C., Sarada, R., Kumar, V. (2007). Isolation and characterization of hydrocarbon producing green alga Boryococcus braunii from India Freshwater bodies. *Journal of Biotechnology*. Vol 10 No.1, 78 – 91.

Dương Đức Tiến, Võ Hoành. (1997). *Tảo nước ngọt Việt Nam*, Phân loại bộ lục tảo (Chlorococcales). Hà Nội: NXB Đại học Quốc gia Hà Nội.

Fakhry, E. M., Maghraby, D. M. (2013). Fatty acids composition and biodiesel characterization of Dunaliella salina. *Journal of Water Resource and protection*. 5, pp 894 – 899.

Gouveia, L., Oliveira, A. C. (2009). Microalgae as a raw material for biofuels production. *J. Ind Microbiol Biotechnol*. 36: 269 – 274.

Jones, J., Manning, S., Montoya M., Keller K., Poenie M. (2012). Extration of algal lipids and their analysis by HPLC and mass spectrometry. *J Am Oil Chem Soc*. 89: 1371 – 1381.

Klass, L.D. (2004). *Biomass for renewable energy and fuels*. Elsevier, Inc. pp 209 - 211.

Knothe, G. (2008). "Designer" Biodiesel: Optimizing fatty ester composition to improve fuel properties. *Energy & Fuels*. Vol. 22, N°2, pp. 1358 – 1364.

Nigam, S., Rai M. P., Harma, R. (2011). Effect of nitrogen on growth and lipid content of Chlorella pyrenoidosa. *American Journal of biochemistry and Biotechnology*. 7(3): 124 – 129.

Nguyễn Văn Tuyên. (2003). *Đa dạng sinh học tảo trong thủy vực nội địa Việt Nam – Triển vọng và thử thách*. NXB Nông nghiệp.

Putri, E. V., Din, M. F., Ahmed Z., Jamaluddin H., Chelliapan S. (2011). *Investigation of microalgae for high lipid content using palm oil mill effluent as carbon source*. IACSIT, 85 – 89.

Shen, Y., Pei, Z., Yuan, W., Mao, E. (2009). Effect of nitrogen and extraction method on algae lipid yield. *Int J Agric & Biol Eng*. Vol.2 No.1, pp 51 – 57.

Shirota, A. (1966). *The plankton of south VietNam, freshwater and marine plankton*. Overseas technical cooperation agency, Japan.

Spilling K., (2011). Optimiz*ing lipid production by plantonic algae – Lipido*. Nordic Energy Research, pp 17 – 23.

Trương Vĩnh. (2011). *Nghiên cứu qui trình công nghệ sản xuất biodiesel từ vi tảo của Việt Nam*. Báo cáo tổng kết đề tài khoa học và công nghệ cấp bộ. Trường Đại học Nông Lâm TP. HCM.

Veillette, M., Chamoumi, M., Nikiema, J., Faucheux, N., Heitz, M. (2012). *Production of biodiesel from microalgae.* Advances in Chemical Engineering, InTech, pp 245 – 268.

Xin, L., Hong – ying, H., Yu – ping, Z. (2010). Growth and lipid accumulation properties of a freshwater microalga Scenedesmus sp. under different cultivation temperature. *Bioresource Technology*. 102, pp 3098 – 3102.

Wehr, J.D., Sheath, R.G. (2003). *Fresh water algae of north America*. Ecology and classification. Academic Press.

Widjaja, A., Chien, C. C., Ju, Y. (2008). Study of increasing lipid production from fresh water microalgae Chlorella vulgaris. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, pp 13 – 20.