

SẢN XUẤT CHẤT BÉO TỪ VI TẢO *CHLORELLA* SP. SỬ DỤNG TỔNG HỢP DIESEL SINH HỌC

Hồ Quốc Phong¹, Trần Đông Âu², Trần Thương Ngọc³, Huỳnh Thị Ngọc Hiền³,
Huỳnh Liên Hương¹ và Nguyễn Trọng Tuấn⁴

¹ Khoa Công nghệ, Trường Đại học Cần Thơ

² Học viên cao học Công nghệ hóa học, Trường Đại học Bách Khoa Thành phố Hồ Chí Minh

³ Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ

⁴ Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ

Thông tin chung:

Ngày nhận: 01/07/2014

Ngày chấp nhận: 29/12/2014

Title:

Lipid production for
biodiesel synthesis from
Chlorella sp.

Từ khóa:

Chất béo, *Chlorella* sp.,
diesel sinh học, vi tảo

Keywords:

Lipid, *Chlorella* sp.,
biodiesel, algae

ABSTRACT

Searching for potential feedstock for biodiesel synthesis is important today and microalgae *Chlorella* sp. can be used to produce biodiesel due to its high capacity of lipid accumulation. Therefore, this study was conducted to investigate the effects of culture conditions on the growth and lipid accumulation of *Chlorella* sp. such as light intensity, time, temperature and salinity. The results showed that the obtained concentration of microalgae was 0.306 g/L and the accumulated lipid was up to 35.86% when it was cultured under the conditions of 1342 lux, 25°C, salinity of 0‰ and incubation time of 8 days. In addition, the fatty acid composition of *Chlorella* sp. was mainly C16 - C18, which are suitable for biodiesel synthesis.

TÓM TẮT

Việc tìm kiếm nguồn nguyên liệu tiềm năng cho quá trình tổng hợp biodiesel là rất cần thiết hiện nay và vi tảo *Chlorella* sp. có thể sử dụng để tổng hợp biodiesel do có khả năng tích lũy nhiều chất béo. Do đó, nghiên cứu này được tiến hành nhằm khảo sát các điều kiện ảnh hưởng đến sự sinh trưởng và tích lũy chất béo của vi tảo *Chlorella* sp. như cường độ sáng, thời gian, nhiệt độ và độ mặn của nước. Kết quả cho thấy rằng vi tảo *Chlorella* sp. có thể đạt được nồng độ sinh khối 0,306 g/L với chất béo tích lũy lên đến 35,86% khi được nuôi cấy ở điều kiện cường độ chiếu sáng 1342 lux, nhiệt độ 25°C, độ mặn của nước 0‰ và thời gian nuôi cấy là 8 ngày. Thêm vào đó, thành phần acid béo của vi tảo *Chlorella* sp. chủ yếu là C16 - C18, đây là nguyên liệu phù hợp cho tổng hợp biodiesel.

1 GIỚI THIỆU

Sự phát triển nhanh chóng của các ngành công nghiệp trên thế giới hiện nay đang làm cạn kiệt dần nguồn nguyên liệu hóa thạch là dầu mỏ. Đây là nguồn tài nguyên không thể phục hồi. Cùng với đó là sự ô nhiễm môi trường do việc đốt nhiên liệu có nguồn gốc từ dầu mỏ gây ra, trong đó có những khí

thải độc hại và rất khó xử lý như CO_x, SO_x. Vì vậy, việc nghiên cứu để tìm ra nguồn nguyên liệu có thể thay thế dầu mỏ là một vấn đề rất được chú trọng trên thế giới cũng như ở Việt Nam. Biodiesel là nhiên liệu thay thế tiềm năng cho diesel hóa thạch vì nó có thể phân hủy sinh học, không độc, có thể tái chế, thân thiện với môi trường và có thể phối

trộn với diesel hóa thạch với bất kỳ tỉ lệ nào (Ju, Huynh *et al.*, 2013). Tuy nhiên, giá thành sản xuất biodiesel còn rất cao chưa thể cạnh tranh với diesel hóa thạch do hai yếu tố quan trọng là nguồn nguyên liệu và công nghệ sản xuất. Nguồn nguyên liệu sản xuất biodiesel thương mại chủ yếu là nguồn chất béo từ dầu đậu nành, dầu cọ, dầu hạt hướng dương thường có giá rất cao và chiếm đến 50-70% giá thành sản phẩm (Mata, Martins *et al.*, 2010). Ngoài ra, việc lạm dụng các nguồn nguyên liệu đó có thể ảnh hưởng đến an ninh lương thực. Do đó, việc tìm nguồn nguyên liệu chất béo sản xuất biodiesel là rất cần thiết. Qua nhiều khảo sát đánh giá cho thấy vi tảo là vi sinh vật tiềm năng để sản xuất chất béo nguyên liệu do chúng có khả năng quang hợp mạnh, phát triển nhanh kể cả trong những điều kiện khắc nghiệt mà các loại cây trồng không thể chịu được. Chúng có thể tận dụng nitrogen và phospho trong nước thải của nông nghiệp, công nghiệp và cả nước thải đô thị, có khả năng hấp thụ CO₂ sinh ra do quá trình đốt nhiên liệu (Zhou, Ge *et al.*, 2013). Đặc biệt là khả năng cho thu hoạch rất nhanh chỉ từ 7-10 ngày (Mata, Martins *et al.*, 2010) và lượng chất béo tích lũy khá cao. Vì thế, nghiên cứu này được thực hiện nhằm tìm hiểu ảnh hưởng của các điều kiện nuôi cấy đến sự phát triển và khả năng tích lũy chất béo của vi tảo *Chlorella* sp. từ đó có thể tìm ra được điều kiện nuôi cấy phù hợp nhằm thu được lượng chất béo nhiều nhất phục vụ cho việc sản xuất biodiesel.

2 PHƯƠNG TIỆN VÀ PHƯƠNG PHÁP THỰC NGHIỆM

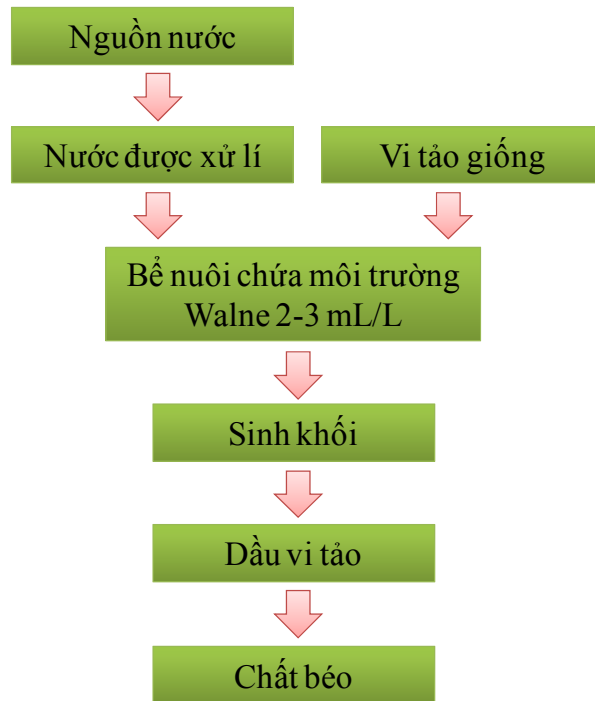
2.1 Vật liệu và hóa chất

Nguồn vi tảo được sử dụng là *Chlorella* sp. được cung cấp bởi phòng thí nghiệm vi tảo – Khoa Thủy sản – Trường Đại học Cần Thơ. Môi trường nuôi cấy vi tảo được chuẩn bị dựa trên môi trường

Walne bao gồm các thành phần: 1,3 g/L FeCl₃.6H₂O, 0,36 g/L MnCl₂.4H₂O, 33,6 g/L H₃PO₄, 20 g/L NaH₂PO₄.2H₂O, 100 g/L NaNO₃, 45 g/L EDTA và Dung dịch B (1 ml/L) gồm các thành phần: 1,05 g/L ZnCl₂, 0,05 g/L (NH₄)₆.Mo₇O₂₄.4H₂O, 1 g/L CuSO₄.5H₂O, 10 ml/L HCl đậm đặc, 1 g/L CoCl₂.6H₂O. Để khảo sát thành phần chất béo cần các dung môi dùng để trích ly và phân tích sắc ký khí (GC), chất chuẩn methyl ester của các acid béo được mua từ Sigma-Aldrich (Mỹ). Các dụng cụ phục vụ phân tích trong quá trình nuôi cấy bao gồm Quang kế LTIutron LX-103, nhiệt kế điện tử cầm tay Hanna, kính hiển vi OLYMPUS CX21 với buồng đếm Haemocytomete Burkler Marienfeld, máy quang phổ UV-Vis UV1/Thermo Electron, thiết bị chiết soxhlet.

2.2 Nuôi cấy vi tảo

Nguồn nước máy nuôi cấy vi tảo được tiến hành khử trùng bằng javel đậm đặc với nồng độ 1 ml/L trong 30 phút. Sau đó javel được khử bằng Na₂S₂O₃ 30% với chất chỉ thị KI cho đến khi không còn javel. Dung dịch Walne được cho vào nước với tỷ lệ 2 – 3 ml/L để tạo thành môi trường nuôi cấy và tảo giống được cho vào bể nuôi với tỷ lệ 1:10 (tỷ lệ thể tích). Sử dụng phương pháp khảo sát luân phiên từng biến để khảo sát sự ảnh hưởng của các điều kiện nuôi cấy đến khả năng tích lũy chất béo của vi tảo *Chlorella* sp. như cường độ chiếu sáng, nhiệt độ, thời gian và độ mặn của nước dùng để nuôi cấy. Sinh khối vi tảo ở mỗi thí nghiệm được thu hoạch bằng cách ly tâm và sấy khô ở nhiệt độ 50°C trong 8 giờ rồi được tiến hành trích ly đánh giá hàm lượng chất béo. Từ đó tìm ra được điều kiện tối ưu để nuôi cấy vi tảo *Chlorella* sp. nhằm thu được nhiều chất béo và thành phần phù hợp cho quá trình tổng hợp biodiesel.



Hình 1: Sơ đồ quy trình nuôi cấy vi tảo *Chlorella* sp

2.3 Phương pháp phân tích đánh giá

2.3.1 Xác định nồng độ sinh khối vi tảo

Nồng độ sinh khối vi tảo *Chlorella* sp. trong dung dịch được xác định bằng máy quang phổ UV-Vis UV1/Thermo Electron ở bước sóng 680 nm (Sacchetti, Maietti *et al.*, 2005; Tang, Chen *et al.*, 2012; Zhou, Ge *et al.*, 2013). Nồng độ sinh khối được tính bằng cách so sánh với đường chuẩn được xây dựng từ 5 mẫu được xác định bằng buồng đếm Haemocytomete Burkler Marienfeld trên kính hiển vi OLYMPUS CX21. 5 mẫu sinh khối sau đó được sấy khô ở 50°C để xác định khối lượng vi tảo khô trên một đơn vị thể tích.

2.3.2 Đánh giá hàm lượng chất béo

Sinh khối vi tảo được thu hoạch bằng phương pháp ly tâm sau đó được sấy ở nhiệt độ thấp ~50 °C. Chất béo được trích ly khỏi sinh khối khô bằng phương pháp chiết soxhlet với hệ dung môi Chloroform-Methanol (2:1, tỷ lệ thể tích) (Zhou, Ge *et al.*, 2013). Dịch trích được trích lỏng lỏng với dung môi hexane để loại bỏ diệp lục tố, chất béo tích lũy (%) được xác định dựa trên tỉ lệ giữa khối lượng chất béo được trích ly và khối lượng sinh khối khô đã sử dụng. Vì thế, lượng chất béo thu được ở mỗi thí nghiệm được tính như sau:

Lượng chất béo (g/L) = Chất béo tích lũy (%) x Nồng độ sinh khối khô (g/L).

2.3.3 Phân tích thành phần chất béo

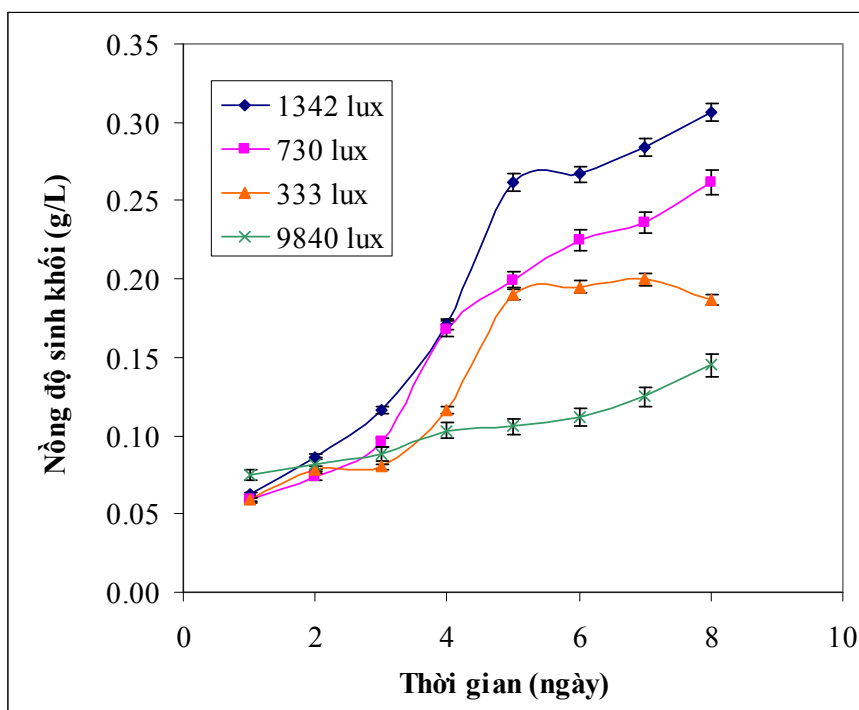
Để phân tích được thành phần acid béo thì chất béo phải được xử lý để chuyển các acid béo tự do cũng như các tri-, di- và monoglyceride thành dạng methyl ester của các acid béo: 5 g chất béo được xử lý bằng 4 mL methanol có chứa H₂SO₄ 3,3% (g/100 mL), khuấy từ ở nhiệt độ 65°C trong 120 – 180 phút. Sau đó cho thêm 2 mL methanol có chứa KOH 10% (g/100 mL) rồi tiếp tục khuấy từ ở 65 °C trong 60 phút. Hỗn hợp sau xử lý được rửa với nước khử ion để loại bỏ xúc tác còn dư, sau đó tiến hành trích ly lỏng lỏng bằng hexane để thu sản phẩm (Chen, Liu *et al.*, 2012; Tsigie, Huynh *et al.*, 2012). Các mẫu phân tích được pha loãng bằng hexane với hàm lượng 20 mg/mL. Điều kiện phân tích: máy sắc ký khí GC-2010 plus (Shimadzu, Nhật Bản), Cột ZB5-HT (15 m x 0,32 mm), đầu dò ion hóa ngọn lửa (FID) (Chen, Liu *et al.*, 2012) với chương trình nhiệt được cài đặt nhiệt độ buồng tiêm và đầu dò là 370°C, nhiệt độ cột bắt đầu ở 80°C tăng lên 365°C với tốc độ 15°C/phút và giữ trong 10 phút, tổng thời gian phân tích là 29 phút. (Tsigie, Huynh *et al.*, 2012).

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Ảnh hưởng của thời gian và cường độ chiếu sáng đến sự phát triển và tích lũy chất béo của vi tảo *Chlorella sp.*

Vi tảo *Chlorella sp.* được nuôi cấy ở 4 điều kiện chiếu sáng trung bình khác nhau là 1342 lux, 730 lux, 333 lux và 9840 lux, ở nhiệt độ 25°C, nước có độ mặn 0‰ (hay nước ngọt), trong khoảng thời gian từ 1-8 ngày. Kết quả cho thấy rằng cường độ chiếu sáng ảnh hưởng mạnh mẽ đến sự sinh trưởng và phát triển của vi tảo *Chlorella sp.*. Ở cường độ chiếu sáng quá cao (9840 lux) hay quá thấp (333 lux) không phải là điều kiện thuận lợi để vi tảo *Chlorella sp.* phát triển. Vi tảo *Chlorella sp.* phát triển nhanh ở cường độ chiếu sáng 730 lux và tối

ưu ở 1342 lux (Hình 2). Ở cường độ chiếu sáng 9840 lux xảy ra hiện tượng ức chế quang hợp (photoinhibition) (Richmond 2004; Scott, Davey *et al.*, 2010; Cheirsilp and Torpee, 2012) làm ảnh hưởng xấu đến sự phát triển của vi tảo và cường độ chiếu sáng ở 333 lux không đủ cung cấp cho quá trình quang hợp của vi tảo. Do đó, cường độ chiếu sáng phải đảm bảo cung cấp đủ cho vi tảo quang hợp nhưng không vượt quá mức độ ức chế quang hợp của vi tảo. Kết quả thí nghiệm cũng cho thấy rằng nồng độ vi tảo tăng nhanh theo thời gian và cao nhất vào ngày thứ 8. Nếu tiếp tục nuôi cấy thì tảo sẽ không tăng mật độ mà bắt đầu suy tàn do có hiện tượng lắng xuống đáy. Riêng ở cường độ chiếu sáng 333 lux thì nồng độ sinh khối tăng rất chậm và có dấu hiệu bị giảm ở ngày thứ 6.



Hình 2: Đồ thị biểu diễn ảnh hưởng của thời gian và cường độ chiếu sáng đến sự phát triển của vi tảo *Chlorella sp.*

Sau 8 ngày nuôi cấy vi tảo *Chlorella sp.* được thu hoạch và đánh giá khả năng tích lũy chất béo. Kết quả cho thấy rằng chất béo tích lũy đạt cao nhất khi vi tảo được nuôi cấy ở 730 lux (39,65%) và thấp nhất ở 9840 lux (20,96%). Tuy nhiên, nồng độ sinh khối vi tảo thu được khi nuôi cấy ở 1342 lux (0,306 g/L) cao hơn nhiều so với khi nuôi cấy ở 730 lux (0,262 g/L) (Bảng 1). Điều này là vì khi

được nuôi cấy ở điều kiện đầy đủ ánh sáng thì vi tảo tập trung vào quá trình phân tách tế bào để tăng số lượng hơn là tích lũy chất béo (Scott, Davey *et al.*, 2010; Cheirsilp and Torpee 2012). Từ đó cho thấy cường độ chiếu sáng 1342 lux đảm bảo cho vi tảo *Chlorella sp.* vừa phát triển tốt về số lượng cũng như thu được khối lượng chất béo lớn nhất 0,11 g/L.

Bảng 1: Khả năng tích lũy chất béo của vi tảo *Chlorella* sp. sau 8 ngày nuôi cấy

Cường độ sáng (lux)	333	730	1342	9840
Nồng độ sinh khối (g/L)	0,187±0,004	0,262±0,008	0,306±0,006	0,145±0,007
Chất béo tích lũy(%)	30,62±0,92	39,65±4,36	35,86±1,79	20,96±1,47
Lượng chất béo (g/L)	0,06±0,01	0,10±0,00	0,11±0,00	0,03±0,01

Ảnh hưởng của thời gian tiếp tục được xem xét khi vi tảo *Chlorella* sp. được nuôi cấy ở điều kiện nhiệt độ 25°C, cường độ chiếu sáng trung bình 1342 lux, bằng nước có độ mặn 0‰ trong khoảng thời gian từ 7-10 ngày. Kết quả cho thấy rằng nồng độ sinh khối không thay đổi sau 8 ngày nuôi cấy hay nói cách khác vi tảo suy tàn sau ngày thứ 8 (Bảng 2). Điều này có thể là do dinh dưỡng trong môi trường không còn đủ cung cấp cho sự sinh trưởng và phát triển của vi tảo. Chất béo tích lũy

của vi tảo đạt cao nhất vào ngày nuôi cấy thứ 8 (35,86%) và giảm dần ở các ngày nuôi cấy tiếp theo vì bắt đầu từ ngày thứ 9 là giai đoạn phát triển chậm do lượng dinh dưỡng trong môi trường nuôi cấy không còn đủ để cung cấp cho các quá trình sinh tổng hợp chất béo của vi tảo (Sharma 1998; Takagi, Karseno *et al.*, 2006; Tang, Chen *et al.*, 2012; Wu, Chen *et al.*, 2013). Do đó, thời gian để thu hoạch vi tảo *Chlorella* sp. cho nhiều chất béo nhất là ở ngày nuôi cấy thứ 8.

Bảng 2: Khả năng tích lũy chất béo của vi tảo *Chlorella* sp. theo thời gian nuôi cấy

Thời gian nuôi cấy (ngày)	7	8	9	10
Nồng độ sinh khối (g/L)	0,252±0,008	0,257±0,005	0,262±0,003	0,261±0,013
Chất béo tích lũy (%)	24,54±1,23	35,86±1,79	32,09±1,28	10,00±0,50
Lượng chất béo (g/L)	0,06±0,00	0,09±0,00	0,08±0,00	0,026±0,00

3.2 Ảnh hưởng của nhiệt độ nuôi cấy đến sự phát triển và tích lũy chất béo của vi tảo *Chlorella* sp.

Vi tảo *Chlorella* sp. được nuôi cấy ở 2 điều kiện nhiệt độ phổ biến là 25°C và 30°C (vì khoảng nhiệt độ thích hợp để nuôi cấy vi tảo *Chlorella* sp. là từ 20°C - 35°C) với cùng cường độ chiếu sáng trung bình 1342 lux, trong nước có độ mặn 0‰ và thu hoạch ở ngày thứ 8. Nồng độ sinh khối vi tảo được nuôi cấy ở nhiệt độ 30°C tăng nhanh hơn so với vi tảo được nuôi cấy ở nhiệt độ 25°C. Nồng độ sinh khối đạt cao nhất là 0,309 g/L sau 8 ngày nuôi cấy ở nhiệt độ 30°C trong khi ở 25°C thì nồng độ sinh khối tối đa chỉ đạt 0,257 g/L (Bảng 3). Điều này cho thấy nhiệt độ thích hợp để thu nhiều sinh khối vi tảo *Chlorella* sp. là khoảng 30°C vì đây là nhiệt độ phù hợp cho quá trình phân bào của vi tảo (Renaud, Thinh *et al.*, 2002; Kitaya, Azuma *et al.*, 2005; Converti, Casazza *et al.*, 2009; Roleda, Slocombe *et al.* 2013; Wu, Chen *et al.*, 2013).

béo tích lũy chỉ đạt 24,9% (Bảng 3). Điều này chứng tỏ nhiệt độ 25°C là nhiệt độ thích hợp để nuôi cấy vi tảo *Chlorella* sp. vì cho lượng chất béo nhiều hơn (0,09 g/L).

Bảng 3: Khả năng tích lũy chất béo của vi tảo *Chlorella* sp. được nuôi ở 2 điều kiện nhiệt độ khác nhau

Nhiệt độ (°C)	25	30
Nồng độ sinh khối (g/L)	0,257±0,008	0,309±0,015
Chất béo tích lũy (%)	35,86±1,79	24,85±1,23
Lượng chất béo (g/L)	0,09±0,00	0,08±0,00

3.3 Ảnh hưởng của nước dùng để nuôi cấy đến sự phát triển và tích lũy chất béo của vi tảo *Chlorella* sp.

Vi tảo *Chlorella* sp. được nuôi cấy ở 2 loại nước khác nhau là nước có độ mặn 25‰ và nước có độ mặn 0‰ ở cùng nhiệt độ trung bình 25 °C và cường độ chiếu sáng trung bình 1342 lux và thu hoạch ở ngày thứ 8. Nồng độ sinh khối vi tảo được nuôi cấy với nước có độ mặn 25‰ tăng nhanh hơn so với được nuôi cấy với nước có độ mặn 0‰ vì khi được nuôi cấy ở môi trường có độ mặn 25‰ thì hàm lượng muối trong môi trường cũng đóng vai trò như một thành phần dinh dưỡng giúp vi tảo phát triển tốt hơn (Takagi, Karseno *et al.*, 2006; Harwati, Willke *et al.*, 2012). Trong đó, nồng độ sinh khối được nuôi cấy ở nước có độ mặn 25‰ đạt tối đa 0,320 g/L trong khi ở nước có độ mặn 0‰ thì nồng độ sinh khối tối đa chỉ đạt 0,257 g/L (Bảng 4). Tuy nhiên, mỗi loại vi tảo sẽ có một giới

Ở nhiệt độ 30°C thì nồng độ sinh khối vi tảo tăng nhanh hơn so với ở 25°C, tuy nhiên khả năng tích lũy chất béo lại thấp hơn do có thể ở nhiệt độ 25 °C thì quá trình sinh tổng hợp chất béo diễn ra tốt hơn so với ở nhiệt độ 30°C (Renaud, Thinh *et al.*, 2002; Kitaya, Azuma *et al.*, 2005; Converti, Casazza *et al.*, 2009; Roleda, Slocombe *et al.* 2013; Wu, Chen *et al.*, 2013). Lượng chất béo thu được của vi tảo khi nuôi cấy ở 25°C là 0,09 g/L do chất béo tích lũy đạt 35,86%. Trong khi đó ở 30°C thì lượng chất béo thu được chỉ là 0,08 g/L do chất

hạn chịu mặn khác nhau nên độ mặn của môi trường nuôi cấy có ảnh hưởng rất lớn đến sự phát triển của vi tảo (Harwati, Willke *et al.*, 2012). Điều này cho thấy, nước có độ mặn 25‰ thích hợp để nuôi cấy vi tảo *Chlorella sp.* thu nhiều sinh khối.

Mặc dù, nồng độ sinh khối thu được khi nuôi cấy ở nước có độ mặn 25‰ là 0,320 g/L nhiều hơn so với nuôi cấy ở nước có độ mặn 0‰ là 0,257 g/L nhưng chất béo tích lũy khi nuôi cấy bằng nước 25‰ là 17% lại thấp hơn rất nhiều so với khi nuôi cấy bằng nước có độ mặn 0‰ (35,86%) (Bảng 4). Từ đó, có thể kết luận nước thích hợp để nuôi cấy vi tảo *Chlorella sp.* cho nhiều chất béo là nước có độ mặn 0‰ vì hàm lượng muối trong môi trường có ảnh hưởng nhất định đến khả năng tích lũy chất béo của vi tảo (Takagi, Karseno *et al.*, 2006; Harwati, Willke *et al.*, 2012).

Bảng 4: Khả năng cung cấp chất béo của vi tảo *Chlorella sp.* được nuôi cấy ở 2 loại nước khác nhau

Độ mặn của nước (‰)	25	0
Nồng độ sinh khối (g/L)	0,320±0,010	0,257±0,008
Chất béo tích lũy (%)	17,00±0,51	35,86±1,79
Lượng chất béo (g/L)	0,05±0,01	0,09±0,00

3.4 Ảnh hưởng của điều kiện nuôi cấy đến thành phần chất béo vi tảo *Chlorella sp.*

Chất béo của vi tảo *Chlorella sp.* được nuôi cấy ở các điều kiện phù hợp (25°C, cường độ chiếu sáng 1342 lux, nước có độ mặn 0‰ và thu hoạch ở ngày thứ 8) được phân tích bằng máy sắc kí khí và cho thấy rằng thành phần của chúng bao gồm 54,56% acid béo tự do, 9,97% monoglyceride, 10,43% diglyceride và 18,58% triglyceride (Bảng 5). Hàm lượng acid béo tự do chiếm khá cao đối với vi tảo *Chlorella sp.* có thể gây bất lợi cho quá trình tổng hợp biodiesel khi sử dụng xúc tác truyền thống là base.

Bảng 5: Thành phần của chất béo vi tảo *Chlorella sp.*

Thành phần	% khối lượng
Acid béo tự do	54,56
Monoglyceride	9,97
Diglyceride	10,43
Triglyceride	18,59
Thành phần khác	6,46

Ngoài ra thành phần các acid béo của chất béo từ vi tảo *Chlorella sp.* cũng bị ảnh hưởng bởi điều kiện nuôi cấy như cường độ chiếu sáng, nhiệt độ nuôi cấy và môi trường nước nuôi cấy. Kết quả phân tích được trình bày trong Bảng 6 và cho thấy rằng khi vi tảo được nuôi ở những cường độ sáng khác nhau thì thành phần các acid béo của chất béo cũng thay đổi. Trong đó, cường độ chiếu sáng 1342 lux là điều kiện nuôi cấy phù hợp nhất vì thành phần acid béo chủ yếu là palmitic acid methyl ester (C16:0) và linoleic acid methyl ester (C18:2). Ở cường độ chiếu sáng 7680 lux thì vi tảo *Chlorella sp.* cũng tích lũy được các thành phần cần thiết nêu trên và nhiều nhất là heptadecanoic acid methyl ester (C17:0) với 28,18%. Nhìn chung, thành phần chất béo thu được từ vi tảo có khả năng sử dụng để tổng hợp biodiesel.

Bảng 6 cũng trình bày ảnh hưởng của nhiệt độ đến thành phần acid béo của chất béo. Khi được nuôi cấy ở 30°C thì thành phần được tích lũy cao nhất là C17:0 (30,89%) khác với thành phần chất béo thu được khi vi tảo được nuôi cấy ở nhiệt độ 25°C chủ yếu là C16:0, và C18:2. Ngoài ra, môi trường nước nuôi cấy cũng ảnh hưởng rất lớn đến thành phần acid béo của chất béo từ vi tảo *Chlorella sp.*. Cụ thể, khi vi tảo *Chlorella sp.* được nuôi cấy ở môi trường nước có độ mặn 25‰ thì hầu như vi tảo tích lũy chất béo có thành phần acid béo chủ yếu là C17:0 và C17:1. Do đó, tùy vào thành phần chất béo mong muốn mà chúng ta có điều kiện nuôi cấy phù hợp.

Bảng 6: Thành phần acid béo của chất béo vi tảo *Chlorella* sp. được nuôi cấy ở những điều kiện khác nhau. Trong đó thời gian nuôi được cố định 8 ngày

Yếu tố cố định	Nhiệt độ 25°C, nước 0‰				AS. 1342 lux, nước 0‰		Nhiệt độ 25 °C, AS. 1342 lux	
	333 lux	730 lux	1342 lux	7680 lux	25°C	30°C	25‰	0‰
Yếu tố KS								
C15:0 (%)	12,92	7,43	-	-	-	13,15	-	-
C15:1 (%)	5,60	5,71	-	1,19	-	-	7,41	-
C16:0 (%)	18,12	10,57	38,32	10,45	38,32	15,44	-	38,32
C16:1 (%)	-	6,38	-	11,89	-	-	-	-
C16:2 (%)	-	-	6,88	-	6,88	-	-	6,88
C17:0 (%)	19,71	32,02	-	28,18	-	30,89	66,00	-
C17:1 (%)	15,32	15,10	-	6,66	-	16,83	26,59	-
C18:0 (%)	-	-	2,00	0,52	2,00	-	-	2,00
C18:1 (%)	4,64	-	-	21,56	-	-	-	-
C18:2 (%)	5,98	-	47,35	19,55	47,35	-	-	47,35
C20:0 (%)	8,09	8,49	5,45	-	5,45	10,36	-	5,45
C20:1 (%)	-	7,97	-	-	-	7,21	-	-
C20:2 (%)	9,62	6,33	-	-	-	6,12	-	-

(-): không phát hiện

4 KẾT LUẬN

Nghiên cứu cho thấy rằng vi tảo *Chlorella* sp. phát triển nhanh và khả năng tích lũy chất béo cao khi được nuôi cấy ở cường độ chiếu sáng 1342 lux, nhiệt độ 25 °C, khoảng thời gian 8 ngày trong môi trường nước có độ mặn 0‰. Đồng thời, thành phần acid béo của chất béo từ vi tảo *Chlorella* sp. được nuôi cấy ở điều kiện này phân bố từ C15 đến C20 và tập trung nhiều là C16:0, C16:2, C18:0 và C18:2. Đây là loại chất béo chủ yếu để tổng hợp biodiesel. Với thành phần acid béo tự do chiếm hơn 54%, các phương pháp như xúc tác hai giai đoạn, tới hạn hay cận tới hạn đều có thể sử dụng để tổng hợp biodiesel từ vi tảo. Do đó, qua nghiên cứu này cho thấy vi tảo có tiềm năng rất lớn để làm nguồn nguyên liệu tổng hợp biodiesel.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Cheirsilp, B. and S. Torpee (2012). "Enhanced growth and lipid production of microalgae under mixotrophic culture condition: Effect of light intensity, glucose concentration and fed-batch cultivation." *Bioresource Technology* 110(0): 510-516.
- Chen, L., T. Liu, *et al.* (2012). "Biodiesel production from algae oil high in free fatty acids by two-step catalytic conversion." *Bioresource Technology* 111(0): 208-214.
- Converti, A., A. A. Casazza, *et al.* (2009). "Effect of temperature and nitrogen concentration on the growth and lipid content of *Nannochloropsis oculata* and

Chlorella vulgaris for biodiesel production." *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification* 48(6): 1146-1151.

- Harwati, T. U., T. Willke, *et al.* (2012). "Characterization of the lipid accumulation in a tropical freshwater microalgae *Chlorococcum* sp." *Bioresource Technology* 121(0): 54-60.
- Ju, Y.-H., L. H. Huynh, *et al.* (2013). "Synthesis of biodiesel in subcritical water and methanol." *Fuel* 105(0): 266-271.
- Kitaya, Y., H. Azuma, *et al.* (2005). "Effects of temperature, CO₂/O₂ concentrations and light intensity on cellular multiplication of microalgae, *Euglena gracilis*." *Advances in Space Research* 35(9): 1584-1588.
- Mata, T. M., A. A. Martins, *et al.* (2010). "Microalgae for biodiesel production and other applications: A review." *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 14(1): 217-232.
- Renaud, S. M., L.-V. Thinh, *et al.* (2002). "Effect of temperature on growth, chemical composition and fatty acid composition of tropical Australian microalgae grown in batch cultures." *Aquaculture* 211(1-4): 195-214.
- Richmond, A. (2004). *Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology*. Cornwall, Wiley-Blackwell.

10. Roleda, M. Y., S. P. Slocombe, *et al.* (2013). "Effects of temperature and nutrient regimes on biomass and lipid production by six oleaginous microalgae in batch culture employing a two-phase cultivation strategy." *Bioresource Technology* 129(0): 439-449.
11. Sacchetti, G., S. Maietti, *et al.* (2005). "Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods." *Food Chemistry* 91(4): 621-632.
12. Scott, S. A., M. P. Davey, *et al.* (2010). "Biodiesel from algae: challenges and prospects." *Current Opinion in Biotechnology* 21(3): 277-286.
13. Sharma (1998). *Textbook of algal*. Pillay, Tata Mc Graw library cataloguing in publication Data.
14. Takagi, M., Karseno, *et al.* (2006). "Effect of salt concentration on intracellular accumulation of lipids and triacylglyceride in marine microalgae *Dunaliella* cells." *Journal of Bioscience and Bioengineering* 101(3): 223-226.
15. Tang, H., M. Chen, *et al.* (2012). "Continuous microalgae cultivation in a photobioreactor." *Biotechnol Bioeng* 109(10): 2468-2474.
16. Tsigie, Y. A., L. H. Huynh, *et al.* (2012). "In situ biodiesel production from wet *Chlorella vulgaris* under subcritical condition." *Chemical Engineering Journal* 213(0): 104-108.
17. Wu, L. F., P. C. Chen, *et al.* (2013). "The effects of nitrogen sources and temperature on cell growth and lipid accumulation of microalgae." *International Biodeterioration & Biodegradation* 85(0): 506-510.
18. Zhou, X., H. Ge, *et al.* (2013). "Evaluation of oil-producing algae as potential biodiesel feedstock." *Bioresource Technology* 134(0): 24-29.