

LỰA CHỌN MỘT SỐ NGUỒN CARBON ĐỂ SẢN XUẤT SINH KHỐI VI KHUẨN TÍA QUANG HỢP CHỨA HÀM LƯỢNG PROTEIN CAO LÀM THỨC ĂN CHO THỦY SẢN

Đỗ Thị Liên^{1*}, Đỗ Thị Tố Uyên¹, Hoàng Phương Hà^{1,2}, Cung Thị Ngọc Mai¹, Lê Thị Nhi Công^{1,2}

¹ Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

² Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

TÓM TẮT

Ứng dụng vi khuẩn tía quang hợp trong nuôi trồng thủy sản đã đóng một vai trò quan trọng để tăng năng suất bằng cách làm giảm ô nhiễm môi trường ao nuôi và cải thiện giá trị dinh dưỡng cho vật nuôi. Vi khuẩn tía quang hợp được sử dụng như nguồn protein đơn bào (SCP) để bổ sung thức ăn giàu protein cho vật nuôi, nguồn thức ăn này hứa hẹn nhiều tiềm năng trong ngành nuôi trồng thủy sản. Hai loài vi khuẩn tía quang hợp *Rhodobacter* sp. và *Rhodopseudomonas* sp. đã được phân lập tại vùng ven biển Thanh Hóa và Nam Định có giá trị dinh dưỡng cao được lựa chọn làm thức ăn cho con giống động vật hai mảnh vỏ. Để tạo chế phẩm ứng dụng chứa hai loài trên có mật độ và hàm lượng protein cao, thí nghiệm được tiến hành với một số nguồn carbon để tìm kiếm và có giá thành thấp. Kết quả cho thấy, chế phẩm sinh trưởng tốt trên các nguồn carbon là succinate, glutamate, malate và ri đường. Sinh khối thu được khi nuôi cấy trên các nguồn này đạt 8,9; 10,93; 11,8; và 8,4 g tươi/L và hàm lượng protein tương ứng là 65,7; 67,8; 68,9 và 61,4%. Kết quả cũng cho thấy khi nuôi chế phẩm trong môi trường có chứa 1,4 g glutamate và 0,6 g malate cho sinh khối và hàm lượng protein cao nhất đạt: 15 g/L ;70 % protein. Trên môi trường chứa glutamate và malate mật độ giống tối ưu bổ sung đạt sinh khối cao là 10%...

Từ khóa: *Rhodobacter*, *Rhodopseudomonas*, vi khuẩn tía quang hợp, sinh khối, protein.

MỞ ĐẦU

Ngày nay, việc sử dụng sinh khối vi sinh vật như nguồn protein bổ sung vào thức ăn của động vật nuôi đang được chú trọng, đặc biệt là trong nuôi trồng thủy sản. Nguồn protein đơn bào từ vi tảo được sử dụng làm thực phẩm thiết yếu cho giai đoạn ấu trùng của cá và của con giống động vật hai mảnh vỏ (Benemann, 1992), bên cạnh đó, nấm men cũng là nguồn protein đơn bào bổ sung vào thức ăn cho vật nuôi cũng như sản xuất con giống. Trong các nhóm vi sinh vật được sử dụng làm thức ăn cho động vật nuôi, ngoài vi tảo và nấm men thì nhóm vi khuẩn tía quang hợp (VKTQH) có nhiều ưu thế được sử dụng là thức ăn cho nuôi trồng thủy sản. Tế bào VKTQH thường chứa hàm lượng cao protein (50 - 74%), hàm lượng carbohydrate chiếm 10 - 27%, lipid từ 0,6 - 22% và chất khoáng 4 - 16% trọng lượng khô (Azad *et al.*, 2001). Thành phần và hàm lượng các amino acid không thay thế của các loài VKTQH này được so sánh tương đương với thịt, đậu và trứng gà (Ponsanoli *et al.*, 2003; Sasikala, Ramana, 1995). Khi so sánh thành phần dinh dưỡng với một số loài tảo, nấm men được sử dụng trong nuôi trồng thủy sản, Kobayashi và Kobayashi M (1995) cho thấy hàm lượng protein và lipid của VKTQH gần như tương đương với vi tảo và cao hơn so với nấm men. Azad và đồng tác giả (2002) đã bổ sung chế phẩm VKTQH không lưu huỳnh loài *R. sulfidophilum* vào thức ăn truyền thống (tảo *S. costatum*) để nuôi tôm sú (*Penaeus monodon*). Kết quả sau 9 ngày nuôi cho thấy, chiều dài của tôm sú khi bổ sung dịch nuôi (chứa 1% sinh khối khô) VKTQH không lưu huỳnh (loài *R. sulfidophilum*) đạt $6,13 \pm 0,05$ mm và khi bổ sung dịch nuôi (chứa 2% sinh khối khô) VKTQH không lưu huỳnh đạt $6,88 \pm 0,18$ mm, tỷ lệ sống sót là 46% cao hơn nhiều so với không bổ sung dịch nuôi VKTQH không lưu huỳnh (Azad *et al.*, 2002). Kết quả tương tự khi nhóm tác giả Chumpol và đồng tác giả tại Thái Lan đã sử dụng chế phẩm VKTQH không lưu huỳnh bổ sung vào thức ăn nuôi tôm công nghiệp đã làm tăng tỷ lệ sống sót (85%) so với thức ăn không bổ sung (80%). Nhóm tác giả cũng đã kết luận bổ sung chế phẩm VKTQH như protein đơn bào (SCP) ở mức tối ưu là nguồn protein hiệu quả để tăng cường sự sinh trưởng cũng như sự sống sót của tôm. Với các đặc tính quý của VKTQH, việc tìm kiếm và phát triển sản xuất sinh khối để bổ sung vào tập hợp thức ăn tươi sống đã và đang được quan tâm nghiên cứu. Hai loài vi khuẩn tía quang hợp *Rhodobacter* sp., *Rhodovulum* sp. và *Rhodopseudomonas* sp. đã được phân lập tại vùng ven biển Thanh Hóa và Nam Định có giá trị dinh dưỡng cao được lựa chọn làm thức ăn cho con giống động vật hai mảnh vỏ. Hỗn hợp 3 loài này đã được thử nghiệm đối với sản xuất con giống ngao, hào, tu hải... cho thấy tỷ lệ sống sót và kích thước con giống tương đương như khi sử dụng thức ăn là

vi tảo. Để sản xuất sinh khối ở quy mô pilot, chúng tôi tiến hành lựa chọn một số nguồn carbon để tìm kiếm, có giá thành thấp cho năng suất sinh khối và hàm lượng protein cao.

NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Nguyên liệu

Chủng giống: Hỗn hợp VKTQH dùng để làm thức ăn cho con giống động vật hai mảnh vỏ chứa 4 chủng: *Rhodospseudomonas* sp. 311, *Rhodospseudomonas* sp. 517, *Rhodobacter* sp. NDT6 và *Rhodobacter* sp. 86 (được phân lập từ vùng ven biển Nam Định và Thanh Hóa) đã được tuyển chọn có giá trị dinh dưỡng cao nhất như amino acid tương đối cao, đặc biệt là hàm lượng amino acid không thay thế như leucine, lysine, phenylalanine ... và hàm lượng các acid béo không no tổng số cao.

Môi trường: Sử dụng môi trường DSMZ 27 bao gồm các thành phần sau: cao nấm men (0,3 g/L), succinate - Na (1 g/L), acetate (1 g/L), K_2HPO_4 (1 g/L), KH_2PO_4 (0,5 g/L), $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (0,4 g/L), $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ (0,05 g/L), NH_4Cl (0,4 g/L), vi lượng SL6(*) (1 ml/L), dung dịch vitamin B₁₂(**) (0,4 mL/L), Nước cất (1000 mL), NaCl (20 g/L), pH (6,8). Dung dịch vi lượng SL6 (mg/L): HCl (25%) 6,5 mL; $FeCl_2 \cdot 4H_2O$ 1,5 g; H_3BO_3 0,3 g; $MnCl_2 \cdot 2H_2O$ 0,03 g; $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ 0,2 g; $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,1 g; $CuCl_2 \cdot 2H_2O$ 17 mg; $NiCl_2 \cdot 6H_2O$ 24 mg; $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$ 36 mg, H_2O 993 ml. Dung dịch vitamin B₁₂: 10 mg trong 100 ml nước được khử trùng bằng màng lọc và bổ sung vào môi trường trước khi sử dụng.

Phương pháp

Phương pháp nuôi cấy vi khuẩn tía quang hợp không lưu huỳnh: VKTQH từ ống giống thạch nghiêng được cấy chuyển sang các bình thủy tinh hình trụ chứa dịch môi trường DSMZ 27. Môi trường trong các bình được sục khí nitrogen qua màng lọc vô trùng thay thế khí oxygen trong môi trường sao cho nồng độ oxygen hòa tan ~ 0 mg/L. Giống VKTQH được nuôi trong ống thủy tinh V = 12 mL hoặc bình thủy tinh V = 100 mL chứa môi trường DSMZ 27 ở điều kiện kỵ khí, chiếu sáng bằng đèn sợi đốt 60W từ 72h - 120h và khi sinh trưởng của các chủng VKTQH ở pha log với mật độ tế bào khoảng 10^9 thì được cấy vào bình thí nghiệm khoảng 5 - 10% (v/v) để đạt mật độ ban đầu. Các bình thí nghiệm có thể tích 500 mL chứa môi trường DSMZ 27, trong đó nguồn carbon được thay thế bằng các nguồn carbon thí nghiệm với nồng độ 2 g/L.

Đánh giá sinh trưởng của vi khuẩn tía quang hợp: Sinh trưởng của các chủng VKTQH được đánh giá bằng cách xác định độ hấp thụ của dịch huyền phù tế bào tại bước sóng 800 nm (OD_{800}), vì trong tế bào VKTQH bacteriochlorophyll (Bchl) có cực đại hấp thụ ở 800 nm và độ hấp thụ này tỷ lệ với hàm lượng Bchl và do vậy tỷ lệ thuận với sinh khối của tế bào. Các chỉ số này được đo trên máy quang phổ Novaspec II hoặc máy quang phổ UV - 1650PC.

Phương pháp ly tâm thu sinh khối: Sinh khối VKTQH thu được ở cuối pha log được ly tâm ở tốc độ 8000 vòng/phút để thu sinh khối tích lũy được khi nuôi trên các nguồn carbon khác nhau gọi là sinh khối tươi. Sinh khối khô được xác định bằng cách sấy ở 100°C sau 8 giờ.

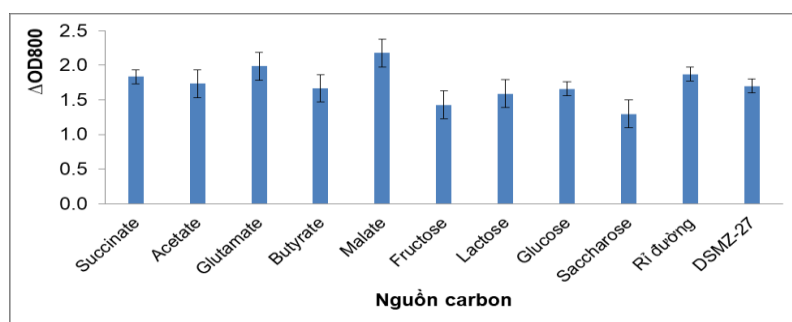
Phương pháp phân tích hàm lượng protein: Protein thô được phân tích theo tiêu chuẩn quốc gia TCVN 8099-1:2015.

Số liệu được trình bày dưới dạng giá trị trung bình của các lần lặp lại thí nghiệm $\pm$ độ lệch chuẩn, sử dụng phần mềm Excel.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Khả năng tích lũy sinh khối trong môi trường chứa các nguồn carbon khác nhau

Mặc dù các chủng VKTQH lựa chọn làm thức ăn cho con giống động vật hai mảnh vỏ sinh trưởng khá tốt trong môi trường DSMZ-27, nhưng nhằm mục đích lựa chọn một số nguồn carbon thích hợp, để tìm kiếm bổ sung vào môi trường nuôi đạt mật độ sinh khối và có hàm lượng protein cao, chúng tôi tiến hành xác định khả năng tích lũy sinh khối của hỗn hợp các chủng lựa chọn trong môi trường DSMZ-27, trong đó, nguồn carbon của môi trường gốc được loại bỏ hoàn toàn và lần lượt được thay thế bằng các nguồn carbon khác nhau (với nồng độ 2 g/L) như: acetate, succinate, glutamate, malate, butyrate, fructose, glucose, saccharose, lactose và ri đường. Kết quả đánh giá khả năng tích lũy sinh khối của hỗn hợp 4 chủng nghiên cứu sau 5 ngày nuôi cấy trong điều kiện kỵ khí, có chiếu sáng được thể hiện trên Hình 1 và Hình 2.



Hình 1. Mức độ tích lũy sinh khối của hỗn hợp VKTQH trong môi trường chứa nguồn carbon khác nhau

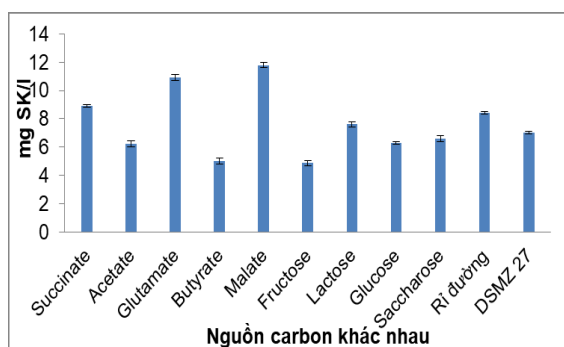


Hình 2. Hình ảnh hỗn hợp VKTQH nuôi trong môi trường chứa nguồn carbon khác nhau

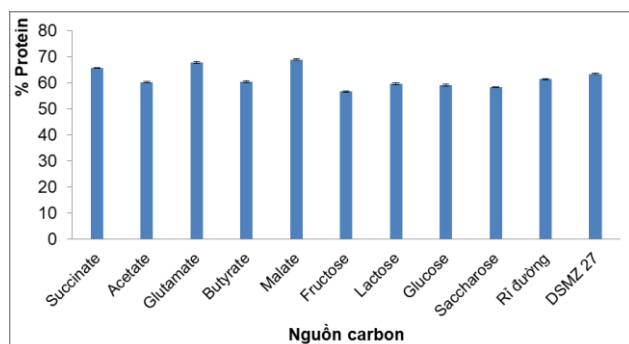
Kết quả cho thấy: hỗn hợp 4 chủng VKTQH làm thức ăn cho con giống động vật hai mảnh vỏ có khả năng sinh trưởng khá tốt trên các nguồn carbon thử nghiệm như: acetate, succinate, glutamate, malate, butyrate, fructose, glucose, saccharose, lactose và rỉ đường, trong đó, chúng sinh trưởng tốt nhất trong môi trường có chứa nguồn malate, nguồn succinate, glutamate và rỉ đường cũng là các nguồn được ưa thích đối với hỗn hợp 4 chủng VKTQH nghiên cứu.

Ngoài khả năng sinh trưởng, khả năng tích lũy sinh khối cũng được tiến hành đánh giá bằng cách ly tâm thu sinh khối, kết quả được trình bày trên Hình 3.

Kết quả này cũng cho thấy khả năng tích lũy sinh khối cao nhất khi hỗn hợp VKTQH được nuôi cấy trên nguồn carbon là malate, glutamate, succinate và rỉ đường. So với môi trường DZMZ -27 thì khi nuôi trên các môi trường chứa rỉ đường sinh khối tươi tăng 20%, trong môi trường chứa succinate sinh khối tăng 27% trong môi trường chứa glutamate và malate sinh khối tăng 56% và 68% tương ứng. Như vậy, hỗn hợp các chủng VKTQH không lưu huỳnh sử dụng làm thức ăn sinh trưởng tốt hơn, tích lũy sinh khối cao hơn trên môi trường có cơ chất 4 C với hai nhóm carboxyl (malate, succinate), môi trường có cơ chất 5 C với hai nhóm carboxyl, một nhóm amine (glutamate) và trên môi trường chứa rỉ đường so với khi nuôi cấy trên môi trường chứa các nguồn cơ chất khác. Như vậy, kết quả cho thấy hỗn hợp VKTQH sinh trưởng ưa thích nhất là nguồn carbon malate. Nhóm tác giả Saejung và Thammarat đã công bố sử dụng loài *Rhodopseudomonas* sp. CSH01 khi nuôi trong nguồn nước thải đô thị có bổ sung thêm malate thì sinh khối tăng 279%.



Hình 3. Khả năng tích lũy sinh khối của hỗn hợp VKTQH nuôi trong môi trường chứa nguồn carbon khác nhau



Hình 4. Hàm lượng protein thô tổng hợp được khi hỗn hợp VKTQH nuôi trên nguồn C khác nhau

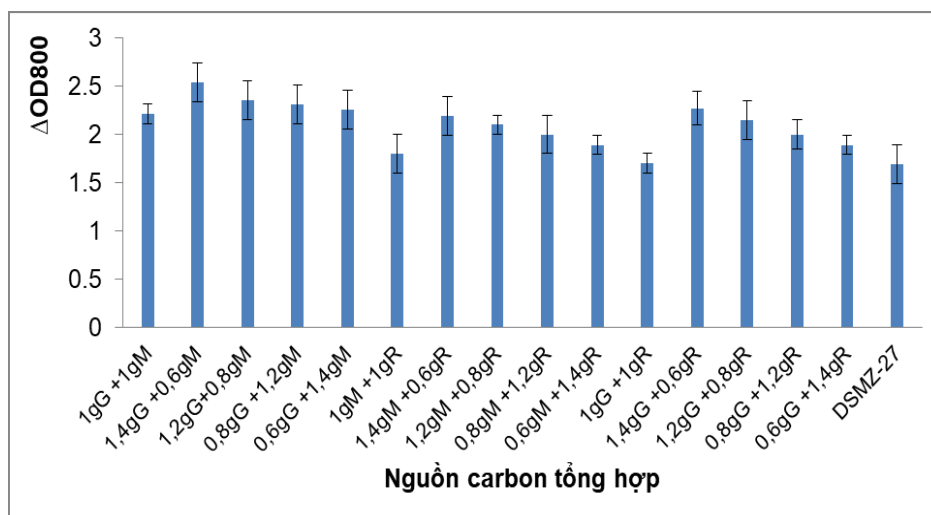
Xác định hàm lượng protein thô trong tế bào khi nuôi cấy trên các nguồn carbon khác nhau

Hỗn hợp các chủng VKTQH nuôi trong môi trường chứa các nguồn C khác nhau, ngoài đánh giá khả năng sinh trưởng, khả năng tích lũy sinh khối, chúng tôi còn đánh giá % hàm lượng protein thô có trong tế bào. Kết quả được trình bày trên Hình 4.

Kết quả xác định hàm lượng protein thô có trong tế bào VKTQH khi nuôi trên môi trường chứa các nguồn C là acetate, succinate, glutamate, malate, butyrate, fructose, glucose, saccharose, lactose và rỉ đường khá cao (từ 61,4 – 68,9%). Tuy nhiên, khi nuôi trên các môi trường chứa các nguồn carbon khác nhau thu được sinh khối khác nhau và hàm lượng protein thô cũng khác nhau. Trong đó, hàm lượng protein thô thu được khi nuôi trên nguồn carbon cao nhất là malate sau đó đến: glutamate, succinate và rỉ đường. Kết quả này cũng tương đương với các công bố của các tác giả khác khi nuôi VKTQH trên các nguồn thải thu được hàm lượng protein khác nhau. Elisa, (2002) đã nuôi cấy loài *Rhodocyclus gelatinosus* từ nước thải của lò mổ gia cầm thu được protein thô 67,6% và được sử dụng làm thức ăn bổ sung cho cá. He (2010) đã sử dụng chủng *Rhodobacter sphaeroides* Z08 nuôi từ nước thải đậu nành thu được 52% protein. Tác giả Worowit và đồng tác giả nuôi 2 loài *Rhodopseudomonas palustris* và *Rhodobacter blasticus* trong nước thải sản xuất mì thu được 50% protein (Worowit, 2014)...Như vậy, hàm lượng protein thô thu được từ hỗn hợp VKTQH khi nuôi trên các nguồn carbon thử nghiệm cao hơn hầu hết các vi khuẩn quang hợp khác (trung bình khoảng 61%), *Chlorella* (55,5%) và tế bào nấm men (50,5%) (Kobayashi and Kurata, 1978).

Lựa chọn môi trường chứa hỗn hợp nguồn carbon để nuôi hỗn hợp VKTQH

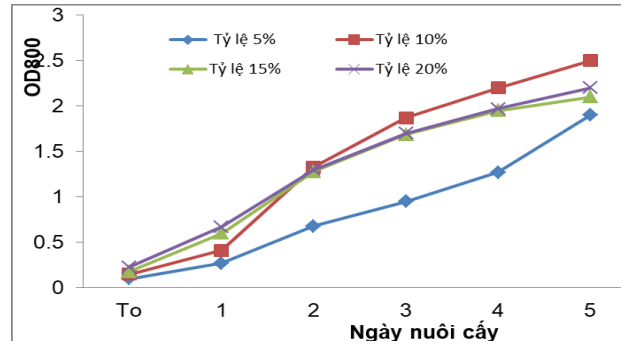
Hỗn hợp các chủng VKTQH sử dụng làm thức ăn có khả năng sinh trưởng tốt, tích lũy sinh khối và có chứa hàm lượng protein tương đối cao khi nuôi trên môi trường có chứa các nguồn carbon là: succinate, glutamate, malate và rỉ đường. Trong đó, succinate là nguồn carbon được nhóm VKTQH tương đối ưa thích, là 1 trong 2 nguồn carbon của môi trường DSMZ -27 (sử dụng nuôi cấy VKTQH). Tuy nhiên, để xuất sinh khối VKTQH ở quy mô pilot tạo chế phẩm lỏng sệt làm thức ăn cho con giống động vật hai mảnh vỏ thì succinate có giá thành cao nhất. Do vậy, nguồn glutamate, malate và rỉ đường có giá thành thấp hơn và dễ tìm kiếm trên thị trường, được lựa chọn bổ sung vào môi trường nuôi. Hơn nữa, với khả năng sử dụng đa dạng nguồn carbon và đồng trao đổi chất khá tốt, khi nuôi đa chủng người ta thường bổ sung vào môi trường 2 nguồn carbon, do vậy chúng tôi cũng thử nghiệm nuôi hỗn hợp trên 2 nguồn thử nghiệm. Hỗn hợp VKTQH được tiến hành nuôi trong môi trường khoáng DSMZ -27, nguồn glutamate, malate và rỉ đường trong môi trường được chọn (chứa 2 g/L) được thay thế bằng cách bổ sung hỗn hợp 2 nguồn carbon như glutamate- malate, glutamate- rỉ đường và malate - rỉ đường với tỷ lệ nồng độ khác nhau. Sau 5 ngày nuôi cấy trong điều kiện kỵ khí, chiếu sáng, kết quả đánh giá khả năng sinh trưởng (ΔOD_{800} và khả năng tích lũy sinh khối (g/l) được thể hiện trên Hình 5 và Hình 6.



Hình 5. Khả năng sinh trưởng của hỗn hợp VKTQH làm thức ăn trên môi trường chứa 2 nguồn carbon tổng hợp
(Chú thích: G: Glutamate; M: Malate; R: rỉ đường)

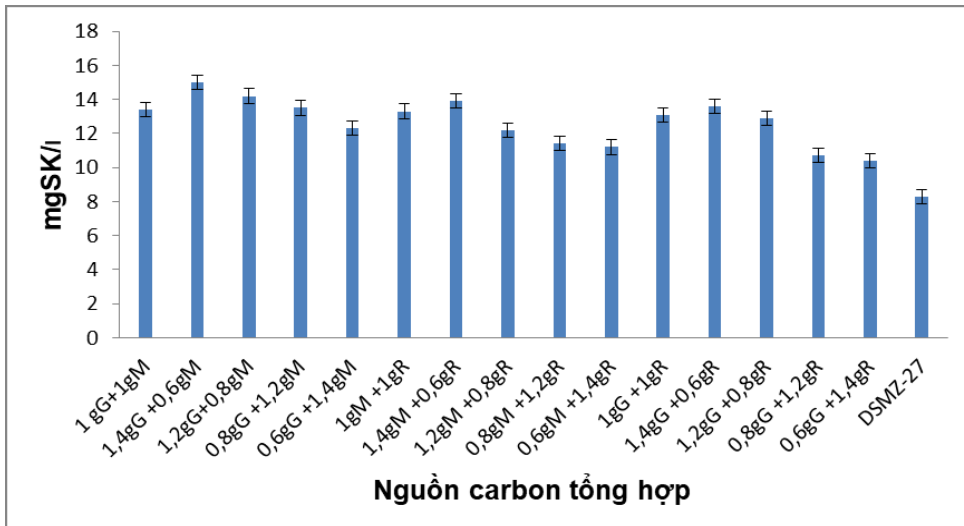


Hình 6. Hình ảnh của hỗn hợp VKTQH làm thức ăn nuôi trong môi trường chứa 2 nguồn carbon tổng hợp (Chú thích: G: Glutamate; M: Malate;)



Hình 7. Ảnh hưởng của tỷ lệ giống ban đầu đến sinh trưởng của hỗn hợp VKTQH trên môi trường lựa chọn

Kết quả về khả năng sinh trưởng thu được cho thấy: khi nuôi cấy hỗn hợp VKTQH trong môi trường có chứa tổng hợp hai nguồn carbon thì sinh trưởng của hỗn hợp VKTQH tốt hơn khi nuôi trên các nguồn carbon đơn lẻ. Hỗn hợp các chủng sinh trưởng tốt hơn khi trong môi trường chứa hai nguồn carbon là glutamate và malate. Trong đó, môi trường chứa 1,4 g glutamate và 0,6 g malate có khả năng sinh trưởng cao nhất. Ngoài khả năng sinh trưởng được đánh giá bằng sự hấp thụ của dịch huyền phù tế bào, khả năng tích lũy sinh khối được đánh giá thể hiện trên Hình 8.



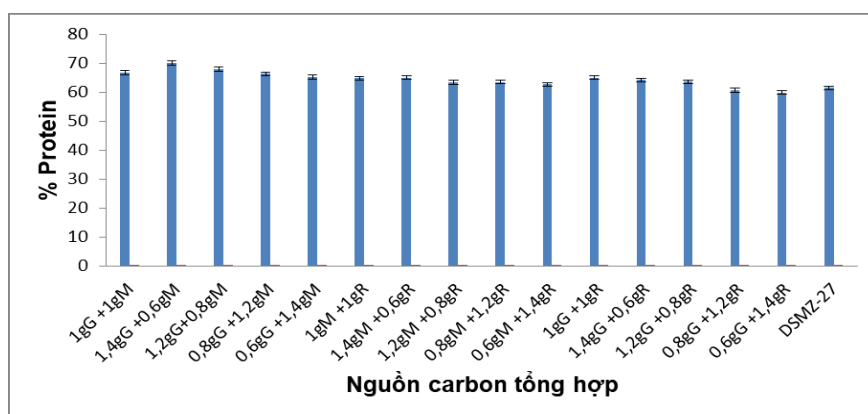
Hình 8. Khả năng tích lũy sinh khối của hỗn hợp VKTQH nuôi trong môi trường chứa hỗn hợp nguồn carbon

(Chú thích: G: Glutamate; M: Malate; R: rỉ đường)

Kết quả từ Hình 8 cho thấy: sinh khối tươi tích lũy trong môi trường khá cao, trong đó cao nhất vẫn là trong môi trường chứa 2 nguồn carbon là glutamate và malate. Ở môi trường cao nhất chứa 1,4 g glutamate và 0,6 g malate sinh khối tươi tích lũy cao hơn 27 - 37% so khả năng tích lũy sinh khối trên môi trường chỉ chứa malate và glutamate, cũng trên môi trường cao nhất so sánh với môi trường cơ bản DSMZ- 27 sinh khối tăng 80%. Như vậy, hỗn hợp các chủng nghiên cứu có khả năng sinh trưởng cũng như tích lũy sinh khối cao nhất trên môi trường có chứa 1,4 g glutamate và 0,6 g malate.

Đánh giá hàm lượng protein thô trong tế bào khi nuôi cấy trên các nguồn carbon hỗn hợp

Về sinh trưởng và tích lũy sinh khối đã tìm ra được môi trường chứa các nguồn carbon ưa thích cho các chủng lựa chọn. cũng trên môi trường nuôi cấy hỗn hợp 2 nguồn carbon, chúng tôi tiến hành đánh giá hàm lượng protein, kết quả thể hiện trên Hình 9.



Hình 9. Hàm lượng protein thô tổng hợp được khi hỗn hợp VKTQH nuôi trên nguồn carbon tổng hợp

Kết quả cho thấy khi nuôi hỗn hợp VKTQH trên hỗn hợp 2 nguồn carbon ngoài sinh trưởng thì khả năng tích lũy sinh khối của chúng khá cao. Hàm lượng protein thô tổng số khi nuôi trên hỗn hợp hai nguồn C đạt 70% cao hơn khi nuôi trên môi trường chứa một nguồn carbon. Trong đó, lượng protein thô tổng hợp được cao nhất cũng được tìm thấy khi nuôi trên môi trường có chứa 1,4 g glutamat và 0,6 g malate. Kết quả này cũng tương tự như nhóm tác giả Kim và đồng tác giả đã nuôi *Rhodopseudomonas palustris* trên môi trường MYC cải tiến với nồng độ malate 0,2% đã thu được 72 - 74% protein thô trong sinh khối để làm thức ăn cho thủy sản. Geetha và đồng tác giả đã sử dụng *Rhodopseudomonas palustris* để sản xuất protein từ bùn và nước thải chế biến tinh bột cọ đạt 72 - 74% và được sử dụng làm thức ăn cho nuôi trồng thủy sản. Do vậy, để sản xuất sinh khối hỗn hợp các chủng lựa chọn ở quy mô pilot, chúng tôi chọn nuôi hỗn hợp VKTQH làm thức ăn trên môi trường chứa hỗn hợp 2 nguồn carbon này với nồng độ 1,4 g glutamate và 0,6 g malate.

Ảnh hưởng của nồng độ giống ban đầu đến sinh trưởng của hỗn hợp chủng

Sau khi tìm được môi trường nuôi thích hợp cho sản xuất giống đạt hàm lượng protein cao, chúng tôi tiến hành tìm kiếm mật độ giống bổ sung vào môi trường cho sinh trưởng tối ưu ở điều kiện tự nhiên. Hỗn hợp giống ban đầu đạt OD800 = 2.0 (tương đương 10^{10} CFU/ml) được bổ sung với mật độ: 5, 10, 15 và 20% trong bình thể tích 500 ml. Kết quả theo dõi sinh trưởng sau 5 ngày nuôi cấy được trình bày trên Hình 9. Từ Hình 9 cho thấy sau 24 h đầu sinh trưởng ở các bình bổ sung giống từ 15% và 20% phát triển nhanh hơn khi bổ sung 5% và 10% giống ban đầu. Sau 2 ngày tỷ lệ giống bổ sung 10% tăng nhanh đạt mật độ tương đương với khi bổ sung 15 và 20%. Sau 3 - 5 ngày ở mật độ bổ sung giống ban đầu 10% tăng nhanh nhất và mật độ cao hơn các bình bổ sung giống như 5, 15 và 20%. Do vậy, mật độ giống ban đầu 10% được chúng tôi lựa chọn để bổ sung vào môi trường chứa 1,4 g glutamate và 0,6 g malate để sản xuất sinh khối hỗn hợp giống VKTQH làm thức ăn ở điều kiện pilot.

KẾT LUẬN

Đã tìm kiếm được nguồn carbon thích hợp cho hỗn hợp hai loài VKTQH sử dụng làm thức ăn cho con giống động vật hai mảnh vỏ, trong đó môi trường chứa 1,4 g glutamate và 0,6 g malate tích lũy sinh khối cũng như hàm lượng protein cao nhất đạt 15 g/L sinh khối tươi và chứa 70% protein. Khi nuôi trên môi trường này lượng giống ban đầu bổ sung vào 10% cho sinh trưởng nhanh.

Lời cảm ơn: Công trình được thực hiện với sự hỗ trợ kinh phí từ Nhiệm vụ phát triển công nghệ Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam mã số UDPTCN.05/19-21 và các trang thiết bị tại Phòng Công nghệ Sinh học môi trường, Viện Công nghệ Sinh học.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Azad S, Chong VC, Vikineswary S (2002). Phototrophic bacteria as feed supplement for rearing *Penaeus monodon* larvae. *J World Aquacult Soc* (33): 158-168.
- Azad S, Vikineswary S, Ramachandran KB and Chong VC (2001) Growth and production of biomass of *Rhodovulum sulfidophilum* in sardine processing wastewater. *Lett Appl Microbiol* 33: 264-268.
- Chumpol S, Kantachote D, Rattanachay P, Vuddhakul V, Nitoda T and Kanzaki H (2016) In vitro and in vivo selection of probiotic purple nonsulphur bacteria with an ability to inhibit shrimp pathogens: acute hepatopancreatic necrosis disease-causing *Vibrio parahaemolyticus* and other vibrios. *Aquacult Res*: 1-16.
- Elisa HGP, Pedro ML, Marcos FP (2003) Chemical composition of *Rhodocyclus gelatinosus* biomass produced in poultry slaughterhouse wastewater, *Braz Arch Biol Technol* 46 (2):

- Getha K, Vikineswary S and Chong VC (1998) Isolation and growth of the phototrophic bacterium *Rhodopseudomonas palustris* Strain B1 in sago-starch processing wastewater. *World J Microbiol Biotechnol* 14, 505–511.
- He J, Zhang G, Lu H (2010) Treatment of soybean wastewater by a wild strain *Rhodobacter sphaeroides* and to produce protein under natural conditions. *Front Environ Sci Eng China* 4:334–339.
- Kobayashi M and Kobayashi M (1995) "Waste remediation and treatment using anoxygenic phototrophic bacteria", *Anoxygenic phototrophic bacteria*. Robert E. Blankenship (Eds). Kluwer Academic Publishers. 1269-1282. 2016, 3055-3061.
- Kobayashi M, Kurata SI (1978.) The mass culture and cell utilization of photosynthetic bacteria. *Process Biochem* 13, 27–30.
- Ponsanol EHG, Lacavaii PM and Pinto MF (2003) Chemical composition of *Rhodocyclus gelatinosus* biomass produced in poultry slaughterhouse wastewater. *Braz Arch Biol Technol* 46: 143-147.
- Saejung C, Thammaratana T (2016) Biomass recovery during municipal wastewater treatment using photosynthetic bacteria and prospect of production of single cell protein for feedstuff, *Environ Technol* 37 (23), 5.
- Sasikala CH and Ramana CH (1995). Biotechnological potential of anoxygenic phototrophic bacteria. Production of single cell protein, Vitamin, Ubiquinone, Hormones and enzymes and use in waste treatment. *Adv Appl Microbiol* 41: 173- 225.
- Tiêu chuẩn quốc gia TCVN 8099-1:2015 (ISO 8968-1:2014) - Xác định hàm lượng nitơ - Phần 1: Nguyên tắc kjeldahl và tính protein thô
- Worowit W, Wilai CC, Pareena TW, Sorawit P (2014) Wastewater from Instant Noodle Factory as the Whole Nutrients Source for the *Microalga Scenedesmus* sp. Cultivation. *Environ Eng Res* 19 (3), 283-287.

SELECTION SOME SOURCES OF CARBON TO PRODUCE BIOMASS OF PHOTOTROPHIC PURPLE BACTERIA CONTAINING HIGH PROTEIN FOR FOOD BIVALVE ANIMAL BREEDS

Do Thi Lien^{1*}, Do Thi To Uyen¹, Hoang Phuong Ha^{1,2}, Cung Thi Ngoc Mai¹, Le Thi Nhi Cong^{1,2}

¹ Institute of Biotechnology, Vietnam Academy of Science and Technology

² Graduate University of Science and Technology, Vietnam Academy of Science and Technology

SUMMARY

The application of phototrophic purple bacteria in aquaculture has been playing a vital role to increase the production yield by reducing pollution ponds and improving the nutrition value. Phototrophic purple bacteria as single cell protein (SCP) appear to be a promising substitution for protein rich supplement for aquaculture feeds making them a potential growth enhancer in aquaculture industry. Two species of phototrophic purple bacteria, *Rhodobacter* sp. and *Rhodopseudomonas* sp. have been isolated from Thanh Hoa and Nam Dinh coastal zones with high nutritional value selected as food for bivalve animal breeds. To create application preparations including three species of phototrophic purple bacteria containing high density and protein, experiments with low-cost and easy-to-find carbon were conducted. The results showed that preparations of phototrophic purple bacteria grow well on carbon sources are succinate, glutamate, malate and molasses. Biomass and protein obtained from culturing on these sources reached 8.9; 10.93; 11.8 and 8.4 g (fresh cell mass) per liter and the protein content: 65.7; 67.8; 68.9 and 61.4% respectively. The results also showed that when preparations of phototrophic purple bacteria grow on media containing 1.4 g glutamate and 0.6 g malate which harvesting highest biomass and protein reached 15 g/l, 70% protein, respectively. On the media containing glutamate and malate, the optimal inoculum size of high biomass was 10%...

Keywords: *Rhodobacter*; *Rhodopseudomonas*; phototrophic purple bacteria; biomass; protein,

* Author for correspondence: Tel: +84-0973161388; Email: lien.ibt@gmail.com