

THIẾT KẾ HỆ THỐNG BIOREACTOR KIỂM SOÁT NHIỆT ĐỘ VÀ pH TRONG NUÔI CẤY VI SINH VẬT TẠI VIỆN KHCN&QL MÔI TRƯỜNG, ĐH CÔNG NGHIỆP TPHCM

NGUYỄN HOÀNG MỸ¹, ĐỖ TÂN KHOA², HỒ ĐỨC LINH¹,
PHAN THỊ XUÂN LINH¹, NGUYỄN CHÍ THÀNH¹

¹ Trường Đại học Công nghiệp Thành phố Hồ Chí Minh,

² Trung tâm đào tạo KCN Thành phố Hồ Chí Minh

hoangmy554@gmail.com

Tóm tắt. Bioreactor là hệ thống nuôi cấy nhằm thu nhận sinh khối hoặc sản phẩm vi sinh vật. Trong lĩnh vực môi trường, sinh khối được bổ sung vào các hệ thống xử lý giúp gia tăng quần thể vi sinh vật có lợi trong nước thải. Hệ thống được thiết kế trên vật liệu inox 304 có dung tích nuôi cấy từ 2 đến 10 lít phù hợp cho các nghiên cứu ứng dụng quy mô pilot. Hệ thống sử dụng phương pháp gia nhiệt qua thành với cảm biến nhiệt PT100, điều chỉnh nhiệt độ trong khoảng 30-80°C; đầu dò pH của hãng Atlas Scientific biên độ đo 0-14; có đèn UV để tiệt trùng, màn hình hiển thị các thông số cài đặt, van điều khiển lưu lượng khí; có thể nuôi cấy theo mẻ hoặc nuôi cấy liên tục nhờ van nạp và van xả. Hệ thống có thể điều khiển bằng tay hoặc bằng phần mềm Bioreactor HC06 cài đặt trên điện thoại thông minh kết nối qua Bluetooth.

Từ khóa: bioreactor, nuôi cấy, sinh khối vi sinh vật, xử lý nước thải.

DESIGN BIOREACTOR TO CONTROL TEMPERATURE AND pH FOR MICROORGANISM CULTURE AT INSTITUTE OF ENVIRONMENTAL SCIENCE, ENGINEERING AND MANAGEMENT; INDUSTRIAL UNIVERSITY OF HO CHI MINH CITY

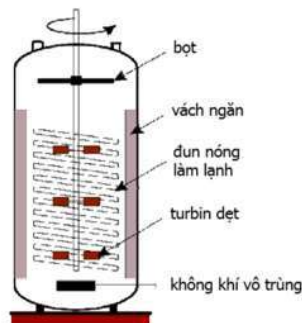
Abstract. Bioreactor is a culture equipment for capturing biomass or microbial products. In the field of environment, biomass is added to treatment systems to increase the beneficial microbial population in wastewater. The bioreactor is designed on 304 stainless steel with culture capacity from 2 to 10 liters suitable for pilot scale applications. The system uses the method of heating through the wall with PT100 temperature sensor, adjusting the temperature in the range of 30-80°C; the Atlas Scientific pH probe measuring range 0-14; with the UV light for sterilization, the screen to display of setting parameters, the air-flow-control valve. The system can be used for for batch culture or continuous culture through intake and exhaust valves. The system can be controlled manually or by software Bioreactor HC06 installed on a smartphone connected via Bluetooth.

Keywords: bioreactor, culture, microbial bioass, waste water treatment.

1 GIỚI THIỆU

Bioreactor hay còn gọi là hệ thống lên men về cơ bản như là một nồi phản ứng sinh học trong đó sử dụng một thùng chứa để nuôi giữ các tế bào nhằm khai thác các quá trình sinh hóa, thu nhận sinh khối hoặc các sản phẩm chuyển hóa thứ cấp. Hệ thống cung cấp môi trường dinh dưỡng và các điều kiện nuôi cấy có kiểm soát để tế bào phát triển theo đúng mục đích khai thác [10, 13]. Bioreactor có thể sử dụng để nuôi cấy các tế bào vi sinh vật, động vật, thực vật ... liên tục hoặc theo mẻ, trong điều kiện hiếu khí hoặc kỵ khí. Vật liệu thiết kế có thể bằng inox, thép không gỉ, hợp kim kháng khuẩn, thủy tinh chịu lực ... Kích

thước hệ thống có thể ở quy mô phòng thí nghiệm từ 1 đến 50 lít, quy mô pilot từ 0,3 đến 10m³ hoặc quy mô công nghiệp từ 2 đến 500m³ thường có tỷ lệ chiều cao trên đường kính của thùng lên men hoặc là 2/1 hoặc là 3/1 [8,9].



Hình 1. Thiết kế cơ bản của một hệ thống bioreactor

pH. Đầu dò pH có thể gắn trong hệ thống hoặc rời bên ngoài. Nhiệt độ được điều chỉnh bằng hệ thống gia nhiệt đặt dưới đáy hoặc gia nhiệt qua thành. Phương pháp gia nhiệt qua thành kết hợp với dòng dung dịch bên trong giúp quá trình kiểm soát nhiệt độ nhanh và chính xác hơn, đồng thời ít ảnh hưởng đến các tế bào tiếp xúc gần với vị trí gia nhiệt [6,13].

Trong điều kiện nuôi cấy theo mẻ, tế bào vi sinh vật phát triển theo các giai đoạn tiền phát, logarit, cân bằng và suy vong. Trong điều kiện nuôi cấy liên tục, tế bào vi sinh vật được cung cấp dinh dưỡng sẽ tiếp tục duy trì ở pha cân bằng. Pha logarit là giai đoạn tế bào phân chia làm gia tăng sinh khối nhanh nhất, đồng thời cũng là pha tiêu tốn nhiều dinh dưỡng của môi trường nuôi cấy. Pha cân bằng thường gia tăng các sản phẩm phụ thứ cấp, các chất trao đổi giữa tế bào và môi trường làm ảnh hưởng nhiều đến thành phần môi trường. Cuối pha logarit, đầu pha cân bằng thường là giai đoạn tốt nhất cho việc thu nhận sinh khối tế bào. Pha cân bằng là giai đoạn tốt nhất cho việc thu nhận sản phẩm chuyển hóa thứ cấp. Tùy vào mục đích nuôi cấy để lựa chọn hình thức và thời điểm thích hợp để hiệu suất nuôi cấy là tối đa [2,10,14].

Trong các công trình xử lý nước thải, việc sử dụng sinh khối vi sinh vật cho giai đoạn khởi động hoặc bổ sung sau tái tuần hoàn bùn là một vấn đề bắt buộc. Sinh khối này có thể ở dạng đông khô hoặc dạng nước, được thu nhận sau quá trình nuôi cấy trong các bioreactor công nghiệp. Các chủng vi sinh vật này phải được nghiên cứu khả năng thích nghi với nguồn dinh dưỡng và các điều kiện lý hóa đặc trưng của từng loại nước thải, từ đó đánh giá khả năng làm giảm chất hữu cơ như nitơ, carbon, phospho Sau đó, các chủng vi sinh vật được tuyển chọn phải qua giai đoạn thử nghiệm pilot trong phòng thí nghiệm trên các mô hình xử lý nước thải mô phỏng các hệ thống thực tế. Tại Viện Khoa học công nghệ và quản lý môi trường, các mô hình được thiết kế có khả năng xử lý từ 50 – 100 lít nước thải, tùy theo công nghệ và phương pháp sử dụng. Tương ứng với thể tích nước thải trên, nếu vi sinh vật có mật độ $10^6 - 10^9$ tế bào/ml thì cần sử dụng từ 2 đến 10 lít sản phẩm dung dịch sau nuôi cấy. Thể tích cụ thể phải được tính toán dựa trên hàm lượng chất rắn lơ lửng trong hỗn hợp dễ bay hơi (MLVSS - đại diện cho mật độ vi sinh vật có trong bùn hoạt tính), tỷ số F/M (thức ăn/vi sinh vật) và mức độ ô nhiễm của nước thải. Thông thường, các chủng vi sinh vật tiềm năng sẽ được nuôi cấy trong các bình tam giác trên máy lắc. Lắc nhẹ bình tam giác rất hiệu quả để tạo ra dịch huyền phù tế bào, tăng cường sự oxy hóa thông qua bề mặt chất lỏng và trợ giúp sự chuyển khối của các chất dinh dưỡng mà không gây nguy hiểm cho cấu trúc tế bào. Tuy nhiên phương pháp này có hiệu quả không cao và khó kiểm soát các điều kiện nuôi cấy. Mặc khác, dung tích bình tam giác không đủ cho việc thu nhận một thể tích sản phẩm cho các mô hình thực nghiệm xử lý nước thải [6,8,9]. Vì vậy, cần thiết phải có một hệ thống mô phỏng bioreactor trong công nghiệp, nhưng với thể tích phù hợp, vận hành đơn giản để phục vụ giảng dạy và các nghiên cứu ứng dụng của sinh viên và giảng viên.

2 PHƯƠNG PHÁP THÍ NGHIỆM

2.1 Phương pháp nghiên cứu thiết kế

- Sử dụng phần mềm Autocad 2D và solidwork để thiết kế và vẽ mô hình với các yêu cầu: (1) thể tích từ 2 đến 10 lít, (2) gia nhiệt trong khoảng 30 đến 80°C, (3) điều chỉnh pH trong khoảng 1 đến 14, (4) có khả năng sục khí, tiệt trùng, (5) có thể bổ sung dung dịch dinh dưỡng hoặc thu nhận sản phẩm theo từng mẻ, (6) dễ vận hành và kiểm soát trong quá trình giảng dạy, thực hiện nghiên cứu.

- Từ bản vẽ, tiến hành gia công trên vật liệu inox 304. Đây là chất liệu inox chống ăn mòn cao, chịu nhiệt tốt, dễ tạo hình, gia công được bằng tất cả phương pháp hàn, không có từ tính, có khả năng đàn hồi cao, giá thành hợp lý cho việc gia công thiết kế. Mặt khác, sử dụng hệ thống bằng vật liệu inox trong quá trình giảng dạy, nghiên cứu sẽ đảm bảo về mặt an toàn cho sinh viên so với chất liệu thủy tinh.

- Nâng cao khả năng giám sát hệ thống bằng phần mềm kết nối với điện thoại thông minh qua Bluetooth: dễ dàng cài đặt và sử dụng trên các điện thoại Android, có thể hiển thị số liệu và điều khiển trực tiếp từ điện thoại.

2.2 Phương pháp đánh giá vận hành hệ thống

2.3.1. Thí nghiệm vận hành đánh giá khả năng ổn định nhiệt độ, pH và thời gian nuôi cấy theo mẻ

- Sau khi tiệt trùng hệ thống bằng đèn UV trong 30 phút, tiến hành các thí nghiệm:

- Thí nghiệm 1: Sử dụng giống vi khuẩn Bacillus cho vào hệ thống cùng môi trường cao thịt peptone đã tiệt trùng và điều chỉnh ở pH7. Gia nhiệt ở 3 khoảng nhiệt độ là 30°C, 40°C, 50°C. Mỗi khoảng nhiệt độ cài đặt trong 24 giờ. Đánh giá hiệu quả nuôi cấy thông qua mật độ vi khuẩn.

- Thí nghiệm 2: Sử dụng giống vi khuẩn Bacillus cho vào hệ thống cùng môi trường cao thịt peptone đã tiệt trùng. Cài đặt nhiệt độ ở 30°C. Điều chỉnh pH với các giá trị pH 5, 6, 7, 8. Mỗi khoảng pH ổn định trong 24h. Đánh giá hiệu quả nuôi cấy thông qua mật độ vi khuẩn.

- Thí nghiệm 3: Sử dụng giống vi khuẩn Bacillus cho vào hệ thống cùng môi trường cao thịt peptone đã tiệt trùng. Cài đặt nhiệt độ 30°C, pH 7, đánh giá hiệu quả nuôi cấy thông qua mật độ vi khuẩn vào thời điểm 24 giờ, 48 giờ, 72 giờ và 96 giờ.

Trong đó, Thí nghiệm 1 đánh giá khả năng ổn định nhiệt độ của bộ gia nhiệt. Thí nghiệm 2 đánh giá khả năng ổn định pH của đầu dò. Thí nghiệm 3 đánh giá sự ổn định của hệ thống sau khoảng thời gian dài nuôi cấy. Mỗi thí nghiệm lặp lại 3 lần và tiến hành ở hai mức thể tích 3 lít và 8 lít nhằm đánh giá khả năng ổn định của hệ thống ở tất cả các vị trí bên trong lòng ngăn chứa dịch nuôi cấy. Đồng thời kiểm tra khả năng pha trộn dung dịch của hệ thống sục khí ở các mức thể tích thấp và cao.

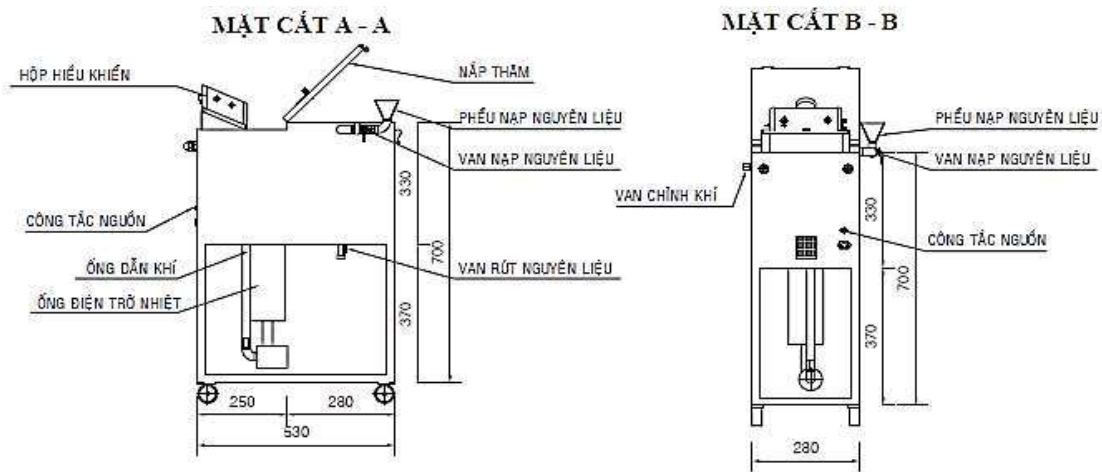
2.3.2. Thí nghiệm vận hành đánh giá khả năng ổn định của hệ thống khi nuôi cấy liên tục

- Sau khi tiệt trùng hệ thống bằng đèn UV trong 30 phút, sử dụng giống vi khuẩn Bacillus cho vào hệ thống cùng 5 lít môi trường cao thịt peptone đã tiệt trùng. Cài đặt nhiệt độ 30°C, pH 7. Sau mỗi 5 giờ, mở van xả thu nhận 1 lít sản phẩm sau nuôi cấy và đồng thời mở van nạp để bổ sung vào 1 lít môi trường mới. Tiến hành 4 lần. Đánh giá hiệu quả thông qua mật độ vi khuẩn thu nhận được trong sản phẩm.

3 KẾT QUẢ

3.1 Kết quả thiết kế hệ thống bioreactor

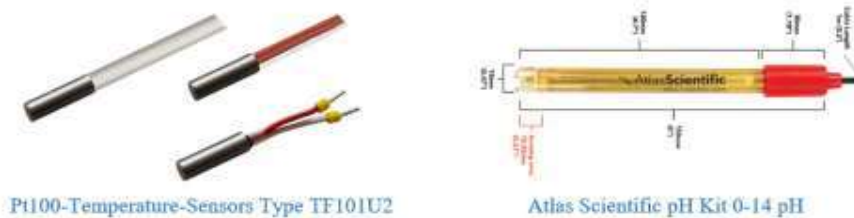
Theo các tính toán trên phần mềm thiết kế, để đạt được thể tích mong muốn từ 2 đến 10 lít và tỷ lệ chiều cao trên đường kính của thùng lên men hợp lý, hệ thống bioreactor lựa chọn thông số chiều dài 530cm, chiều rộng 280cm, chiều cao 700cm bao gồm 2 ngăn nối liền với nhau. Ngăn 1 là tủ điện, nơi lưu thông khí để tản nhiệt vào xung quanh thành của ngăn 2. Phía trên là hệ thống điều khiển có màn hình thể hiện ngày giờ, nhiệt độ, pH, công tắc đèn UV, van điều chỉnh lưu lượng khí. Bộ phận gia nhiệt được đặt bên dưới cùng quạt làm mát Ngăn 2 là nơi chứa dịch nuôi cấy, có ống dẫn khí, van xả bên dưới; van bổ sung dinh dưỡng bên hông (hình 2).



Hình 2. Bản vẽ hệ thống bioreactor

Đối tượng sử dụng chính của hệ thống bioreactor là các chủng vi khuẩn hiếu khí. Để đảm bảo quá trình nuôi cấy thu nhận được đúng chủng vi khuẩn mục tiêu, hệ thống đèn UV được bố trí ở nắp đậy của ngăn 2, công tắc ở bộ điều khiển của ngăn 1.

Lựa chọn phương pháp gia nhiệt qua thành để giảm thiểu sự ảnh hưởng đến tế bào, nên bộ phận gia nhiệt được đặt bên dưới ngăn 1, cùng với hệ thống quạt làm mát, lưu thông không khí để tản nhiệt vào ngăn 2. Cảm biến nhiệt PT100 (dòng sản phẩm TF101U2) sử dụng trong hệ thống là một đầu dò chuyển đổi nhiệt độ tại khu vực đo được thành tín hiệu điện ở đầu ra. Đầu dò nhiệt độ có điện trở làm bằng bạch kim (platinum) có độ chính xác cao, chịu được áp lực, chống rung, thích hợp sử dụng trong các dung dịch lỏng có khuấy trộn. Bao bọc bên ngoài là vỏ thép không gỉ V4A cùng lớp bảo vệ IP66. Đối với pH, hệ thống dùng đầu dò của hãng Atlas Scientific biên độ đo 0-14 đặt dưới đáy của ngăn 2. Đầu dò được bọc một lớp màng mỏng bằng thủy tinh cho phép ghi nhận sự khác biệt nồng độ ion H^+ bên trong và ngoài màng. Từ sự khác biệt đó, đầu dò xác định giá trị pH tương quan (Hình 3).



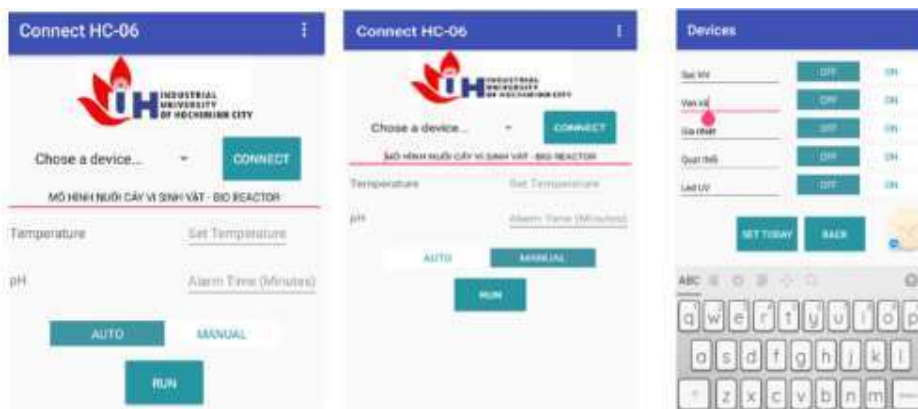
Hình 3. Cảm biến nhiệt độ và đầu dò pH sử dụng trong hệ thống

Với thể tích nhỏ nên hệ thống không sử dụng cánh khuấy mà tận dụng quá trình sục khí để tạo dòng pha trộn dung dịch với tế bào nuôi cấy. Ống sục khí được đặt dưới đáy ngăn 2 có van điều chỉnh tốc độ sục khí. Ngoài ra, còn có van nạp để bổ sung nguyên liệu, dung dịch dinh dưỡng từ phía hông và van xả để lấy bớt sản phẩm sau nuôi cấy được đặt phía dưới ngăn 2. Cả hai van này thông trực tiếp vào dung dịch nuôi cấy bên trong ngăn 2, phục vụ cho quá trình nuôi cấy theo mẻ mà không cần mở nắp ngăn (Hình 4).



Hình 4. Hệ thống bioreactor thiết kế trên vật liệu inox 304

Để tăng thêm hiệu quả và thuận tiện trong quá trình sử dụng, phần mềm Bioreactor HC-06 dùng điều khiển hệ thống thông qua kết nối bluetooth với điện thoại thông minh. Phần mềm có cài đặt chế độ tự động (AUTO) cho hệ thống hoặc chế độ điều khiển bằng tay (MANUAL). Chế độ tự động cho phép cài đặt nhiệt độ và thời gian. Chế độ điều khiển bằng tay cho phép cài đặt và điều chỉnh thêm chức năng sục khí, quạt và đèn UV (Hình 5).



Hình 5. Màn hình ứng dụng Bioreactor HC-06



Các bước vận hành như sau:

- Bước 1: Bật đèn UV trong 30 phút để khử trùng hệ thống
- Bước 2: Cho môi trường dinh dưỡng và giống vi sinh vật
- Bước 3: Bật Bluetooth trên điện thoại → Chọn thiết bị kết nối “choose a device” → chọn CONNECT (HC-06)
- Bước 4: Chọn chế độ AUTO hoặc MANUAL
- Bước 5: Cài nhiệt độ muốn nuôi cấy – set temperature
- Bước 6: Cài thời gian nuôi cấy – Alarm Time (phút)
- Bước 7: Chạy mô hình – RUN

Hình 6. Màn hình trên bộ điều khiển hệ thống khi được cài đặt

Ưu điểm của phần mềm Bioreactor HC-06 là dễ dàng cài đặt trên tất cả điện thoại thông minh android, thao tác dễ sử dụng. Tuy nhiên nhược điểm là chỉ có thể kết nối với hệ thống bioreactor thông qua Bluetooth. Điều này làm giới hạn về khoảng cách kiểm soát cho người dùng.

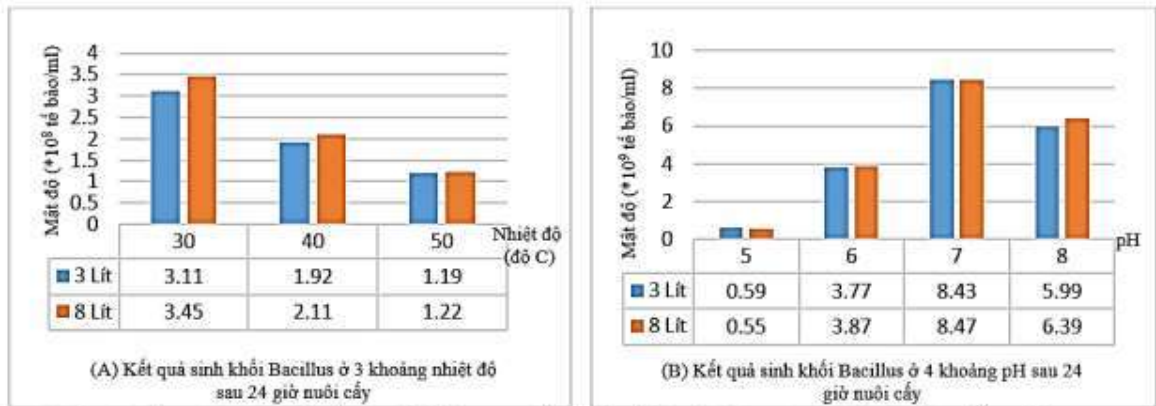
3.2 Kết quả đánh giá vận hành hệ thống

3.2.1. Kết quả thí nghiệm vận hành đánh giá khả năng ổn định nhiệt độ, pH và thời gian nuôi cấy theo mẻ

Mỗi tế bào vi sinh vật có một khoảng nhiệt độ và pH tối thích cho sự phát triển, vì vậy, đây là hai thông số cần ổn định chính xác trong suốt thời gian nuôi cấy [7]. Đối với nuôi cấy vi khuẩn, thông thường nhiệt độ tối ưu từ 25 – 35°C. Một số nhóm ưa nhiệt có thể cần ở nhiệt độ cao hơn từ 50 – 80°C [5]. Hệ thống được thiết kế theo phương pháp gia nhiệt qua thành nên thời gian để nhiệt độ phân tán đều cho toàn bộ dung dịch trong môi trường tương đối chậm. Tuy nhiên, điều này làm giảm sự tác động đột ngột của nhiệt độ đến tế bào và giúp cho sự phân tán nhiệt trong dung dịch đều đặn ổn định hơn [6].

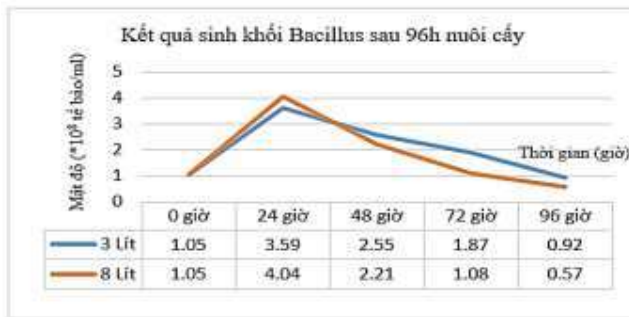
Trong quá trình nuôi cấy, giá trị pH được theo dõi liên tục để giữ môi trường trong phạm vi tối ưu cho vi sinh vật phát triển. Thông thường, pH tối ưu cho các vi khuẩn hiếu khí là 6-7, tuy nhiên, giá trị pH thường giảm trong quá trình vi sinh vật phát triển. Khi đó, dung dịch NaOH được sử dụng để cân bằng lại pH được thiết lập ban đầu [7].

Ở thí nghiệm 1, sinh khối thu nhận được ở nhiệt độ 30°C là cao nhất, trung bình là $3,11 \times 10^8$ tế bào/ml ở thể tích nuôi cấy 3 lít và $3,45 \times 10^8$ tế bào/ml ở thể tích nuôi cấy 8 lít. Ở nhiệt độ 50°C, sinh khối giảm đáng kể, còn 1,19 đến $1,22 \times 10^8$ tế bào/ml ở cả 2 mức thể tích. Ở thí nghiệm 2, sinh khối cao nhất thu nhận được ở pH 7 là 8,43 và $8,47 \times 10^9$ tế bào/ml ở mức thể tích tương ứng 3 lít và 8 lít. pH 5 có lượng sinh khối thấp nhất, dưới 1×10^9 tế bào/ml. Ở cả hai thí nghiệm, các kết quả thu được không có sự khác biệt đáng kể ở hai mức thể tích 3 lít và 8 lít (Hình 7). Tuy nhiên, trong quá trình vận hành, nhận thấy ở mức thể tích 3 lít, thời gian gia nhiệt của hệ thống đến nhiệt độ cài đặt từ 10 đến 15 phút. Ở mức thể tích 8 lít, thời gian gia nhiệt từ 30 đến 40 phút. Các mẫu dịch sau nuôi cấy ở nhiệt độ 50°C và pH 5, khi quan sát dưới kính hiển vi quang học có sự xuất hiện của tế bào mang bào tử Bacillus. Nhiều nghiên cứu về sinh trưởng phát triển của Bacillus đều cho thấy trong điều kiện nuôi cấy lỏng, vi khuẩn Bacillus tăng trưởng tối ưu ở nhiệt độ 37°C, pH 7, tốc độ phân chia tối đa của Bacillus sau 40-50 phút. Ở nhiệt độ cao, giá trị pH bất lợi, hoặc điều kiện dinh dưỡng thấp, Bacillus có khả năng tạo bào tử nên vẫn tồn tại trong dịch nuôi cấy nhưng không có sự gia tăng sinh khối [1,4,15].



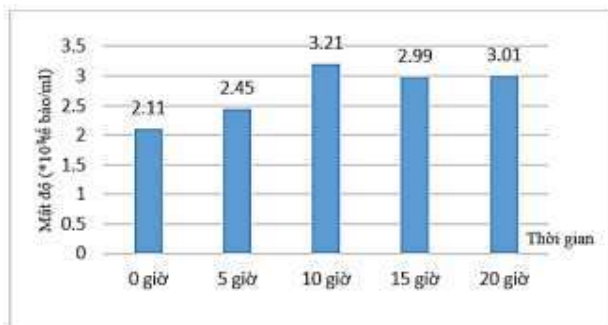
Hình 7. Kết quả vận hành đánh giá khả năng ổn định nhiệt độ (A) và pH (B) của hệ thống bioreactor

Ở thí nghiệm 3, kết quả ở hình 8 cho thấy ở cả hai mức thể tích 3 lít và 8 lít, đồ thị biểu diễn hàm lượng sinh khối Bacillus thu được đều đi theo thứ tự các giai đoạn của nuôi cấy theo mẻ. Với mật độ giống ban đầu là $1,05 \times 10^8$ tế bào/ml, sau 24 giờ, mật độ tế bào đạt $3,59$ đến $4,04 \times 10^8$ tế bào/ml, sau đó giảm dần qua 48 giờ, 72 giờ và 96 giờ. Có thể xác định ở thời điểm 24h các tế bào đang trong giai đoạn logarit có tốc độ phân chia nhanh nhất.



Hình 8. Kết quả vận hành đánh giá khả năng ổn định của hệ thống theo thời gian

Đối với tất cả các quá trình lên men, yêu cầu quan trọng nhất là phải đảm bảo sao cho mỗi tế bào tham gia đều được đặt trong điều kiện lý hóa giống nhau. Các thông số nhiệt độ, pH, hàm lượng O_2 , CO_2 hòa tan... thường được kiểm soát một cách trực tiếp thông qua các sensor đặt trong nồi lên men. Các thông số về hàm lượng enzyme, sinh khối, protein được kiểm soát gián tiếp bằng cách lấy mẫu và đem phân tích [8,9,13].



Hình 9. Sinh khối thu nhận được sau 4 lần bổ sung môi trường dinh dưỡng

Trong thời gian 96 giờ được cài đặt ở nhiệt độ $30^{\circ}C$, pH 7, bộ gia nhiệt hoạt động khá ổn định, biên độ dao động trong khoảng $1^{\circ}C$. Riêng giá trị pH có nhiều biến động, thời điểm 24 giờ, pH tăng đến 7,4, sau thời điểm 48 giờ, pH giảm còn 6,5. Điều này có thể do sự thay đổi về các sản phẩm chuyển hóa mà tế bào trao đổi với môi trường nuôi cấy.

3.2.2 Kết quả vận hành đánh giá khả năng ổn định của hệ thống khi nuôi cấy liên tục

Trong quá trình nuôi cấy liên tục, tế bào không có pha suy vong mà được duy trì ở pha cân bằng. Để quá trình thu nhận sản phẩm sinh khối không làm thay đổi đột ngột trạng thái của tế bào cần đảm bảo quá trình nạp môi trường dinh dưỡng mới vào và quá trình rút dịch sản phẩm ra phải tương đương nhau về thể tích [11,14]. Trong thiết kế của hệ thống bioreactor, van nạp đặt ở bên hông, phía trên còn van xả đặt ở bên dưới của ngăn 2. Quá trình bổ sung được tiến hành ngay sau quá trình rút chiết. Trong quá trình thực hiện, nhận thấy có sự dao động về nhiệt độ và pH khi bổ

sung môi trường dinh dưỡng mới. Nhiệt độ giảm 2-5^oC và pH tăng 0,3-0,5. Bảng điều khiển hiển thị giá trị có sự thay đổi và phần mềm bioreactor_HC06 trên điện thoại cũng báo rung. Hệ thống mất khoảng 3-5 phút cho việc điều chỉnh nhiệt độ và pH quay lại giá trị cài đặt ban đầu. Kết quả mật độ sinh khối ở lần bổ sung dinh dưỡng thứ 3 vào thời điểm 10 giờ là cao nhất ($3,21 \times 10^8$ tế bào/ml), thấp nhất là vào thời điểm 0 giờ ($2,11 \times 10^8$ tế bào/ml). Quan sát dưới kính hiển vi, các sản phẩm thu nhận được sau các thời điểm đều không có sự xuất hiện bào tử vi khuẩn Bacillus. Điều này chứng tỏ các tế bào đang ở giai đoạn tốt nhất cho quá trình trao đổi chất [2,15].

4. KẾT LUẬN

Nhiệt độ và pH là hai thông số quan trọng trước nhất để kiểm soát quá trình nuôi cấy tế bào vi sinh vật. Trong giới hạn nhiệt độ từ 30-50^oC, giới hạn pH từ 5 đến 8, hệ thống bioreactor cho thấy khả năng duy trì ổn định các thông số cài đặt trong suốt 96 giờ nuôi cấy. Với đối tượng thử nghiệm là Bacillus, đại diện cho nhóm các vi khuẩn hiếu khí sử dụng trong xử lý nước thải, quá trình nuôi cấy liên tục hoặc theo mẻ trong hệ thống đều cho kết quả tốt, sinh khối thu được luôn ở mức 10^8 tế bào/ml. Tốc độ gia nhiệt và điều chỉnh pH dao động từ 15 đến 40 phút tùy vào thể tích dung dịch nuôi cấy, nhưng khả năng tự ổn định về thông số cài đặt chỉ khoảng 3 đến 5 phút. Mặc khác, việc sử dụng phương pháp gia nhiệt qua thành cho thấy hiệu quả tốt trong việc giảm các tế bào chết do tiếp xúc gần với vị trí gia nhiệt. Bên cạnh màn hình hiển thị các thông số, phần mềm Bioreactor HC06 dễ dàng cài đặt và sử dụng trên điện thoại cũng hỗ trợ cho quá trình vận hành kiểm soát hệ thống được tốt hơn.

Với các thiết kế đơn giản bước đầu, hệ thống bioreactor cho thấy tiềm năng sử dụng trên đối tượng vi khuẩn hiếu khí với thể tích phù hợp cho các nghiên cứu ứng dụng quy mô pilot tại Viện Khoa học công nghệ và Quản lý môi trường, Đại học Công nghiệp TpHCM. Ngoài nhiệt độ và pH, hệ thống có thể cải tiến bổ sung đầu dò xác định thông số các khí hòa tan hoặc kiểm soát lưu lượng khí nạp vào một cách chính xác hơn, giúp cho quá trình nuôi cấy đạt hiệu suất cao hơn nữa.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] A.D. Warth, Relationship between the heat resistance of spores and the optimum and maximum growth temperatures of Bacillus Species. *Journal of Bacteriology*, 134(3):699-705, 1978.
- [2] A.J. Nair, Introduction to Biotechnology and Genetic Engineering, Chapter 18: Microbial culture and applications. Infinity Science Press LLC, India, 657 – 668, 2008.
- [3] Anup Ashok, Kruthi Doriya, Devulapally Ram Mohan Rao, Devarai Santhosh Kumar, Design of solid state bioreactor for industrial applications: An overview to conventional bioreactors. *Biocatalysis Agricultural Biotechnology* 9:11-18, 2017
- [4] Caroline Choma và Philippe Schmitt, Effect of temperature on growth characteristics of Bacillus. *International Journal Food Microbiology* 55:73-77, 2000.
- [5] D.H. Bergey, Thermophilic bacteria. *Journal of Bacteriology* 4(4): 301-306, 1919.
- [6] Frederick K., Lingchong Y. và Carl L. H., Long-term monitoring of bacteria undergoing programmed population control in a microchemostat. *Science* 309:137-140, 2005.
- [7] George Cătălin Marinescu và Roua Gabriela Popescu, Open-Source bioreactor controller for bacterial protein expression. *PeerJ Preprints*, 4: 1-27, 2018.
- [8] Hitesh Jagani, Karteek Hebbar, Sagar S. Gang, P. Vasanth Raj, Raghu Chandrashekhar H. và J.Venkata Rao, An Overview of Fermenter and the Design Considerations to Enhance Its Productivity. *Pharmacologyonline* 1: 261-301, 2010.
- [9] Jagriti Singh, Nirmata Kaushik và Soumitra Biswas, Bioreactors – Technology & Design Analysis. *The Scitech Journal*, 1(6): 27 – 36, 2014.
- [10] Lương Đức Phẩm, Giáo trình Công nghệ lên men. NXB Giáo dục VN, 2010.

- [11] Meyer H.P, Kappeli O. và Feichter A., Growth control in microbial cultures. Annual Review of Microbiology, 39: 299-319, 1985.
- [12] Michel Musoni, Jacqueline Destain, Philippe Thonart, Jean-Baptiste Bahama và Frank Delvigne, Bioreactor design and implementation strategies for the cultivation of filamentous fungi and the production of fungal metabolites: from traditional methods to engineered systems. Biotechnol. Agron. Soc. Environ, 19(4): 430-442, 2015.
- [13] Nguyễn Hoàng Lộc. Giáo trình Công nghệ tế bào, Chương 4 Thiết kế hệ thống lên men. NXB ĐH Huế, trang 33-57, 2006.
- [14] Raina M. Maier, Environmental Microbiology, Part I, chapter 3: Bacteria Growth. Academic Press, Elsevier, 38-54, 2009.
- [15] S. Quintavalla và G. Parolari, Effectf of temperature, aw and pH on the growth of Bacillus cell and spores: a response serface methodology stydy. International Journal of food microbiology, 19:207-216, 1993.

Ngày nhận bài: 30/08/2018

Ngày chấp nhận đăng: 05/12/2019