

**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO  
TRƯỜNG ĐẠI HỌC SƯ PHẠM KỸ THUẬT  
THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH**



**ĐỒ ÁN TỐT NGHIỆP  
NGÀNH CÔNG NGHỆ KỸ THUẬT MÔI TRƯỜNG**

**NGHIÊN CỨU NỒNG ĐỘ CO<sub>2</sub> TỐI ƯU TRONG NÔI  
TRỒNG VI TẢO ĐỂ XỬ LÝ CHẤT THẢI NUÔI TÔM  
VÀ SẢN XUẤT SINH KHỐI GIÁ TRỊ**

**GVHD: CAO THU THỦY  
SVTH: HOÀNG GIA HÂN  
MSSV: 15150065  
SVTH: NGUYỄN HOÀNG BẢO NHI  
MSSV: 15150103**



**Tp. Hồ Chí Minh, tháng 8/2019**

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

TRƯỜNG ĐẠI HỌC SƯ PHẠM KỸ THUẬT TP. HỒ CHÍ MINH



**HCMUTE**

## **ĐỒ ÁN TỐT NGHIỆP**

Đề tài:

**Nghiên cứu nồng độ CO<sub>2</sub> tối ưu  
trong nuôi trồng vi tảo để xử lý chất thải nuôi tôm  
và sản xuất sinh khối giá trị**

**GVHD:** Th.S Cao Thu Thủy

**SVTH:** Hoàng Gia Hân 15150065

Nguyễn Hoàng Bảo Nhi 15150103

*Tp. Hồ Chí Minh, tháng 08 năm 2019*

## LỜI CẢM ƠN

Trong quá trình thực hiện đồ án, chúng em đã có 2 tuần được học tập và làm việc cùng các bạn sinh viên quốc tế để tìm hiểu thêm về tình hình cũng như thực trạng ô nhiễm chất thải nuôi trồng thủy sản tại các khu vực trong tỉnh Ninh Thuận. Bên cạnh đó là hơn 3 tháng vận hành hồ nuôi tảo mật độ cao và phân tích các chỉ tiêu nước thải. Đây quả là quãng thời gian quý báu đối với chúng em.

Để hoàn thành được luận văn tốt nghiệp với đề tài “Nghiên cứu nồng độ CO<sub>2</sub> tối ưu trong nuôi trồng vi tảo để xử lý chất thải nuôi tôm và sản xuất sinh khối giá trị” bên cạnh sự nỗ lực của nhóm, nhóm luôn nhận được sự giúp đỡ, hướng dẫn tận tình của các thầy cô cùng những lời động viên, khuyến khích từ phía gia đình và bạn bè.

Trước hết, chúng em xin được tỏ lòng biết ơn và gửi lời cảm ơn chân thành đến Th.S Cao Thu Thủy, người trực tiếp hướng dẫn luận văn, đã tận tình chỉ bảo, hướng dẫn và tạo điều kiện tốt nhất cho chúng em tìm ra hướng nghiên cứu, tiếp cận thực tế, tìm kiếm tài liệu, xử lý và phân tích số liệu, giải quyết vấn đề... nhờ đó chúng em mới có thể hoàn thành luận văn tốt nghiệp của mình.

Ngoài ra, trong quá trình học tập, nghiên cứu và thực hiện đề tài chúng em còn nhận được nhiều sự quan tâm, góp ý, hỗ trợ quý báu của quý thầy cô, đồng nghiệp, bạn bè và người thân. Xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc đến:

Quý thầy cô ngành Công nghệ Kỹ thuật Môi trường khoa Công nghệ hóa học và thực phẩm trường Đại học sư phạm Kỹ thuật Thành phố Hồ Chí Minh đã truyền đạt cho chúng em những kiến thức bổ ích trong suốt bốn năm học vừa qua.

Ban giám đốc Trung Tâm Giống Hải Sản Cấp I tỉnh Ninh Thuận và các anh chị cán bộ tại Trung tâm đã luôn động viên, hỗ trợ nhiệt tình chúng em trong quá trình học tập và nghiên cứu.

Do giới hạn kiến thức và khả năng lý luận của bản thân còn nhiều thiếu sót và hạn chế, kính mong sự chỉ dẫn và đóng góp của các thầy cô giáo để khóa luận của chúng em được hoàn thiện hơn.

Nhóm chúng em xin chân thành cảm ơn!

**Nhóm thực hiện đồ án**

Hoàng Gia Hân  
Nguyễn Hoàng Bảo Nhi

## TÓM TẮT

Đề tài “Nghiên cứu nồng độ CO<sub>2</sub> tối ưu trong nuôi trồng vi tảo để xử lý chất thải nuôi tôm và sản xuất sinh khối giá trị cao” với mục đích tìm ra phương pháp nâng cao hiệu quả xử lý chất thải nuôi tôm và tăng chất lượng sinh khối tảo, tạo ra nguồn nguyên liệu sinh học có giá trị cao, ứng dụng làm thức ăn nuôi trồng thủy sản và chiết suất nhiên liệu sạch.

Nghiên cứu được thực hiện trên giống tảo *Scenedesmus sp.* trong môi trường nước thải và bùn thải nuôi tôm. Bao gồm 3 giai đoạn:

Giai đoạn 1: Khảo sát khả năng thích nghi và phát triển của vi tảo môi trường bùn pha trộn nước thải ở các nồng độ giao động từ 0 – 30% trong điều kiện phòng thí nghiệm. Xác định nồng độ bùn tối ưu.

Giai đoạn 2: Khảo sát khả năng tăng trưởng của vi tảo trong môi trường tối ưu đã xác định ở giai đoạn 1 và có bổ sung khí CO<sub>2</sub> theo các nồng độ giao động từ 0% – 12% trong điều kiện phòng thí nghiệm. Xác định nồng độ CO<sub>2</sub> tối ưu.

Giai đoạn 3: Từ các thông số tối ưu đã xác định ở giai đoạn 1 và 2, áp dụng ra mô hình nuôi tảo mật độ cao quy mô Pilot ở điều kiện thực tế khí hậu tỉnh Ninh Thuận. Khảo sát khả năng thích nghi và phát triển của vi tảo ở điều kiện bên ngoài, xác định hiệu suất xử lý thực tế và đánh giá chất lượng sinh khối vi tảo.

Bằng cách theo dõi biến động mật độ tảo và phân tích các chỉ tiêu cần thiết như NH<sub>4</sub>-N, NO<sub>3</sub>-N, NO<sub>2</sub>-N, TN, PO<sub>4</sub>-P, BOD, COD, ... kết quả đã thu được là:

Giai đoạn 1: Vi tảo *Scenedesmus sp.* có khả năng sinh trưởng và phát triển tốt trong môi trường bùn pha trộn nước thải. Cụ thể nồng độ bùn tối ưu ở giá trị 20%.

Giai đoạn 2: Vi tảo *Scenedesmus sp.* sinh trưởng tốt hơn khi có bổ sung thêm khí CO<sub>2</sub>, nồng độ CO<sub>2</sub> tối ưu cho thí nghiệm này là 9%.

Giai đoạn 3: Vi tảo *Scenedesmus sp.* sinh trưởng và phát triển tốt khi ở điều kiện khí hậu bên ngoài, tốc độ tăng trưởng vi tảo lên đến 53 ngày<sup>-1</sup>. Mô hình nuôi tảo mật độ cao có khả năng xử lý ô nhiễm, hiệu suất xử lý TN, NO<sub>3</sub>-N, NH<sub>4</sub>-N, PO<sub>4</sub>-P và COD lần lượt là 95.26%, 17.76%, 83.38%, 23.44% và 88.75%. Sinh khối tảo thu được có giá trị với khối lượng khô đạt 340mg/L, Chlorophyll-a đạt 6.56 mg/L, hàm lượng lipid và protein lần lượt là 35.06% và 21.47%.

Kết quả nghiên cứu đã chứng minh được khả năng thích nghi và phát triển của vi tảo trong môi trường chất thải chứa bùn từ đáy ao nuôi tôm. Đồng thời hiệu quả của việc bổ sung CO<sub>2</sub> trong nâng cao hiệu quả xử lý và tăng chất lượng sinh khối vi tảo. Khẳng định mô hình nuôi tảo cao tải mật độ cao có khả năng vận hành thực tế ở điều kiện khí hậu Ninh Thuận trước khi triển khai quy mô lớn.

## LỜI CAM ĐOAN

Nhóm chúng tôi bao gồm Hoàng Gia Hân (MSSV 15150065) và Nguyễn Hoàng Bảo Nhi (MSSV 15150103), là sinh viên khóa 2015 chuyên ngành Công nghệ Kỹ thuật Môi trường trường Đại học Sư phạm Kỹ thuật Thành phố Hồ Chí Minh. Nhóm xin cam đoan: đồ án tốt nghiệp này là công trình nghiên cứu khoa học thực sự của bản thân chúng tôi được thực hiện dưới sự hướng dẫn của Th.S Cao Thu Thủy. Các nội dung nghiên cứu, kết quả trong đề tài này là trung thực và chưa công bố dưới bất kỳ hình thức nào trước đây. Những thông tin tham khảo được thu thập từ những nguồn đáng tin cậy, đã được kiểm chứng, được công bố rộng rãi và được trích dẫn nguồn gốc rõ ràng ở phần Danh mục tài liệu tham khảo.

Nếu phát hiện có bất kỳ sự gian lận nào chúng tôi xin hoàn toàn chịu trách nhiệm.

TP. Hồ Chí Minh, ngày 29 tháng 07 năm 2019

**Nhóm sinh viên thực hiện**

Hoàng Gia Hân

Nguyễn Hoàng Bảo Nhi

# MỤC LỤC

LỜI CẢM ƠN.....	i
TÓM TẮT.....	ii
LỜI CAM ĐOAN.....	iv
MỤC LỤC.....	v
DANH MỤC BẢNG.....	ix
DANH MỤC HÌNH.....	x
DANH MỤC TỪ VIẾT TẮT.....	xii
MỞ ĐẦU.....	1
1. Tính cấp thiết của đề tài.....	1
2. Mục đích nghiên cứu.....	2
Chương 1: TỔNG QUAN VỀ CÁC VẤN ĐỀ NGHIÊN CỨU.....	3
1.1. Tổng quan về chất thải nuôi tôm.....	3
1.1.1. Tình hình nuôi tôm.....	3
1.1.1.1. Thế giới.....	3
1.1.1.2. Việt Nam.....	4
1.1.2. Nguồn gốc và tác động của chất thải nuôi tôm đến môi trường.....	5
1.1.3. Thành phần và đặc tính chất thải nuôi tôm.....	7
1.1.4. Phương pháp xử lý chất thải nuôi tôm.....	8
1.1.4.1. Phương pháp xử lý cơ học (vật lý).....	8
1.1.4.2. Phương pháp xử lý hóa học.....	8
1.1.4.4. Phương pháp xử lý sinh học.....	8
1.2. Tổng quan về vi tảo <i>Scenedesmus sp.</i> ....	11
1.2.1. Vị trí phân loại.....	11
1.2.2. Đặc điểm sinh học.....	11

1.2.3. Sự phát triển của vi tảo .....	12
1.2.4. Giá trị từ sinh khối vi tảo <i>Scenedesmus sp.</i> ....	13
1.2.4.1. Sản xuất nhiên liệu sinh học.....	14
1.2.4.2. Sản xuất thức ăn cho nuôi trồng thủy sản .....	15
1.2.4.3. Ứng dụng để kiểm soát dịch bệnh trong nuôi tôm/cá .....	17
1.2.4.4. Sản xuất dược phẩm .....	17
1.2.4.5. Sản xuất phân bón .....	18
1.3. Tổng quan sử dụng vi tảo trong xử lý nước thải.....	19
1.3.1. Cơ sở khoa học của biện pháp xử lý nước thải bằng vi tảo.....	19
1.3.2. Các nghiên cứu ứng dụng vi tảo trong xử lý nước thải .....	19
1.3.3. Tình hình nghiên cứu ứng dụng vi tảo trong xử lý nước thải tại Việt Nam.....	23
1.4. Ứng dụng hồ nuôi tảo mật độ cao trong xử lý nước thải .....	24
1.4.1. Tổng quan hồ nuôi tảo mật độ cao (High Rate Algal Ponds - HRAPs) .....	24
1.4.2. Thông số vận hành.....	26
1.4.3. Một số ảnh hưởng đến hiệu quả của hệ thống HRAPs.....	28
1.4.3.1. Ánh sáng .....	28
1.4.3.2. Cacbon hòa tan .....	29
1.4.3.3. pH.....	30
1.4.3.4. Nhiệt độ .....	31
1.4.3.5. Nồng độ nitơ và photpho .....	32
1.4.4. Khắc phục hạn chế của hệ thống HRAPs .....	32
1.4.4.1. Cải tiến sinh học .....	33
1.4.4.2. Cải tiến hóa học .....	34
1.4.4.3. Cải tiến vật lý.....	36
1.5. Ý nghĩa của CO <sub>2</sub> trong nuôi trồng vi tảo .....	39
1.5.1. Cơ chế sử dụng CO <sub>2</sub> của vi tảo.....	39
1.5.2. Ảnh hưởng của CO <sub>2</sub> đến sự sinh trưởng và tích lũy lipid của vi tảo.....	41



1.5.3. Tình hình nghiên cứu bổ sung CO <sub>2</sub> trong nuôi trồng vi tảo.....	41
Chương 2: ĐỐI TƯỢNG, PHẠM VI, NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....	44
2.1. Đối tượng nghiên cứu .....	44
2.1.1. Vi tảo <i>Scenedesmus sp.</i> .....	44
2.1.2. Nước thải và bùn thải nuôi tôm.....	44
2.1.3. Hồ nuôi tảo mật độ cao.....	46
2.2. Phạm vi nghiên cứu.....	47
2.3. Nội dung nghiên cứu.....	47
2.4. Phương pháp nghiên cứu.....	47
2.4.1. Phương pháp phân tích và tổng hợp lý thuyết.....	47
2.4.3. Phương pháp quan sát khoa học và điều tra.....	48
2.4.5. Phương pháp chuyên gia .....	48
2.4.6. Phương pháp bố trí và theo dõi thí nghiệm .....	48
2.4.2.1. Tăng sinh .....	49
2.4.2.2. Thí nghiệm 1: Xác định nồng độ bùn tối ưu trong điều kiện phòng thí nghiệm. ....	50
2.4.2.3. Thí nghiệm 2: Xác định nồng độ CO <sub>2</sub> tối ưu trong điều kiện phòng thí nghiệm .....	51
2.4.2.4. Thí nghiệm 3: Xác định hiệu suất xử lý các chất ô nhiễm của vi tảo <i>Scenedesmus sp.</i> trong điều kiện thực tế.....	51
2.4.7. Phương pháp phân tích mẫu .....	52
2.4.8. Phương pháp đánh giá kết quả .....	53
2.4.9. Phương pháp xử lý số liệu và trình bày kết quả .....	54
Chương 3: KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN.....	55
3.1. Đánh giá khả năng sinh trưởng và xử lý chất ô nhiễm của vi tảo <i>Scenedesmus sp.</i> trong phòng thí nghiệm.....	55
3.1.1. Thí nghiệm xác định lượng bùn tối ưu .....	55

3.2.2. Thí nghiệm xác định nồng độ CO <sub>2</sub> tối ưu.....	58
3.2. Đánh giá khả năng sinh trưởng và hiệu quả xử lý nước thải bằng vi tảo <i>Scenedesmus sp.</i> trong hồ nuôi tảo quy mô pilot thực tế .....	60
3.2.1. Kiểm soát điều kiện môi trường bên ngoài .....	60
3.2.2. Theo dõi các thông số vật lý trong quá trình vận hành .....	62
3.2.3. Khả năng sinh trưởng của vi tảo ngoài hồ.....	64
3.2.4. Khả năng xử lý ô nhiễm của vi tảo ngoài hồ.....	65
3.3. Đánh giá chất lượng sinh khối vi tảo .....	67
Chương 4: KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ.....	69
4.1. Kết luận .....	69
4.2. Kiến nghị .....	69
TÀI LIỆU THAM KHẢO .....	70
PHỤ LỤC A .....	79
PHỤ LỤC B.....	81
PHỤ LỤC C.....	86

## DANH MỤC BẢNG

Bảng 1.1: Thành phần các chất ô nhiễm trong chất thải nuôi tôm .....	7
Bảng 1.2: Tổng hợp các nghiên cứu ứng dụng tảo trong loại bỏ nitơ và photpho .....	21
Bảng 1.3. Con đường đồng hóa cacbon vô cơ của một số loài vi tảo .....	40
Bảng 2.1: Tính chất nước thải và bùn thải nuôi tôm .....	44
Bảng 2.2: Bảng thông số thiết kế hồ nuôi tảo mật độ cao quy mô Pilot .....	46
Bảng 2.3: Phương pháp phân tích các thông số tích lũy của tảo.....	52
Bảng 2.4: Phương pháp phân tích các chỉ tiêu chất lượng nước thải .....	52
Bảng 3.1: Hiệu suất xử lý chất ô nhiễm trong hồ nuôi tảo .....	66
Bảng 3.2: Chỉ tiêu tích lũy sinh khối vi tảo trong hồ nuôi tảo .....	68

## DANH MỤC HÌNH

Hình 1.1: Cơ cấu mặt hàng thủy sản xuất khẩu 9 tháng đầu năm 2018 .....	5
Hình 1.2: Vi tảo <i>Scenedesmus sp.</i> dưới kính hiển vi.....	11
Hình 1.3: Các pha sinh trưởng của vi tảo .....	13
Hình 1.4: Khả năng sử dụng vi tảo .....	14
Hình 1.5: Thực phẩm chức năng từ tảo <i>Spirulin</i> .....	18
Hình 1.6: Hệ thống hồ nuôi tảo mật độ cao HRAPs .....	25
Hình 1.7: Sơ đồ của một hệ thống hồ nuôi tảo mật độ cao HRAPs .....	27
Hình 1.8: Mặt cắt của một hồ nuôi tảo mật độ cao HRAPs .....	28
Hình 1.9: Tác động của ánh sáng đến hàm lượng chất diệp lục của một tế bào .....	29
Hình 1.10: Tác động của pH đến trạng thái cân bằng của lượng cacbon vô cơ hòa tan .....	31
Hình 1.11: Tương quan giữa kích thước ăng-ten diệp lục và hiệu suất hấp thụ ánh sáng .....	33
Hình 1.12: Tương quan của việc bổ sung CO <sub>2</sub> lên sự hấp thụ ánh sáng, quang hợp và nồng độ sinh khối .....	35
Hình 1.13: Tương quan giữa tải chất dinh dưỡng lên quá trình quang hợp và nồng độ sinh khối .....	36
Hình 1.14: Tương quan giữa độ sâu ao đến sự suy giảm ánh sáng, nồng độ sinh khối và độ sâu trộn .....	37
Hình 1.15: Tương quan giữa việc trộn theo chiều dọc lên kích thước khuẩn lạc và nồng độ sinh khối .....	38
Hình 1.16: Tương quan giữa thời gian lưu nước với sự suy giảm ánh sáng và nồng độ sinh khối .....	39
Hình 2.1: Vi tảo <i>Scenedesmus sp.</i> được chụp thông qua kính hiển vi .....	44
Hình 2.2: Hồ nuôi tảo mật độ cao quy mô Pilot.....	46
Hình 2.3: Sơ đồ tổng quát bố trí và theo dõi thí nghiệm .....	48
Hình 2.4: Sơ đồ bố trí tăng sinh.....	49

Hình 2.5: Sơ đồ bố trí thí nghiệm xác định nồng độ bùn tối ưu trong điều kiện phòng thí nghiệm .....	50
Hình 2.6: Sơ đồ bố trí thí nghiệm xác định nồng độ CO <sub>2</sub> tối ưu trong điều kiện phòng thí nghiệm .....	51
Hình 3.1: Đường cong tăng trưởng (10 <sup>5</sup> tế bào/ ml) của <i>Scenedesmus sp.</i> nuôi trồng trong nước thải với các nồng độ bùn khác nhau ở mô hình photobioreactor 2 lít .....	55
Hình 3.2: Hiệu suất xử lý chất ô nhiễm của vi tảo nuôi trồng trong nước thải với các nồng độ bùn khác nhau ở mô hình photobioreactor 2 lít.....	56
Hình 3.3: Nồng độ chất ô nhiễm của vi tảo nuôi trồng trong nước thải với 20% bùn theo thời gian ở mô hình photobioreactor 2 lít.....	56
Hình 3.4: Đường cong tăng trưởng (10 <sup>5</sup> tế bào/ ml) của vi tảo nuôi trồng trong nước thải 20% bùn với các nồng độ CO <sub>2</sub> khác nhau ở mô hình photobioreactor 2 lít.....	58
Hình 3.5: Hiệu suất xử lý chất ô nhiễm của vi tảo nuôi trồng trong nước thải 20% bùn với các nồng độ CO <sub>2</sub> khác nhau ở mô hình photobioreactor 2 lít .....	59
Hình 3.6: Nồng độ chất ô nhiễm của vi tảo nuôi trồng trong nước thải 20% bùn với 9% CO <sub>2</sub> theo thời gian ở mô hình photobioreactor 2 lít .....	59
Hình 3.7: Biến đổi nhiệt độ và ánh sáng trong ngày tại hồ nuôi.....	60
Hình 3.8: Biểu đồ theo dõi các thông số vật lý trong ngày tại hồ .....	62
Hình 3.9: Biểu đồ biến động mật độ tảo (10 <sup>5</sup> Tb/mL) và khối lượng khô ở hồ theo thời gian nuôi trồng .....	64
Hình 3.10: Biến thiên hàm lượng chất ô nhiễm theo thời gian nuôi cấy ngoài hồ.....	65
Hình 3.11: Hiệu suất xử lý các chất ô nhiễm trong hồ .....	66

## DANH MỤC TỪ VIẾT TẮT

BOD	Nhu cầu oxy sinh hóa
COD	Nhu cầu oxy hóa học
DIC	Cacbon vô cơ hòa tan
DO	Oxy hòa tan
HRAPs	Hồ nuôi tảo mật độ cao (High Rate Algal Ponds)
NH <sub>4</sub> -N	Ammonium nitrogen
NO <sub>3</sub> -N	Nitrate nitrogen
NO <sub>2</sub> -N	Nitrite nitrogen
PO <sub>4</sub> -P	Photphate
QCVN	Quy chuẩn Việt Nam
TCVN	Tiêu chuẩn Việt Nam
TN	Tổng Nitơ
TP	Tổng Photpho
TSS	Chất rắn lơ lửng

# MỞ ĐẦU

## 1. TÍNH CẤP THIẾT CỦA ĐỀ TÀI

Trong thực tế hiện nay, ngành nuôi tôm công nghiệp ở nước ta chiếm phần lớn là hình thức nuôi nhỏ lẻ theo hộ gia đình, diện tích nhỏ nên hầu hết không có hệ thống xử lý nước thải. Trong quá trình nuôi tới lúc thu hoạch, tất cả nước, chất thải đều xả thẳng trực tiếp ra môi trường bên ngoài. Chính hệ thống canh tác như vậy là nguyên nhân chúng ta không thể tiến tới phát triển ngành nuôi tôm bền vững trong nhiều năm qua. Nếu không triệt để thực hiện giải pháp quản lý chất thải từ các hệ thống trang trại nuôi tôm, chúng ta sẽ đối mặt với rất nhiều nguy cơ ô nhiễm nguồn nước, bệnh dịch tràn lan và khó có thể kiểm soát được.

Vấn đề cấp thiết cần đặt ra lúc này là phải đưa ra các biện pháp xử lý và đạt hiệu quả cao, áp dụng những phương pháp thích hợp với điều kiện thực tế. Hiện nay, nhiều nơi đã đưa ra các biện pháp xử lý và quy trình công nghệ để áp dụng vào việc xử lý nước thải nuôi tôm ở các quy mô lớn, vừa và nhỏ và đạt được các kết quả xử lý khác nhau. Tuy nhiên chi phí đầu tư, vận hành cao điều này dẫn tới không khả thi trong điều kiện thực tế. Hiện nay thì giải pháp sử dụng công nghệ sinh học trong xử lý nước thải đang được các nước quan tâm và ưu tiên thực hiện. Công nghệ sinh học vừa mang lại lợi ích cho kinh tế, vừa mang lại lợi ích cho xã hội và môi trường. Ứng dụng công nghệ sinh học như một vòng tuần hoàn tự nhiên khép kín, xử lý nước thải hiệu quả mà không mang lại ảnh hưởng xấu hoặc biến đổi bất lợi khác cho môi trường. Trong đó, việc áp dụng công nghệ sinh học sử dụng vi tảo hoặc vi khuẩn vào xử lý nước thải đã và đang được thực hiện nhiều nơi trên thế giới do nó có nhiều ưu điểm như không độc hại, chi phí không cao, thân thiện với môi trường, tận dụng được một số chất có trong nước thải và giúp bảo vệ môi trường.

Công nghệ sử dụng hồ nuôi tảo mật độ cao (HRAPs) đã được sử dụng từ lâu trong lĩnh vực thực phẩm và thức ăn chăn nuôi và sản xuất nhiên liệu sinh học. Gần đây tại một số nước phát triển, công nghệ này đã và đang được sử dụng cho mục đích xử lý nước thải. Nguyên lý của công nghệ dựa việc kéo dài pha quang hợp và rút ngắn pha hô hấp của tảo nhằm mục đích tăng sinh khối. Việc phát triển sinh khối của tảo đồng nghĩa với việc loại bỏ các thành phần ô nhiễm (nitơ và photpho) có trong nước thải. Tuy nhiên, những nghiên cứu ứng dụng mô hình này trong xử lý nước thải ở nước ta còn nhiều hạn chế. Chính vì thế, đề tài “Nghiên cứu nồng độ CO<sub>2</sub> tối ưu trong nuôi trồng vi tảo để xử

lý nước thải nuôi tôm và sản xuất sinh khối giá trị” được thực hiện để góp phần tìm kiếm biện pháp xử lý nước thải nuôi tôm thích hợp đồng thời gia tăng chất lượng sinh khối thông qua việc bổ sung CO<sub>2</sub> trong quá trình nuôi trồng.

## **2. MỤC ĐÍCH NGHIÊN CỨU**

- Khảo sát khả năng thích nghi và phát triển của vi tảo môi trường bùn pha trộn nước thải ở các nồng độ giao động từ 0 – 30% trong điều kiện phòng thí nghiệm. Xác định nồng độ bùn tối ưu.

- Khảo sát khả năng tăng trưởng của vi tảo trong môi trường tối ưu đã xác định và có bổ sung khí CO<sub>2</sub> theo các nồng độ giao động từ 0% – 12% trong điều kiện phòng thí nghiệm. Xác định nồng độ CO<sub>2</sub> tối ưu.

- Khảo sát khả năng thích nghi và phát triển của vi tảo trong mô hình nuôi tảo mật độ cao quy mô Pilot ở điều kiện thực tế khí hậu tỉnh Ninh Thuận, xác định hiệu suất xử lý thực tế và đánh giá chất lượng sinh khối vi tảo.



# Chương 1: TỔNG QUAN VỀ CÁC VẤN ĐỀ NGHIÊN CỨU

## 1.1. TỔNG QUAN VỀ CHẤT THẢI NUÔI TÔM

### 1.1.1. Tình hình nuôi tôm

#### 1.1.1.1. Thế giới

Nghề nuôi tôm trên thế giới xuất hiện cách đây nhiều thế kỷ, nhưng nuôi tôm hiện đại mới chỉ bắt đầu vào những năm 1930. Vào thập niên 90 với sự chủ động được con giống đảm bảo chất lượng giúp cho nghề nuôi tôm phát triển nhanh chóng và bùng nổ.

Trên thế giới có hai khu vực nuôi tôm lớn nhất là Tây bán cầu (gồm các nước Châu Mỹ Latinh) và Đông bán cầu (gồm các nước Nam Á và Đông Nam Á). Theo Nguyễn Văn Hào thì năm 1997 ở khu vực Tây bán cầu, Ecuador đạt được 130 000 tấn chiếm 66% tổng sản lượng tôm nuôi của khu vực. Khu vực Đông bán cầu sản lượng tôm nuôi đạt 462 000 tấn chiếm 70% tôm nuôi trên thế giới. Trong đó, Thái Lan là nước đứng đầu, kế đến là Indonesia, Trung Quốc, Ấn Độ, Bangladesh, Việt Nam.

Các loài tôm được nuôi nhiều nhất là tôm chân trắng (*Penaeus vannamei*), tôm sú (*Penaeus monodon*), tôm chân trắng Trung Quốc (*P. chinensis*). Nuôi tôm đem lại lợi nhuận cao đã tạo nên những cơn “sốt tôm” kéo theo đó là các cơn “sốt đất” và “sốt vàng”. Chỉ trong vòng 2 – 3 năm người dân đã chuyển gần như toàn bộ vốn đất của họ sang ao tôm. Nhu cầu thị trường đối với tôm vẫn không ngừng tăng cao trong thời gian qua làm cho tôm có một giá trị hấp dẫn và ngành nuôi tôm thâm canh có đầu ra ổn định. Lợi nhuận hấp dẫn và giá trị xuất khẩu cao của tôm nuôi đã tác động đến chính sách phát triển của một số nước nuôi tôm.

Nghề nuôi tôm ở các nước châu Á tuy phát triển rất mạnh, đạt được kết quả bước đầu, nhưng đã phải sớm đối đầu với vấn đề dịch bệnh và sự suy thoái của môi trường nuôi. Thường các vùng nuôi tôm chỉ cho lợi nhuận cao trong vòng 2 đến 4 năm đầu, sau đó do bệnh dịch bộc phát, môi trường suy thoái, con tôm dễ bị bệnh, bệnh dịch tràn lan gây nhiều thiệt hại to lớn cho người nuôi và làm giảm diện tích, sản lượng tôm nuôi. Nguyên nhân chính của việc giảm năng suất trầm trọng trên được xác định do phát triển nuôi nóng vội, các khu vực nuôi chỉ tập trung vào phát triển diện tích nuôi và tăng sản lượng trong các ao nuôi mà bỏ qua việc xử lý chất thải phát sinh trong quá trình nuôi. Sau một thời kỳ nuôi có hiệu quả, môi trường trong khu nuôi dần bị suy thoái dẫn đến tôm nuôi dễ bị mắc bệnh.

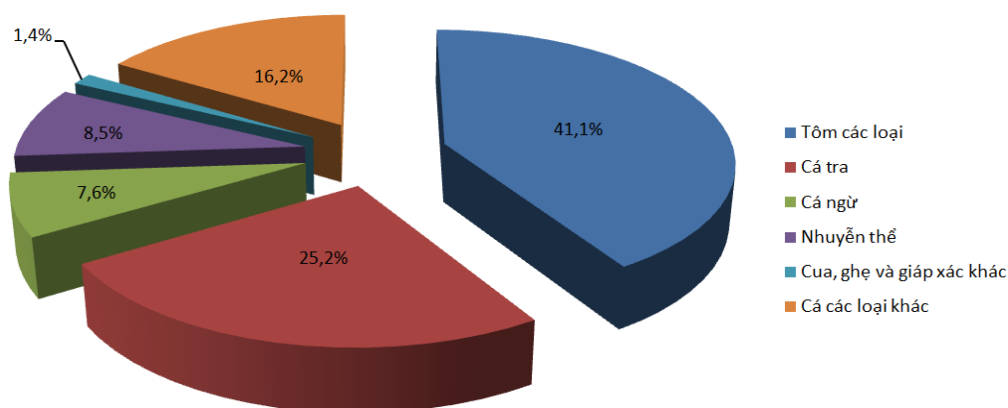
Trước tình hình đó các nước đã thực hiện đầu tư nghiên cứu tìm các giải pháp để vực lại nghề nuôi, trong đó tập trung vào vấn đề quản lý và bảo vệ môi trường trong các khu nuôi được chú ý. Trung Quốc phải mất 10 năm để tổ chức lại nghề nuôi, dựa trên điều kiện thực tế của từng tiểu vùng để đưa ra mô hình và quy trình nuôi thích hợp và Trung Quốc đã trở thành nước có sản lượng tôm nuôi lớn nhất trên thế giới [1].

#### **1.1.1.2. Việt Nam**

Vào thập kỷ 70, ở miền Bắc và miền Nam Việt Nam đều tồn tại hình thức nuôi tôm quảng canh. Theo Ling và Rabanal, diện tích nuôi tôm ở đồng bằng sông Cửu Long thời kỳ này đạt khoảng 70 000 ha. Ở Miền Bắc, trước năm 1975 có khoảng 15 000 ha nuôi tôm nước lợ. Nghề nuôi tôm Việt Nam thực sự phát triển từ sau năm 1987 và nuôi tôm thương phẩm phát triển mạnh vào những năm đầu thập kỷ 90 của thế kỷ trước. Đến giữa thập kỷ 90 (1994 – 1995), phát triển nuôi tôm ở Việt Nam có phần chững lại do gặp phải nạn dịch bệnh tôm. Trong các năm 1996 – 1999, bệnh dịch có giảm nhưng vẫn tiếp tục gây thiệt hại cho người nuôi.

Trong những năm gần đây, nuôi tôm ở Việt Nam đã phát triển mạnh và trở thành ngành kinh tế quan trọng, tạo công ăn việc làm, tăng thu nhập cho hàng triệu người dân ven biển và tạo nguồn thu ngoại tệ đáng kể cho đất nước thông qua xuất khẩu. Hiện nay, nước ta có 30 tỉnh ven biển có diện tích nuôi tôm nước lợ. Giai đoạn 2011 - 2017, diện tích nuôi tôm nước lợ tăng từ 656 500 ha lên 721 000 ha, và tăng 3.8% so với năm 2016, trong đó diện tích tôm sú là 622.4 nghìn ha; tăng 3.7% và diện tích tôm chân trắng là 98.7 nghìn ha; tăng 4.7% so với năm 2016 [2].

Xét về tỷ trọng các mặt hàng thủy sản xuất khẩu, 9 tháng đầu năm 2018, tôm vẫn chiếm tỷ trọng lớn nhất về kim ngạch xuất khẩu, đạt 41.1%, tiếp theo là cá tra đạt 25.2%, cá nù đạt 7.6%, nhuyễn thể đạt 8.5%, cua, ghẹ và giáp xác khác đạt 1.4 và cá các loại khác đạt 16.2% (Hình 1.1). Như vậy, tôm vẫn là mặt hàng thủy sản xuất khẩu chính của Việt Nam.



Hình 1.1: Cơ cấu mặt hàng thủy sản xuất khẩu 9 tháng đầu năm 2018

Nguồn: Hiệp hội Chế biến và Xuất khẩu Thủy sản Việt Nam (VASEP)

Tuy vậy, nghề nuôi tôm ở Việt Nam đang phải đối mặt với nhiều thách thức, ảnh hưởng đến tính bền vững của ngành. Đó là các tác động kinh tế, xã hội, môi trường của ngành nuôi tôm và gần đây là các vấn đề về rào cản chất lượng sản phẩm và tranh chấp thương mại giữa các nước xuất khẩu và nhập khẩu. Việc chuyển đổi quá nhanh một diện tích lớn ruộng lúa, ruộng muối năng suất thấp và đất hoang hoá ven biển sang nuôi tôm kéo theo một loạt các vấn đề bất cập về cung ứng vốn đầu tư, giống, kỹ thuật công nghệ, quản lý môi trường, kiểm soát dịch bệnh, quy hoạch và phát triển cơ sở hạ tầng. Nuôi tôm vẫn mang tính tự phát thiếu quy hoạch, chạy theo lợi ích trước mắt. Ngoài một số doanh nghiệp đã tham gia vào ngành nuôi tôm, góp phần đẩy nhanh tiến độ công nghiệp hoá – hiện đại hoá, đem lại những chuyển biến rất đáng kể ở vùng nông thôn ven biển, nuôi tôm ở Việt Nam chủ yếu vẫn do các nông hộ thực hiện ở quy mô sản xuất nhỏ. Hình thức tổ chức nuôi tôm ở Việt Nam vẫn chủ yếu là kinh tế hộ gia đình, có tính chất manh mún, nhỏ lẻ, chưa hình thành mạng lưới tổ chức chặt chẽ để nâng cao hiệu quả sản xuất, quản lý tốt chất lượng sản phẩm, nâng cao hiệu quả cạnh tranh và duy trì thị trường bền vững.

### 1.1.2. Nguồn gốc và tác động của chất thải nuôi tôm đến môi trường

Tuy có lợi nhuận cao về kinh tế, việc phát triển thêm nhiều đầm nuôi tôm lại gặp phải vấn đề nhức nhối về môi trường. Vì phát triển quá nhanh nên chất thải từ ngành nuôi trồng này hiện đang gây ô nhiễm môi trường khá trầm trọng tại một số điểm. Vấn đề ô nhiễm này thường tập trung tại các cụm nuôi trồng nhỏ lẻ, các hộ dân ven biển tự xây dựng đầm nuôi mà không có hệ thống xử lý nước thải, dẫn đến lượng thức ăn thừa, chất bài tiết, các loại thuốc... bị xả thẳng ra nguồn nước tự nhiên gây ô nhiễm nguồn

nước. Nguồn nước tự nhiên này nếu bị ô nhiễm hoặc chứa các mầm bệnh, khi được đưa ngược lại đầm nuôi tôm sẽ khiến tôm bị dịch bệnh, gây tổn thất không hề nhỏ cho các hộ nuôi trồng.

Thức ăn thừa, phân tôm và quá trình chuyển hoá dinh dưỡng là nguồn gốc chủ yếu của các chất gây ô nhiễm ở các trại nuôi tôm quản lý kém. Kết quả quan sát đã cho thấy rằng trong hệ thống thâm canh tôm thì chỉ có 15 – 20% thức ăn được dùng vào phát triển mô động vật, có tới 15% tổng lượng thức ăn hao hụt do không ăn hết và thất thoát, chỉ có 40 – 45% là được sử dụng trong quá trình chuyển hoá dinh dưỡng, duy trì hoạt động sống và lột vỏ [1].

Lượng chất thải sinh ra có liên quan với công nghệ sản xuất thức ăn và hệ thống nuôi tôm. Nitơ và photpho là những nguyên tố chủ yếu trong chất thải bắt nguồn từ thức ăn. Việc cho thức ăn quá nhiều, tính chất nguồn nước không ổn định, thức ăn dễ tan, thức ăn khó hấp thu và khả năng duy trì nitơ... là những yếu tố liên quan với nước thải có chứa nhiều nitơ và photpho. Người ta ước lượng rằng, có khoảng 63 – 78% nitơ và 76 – 80% photpho cho tôm ăn bị thất thoát vào môi trường. Nitơ dưới dạng protein được tôm hấp thu và bài tiết dưới dạng ammoniac. Tổng khối lượng nitơ và photpho sản sinh trên 1 ha trại nuôi tôm bán thâm canh có sản lượng 2 tấn, tương ứng khoảng 113 kg và 43 kg. Đương nhiên, trong hệ thống nuôi thâm canh thì khối lượng này tăng gấp từ 7 – 31 lần.

Các nguồn khác của chất thải hữu cơ là mảnh vụn thực vật phù du hoặc tảo dạng sợi và chất lắng đọng hoặc chất hữu cơ hoà tan, huyền phù... là do nước lấy vào mang theo. Chất thải nuôi thủy sản còn có chứa một ít dư lượng của các chất kháng sinh, dược phẩm, thuốc trị liệu và kích thích [1].

Nước thải mang theo một lượng lớn hợp chất nitơ, photpho và các chất dinh dưỡng khác, gây nên sự siêu dinh dưỡng và rộng dinh dưỡng, kèm theo sự tăng sức sản xuất ban đầu và nở rộ của vi khuẩn. Sự có mặt của các hợp chất cacbonic và chất hữu cơ sẽ làm giảm oxy hoà tan và tăng BOD, COD, H<sub>2</sub>S, NH<sub>4</sub>-N và hàm lượng CH<sub>4</sub> trong lưu vực tự nhiên. Một vấn đề khác do việc nuôi tôm gây nên đó là sự làm lắng đọng bùn ở các vùng lân cận, như rừng ngập mặn và ở những nơi nước tù [1].

Chất lượng nước và chất lượng đáy ao bị nhiễm bẩn sẽ tác động trực tiếp tới con tôm. Con tôm luôn bị căng thẳng, thể hiện qua việc kém ăn, mức tăng trưởng giảm và dễ bị mắc bệnh do vi khuẩn như *Vibriosis* và dẫn đến việc tôm chết hàng loạt. Phần lớn các bệnh của tôm đều có nguồn gốc từ môi trường mà chúng sinh trưởng [1].

Hệ thống kênh rạch bị bồi lắng, môi trường nước tự nhiên bị ô nhiễm nghiêm trọng nếu như không xử lý nguồn nước trong ao và bơm bùn đáy ao trong nuôi tôm thâm canh và bán thâm canh ra kênh rạch tự nhiên. Nếu việc xả thải diễn ra liên tục, không có thời gian gián đoạn để môi trường được phục hồi, mầm bệnh bị cất thì mùn bã hữu cơ sẽ tích lũy làm môi trường nước trở nên phú dưỡng, nghề nuôi tôm thâm canh và bán thâm canh sẽ lại càng chịu rủi ro nhiều hơn nữa. Mặt khác, hạ tầng phục vụ các vùng nuôi tôm chưa hoàn chỉnh, hệ thống thủy lợi vốn là hệ thống phục vụ cho nhu cầu canh tác nông nghiệp; nhiều khu nuôi tôm chưa có kênh cấp, kênh xả riêng biệt, thậm chí nhiều đoạn kênh bị bồi lắng, đáy kênh cao hơn đáy ao nuôi tôm. Hậu quả là mầm bệnh vẫn tồn lưu trong khu nuôi tôm khi các ao tôm bị bệnh thải nước ra môi trường bên ngoài, nên khả năng lây nhiễm rất cao [3].

### 1.1.3. Thành phần và đặc tính chất thải nuôi tôm

Chất thải nuôi tôm bao gồm lượng bùn lắng dưới đáy ao và nước thải trên bề mặt. Đặc trưng của chúng là mang theo một lượng lớn hợp chất nitơ, photpho và các chất dinh dưỡng khác, tạo nên sự siêu dưỡng và làm nở rộ vi khuẩn. Sự có mặt của các hợp chất cacbonic và chất hữu cơ sẽ làm giảm nồng độ oxy hòa tan và tăng BOD, COD, H<sub>2</sub>S, ammonia và hàm lượng CH<sub>4</sub> trong lưu vực tự nhiên.

**Bảng 1.1: Thành phần các chất ô nhiễm trong chất thải nuôi tôm**

STT	Chỉ tiêu	Đơn vị	Nước thải [4]	Bùn đáy ao [5]
1	pH	-	7.5 – 9	6.0-7.2
2	Độ đục	NTU	-	-
3	NO <sub>2</sub> -N	mg/l	-	-
4	NO <sub>3</sub> -N	mg/l	0.05 – 1.54	-
5	NH <sub>4</sub> -N	mg/l	1.97 – 25.6	6.8 – 73.15
6	TN	mg/l	0.5 – 20.9	3.7 – 4.7
7	PO <sub>4</sub> -P	mg/l	0.53 – 4.21	0.6 – 2.6
8	BOD <sub>5</sub>	mg/l	0.4 – 33.9	1588 – 3867
9	COD	mg/l	-	-

#### **1.1.4. Phương pháp xử lý chất thải nuôi tôm**

##### ***1.1.4.1. Phương pháp xử lý cơ học (vật lý)***

Cơ chế chính của phương pháp này là quá trình lắng tự nhiên, loại bỏ các tạp chất không tan, các vật chất lơ lửng bao gồm vô cơ lẫn hữu cơ trong nước thải. Nguyên tắc dựa trên sự khác nhau về trọng lượng của các hạt vật chất lơ lửng. Quá trình này có thể loại bỏ 90 – 99% lượng cặn chứa trong nước. Phương pháp này thường được ứng dụng ở giai đoạn đầu của quá trình xử lý [6].

##### ***1.1.4.2. Phương pháp xử lý hóa học***

Thực chất của phương pháp xử lý hoá học là sử dụng một số hóa chất đưa vào nước thải, các hóa chất này có thể tham gia oxy hóa khử vật chất ô nhiễm, trung hòa tạo chất kết tủa hoặc tham gia cơ chế phân hủy. Phương pháp hóa học được sử dụng chủ yếu với mục đích loại bỏ các vi sinh, vi rút gây bệnh và các dạng kháng sinh để tuần hoàn lại nước, tiết kiệm kinh phí trong quá trình nuôi. Tuy nhiên, phương pháp này được đánh giá là không phù hợp với xu hướng phát triển ứng dụng công nghệ xanh trong tương lai do sử dụng một lượng hóa chất lớn và khó định liều lượng, vì thế chỉ sử dụng phương pháp hóa học trong trường hợp các tạp chất gây ô nhiễm trong nước thải không thể tách bằng các phương pháp khác [6].

##### ***1.1.4.4. Phương pháp xử lý sinh học***

###### **❖ Phương pháp sử dụng hệ vi sinh vật**

Có một số loài vi sinh vật có khả năng sử dụng các chất hữu cơ và một số chất khoáng làm nguồn dinh dưỡng và tạo năng lượng, sinh trưởng nhờ vậy sinh khối của chúng tăng lên. Các vi sinh vật này được sử dụng để phân huỷ các chất ô nhiễm hữu cơ và vô cơ có trong chất thải từ nước thải thủy sản. Quá trình phân huỷ này được gọi là quá trình phân huỷ oxy hóa sinh hóa. Một số chế phẩm vi sinh thường dùng để cải thiện môi trường nước ao nuôi tôm, cá như Super VS, BRF-2 quakit... Thành phần sinh học của chế phẩm này gồm nhiều chủng loại vi sinh, tập hợp các thành phần men ngoại bào của quá trình sinh trưởng vi sinh, các enzyme ngoại bào tổng hợp, các chất dinh dưỡng sinh học và khoáng chất kích hoạt sinh trưởng ban đầu và xúc tác hoạt tính. Chúng có khả năng tiêu thụ các chất hữu cơ phát sinh trong quá trình sinh trưởng và phát triển của vật nuôi trong ao hồ. Hay nói cách khác, chúng có tác dụng phân giải chất hữu cơ hòa tan và không hòa tan từ phân tôm, các thức ăn thức ăn thừa tích tụ đáy ao nuôi, tạo được sự ổn định, duy trì chất lượng nước và cả màu nước trong ao hồ. Mặt khác chế phẩm

này còn giúp giảm thiểu được các vi sinh vật gây bệnh như Vibrio, aeromonas, E.coli..., làm tăng thêm lượng oxy hòa tan trong môi trường nước ao nuôi và giảm thiểu lượng amoniac [1].

#### ❖ Phương pháp sử dụng hệ động thực vật để hấp thụ các chất ô nhiễm

Bản chất của việc sử dụng hệ động, thực vật để loại bỏ các chất ô nhiễm dựa trên cơ sở quá trình chuyển hóa vật chất trong hệ sinh thái thông qua chuỗi thức ăn. Thông thường người ta sử dụng thực vật làm các sinh vật hấp thụ các chất dinh dưỡng là nitơ và photpho, cacbon để tổng hợp các chất hữu cơ làm tăng sinh khối (sinh vật tự dưỡng), đó là tảo hay thực vật phù du, rong và các loài thực vật ngập mặn khác.

Kế tiếp trong chuỗi thức ăn là các động vật bậc một – động vật ăn thực vật. Điển hình của các động vật bậc một ở vùng nước ven biển là các loại ngao, vẹm, hầu các loài này có thể tiêu thụ các thực vật phù du và cải thiện điều kiện trầm tích đáy. Các loài cá ăn thực vật phù du và mùn bã hữu cơ như cá măng, cá đối cũng được thử nghiệm sử dụng ở các kênh thoát nước thải.

Trong thực tế, để đảm bảo đạt hiệu suất xử lý cao các chất ô nhiễm với chi phí vận hành tối thiểu, người ta thường sử dụng kết hợp nhiều phương pháp, kết hợp nhiều hệ thống và các tác nhân khác nhau. Tùy theo hàm lượng chất ô nhiễm trong nước thải và điều kiện cụ thể của từng khu vực.

Có rất nhiều phương pháp sinh học có thể sử dụng để xử lý ô nhiễm môi trường do nuôi trồng thủy sản ven biển, mỗi phương pháp đều có những ưu và khuyết điểm riêng, song sử dụng các hồ sinh học và các hệ thống đất ngập nước vẫn có ưu thế hơn cả xét về phương diện kinh tế lẫn môi trường, nhất là quy mô nuôi chưa cao, hệ thống nuôi còn nhỏ lẻ chủ yếu mang tính chất nông hộ chu kỳ thải từ 3 – 15 ngày/lần.

#### ❖ Hồ sinh học

Bao gồm một chuỗi từ 3 đến 5 hồ, nước thải được làm sạch bằng quá trình tự nhiên thông qua các tác nhân là tảo và vi khuẩn. Mối quan hệ giữa vi sinh vật, thực vật trong hồ sinh học là mối quan hệ thông qua oxy và thông qua các chất dinh dưỡng cơ bản.

Trong hồ luôn diễn ra các quá trình như quang hợp, khuếch tán oxy vào nước. Nhưng quá trình quang hợp chỉ xảy ra trong điều kiện có ánh sáng, ánh sáng chiếu vào nước phụ thuộc vào hai yếu tố cơ bản là chiều sâu của nước và sự tồn tại hàm lượng chất hữu cơ lơ lửng nhiều hay ít.

Mô hình này có thể áp dụng cho những nơi có diện tích đất lớn, để xử lý nước thải trong nuôi tôm sẽ cho hiệu quả về môi trường và kinh tế.

❖ Các hệ thống đất ngập nước

Hoạt động nuôi trồng thủy sản ven biển diễn ra ở vùng nước mặn – lợ nên có thể sử dụng các hệ thống đất ngập nước để xử lý ô nhiễm môi trường đặc biệt là các khu vực rừng ngập mặn.

Rừng ngập mặn là một hệ sinh thái ở vùng đất ngập nước rất phổ biến ở ven biển Việt Nam. Có thể sử dụng rừng ngập mặn như một bể lọc sinh học các chất ô nhiễm hữu cơ từ chất thải đô thị, công nghiệp và nuôi trồng thủy sản. Theo tính toán lý thuyết, ở điều kiện Việt Nam, 1 ha rừng ngập mặn mỗi năm tăng trưởng 56 tấn sinh khối và có thể hấp thụ được 21 kg nitơ, 20 kg photpho. Theo Robertson and Phillips, để xử lý cho 1 ha nuôi tôm công nghiệp thì cần một diện tích rừng ngập mặn tối thiểu là 22 ha. Rừng ngập mặn có thể hấp thụ được một lượng lớn chất hữu cơ từ hoạt động nuôi trồng thủy sản ven biển. Khu hệ thực vật ở hệ thống này có vai trò như sau:

- Làm giảm ánh sáng chiếu xuống mặt nước, giảm quá trình quang hợp, hạn chế sự phát triển của tảo.

- Tạo điều kiện điều hòa vi khí hậu, đặc biệt cách nhiệt trong mùa đông, nhiệt độ ở dưới cao sẽ làm tăng nhanh quá trình phân hủy chất hữu cơ.

- Phần ngập dưới nước có tác dụng cung cấp bề mặt cho vi khuẩn bám dính, cung cấp oxy cho quang hợp, hấp thụ chất dinh dưỡng. Phần rễ có tác dụng giúp ổn định và giảm xói mòn, tạo điều kiện cho quá trình lắng đọng bùn và tạo trầm tích.

- Bên cạnh đó, hệ động thực vật trong hệ sinh thái rừng ngập mặn như hào, vẹm, cua, cá cũng là tác nhân loại bỏ chất ô nhiễm hữu cơ.

Ngoài ra, rừng ngập mặn với bộ rễ có cấu tạo đặc biệt là nơi bẫy các trầm tích có chứa các kim loại nặng, các hóa chất bảo vệ thực vật. Thực vật ngập mặn cùng với toàn bộ hệ sinh thái trong rừng là một bể lọc sinh học đối với các chất thải từ hoạt động nuôi trồng thủy sản ven biển. Trong nuôi tôm phát triển bền vững, hình thức này được khuyến khích phát triển, nhằm bảo vệ môi trường nước và hệ thống rừng ngập mặn.



## 1.2. TỔNG QUAN VỀ VI TẢO *SCENEDESMUS SP.*

### 1.2.1. Vị trí phân loại

*Scenedesmus sp.* được phân loại dựa theo hệ thống phân loại của Meyen [7]:

Giới: *Plantae*

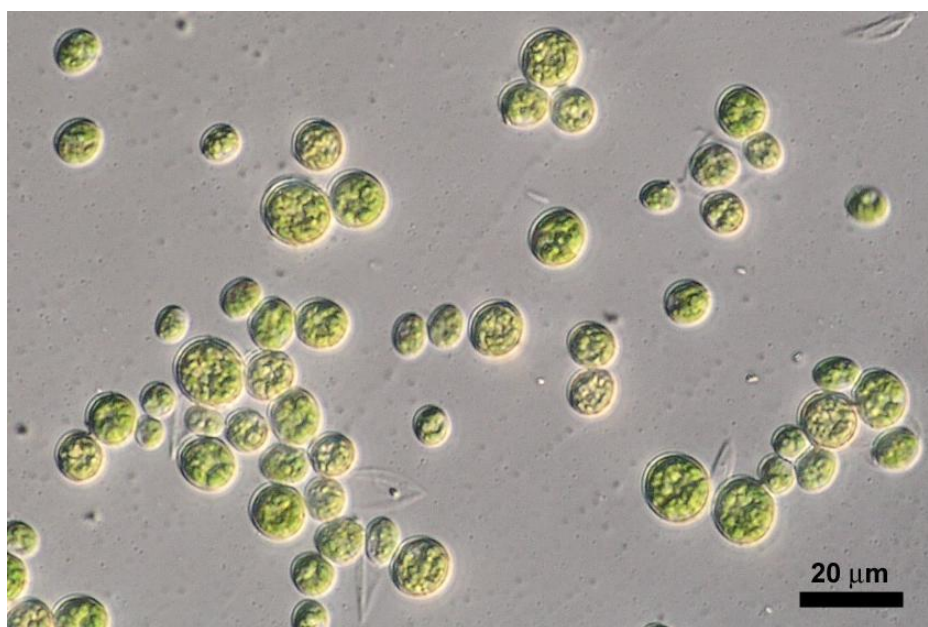
Ngành: *Chlorophyta*

Lớp: *Chlorophyceae*

Bộ: *Sphaeropleales*

Họ: *Scenedesmaceae*

Chi: *Scenedesmus*



Hình 1.2: Vi tảo *Scenedesmus sp.* dưới kính hiển vi

### 1.2.2. Đặc điểm sinh học

*Scenedesmus sp.* chi của khoảng 70 loài tảo xanh thuộc địa, một thành phần phổ biến của sinh vật phù du nước ngọt có khả năng thích ứng tốt. Chúng là loài tảo lục đơn bào hoặc nhóm tế bào có dạng hình cầu hoặc bầu dục, không di chuyển liên kết thành từng nhóm theo chuỗi, mỗi chuỗi có lượng tế bào là bội số của 2, thường là 4, 8, 16 tế bào được xếp xen kẽ hoặc song song theo trục. Nhiệt độ tối ưu cho sự tăng trưởng của *Scenedesmus sp.* tương đối rộng, trong khoảng từ 14 đến 30°C và có khả năng phát triển tốt nhất trên nước thải, dịch chiết của gia cầm (PLE), tạo ra nhiều sinh khối đặc trưng như nuôi trong môi trường chuẩn. Tỷ lệ N:P cũng là yếu tố vô cùng quan trọng nuôi cấy vi tảo này, Arbib đã tìm thấy N:P tối ưu cho sự phát triển của *Scenedesmus sp.* trong

nước thải là (22 – 24):1. Trong một nghiên cứu khác của Shashirekha, Ông đã chứng minh tỉ lệ C:N:P tối ưu là 0.2:0.14:0.08% trong quá trình dị dưỡng [8]. pH cũng là một yếu tố quan trọng trong nuôi cấy vi tảo là pH vì nó quyết định khả năng hòa tan và hàm lượng sẵn có của CO<sub>2</sub> cũng như các chất dinh dưỡng thiết yếu trong môi trường, tác động đáng kể tới quá trình trao đổi chất của tảo. pH của môi trường quá cao hoặc quá thấp đều làm chậm tốc độ tăng trưởng của tảo. Theo Amrita Difusa [9], giá trị pH tốt nhất cho nuôi thu sinh khối tảo là trong khoảng 7 – 9.

*Scenedesmus sp.* là một loài tảo có nhiều tiềm năng, chủng này có thể sử dụng cho con người, làm thức ăn chăn nuôi (nuôi ấu trùng trong nuôi trồng thủy sản, cá vây và động vật phù du...) và làm phân bón. Robert Henrikson (1998), Pauline (2006); Gouveia và Oliveira (2009) đã nghiên cứu thành công trong các ao mở ở quy mô thương mại nhắm vào nguồn nhiên liệu và thực phẩm. Bên cạnh đó, chúng cũng là một nguyên liệu tốt nhất cho việc sản xuất dầu diesel sinh học trong số các loài vi tảo [10].

*Scenedesmus sp.* sinh sản vô tính bằng cách hình thành bào tử tự thân (Autosporre). Trong quá trình sao chép, tế bào mẹ mở rộng và trở thành tế bào đa nhân sau nhiều lần phân chia. Tế bào chất sau đó được phân cắt thành các tế bào con không nhân, thường phát triển thành các tế bào tự động không di động. Các tế bào con này thường liên kết với các tế bào con khác để tạo thành một khuẩn lạc trong thành tế bào của bố mẹ. Các tế bào tiến triển thông qua một chu kỳ phân bào. Lúc này tế bào chất của các tế bào con trở nên rất dày đặc. Cuối cùng, thành tế bào mẹ phá vỡ và giải phóng các bào tử có hình dạng tế bào bình thường [10].

### 1.2.3. Sự phát triển của vi tảo

Trong các điều kiện thuận lợi của môi trường về dinh dưỡng, ánh sáng, độ mặn và nhiệt độ, các loài vi tảo sinh sản theo kiểu phân cắt tế bào làm số lượng tế bào tăng lên một cách nhanh chóng.

Sự sinh trưởng của vi tảo được đặc trưng bởi 5 pha [11]:

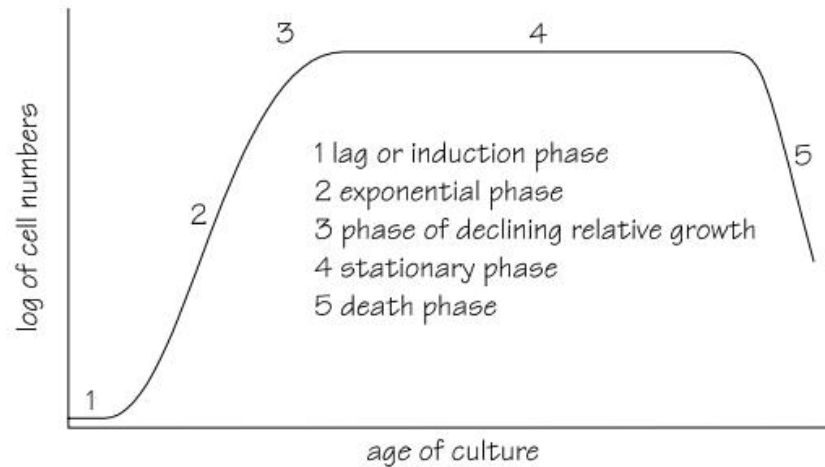
+ Pha lag (lag or induction phase): vi tảo thích nghi với môi trường và bắt đầu phân chia tế bào nhưng số lượng tế bào tăng chậm

+ Pha log (exponential phase): số lượng tế bào tăng theo cấp số nhân

+ Pha tăng trưởng chậm (phase of declining relative growth): môi trường dinh dưỡng giảm mạnh cùng với mật độ tế bào tảo cao làm tốc độ sinh sản giảm, tuy nhiên số lượng tế bào vẫn tăng

+ Pha cân bằng (stationary phase): số lượng tế bào đạt cực đại và ổn định

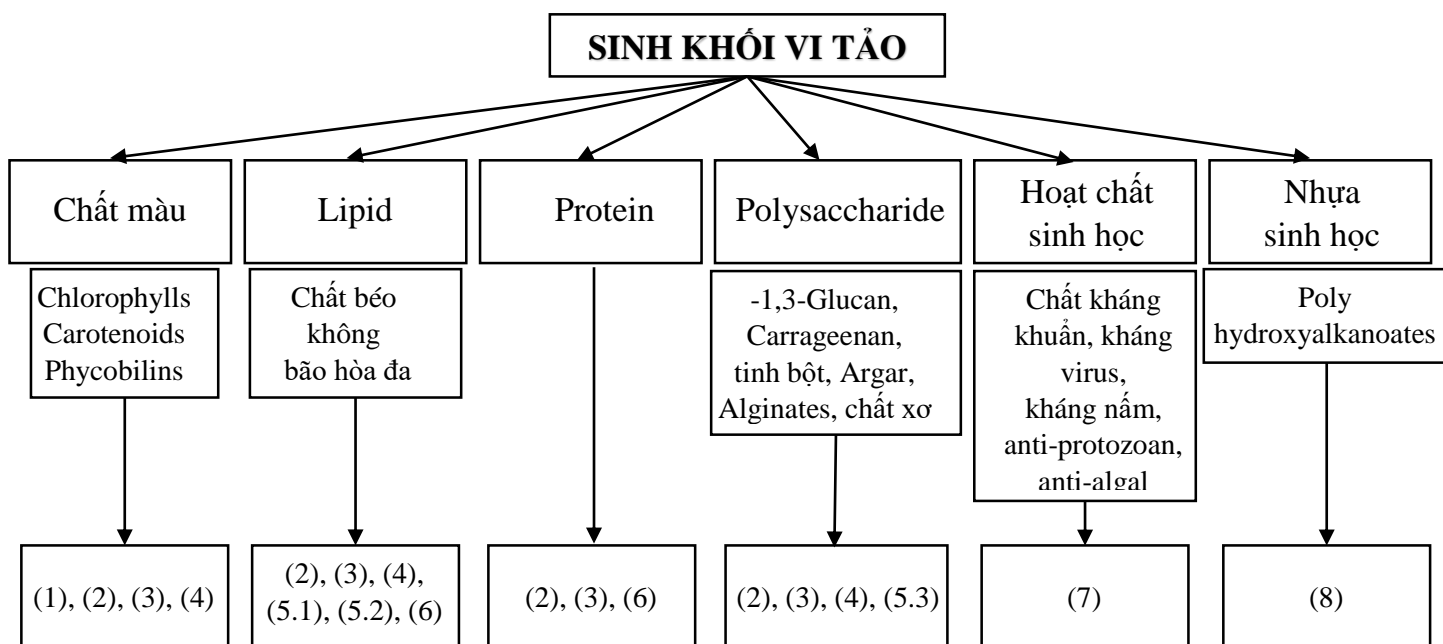
+ Pha chết (death phase): khả năng sinh sản của tảo giảm dần và số lượng tảo giảm một cách rõ rệt



Hình 1.3: Các pha sinh trưởng của vi tảo

#### 1.2.4. Giá trị từ sinh khối vi tảo *Scenedesmus sp.*

Nhiều loài vi tảo được nuôi trồng để tạo nguồn thực phẩm, thức ăn chăn nuôi, phân bón hữu cơ, hay chiết xuất những chất có giá trị cao như các sắc tố tự nhiên, chất chống oxy hóa, protein, lipid, vitamin và vi khoáng để sử dụng trong dược phẩm, thực phẩm bổ sung, mỹ phẩm,... Các loài vi tảo nói chung và loài *Scenedesmus sp.* nói riêng chứa đến hơn 30% lipid nên được kỳ vọng là nguồn nguyên liệu tiềm năng để sản xuất nhiên liệu sinh học (biofuel, biodiesel, ethanol, alcohols, gas).



Chú thích:

- |                                    |                  |                       |
|------------------------------------|------------------|-----------------------|
| (1) Mỹ phẩm                        | (5) Năng lượng:  | (6) Thức ăn chăn nuôi |
| (2) Dưỡng chất cho người           | (5.1) Biodiesel  | (7) Thuốc kháng sinh  |
| (3) Thực phẩm chức năng            | (5.2) Biogas     | (8) Biopolyesters     |
| (4) Dược phẩm và ứng dụng trị bệnh | (5.3) Bioethanol |                       |

Hình 1.4: Khả năng sử dụng vi tảo [12]

#### 1.2.4.1. Sản xuất nhiên liệu sinh học

Các nhà khoa học thuộc Viện Công nghệ Tokyo đã xác định được các acyltransferases acid lysophosphatidic độc đáo như là các enzym chủ chốt để tổng hợp nên triacylglycerol (TAG) từ tảo *Scenedesmus sp.* chứa dầu, nhờ đó đã phát hiện ra cơ chế sản xuất nhiên liệu sinh học từ vi tảo [13]. PGS.TS Đặng Diễm Hồng cho biết: Mỗi loài tảo chứa hàm lượng dầu khác nhau, có thể biến đổi thành diesel sinh học bằng công nghệ phù hợp hiện có. Nhiều nghiên cứu trên thế giới đã chứng minh vi tảo có khả năng tạo ra được dầu cho sản xuất diesel sinh học cao gấp 15-300 lần so với các cây có dầu truyền thống khác trên cùng một diện tích sử dụng. Cây cọc rào (*Jatropha curcas*) cho 1.892 lít dầu/ha trong khi vi tảo là 58.700 lít/ha. Không giống như thực vật bậc cao, vi tảo có tốc độ sinh trưởng nhanh, có thể nhân đôi sinh khối trong vòng 24 giờ. Thành phần dầu của tảo có thể lên tới 80% khối lượng khô. Tỷ lệ dầu chiếm đến 20 - 50% khối lượng khô là phổ biến ở tảo [14].

Việc dùng tảo để sản xuất nhiên liệu sinh học giống như một mũi tên bắn trúng 2 đích: vừa tạo ra năng lượng vừa làm sạch môi trường. trong quá trình quang hợp, tảo còn sản xuất ra dầu ngay trong tế bào của chúng. Tảo cũng có thể tăng khả năng sản xuất dầu bằng cách bổ sung khí CO<sub>2</sub> trong quá trình nuôi trồng hoặc sử dụng các môi trường giàu chất hữu cơ (như nước thải chăn nuôi gia súc, gia cầm...) để nuôi trồng. Điều này vừa tạo ra nhiên liệu sinh học, vừa làm giảm lượng CO<sub>2</sub>, làm sạch môi trường, đóng góp tích cực cho việc chống biến đổi khí hậu. Nhiên liệu từ tảo còn có ưu điểm như ít tính độc, khả năng đốt cháy tốt hơn dầu thô, không gây hiệu ứng nhà kính, có thể sử dụng trực tiếp cho động cơ diesel hoặc pha trộn diesel từ vi tảo với diesel có nguồn gốc dầu mỏ theo các tỷ lệ khác nhau [14].

Được coi là nguồn nguyên liệu tiềm năng cho nhiên liệu sinh học, vì thế đã có nhiều nghiên cứu về giá trị của sinh khối vi tảo được thực hiện. Điển hình, PGS.TS Đặng Diễm Hồng và TS Đinh Thị Hằng (Viện Công nghệ sinh học - Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam) đã tạo ra dầu diesel sinh học từ tảo thông qua đề tài cấp Nhà nước

"Nghiên cứu quy trình công nghệ sản xuất vi tảo biển làm nguyên liệu sản xuất diesel sinh học" do, thuộc Đề án phát triển nhiên liệu sinh học đến năm 2015, tầm nhìn đến năm 2025 với mã số ĐT.03.09 do Bộ Công thương quản lý. Sau 3 năm nghiên cứu (2009-2011), các nhà khoa học đã có được quy trình công nghệ nuôi trồng 4 loài vi tảo biển tiềm năng (*Schizochytrium mangrovei*, *Nannochloropsis oculata*, *Chlorella vulgaris*,; *Tetraselmis convolutae*) trên quy mô lớn, tạo ra được 7.8 lít diesel đạt 11/15 tiêu chuẩn theo TCVN 7717:2007 về diesel B100 cùng với các sản phẩm phụ như acid béo không bão hòa đa nối đôi (polyunsaturated fatty acids - PUFAs) DHA, DPA, glycerol, phân vi sinh từ sinh khối vi tảo biển nuôi trồng được [14]. Tiến sỹ Nguyễn Thị Thanh Xuân, Trường Đại học Bách khoa Đà Nẵng cũng nghiên cứu thành công với đề tài này, loại vi tảo sử dụng trong nghiên cứu là vi tảo *Chlorella Vulgris*. Điểm mới trong đề tài này là vi tảo được nuôi trồng bằng nguồn nước thải giàu chất hữu cơ tại các cơ sở giết mổ, trang trại chăn nuôi hay tại các nhà máy sản xuất ethanol. Sản xuất nhiên liệu sinh học bằng cách nuôi trồng vi tảo từ nước thải hữu cơ vừa góp phần tìm ra nguồn năng lượng mới, vừa tiết kiệm chi phí cho việc xử lý nguồn nước thải gây ô nhiễm môi trường, đồng thời tìm kiếm giải pháp hạn chế phát thải nồng độ khí CO<sub>2</sub> trong bầu khí quyển [15].

#### **1.2.4.2. Sản xuất thức ăn cho nuôi trồng thủy sản**

Nuôi trồng thủy sản là ngành thực phẩm phát triển nhanh nhất thế giới lại gây ra một số sự cố môi trường. Thức ăn thủy sản sử dụng 70% khối lượng bột cá và dầu cá của thế giới bắt nguồn từ các loại cá nhỏ, đánh bắt dưới đại dương như cá cơm, cá mòi, cá trích và cá thu, rất cần cho phần dưới của chuỗi thức ăn ở đại dương. Các nhà phân tích dự đoán đến năm 2040, nhu cầu bột cá và dầu cá sẽ vượt quá nguồn cung. Thức ăn thủy sản cũng khai thác khối lượng lớn đậu tương và ngô từ các trang trại công nghiệp, gây ra các mối lo ngại khác về môi trường do sử dụng phân bón và dòng thải tiềm ẩn đổ xuống sông, hồ và các thủy vực ven biển. Ngoài ra, thức ăn thủy sản có thể gây ô nhiễm dòng nước thải nuôi trồng thủy sản, vì cá không thể tiêu hóa hết đậu tương và ngô, thành phần chính của thức ăn. Trong khi, vi tảo là nguồn thức ăn tự nhiên cho nhiều loài thủy sản nhỏ bao gồm: ấu trùng tôm cá, cua... Tảo biển là nguồn cung cấp dồi dào các acid amin thiết yếu, khoáng chất, vitamin và acid béo omega-3, nên có thể đáp ứng các yêu cầu dinh dưỡng cho cá. Acid béo omega-3 rất quan trọng để duy trì sức khỏe của cá; chúng cũng tốt cho thần kinh, tim mạch và chống ung thư ở con người [16]. Vì vậy, để giải quyết các mối lo ngại về môi trường bền vững của thức ăn thủy sản, nhiều nghiên cứu dùng vi tảo làm nguồn thức ăn cho nuôi trồng thủy sản đã ra đời và đạt được nhiều thành công.

Các nhà nghiên cứu tại trường Đại học Dartmouth đã tạo ra một nguồn thức ăn bền vững hơn cho nuôi trồng thủy sản bằng cách sử dụng sản phẩm tương tự như vi tảo biển làm một thành phần trong thức ăn chăn nuôi. Đây là nghiên cứu đầu tiên đánh giá khả năng thay thế bột cá bằng một sản phẩm tương tự trong thức ăn cho cá rô phi ở sông Nile. Nhóm nghiên cứu đã thay thế bột cá bằng *Nannochloropsis oculata*, sản phẩm tương tự vi tảo biển giàu protein và acid béo omega-3 bao gồm acid eicosapentaenoic thiết yếu tác động đến sự sinh trưởng và chất lượng của cá. Các đồng sản phẩm còn lại là bột tảo, sau khi các loại dầu được chiết xuất từ sinh khối tảo được trồng thương mại để sản xuất các chất dinh dưỡng, hóa chất và các ứng dụng cho nhiên liệu. Các phát hiện nghiên cứu cho thấy triển vọng thay thế các thành phần protein thông thường trong thức ăn của cá rô phi. Nghiên cứu đã chứng minh sản phẩm tương tự vi tảo có hàm lượng protein cao nhưng có thể làm giảm khả năng tiêu hóa. Các nhà khoa học cũng đã đánh giá một số nguồn thức ăn thủy sản có tỷ lệ đồng sản phẩm thay thế bột cá khác nhau. Khi 33% bột cá được thay thế bằng một sản phẩm tương tự, cá rô phi sông Nile sẽ có tốc độ tăng trưởng cá và tỷ lệ chuyển hóa thức ăn và tỷ lệ sống sót tương tự như chế độ ăn với bột cá là 7%. Nhóm nghiên cứu đưa ra giả thuyết rằng sản phẩm tương tự vi tảo cần được tăng cường enzyme để tăng tối đa khả năng cung cấp chất dinh dưỡng và khắc phục hiện tượng tiêu hóa kém như quan sát trong thí nghiệm [16].

Hiện nay, một số loại vi tảo đã được sử dụng làm nguồn thức ăn trong nuôi giống thủy hải sản. Các loài tảo phổ biến là: *Chlorella*, *Tetraselmis*, *Isochrysis*, *Pavlova*, *Phaeodactylum*, *Chaetoceros*, *Nannochloropsis*, *Scenedesmus*, *Skeletonema* và *Thalassiosira* với sự kết hợp của các loài khác nhau thường được sử dụng để cung cấp sự cân bằng hàm lượng protein, chất béo và vi chất thiết yếu. Tảo *Skeletonema costatum* và tảo *Chaetoceros* là thức ăn khởi đầu tiên quyết rất quan trọng không chỉ cho ấu trùng tôm từ giai đoạn Zoea đến giai đoạn Postlarvae mà còn ở cả những giai đoạn sau đó. Sử dụng tảo *Chaetoceros calcitrans* tươi làm thức ăn bổ sung cho ấu trùng tôm thẻ chân trắng đem lại tỉ lệ sống cao, dễ tiêu hóa, tăng trưởng tốt, phù hợp với cỡ miệng của tất cả các loại ấu trùng. Sử dụng tảo *Isochrysis galbana*, *Nannochloropsis oculata*, *Chaetoceros mueller* dùng để nuôi luân trùng cũng như ấu trùng một số đối tượng như: tôm, cua, điệp quạt, điệp seo, bào ngư, trai ngọc, ốc hương, tu hài, sò huyết, hải sâm...đồng thời tạo môi trường nước xanh, điều hòa các khí hòa tan, cân bằng độ đục cần thiết và ổn định pH của môi trường nuôi.

#### **1.2.4.3. Ứng dụng để kiểm soát dịch bệnh trong nuôi tôm/cá**

Dịch bệnh do vi khuẩn, virus là một thách thức đối với ngành nuôi trồng thủy sản đặc biệt là nuôi cá và động vật giáp xác. Một báo cáo khoa học mới đây đã nhấn mạnh tiềm năng của vi tảo tự nhiên và chuyển gen ứng dụng để kiểm soát dịch bệnh trong nuôi tôm/cá. Các nhà nghiên cứu từ Đại học Mahidol, Trung tâm Kỹ thuật Di truyền và Công nghệ Sinh học Quốc gia (BIOTEC) cùng Đại học London (Vương quốc Anh) đã phát triển phương pháp nghiên cứu để ứng dụng công nghệ vi tảo nhằm kiểm soát dịch bệnh trong nuôi trồng thủy sản. Những tiến bộ gần đây trong kỹ thuật di truyền của một loạt các loài vi tảo là có thể phát triển các chủng vi tảo riêng biệt với tác nhân kháng vi khuẩn, cũng như các phân tử tái tổ hợp có lợi khác như promoter tăng trưởng và enzyme *phytases* và *cellulases*. Cho đến nay, tiến bộ trong việc phát triển vi tảo chuyển gen làm nền tảng cho việc phân phối sinh học phân tử quản lý mầm bệnh nuôi trồng thủy sản còn hạn chế nhưng đáng khích lệ. Đó là việc tạo ra các kháng nguyên virus, các peptit kháng khuẩn và RNA chuỗi kép (dsRNA) bằng cách biến đổi hạt nhân và lục lạp của một số loài tảo. Trong một nghiên cứu, cho cá *Medaka* ăn với *Nannochloropsis oculata* biểu hiện kháng thể lactoferricin – một peptid kháng khuẩn phổ rộng có thể giết chết hoặc vô hiệu hóa nhiều mầm bệnh do vi khuẩn, virus và nấm sau 6 giờ trước thử thách với mầm bệnh *Vibrio parahaemolyticus* cho thấy tỉ lệ sống tăng lên 70 – 85% so với 5% trong nhóm cá đối chứng. Có hơn 10 000 loài vi tảo biển và nước ngọt được xác định cho đến nay, nhưng chỉ một phần nhỏ đã được ứng dụng cho nuôi trồng thủy sản, rõ ràng đây là một nguồn tài nguyên chưa được khai thác hết. Kỹ thuật di truyền tảo và sinh học tổng hợp mở ra cánh cửa cho các chiến lược thay thế kháng sinh đầy hứa hẹn nhằm bảo vệ động vật thủy sản chống lại tác nhân gây bệnh cũng như quản lý dịch bệnh trên tôm/cá. Việc áp dụng công nghệ sinh học đang nổi lên này sẽ giúp đóng góp cho ngành nuôi trồng thủy sản bền vững và thúc đẩy an ninh lương thực toàn cầu [17].

#### **1.2.4.4. Sản xuất dược phẩm**

Tảo *Spirulina* có hàm lượng protein chiếm 60 – 70 % trọng lượng khô, đây là loại thực phẩm chức năng tốt nhất hiện nay được chế tạo từ thiên nhiên chống xơ vữa động mạch, điều hòa huyết áp, bảo vệ gan và các tế bào thần kinh, giúp cho cơ thể hoàn toàn khỏe mạnh. *Spirulina* có các loại vitamin nhóm B, hàm lượng vitamin B12, caroten, phycoyanin, các nguyên tố vi lượng như K, Mg, Fe, Mn, Zn có lợi cho hoạt động của hệ thần kinh và tim mạch, chống lão hóa ngăn ngừa bệnh ung thư và kích thích sự đáp ứng miễn dịch của cơ thể đối với các tác nhân có hại từ bên ngoài. Đặc biệt - kẽm (Zn) và

các acid amin: tryptophan, arginin có trong tảo giúp tăng cường khả năng hoạt động tình dục, tăng cảm giác hưng phấn tình dục ở nam giới. Dùng tảo *Spirulina* còn giúp tăng cường hệ tiêu hóa, chứa 18 loại acid amin dễ tiêu hóa, chức năng bài tiết, hạn chế những vi khuẩn gây hại như *E.coli*, nấm *Cadida* và kích thích những lợi khuẩn như *Lactobacillus* và *Bifidobacterium*, làm mặt nạ chăm sóc da rất tốt [18].



Hình 1.5: Thực phẩm chức năng từ tảo Spirulin

Ngoài ra còn có tảo *Platensis* có hàm lượng protein lên đến hơn 65%, ít lipid và chứa nhiều beta-caroten và các tiền sinh tố A, D, B12 là nguyên liệu cơ bản cho các chế phẩm dinh dưỡng và dược liệu [18].

Tảo với những công dụng thực sự hữu ích như trên đã khiến các nước trên thế giới và cả Việt Nam đang dần hoàn thiện các môi trường nuôi sinh khối lớn đáp ứng lại nhu cầu thị trường.

#### 1.2.4.5. Sản xuất phân bón

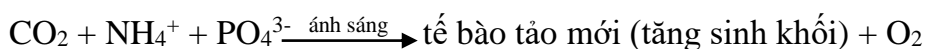
Những đám tảo dày đặc trong nước do dòng chảy phân bón nông nghiệp có thể phá hủy sinh vật dưới nước và làm tắc nghẽn sông hồ, nhưng các nhà khoa học vừa cho biết rằng, họ đang tìm cách dọn sạch những tai họa môi trường này và biến chúng thành các sản phẩm hữu ích. Có thể tái chế phần dư thừa của nguyên liệu trở lại thành các chất dinh dưỡng trong đất nông nghiệp. Tảo có thể được sử dụng để thu giữ các dưỡng chất trong nước thải nông nghiệp. Sau khi thu hoạch, tảo lại được sử dụng làm phân bón. Hiện nay trên thị trường có một số loại phân bón vi tảo như: Phân bón hữu cơ RootPlex, phân bón chiết xuất tảo biển *Alginure*...



### 1.3. TỔNG QUAN SỬ DỤNG VI TẢO TRONG XỬ LÝ NƯỚC THẢI

#### 1.3.1. Cơ sở khoa học của biện pháp xử lý nước thải bằng vi tảo

Lượng nước thải chứa một lượng lớn các chất dinh dưỡng (nitơ, photpho) và nếu bị thải vào nguồn nước nó gây ra hiện tượng phú dưỡng, ảnh hưởng tới hệ sinh thái. Để loại bỏ chất dinh dưỡng, một số phương pháp sinh học đã được sử dụng nhưng nhược điểm của các phương pháp này là chi phí cao và phát sinh bùn. Trong những năm gần đây, vi tảo được sự quan tâm của các nhà khoa học và được ứng dụng trong nhiều lĩnh vực, đặc biệt là xử lý nước thải. Ứng dụng tảo, đặc biệt là vi tảo đang trở thành một công nghệ tiềm năng và triển vọng bởi khả năng sử dụng hiệu quả chất dinh dưỡng nitơ, photpho hòa tan cho sự tăng trưởng, loại bỏ kim loại, chất hữu cơ. Xử lý nước thải bằng vi tảo là một biện pháp thân thiện với môi trường, đồng thời đem lại lợi ích cả về mặt loại bỏ chất ô nhiễm và sản xuất sinh khối. Cơ sở sinh học của phương pháp này là dựa vào đặc tính sinh trưởng tự nhiên của vi tảo. Chúng sử dụng CO<sub>2</sub> hoặc bicacbonat làm nguồn cacbon và nguồn nitơ, photpho vô cơ để cấu tạo tế bào dưới tác dụng của năng lượng ánh sáng mặt trời, đồng thời thải ra khí oxy. Quá trình quang hợp của tảo được diễn ra như sau:



Khí oxy phân tử sinh ra làm giàu thêm hàm lượng oxy hòa tan trong nước, tạo điều kiện thuận lợi giúp vi khuẩn hiếu khí phát triển và thúc đẩy các phản ứng oxy hóa – khử trong quá trình phân hủy hiếu khí các chất hữu cơ xảy ra nhanh hơn [19].

#### 1.3.2. Các nghiên cứu ứng dụng vi tảo trong xử lý nước thải

Việc sử dụng tảo trong xử lý nước thải đã có lịch sử khoảng 75 năm với hai dòng chính là *Chlorella* và *Dunaliella*. Ý tưởng sơ khai này được phát triển đầu tiên ở các nước như Úc, Mỹ, Thái Lan, Mexico, nơi đã có những hiểu biết tiên tiến hơn về sinh học và sinh thái học ở thời điểm bấy giờ, đặc biệt là các nước này có kinh nghiệm về hệ thống nhân nuôi và thu hồi sinh khối tảo đảm bảo việc thiết kế, vận hành nuôi tảo hiệu suất cao và sản xuất ra sản phẩm giá trị cao. Oswald và Gotass sau đó đã đưa ý tưởng này vào hệ thống xử lý sinh học như ao ổn định chất thải và được thử nghiệm tại nhiều quốc gia. Từ tiền đề của nghiên cứu trên của 3 tác giả trên, các nghiên cứu ứng dụng của tảo được thảo luận sâu rộng hơn, phát triển thay thế hệ thống xử lý thứ cấp hóa học bởi nhiều ưu điểm vượt trội, giảm chi phí vận hành và thân thiện hơn với môi trường. Hơn nữa, ưu điểm của phương pháp này không chỉ có khả năng sử dụng nitơ, photpho cho sự sinh trưởng của tảo, mà còn loại bỏ độc chất kim loại nặng như chì, canxi, thủy

ngân, thiếc, asen, brom, quá trình quang hợp của tảo còn sản sinh oxy, tăng pH, loại bỏ coliform. Một số loài vi tảo có khả năng sinh trưởng phát triển trên một số loại nước thải đặc trưng đồng thời đóng vai trò quan trọng trong quá trình làm sạch nước thải. Cùng với các vi sinh vật khác, vi tảo giữ vai trò như máy lọc sinh học tự nhiên, trực tiếp hấp thu tất các những sản phẩm thừa, sản phẩm sau cùng của phân hủy hữu cơ và chuyển hóa chúng sang dạng ít độc hại hơn hoặc phân giải chúng thành những vật chất đơn giản và vô hại. Những loại vi tảo và vi khuẩn lam nước ngọt sử dụng phổ biến trong quá trình xử lý nước thải chủ yếu thuộc các chi *Chlorella*, *Spirulina*, *Scenedesmus*...

Đã có nhiều nghiên cứu thể hiện khả năng xử lý của tảo đối với từng yếu tố ô nhiễm khác nhau như sau:

- Loại bỏ nitơ và photpho

Hệ thống xử lý nước thải sinh học với tảo loại bỏ dinh dưỡng như nitơ, photpho và cung cấp oxy cho vi khuẩn hiếu khí được công bố 50 năm trước bởi Oswald và Gotaas. Kể từ đó, hàng loạt các khu thí nghiệm và thực nghiệm của quá trình này và hàng loạt các nhà máy xử lý nước thải sử dụng hệ thống này được xây dựng [20].

Nước thải sau khi được xử lý bằng sinh học kỵ khí và hiếu khí vẫn còn tồn tại nhiều hợp chất hòa tan của dạng nitơ và photpho như  $\text{NH}_4\text{-N}$ ,  $\text{NO}_3\text{-N}$ ,  $\text{NO}_2\text{-N}$ ,  $\text{PO}_4\text{-P}$ . Đây là hai nguyên tố dinh dưỡng quan trọng trong sự phát triển của nhiều loại sinh vật. Tuy nhiên trong điều kiện giàu dinh dưỡng có thể dẫn đến hiện tượng phú dưỡng hóa, tảo nở hoa, làm bùng phát sự tăng trưởng của các loại thực vật không mong muốn như tảo, thực vật thủy sinh; đồng thời cản trở sự sống của các sinh vật khác. Do đó sử dụng nitơ và photpho như một nguồn dinh dưỡng chủ yếu để nuôi cấy vi tảo đã giải quyết việc loại bỏ dinh dưỡng trong nước thải [21].

Nghiên cứu của Lau và cộng sự cho thấy khả năng vi tảo *Chlorella vulgaris* trong loại bỏ dinh dưỡng là 86% nitơ vô cơ và 70% photpho vô cơ [22]. Nghiên cứu của Colak và Kaya đã báo cáo khả năng loại bỏ nitơ là 50.2% và photpho là 85.7% trong nước thải công nghiệp và loại bỏ 97.8% trong nước thải đô thị khi sử dụng tảo [23]. Watanabe and Hall cho thấy rằng dưới điều kiện phù hợp, tảo lam có thể sinh trưởng với tỷ lệ cao hơn thực vật khác, vậy nên hiệu quả xử lý nitơ và photpho cao hơn các loài thực vật khác. Garbisu và cộng sự đã chứng minh rằng sử dụng tảo lam ưa nhiệt trong nước thải có nhiều ưu điểm hơn, vì đây là loài phù hợp với nhiệt độ cao và xử lý nhiệt độ cao ( $45^\circ\text{C}$ ) sử dụng kết hợp bể quang sinh học. Sau khi tảo lam lấy dinh dưỡng trong nguồn thải, nước sạch có thể được chất lọc và thu hoạch tảo lam một cách dễ dàng [24]. Kết quả các

nghiên cứu ứng dụng tảo trong xử lý nước thải của các tác giả nước ngoài được tổng hợp và trình bày trong Bảng 1.2.

**Bảng 1.2: Tổng hợp các nghiên cứu ứng dụng tảo trong loại bỏ nitơ và photpho**

Giống tảo	Loại môi trường/ nước thải	Phương thức xử lý	Thời gian tiến hành (ngày)	Nitơ tổng số		Photpho tổng số		Nguồn
				Nồng độ đầu vào (mg/l)	Hiệu quả loại bỏ (%)	Nồng độ đầu vào (mg/l)	Hiệu quả loại bỏ (%)	
<i>Chlorella sp</i>	Nước thải chăn nuôi	Xử lý theo mẻ	21	100-240	76-83	15-30	63-75	[25]
<i>C. pyrenoidosa</i>	Nước thải công nghiệp	Xử lý theo mẻ	5	267	87-89	56	70	[26]
<i>C. vulgaris</i>	Nước thải công nghiệp	Xử lý theo mẻ	5-9	3-36	30-95	112	20-55	[27]
<i>C. vulgaris</i>	Nước thải sinh hoạt	Xử lý theo mẻ	2-10	48-1550	55-88	8-42	12-100	[28]
<i>Scenedesmus sp</i>	Nước thải sinh hoạt	Xử lý theo mẻ	0.2-4.5	14-44	30-100	1.4-1.6	30-100	[29]
<i>S. obliquus</i>	Nước thải sinh hoạt	Xử lý theo mẻ	0.2-8	27	79-100	12	47-98	[28]
<i>S. dimorphus</i>	Nước thải công nghiệp	Xử lý theo mẻ	9			112	20-55	[27]

- Loại bỏ kim loại nặng từ nước thải

Nước thải đô thị hiện nay chứa nồng độ kim loại nặng và độc chất ở mức cao, mặc dù nồng độ kim loại nặng trong hệ thống thoát nước không đạt đến ngưỡng như nước thải công nghiệp, đặc biệt là ngành công nghiệp chế biến kim loại nặng nhưng nó cũng gây ra nhiều mối quan tâm đối với xã hội. Từ đó, hệ thống xử lý nước thải được cải tiến giúp loại bỏ độc chất trong nước thải. Vì tảo đã sớm được biết tới để xử lý kim

loại nặng thông qua hấp thu kim loại nặng như một kiểu tích lũy sinh học [30]. Một ưu điểm khác của tảo chính là khả năng sinh trưởng trong điều kiện ít dinh dưỡng và điều kiện duy trì. Nhiều loại tảo có khả năng thu hồi được lượng đáng kể các ion kim loại nặng. Quá trình loại bỏ kim loại xảy ra bởi nhiều cơ chế khác nhau. Điều này có thể phụ thuộc vào tảo, loại ion kim loại, điều kiện dung dịch và loại tế bào tảo. Gale chỉ ra rằng vi tảo quang hợp có vai trò hiệu quả trong khử kim loại trong nước [31]. Bằng việc sử dụng tảo lam trong hệ thống hồ nhân tạo, 99% kim loại hòa tan và dạng hạt được loại bỏ. Soeder đã chứng minh rằng *Coelastrum proboscideum* hấp thụ 100% chì từ 1 ppm ở 20h ở 23°C và khoảng 90% sau 1.5h ở 30°C. Cadmium được hấp thụ ít hiệu quả hơn, khoảng 60% Cadmium được hấp thụ từ dung dịch 40ppm sau 24h. Mc Hardy và George đã nghiên cứu *Cladophora glomerata* trong kênh nước ngọt nhân tạo và tìm thấy, tảo là nơi tích tụ của kẽm,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Cr}^{3+}$  cũng như  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$  và  $\text{Mn}^{2+}$  [32].

#### - Loại bỏ coliform

Moawad quan sát thấy rằng các nhân tố môi trường phù hợp cho sự sinh trưởng của tảo lại không phù hợp với sự phát triển của coliform. Các sinh vật được quan tâm trong nước thải bao gồm các vi khuẩn như *Salmonella* và *Shigella* và động vật nguyên sinh. Vi khuẩn chiếm lượng lớn trong tổng số vi sinh vật được xử lý bằng con đường sinh học với số lượng khoảng  $10^6$  vi khuẩn/ml trong nước thải thông thường. Nhiều nghiên cứu thực nghiệm chỉ ra rằng vi khuẩn gây bệnh thì có thời gian sống trong môi trường ngắn hơn coliform, trong đó virus thì sống dài hơn. Hiệu quả của việc khử trùng nước thải được ước tính bằng việc loại bỏ tổng coliform. Do đó, hồ ổn định chất thải và hồ ổn định chất thải hiệu suất cao là hai hệ thống có sử dụng vi tảo cho thấy hiệu quả hơn so với hệ thống xử lý thông thường [33]. Theo như báo cáo của Malina và Yousef, tổng loại bỏ coliform được ghi nhận tại hồ ổn định chất thải giảm khoảng 88.8% trong 11.4 ngày; tương tự Meron chỉ ra hiệu quả giảm khoảng 99.6%. Trong hồ hiệu suất cao, Shelef báo cáo hiệu quả loại bỏ khoảng 99% tổng coliform. Nghiên cứu tương tự với hiệu quả loại bỏ coliform và *Salmonella* được tiến hành bởi Pichai Govindan và Colak and Kaya [34].

#### - Loại bỏ COD và BOD

Nước thải bị ô nhiễm từ ba nguồn chính: chất hữu cơ, vô cơ và vi sinh vật. Hợp chất hữu cơ trong nước thải dưới dạng nhiều hợp chất, với công thức hóa học có ít nhất có một nguyên tử cacbon. Những nguyên tử cacbon bị oxy hóa bằng cả sinh học và hóa học để giải phóng  $\text{CO}_2$ . Nếu oxy hóa bằng con đường sinh học, điều này được kiểm tra bằng thông số BOD, trong khi đó oxy hóa bằng con đường hóa học sẽ được kiểm tra

bằng thông số COD. Trong những nghiên cứu khác, BOD nghiên cứu khả năng oxy hóa các vật chất hữu cơ thành CO<sub>2</sub> của các loại vi sinh vật và nước sử dụng phân tử oxy như một tác nhân oxy hóa. Do đó, BOD là thước đo nhu cầu hô hấp của vi khuẩn, trao đổi chất với chất hữu cơ trong nước thải. Dư thừa BOD có thể làm giảm oxy hòa tan trong nước thải dẫn đến cái chết của cá và tạo môi trường kỵ khí, do đó loại bỏ nó là mục tiêu đầu tiên cho xử lý nước thải. Colak và Kaya đã khám phá ra khả năng xử lý nước thải sinh học sử dụng tảo. Họ tìm ra trong hệ thống xử lý nước thải đô thị, hiệu quả loại bỏ BOD và COD lần lượt là 68.4 và 67.2% [23].

### 1.3.3. Tình hình nghiên cứu ứng dụng vi tảo trong xử lý nước thải tại Việt Nam

Tại Việt Nam, nghiên cứu ứng dụng tảo để xử lý nước thải đã được tiến hành từ khá lâu. Theo đó, các đối tượng tảo khác nhau đã được nuôi trên các môi trường nước thải sinh hoạt, nước thải chăn nuôi, nước thải ao nuôi thủy sản và đã đưa ra những kết quả khả quan về mặt loại bỏ hợp chất nitơ, photpho. Theo nghiên cứu của Dương Thị Hoàng Anh, tảo *Spirulinaplatensis* có thể phát triển tốt trong các nguồn nước thải từ ao cá tra, nước thải biogas và nước thải sinh hoạt, tảo phát triển với mật độ cao nhất ( $87.775 \pm 41.688$  tế bào/ml) và làm giảm các yếu tố dinh dưỡng trong nước thải sinh hoạt một cách có hiệu quả nhất (hàm lượng TAN giảm 96.2%, NO<sub>3</sub>-N giảm 76.1%, PO<sub>4</sub>-P giảm 98.1%, COD giảm 72.5%) [35]. Một nghiên cứu khác của Trần Trần Bắc về nghiên cứu sử dụng nước thải ao nuôi thủy sản để nuôi *Chlorella* kết luận rằng tảo phát triển tốt trong nước thải ao cá tra và hấp thu lượng dinh dưỡng tốt nhất vào trong ba ngày đầu tiên (với hiệu suất hấp thu NO<sub>3</sub>-N giảm 95.27%, NH<sub>4</sub>-N giảm 43.48% và PO<sub>4</sub>-P giảm 88.66%) [34]. Không những thế, nhiều nghiên cứu đã tiến hành thử nghiệm và đưa ra những điều kiện tối ưu nhằm tăng hiệu quả xử lý của tảo bằng việc thay đổi các điều kiện tác động như ánh sáng, nhiệt độ, thời gian thu sinh khối, ... và chỉ ra hướng ứng dụng sinh khối tảo thu được vào những mục đích khác nhau. Theo Võ Thị Kiều Thanh đã nghiên cứu về hiệu quả xử lý nước thải chăn nuôi sau biogas của tảo và sử dụng loài giáp xác nhỏ *Daphnia* để loại bỏ sinh khối sau đó thu sinh khối *Daphnia* làm thức ăn cho động vật thủy sinh. Kết quả, sau khi nuôi tảo 9 ngày, hàm lượng COD trong nước thải chăn nuôi lợn giảm từ 65.8 – 82.2%; BOD<sub>5</sub> giảm từ 61.4 – 84%; nitơ tổng số giảm 87.4 – 90.18%, còn hàm lượng photpho tổng số có hiệu quả xử lý không cao 47.7 – 56.15%. Nguyễn Thị Thanh Xuân đã báo cáo kết quả thử nghiệm nuôi trồng trong nước thải hầm biogas cho thấy *Chlorella Vulgaris* có thể sinh trưởng tốt, đồng thời có khả năng xử lý nước thải và cho lipid nhằm mục tiêu sản xuất biodiesel [34].

## 1.4. ỨNG DỤNG HỒ NUÔI TẢO MẬT ĐỘ CAO TRONG XỬ LÝ NƯỚC THẢI

### 1.4.1. Tổng quan hồ nuôi tảo mật độ cao (High Rate Algal Ponds - HRAPs)

Ứng dụng vi tảo vào xử lý nước thải hiện được coi là có lợi hơn so với các vi khuẩn thông thường do tốc độ tăng trưởng cao, khả năng phát triển trong suốt cả năm và tốn ít diện tích xây dựng [36]. Ngoài ra kết hợp nuôi cấy vi tảo quy mô lớn cho mục đích sản xuất nhiên liệu sinh học hiện đang là một lựa chọn khả thi về mặt kinh tế [37]. Tuy nhiên, nuôi tảo thông thường tốn chi phí cao về nguồn nước, chất dinh dưỡng và bổ sung CO<sub>2</sub>, chiếm tới 10 – 30% tổng chi [38]. Do đó công nghệ nuôi tảo mật độ cao (*High Rate Algal Ponds* - HRAPs) được phát triển vào cuối những năm 1950 [20]. Ngoài hiệu quả xử lý nước thải cao, các hệ thống HRAPs còn có thể thu hồi chất dinh dưỡng từ nước thải, thông qua sinh khối tảo để sử dụng làm phân bón, thức ăn hoặc làm nguyên liệu sản xuất nhiên liệu sinh học [37].

HRAP là một hồ gồm các mương mở được liên kết với nhau để nước thải có thể chuyển động qua các mương với vận tốc chậm [38]. Nguyên lý chung của công nghệ này là dựa vào việc kéo dài pha quang hợp và rút ngắn pha hô hấp của tảo nhằm mục đích tăng sinh khối tảo, việc phát triển sinh khối của tảo đồng nghĩa với việc loại bỏ các thành phần dinh dưỡng (nitơ và photpho) có trong nước thải. Độ sâu nước trong hồ khá nông được báo cáo khoảng từ 0.2 đến 1.0 m [39]. Với độ sâu thấp, cùng với lượng nitơ và photpho cao từ nước thải, cho phép vi tảo sinh sôi nảy nở đến nồng độ sinh khối cao, sinh khối diệp lục (Chlorophyll-a) thường vượt quá 3000 mg/m<sup>3</sup> [40]. Một hệ thống cánh quạt nước được sử dụng để tạo khuấy trộn nhẹ nhàng xung quanh hồ nuôi cấy (vận tốc nước trung bình thường từ 0.15 đến 0.30 m/s) để tạo ra các dòng chảy hỗn loạn theo phương đứng [41]. Điều này giúp tăng cường sự phát triển của vi tảo bằng cách đảm bảo các tế bào tiếp xúc thường xuyên với ánh sáng, ngăn chặn sự kết cụm của các vi tảo và tăng cường sự khuếch tán các chất dinh dưỡng qua lớp màng xung quanh tế bào [42, 44].



*Hình 1.6: Hệ thống hồ nuôi tảo mật độ cao HRAPs [45]*

Rất nhiều các tài liệu khoa học hiện đã cho thấy HRAPs có thể đạt được hiệu quả cao về xử lý cho cả nước thải sinh hoạt và nông nghiệp thông qua hiệu quả loại bỏ BOD, TSS, nitơ, photpho và kim loại nặng. Tải trọng tiêu biểu cho HRAPs ở vùng khí hậu ôn đới trung bình 134 kg BOD/ha.d, tải trọng mùa hè đạt tối ưu 366 kg BOD/ha.d [46]. Craggs đã nghiên cứu về việc xây dựng và vận hành hệ thống HRAPs quy mô 5ha xử lý nguồn nước thải chính tại nhà máy xử lý nước thải Christchurch, New Zealand. Hệ thống này bao gồm 4 hồ HRAPs kết hợp, diện tích mỗi hồ là 1.25ha. Kết quả sau 15 tháng hoạt động đầu tiên (không cần bổ sung CO<sub>2</sub>) đã cho thấy hiệu suất nuôi sinh khối vi tảo tương ứng với hiệu quả xử lý nước thải trung bình hàng năm (nồng độ BOD<sub>5</sub> nước thải đã giảm 47 – 52%), tỉ lệ BOD<sub>5</sub> loại bỏ đồng nhất ở cả bốn hồ HRAPs (tổng loại bỏ BOD<sub>5</sub> đạt được 82 – 91%). Hiệu suất loại bỏ NH<sub>4</sub>-N ở bốn hồ HRAPs là 68 – 80%, trong khi loại bỏ PO<sub>4</sub>-P chỉ đạt 14 – 24%. Nghiên cứu cho thấy tiềm năng về hiệu quả năng lượng và xử lý nước thải sử dụng HRAP, trong khi sinh khối tảo sau thu hoạch có thể trở thành nơi phân phối nguồn năng lượng quý cho địa phương [40].

Donna L. Sutherland đã ứng dụng hệ thống xử lý nước thải HRAPs tại nhà máy Christchurch, Zealand. Kết quả cho thấy tỷ lệ phần trăm của amoni NH<sub>4</sub>-N loại bỏ đạt cao nhất vào mùa xuân (79%) và mùa hè (77%) và thấp nhất vào mùa thu (47%) và mùa đông (53%), trong khi hiệu quả loại bỏ của NH<sub>4</sub>-N loại bỏ trên một đơn vị sinh khối cao nhất vào mùa thu và mùa hè và thấp nhất vào mùa đông và mùa xuân [47].

J. García và cộng sự đã tiến hành thử nghiệm công nghệ nuôi tảo mật độ cao (HRAPs) với 2 bể HRAPs để xử lý nước thải đô thị của khu vực Barcelona, Tây Ban Nha. Nghiên cứu thực nghiệm đã được tiến hành trong một năm, phân phối theo hai giai đoạn: từ tháng 6 năm 1993 đến tháng 2 năm 1994 và giữa tháng 4 năm 1994 đến tháng bảy năm 1994. Cả hai HRAPs được hoạt động song song, nhưng với thời gian lưu thủy

lực khác nhau. Trong thời gian đó HRAP A luôn được vận hành với thời gian lưu thủy lực cao hơn HRAP B. Thí nghiệm cho thấy thời gian lưu thủy lực ảnh hưởng đến hiệu quả loại bỏ Nitơ (khi các điều kiện thí nghiệm là giống hệt nhau cho cả hai hồ HRAPs). Phạm vi của thời gian lưu thủy lực được thông qua đã được lựa chọn theo các khuyến nghị của Oswald [42]. Thử nghiệm đầu tiên thời gian là từ tháng 7 năm 1993 đến tháng 10 năm 1993 trong đó HRAP A và B có thời gian lưu nước tương ứng là 7 và 4 ngày. Từ tháng 11 năm 1993 đến tháng 2 năm 1994, thời gian lưu nước lần lượt là 10 và 8 ngày. Từ giữa tháng 4 năm 1994 đến tháng 6 năm 1994, HRAP A có thời gian lưu là 7 và HRAP B là 5 ngày, và vào tháng 7 năm 1994, 2 bể có thời gian lưu nước tương ứng là 4 và 3 ngày. Nước thải đầu vào của HRAPs có các thông số về TSS, COD, BOD<sub>5</sub>, TN, TP lần lượt là 59 mg/L, 260 mg/L, 130 mg/L, 51 mg/L và 8.5 mg/L. Kết quả việc loại bỏ nitơ trung bình là 73% cho HRAP A và 57% cho HRAP B. Các loài tảo sử dụng ở hai HRAPs trong suốt nghiên cứu là: *Dictyosphaerium pulchellum*, *Chlorella*, *Micractinium pusillum*, *Scenedesmus sparmatus*, *S.acutus*. Mức độ loại bỏ nitơ có thể được kiểm soát thông qua việc điều chỉnh thời gian lưu thủy lực phù hợp. Theo nghiên cứu có thể giữ thời gian lưu 4 ngày vào mùa xuân và mùa hè, và 10 ngày trong mùa thu và mùa đông. Nồng độ nitơ trong nước thải của hệ thống HRAPs có thể giảm xuống dưới 15 mg/L [48].

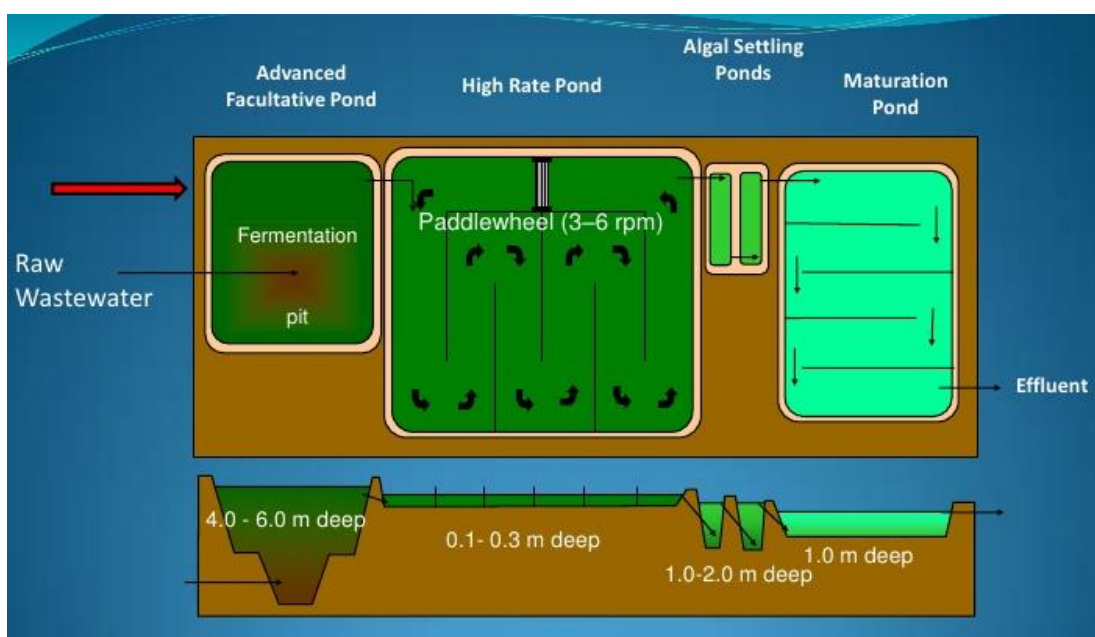
#### 1.4.2. Thông số vận hành

Những hệ thống hồ nuôi tảo mật độ cao HRAPs thường được xây dựng theo hình elip nông, có các mương dạng đường đua hình vòng cung (raceways) với lưu lượng đầu vào thấp. Độ sâu tối đa 1m, chiều rộng kênh tối thiểu là 1m, chiều dài được tính toán tùy thuộc vào lưu lượng nước thải (m<sup>3</sup>/ngày) và thời gian lưu nước. Nước thải đi qua hệ thống sẽ được đảo trộn đều bởi máy khuấy. Hệ thống khuấy giúp cho sự phân bố của tảo đều trên toàn bộ mặt kênh.

Mặc dù độ sâu là thông số rất quan trọng để điều chỉnh môi trường ánh sáng cũng như chi phối nồng độ sinh khối [49, 50], nhưng các hướng dẫn về độ sâu hoạt động của hồ HRAP vẫn chưa rõ ràng. Độ sâu tối ưu cho HRAP được báo cáo trong tài liệu từ 15 - 100 cm [51], các tài liệu khác khuyến khích duy trì độ sâu HRAP càng nông càng tốt để cung cấp lượng ánh sáng tối đa cho vi tảo [52, 53]. J.B.K. Park thiết kế hồ HARP có độ sâu 0.2 – 1 m [38]. Bánh khuấy xáo trộn nước tạo ra vận tốc dòng nước trung bình 0.15 – 0.3m/s [41]. Dòng nước dưới dạng đường đua có thể là một vòng hoặc nhiều vòng xung quanh những bức tường ngăn cách.

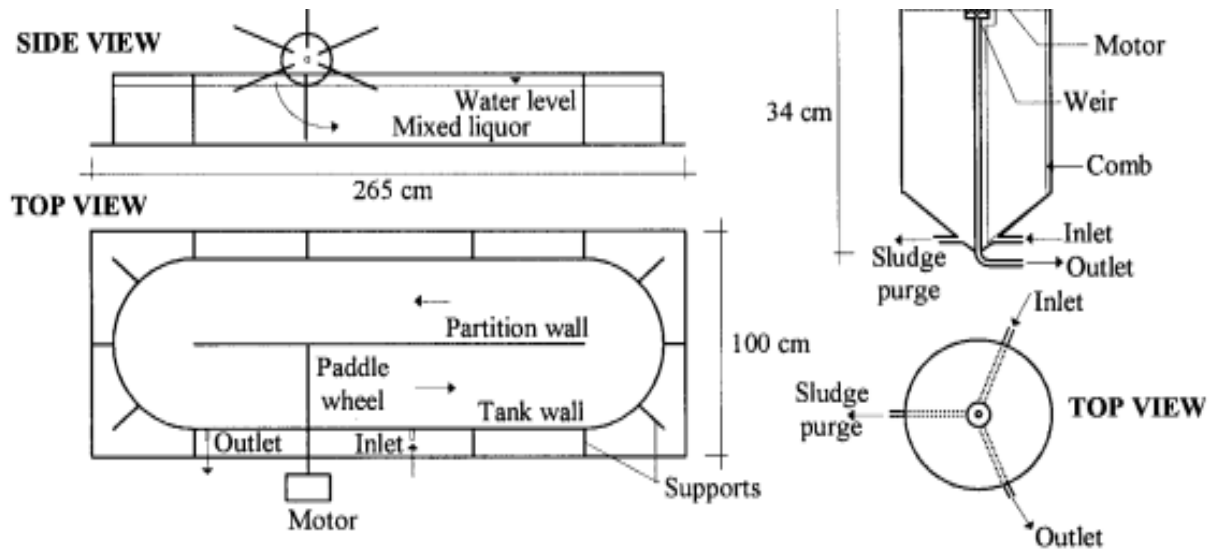


Donna L. Sutherland đã mô tả thiết kế hệ thống HRAPs xử lý nước thải tại nhà máy Christchurch, New Zealand. Hệ thống này bao gồm bốn vòng đơn liên kế, đất lót mương HRAPs, mỗi vùng nước diện tích 12 500 m<sup>2</sup>, độ sâu hoạt động của mương 0,35 m và tổng thể tích 4 375 m<sup>3</sup>. Trong mỗi HRAPs, có một bánh khuấy được sử dụng để trộn nước thải trong mương ở một vận tốc nước trung bình ngang mặt là 0.2 m/s. Tốc độ dòng chảy nước thải là 486 m<sup>3</sup> mỗi ngày từ mỗi HRAP, tương đương thời gian lưu nước là 9 ngày. Trong những tháng mùa đông, HRAPs được vận hành với thời gian lưu là 9 ngày, trong mùa thu và mùa xuân thời gian lưu là 7 ngày và trong suốt mùa hè là 5.5 ngày [54].



Hình 1.7: Sơ đồ của một hệ thống hồ nuôi tảo mật độ cao HRAPs [48]

J. García trong nghiên cứu của mình đã đưa ra một sơ đồ (Hình 1.7) của hồ HRAPs dạng đường đua (raceways). Mỗi HRAP có diện tích nước là 1.54 m<sup>2</sup> và thể tích là 0.47 m<sup>3</sup>. Các bánh khuấy trộn trong cả hai kênh nước tạo ra một vận tốc giữa kênh 9 cm/s. Mỗi đập lắng kiểm soát độ sâu có diện tích bề mặt là 0.0255 m<sup>2</sup>, chiều cao điều chỉnh đến 0.3 m [48].



Hình 1.8: Mặt cắt của một hồ nuôi tảo mật độ cao HRAPs

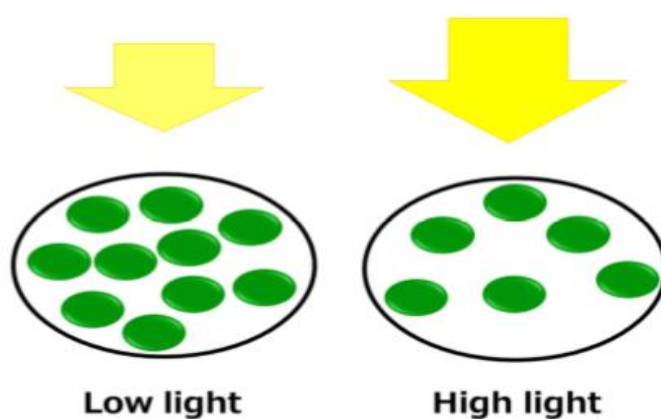
### 1.4.3. Một số ảnh hưởng đến hiệu quả của hệ thống HRAPs

Để cải thiện hiệu quả xử lý nước thải trong HRAP cần phải nắm vững về sinh lý vi tảo vì quang hợp vi tảo đóng vai trò chính trong chuyển hóa chất ô nhiễm có trong nước thải [43, 55]. Một số yếu tố có thể ảnh hưởng đến tốc độ và hiệu quả của quang hợp vi tảo bao gồm ánh sáng, nhiệt độ, tải trọng chất dinh dưỡng, lượng cacbon và pH.

#### 1.4.3.1. Ánh sáng

Cũng như các loài thực vật khác, tảo cũng cần ánh sáng cho quá trình quang tổng hợp vật chất hữu cơ từ  $\text{CO}_2$ . Không chỉ vậy nó còn là nguồn năng lượng chính trong giai đoạn tăng trưởng quang tự dưỡng. Vì vậy ánh sáng được coi là một trong những yếu tố kiểm soát chính hiệu suất vi tảo trong HRAP [51, 56]. Trong khi các chất dinh dưỡng có thể được lưu trữ và tái tạo bởi tế bào thì các photon chỉ có thể được hấp thụ một lần và phải được chuyển hóa tức thời thành năng lượng liên kết hóa học, hoặc tiêu biến khỏi tế bào [57]. Lượng ánh sáng chiếu vào mặt hồ thay đổi theo giờ trong ngày và theo mùa trong năm. Ánh sáng đi qua cột nước giảm theo cấp số nhân theo độ sâu khi vi tảo hấp thụ hoặc tán xạ ánh sáng. Nồng độ sinh khối cao trong HRAPs cũng ảnh hưởng đến lượng ánh sáng chiếu tới đáy ao, thường chỉ một phần ba cột nước nhận đủ ánh sáng để hỗ trợ quá trình quang hợp. Nồng độ cao của vật chất ngoài vi tảo trong nước thải có thể làm tăng thêm sự suy giảm ánh sáng [58]. Các tế bào gần bề mặt được tiếp xúc với ánh sáng siêu bão hòa, đòi hỏi chúng phải giải phóng các photon dư thừa để ngăn chặn ánh sáng phá hủy, trong khi các tế bào gần đáy cột nước nhận được rất ít ánh sáng. Trong cả hai trường hợp, quang hợp là không tối ưu, tác động tiêu cực đến năng suất sinh khối.

Hiệu suất hấp thụ ánh sáng của tế bào vi tảo phụ thuộc vào kích thước và nồng độ sắc tố nội bào của nó [59]. Ánh sáng được thi qua các sắc tố trong các tổ hợp anten thu ánh sáng (LHC) nằm ở các trung tâm phản ứng quang hợp [60]. Năng lượng ánh sáng được hấp thụ bởi các sắc tố và được chuyển đến một trung tâm phức hợp phản ứng nơi diễn ra quá trình quang hóa. Khi sự hấp thụ ánh sáng vượt quá khả năng sinh hóa của trung tâm phản ứng, LHC sẽ tiêu tan năng lượng dư thừa dưới dạng nhiệt hoặc huỳnh quang [61]. Để tạo điều kiện cho việc truyền năng lượng này, màng quang hợp được kết hợp chặt chẽ với các protein liên kết sắc tố, do đó có thể dẫn đến việc các sắc tố liên kết dày đặc trong LHC [62]. Khi ánh sáng trở nên hạn chế, các tế bào vi tảo tăng nồng độ sắc tố thu hoạch ánh sáng, đặc biệt là chất diệp lục để thu được ánh sáng có sẵn. Tuy nhiên, điều này có thể dẫn đến việc tự che sáng nội bào, được gọi là “package effect”, khi đó hiệu quả hấp thụ ánh sáng trên mỗi đơn vị diệp lục giảm khi hàm lượng chất diệp lục tăng (Hình 1.9) [60, 62]. Cường độ ánh sáng thích hợp thay đổi rất lớn tùy theo điều kiện nuôi cấy vi tảo, với bình thủy tinh dung tích nhỏ cần cường độ ánh sáng là 1000 LUX, với bể nuôi lớn cường độ ánh sáng cần cung cấp vào khoảng 5000 – 10000 LUX. Ngoài giới hạn ánh sáng, nhiệt độ và nồng độ chất dinh dưỡng cũng có thể làm thay đổi hàm lượng chất diệp lục của một tế bào, do đó ảnh hưởng đến hiệu suất hấp thụ ánh sáng của chất diệp lục [63, 64].

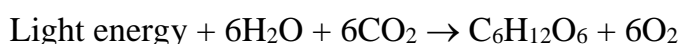


Hình 1.9: Tác động của ánh sáng đến hàm lượng chất diệp lục của một tế bào[65]

#### 1.4.3.2. Cacbon hòa tan

Cacbon là một trong những chất dinh dưỡng quan trọng cần phải được cung cấp trong quá trình sinh trưởng của tảo. Nó là yếu tố cần thiết cho quang hợp và sinh sản. Trong quá trình quang hợp, năng lượng ánh sáng ban đầu được chuyển thành năng lượng hóa học, sau đó được sử dụng để đồng hóa CO<sub>2</sub> để hình thành các phân tử carbohydrate.

Công thức cân bằng hóa học cho quang hợp là:



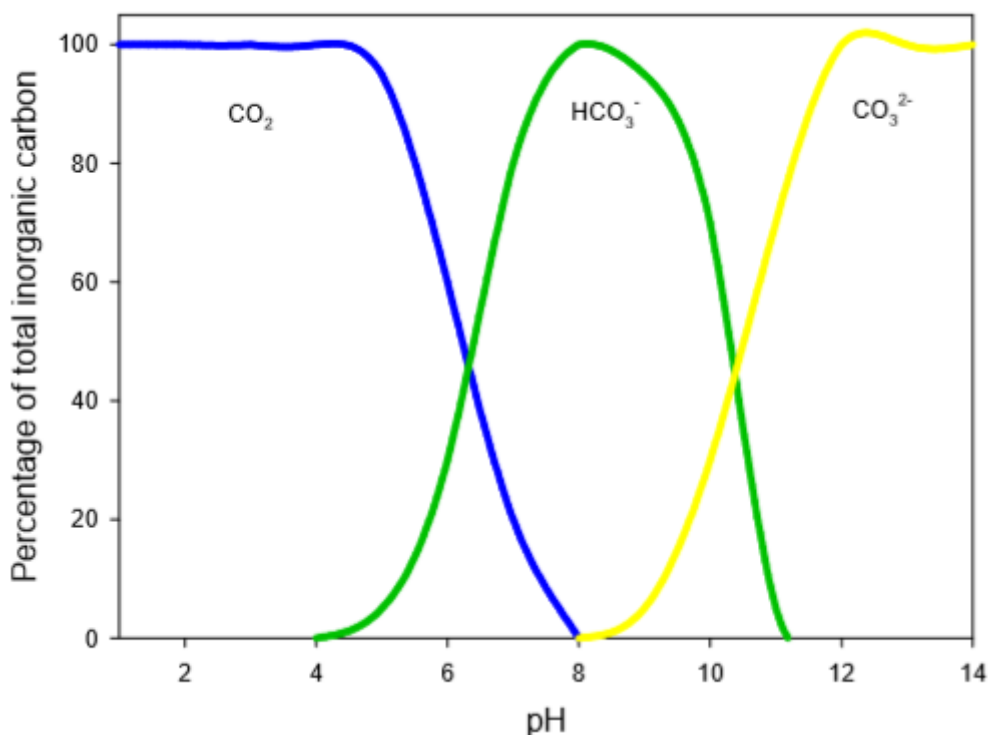
Tỷ lệ cố định cacbon thấp sẽ làm giảm tốc độ tăng trưởng của tảo. Cacbon có thể được sử dụng dưới các hình thức của cacbonat hoặc bicacbonat. CO<sub>2</sub> trong nước có thể có mặt ở bất kỳ hình thức nào tùy thuộc vào pH, nhiệt độ và hàm lượng dinh dưỡng. Ở những giá trị pH cao, lượng cacbonat tăng và bicacbonat giảm. Ở những giá trị pH trung bình (pH=8.2), 90 % cacbon hiện diện trong HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, chỉ có 1% tồn tại như CO<sub>2</sub> phân tử và phần còn lại là bicacbonat [53]. Khi hàm lượng CO<sub>2</sub> quá cao có thể làm giảm nồng độ tương đối của protein và các sắc tố trong tế bào nhưng làm gia tăng hàm lượng carbohydrate. Sự thay đổi trong thành phần tế bào này làm giảm năng suất sinh khối tối đa.

Chuyển hóa dị dưỡng của chất hữu cơ trong hồ HRAP dẫn đến việc tạo ra CO<sub>2</sub>, cung cấp khoảng 25 - 50% lượng cacbon vô cơ hòa tan (DIC) đáp ứng nhu cầu của vi tảo [58]. Tuy nhiên, năng suất vi tảo trong HRAP bị hạn chế về cacbon do tỷ lệ cacbon:nitơ của nước thải thấp (thường là 3:1) so với sinh khối vi tảo (thường là 6:1) [66]. Giới hạn cacbon trong HRAP được biểu thị bằng độ pH ban ngày tăng cao [40]. Ngược lại, điều này ảnh hưởng đến trạng thái cân bằng của các loài cacbon vô cơ, với HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> và CO<sub>3</sub><sup>2-</sup> tăng và giảm CO<sub>2</sub>. Vi tảo ưu tiên hấp thụ CO<sub>2</sub>, thông qua khuếch tán thụ động, hơn là các dạng DIC khác [67]. Giới hạn cacbon không chỉ có tác động tiêu cực đến cả quang hợp và sản xuất sinh khối mà dẫn đến vi tảo không thể đồng hóa tất cả nitơ từ nước thải vào sinh khối của chúng [38].

#### **1.4.3.3. pH**

Độ pH trong HRAP thay đổi theo ngày, tăng dần khi diễn ra quá trình quang hợp vào ban ngày và giảm khi hô hấp vào ban đêm. Giá trị pH buổi chiều thường trên 10, đặc biệt là trong mùa hè [51], [38]. pH cao có thể ảnh hưởng tiêu cực đến tỷ lệ quang hợp vi tảo: pH làm thay đổi trạng thái cân bằng của các DIC thông qua việc giảm lượng CO<sub>2</sub> có sẵn khi pH tăng (Hình 1.10). Đối với những loài không thể sử dụng HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> và CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>, quá trình quang hợp dừng ở pH > 9 [67]. Độ pH tăng cao cũng cản trở khả năng hoạt động của enzyme RuBisCO, enzyme xúc tác cho quá trình carboxyl hóa quang hợp của tế bào. Điều này gây ra sự hạn chế hơn nữa về tốc độ quang hợp [68]. pH cao dẫn đến sự phân ly ion amoni thành amoniac tự do. Với nồng độ amoniac tự do là 34 và 51 g/m<sup>3</sup> (ở pH 9.5 và nhiệt độ 20 - 25°C) làm giảm hiệu suất quang hợp tương ứng là 50 và 90% trong môi trường nuôi cấy dày đặc của ba loài vi tảo [69]. Tác dụng của amoniac tự do đối với quá trình quang hợp của vi khuẩn được tăng cường trong cường độ ánh

sáng cao [70], quang hợp bị ức chế hơn nữa bởi amoniac tự do trong mùa hè khi độ pH tăng cao nhất. Độ pH cao cũng có thể tác động tiêu cực đến quá trình quang hợp và tăng trưởng của vi tảo thông qua sự thay đổi các quá trình vận chuyển màng, chức năng trao đổi chất và sự hấp thu của kim loại vi lượng. Phản ứng bông tụ của một số loài vi tảo có thể xảy ra dưới độ pH tăng cao, có thể tác động tiêu cực đến sự hấp thụ ánh sáng, quang hợp và hấp thu chất dinh dưỡng [58].



Hình 1.10: Tác động của pH đến trạng thái cân bằng của lượng cacbon vô cơ hòa tan [65]

#### 1.4.3.4. Nhiệt độ

Nhiệt độ nước hồ thay đổi theo thời gian trong ngày và theo mùa trong năm, ảnh hưởng đến cả quá trình quang hợp và hô hấp. Hầu hết các loài vi tảo có phạm vi nhiệt độ tối ưu trong khoảng 15 - 25°C, ở nhiệt độ trên hoặc dưới phạm vi này, năng suất sinh khối bị giảm. Tăng nhiệt độ vượt quá mức tối ưu làm giảm tổng hợp protein và do đó dẫn đến giảm tốc độ tăng trưởng. Năng suất vi sinh hàng tăng khi nhiệt độ nước được duy trì ở nhiệt độ tăng trưởng tối ưu so với nhiệt độ không được kiểm soát trong hồ HRAP ở Hà Lan [71]. Biến đổi trong cả nhiệt độ và bức xạ mặt trời đã được chứng minh là ảnh hưởng đến tốc độ loại bỏ chất dinh dưỡng của vi tảo [72]. Nhiệt độ cũng ảnh hưởng đến khả năng hòa tan của khí trong nước ao, bao gồm cả O<sub>2</sub> và CO<sub>2</sub>, cũng như pH cao.

#### 1.4.3.5. Nồng độ nitơ và photpho

Nitơ và photpho là hai chất dinh dưỡng quan trọng cho sự tăng trưởng và sự trao đổi chất của các tế bào tảo. Tuy nhiên trong nước thải sau khi xử lý bằng các quá trình hiếu khí hoặc yếm khí vẫn còn chứa nhiều nitrat ( $\text{NO}_3\text{-N}$ ), amoni ( $\text{NH}_4\text{-N}$ ), photphat ( $\text{PO}_4\text{-P}$ ), dẫn đến hiện tượng phú dưỡng ở ao hồ gây nở hoa tảo độc hại [73]. Ngoài ra Prasad và Geddes đã xem photpho và nitơ là nguyên nhân của hiện tượng phú dưỡng [65]. Vì vậy, cần nghiên cứu xử lý hai chất dinh dưỡng này trong nước để ngăn chặn hiện tượng phú dưỡng nguồn nước.

Nitơ (N) và photpho (P) là các chất dinh dưỡng đa lượng cần thiết cho sự tăng trưởng của vi khuẩn và tỷ lệ của các chất dinh dưỡng này được coi là quan trọng cho sự tăng trưởng tối ưu trong hầu hết các hệ sinh thái dưới nước. Tỷ lệ N:P có thể được sử dụng để dự đoán tình trạng giới hạn dinh dưỡng [74]. Hạn chế nitơ hoặc photpho có thể tác động tiêu cực đến năng suất chính của vi tảo. Các thông số được sử dụng để mô tả chính bao gồm hiệu quả quang hợp trong điều kiện ánh sáng yếu ( $\alpha$ ), tốc độ quang hợp tối đa ( $P_{\max}$ ), cũng như khả năng phân tán năng lượng photon dư thừa để ngăn chặn hiện tượng quang điện (NPQ). Khi tăng giới hạn nitơ hoặc photpho quá trình quang hợp giảm và tiêu tán năng lượng tăng [60, 75]. Tỷ lệ nitơ:photpho điển hình trong nước thải cho thấy photpho hiếm khi ảnh hưởng đến sự phát triển của tảo nhưng nitơ có thể trong một số điều kiện nhất định [58]. Tuy nhiên, nitơ chỉ có khả năng hạn chế sự tăng trưởng trong hồ HRAP khi cacbon và ánh sáng không bị hạn chế [51]. Cromar và Fallowfield đã phát hiện ra rằng lượng hấp thụ chất dinh dưỡng của vi tảo là một chức năng của tải lượng nitơ và P tuyệt đối. Khi tải lượng thấp, tất cả nitơ và photpho được đồng hóa vào sinh khối vi khuẩn, trong khi tải trọng vượt ngưỡng nhất định dẫn đến các chất dinh dưỡng hòa tan vẫn tồn tại [76]. Tương tự, Aslan và Kapdan đã phát hiện ra rằng hiệu quả loại bỏ nitơ và photpho thay đổi tùy theo nồng độ dinh dưỡng, cường độ ánh sáng, tỷ lệ nitơ:photpho và các loài vi tảo [77].

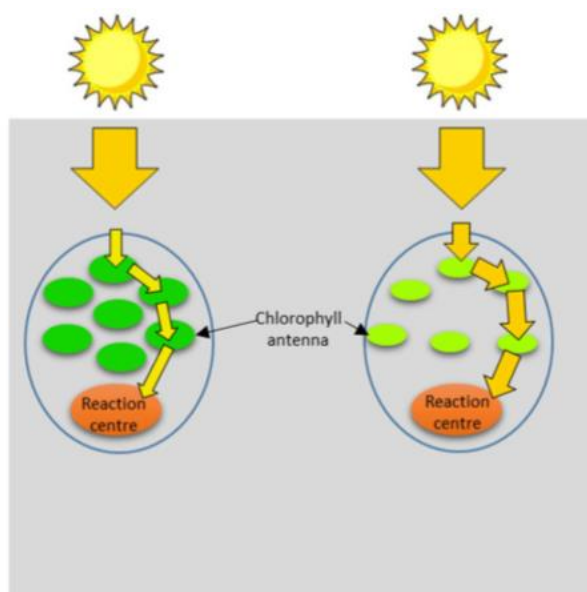
#### 1.4.4. Khắc phục hạn chế của hệ thống HRAPs

Một số hạn chế đối với quá trình quang hợp và năng suất vi tảo có thể được giảm thiểu thông qua sửa đổi thiết kế, vận hành hồ và thay đổi vi tảo. Tuy nhiên không phải tất cả các cải tiến đều khả thi về mặt kinh tế đối với các hệ thống. Những cải tiến này gồm ba loại lớn là cải tiến sinh học, cải tiến hóa học và cải tiến vật lý.

#### 1.4.4.1. Cải tiến sinh học

##### ❖ Kỹ thuật di truyền:

Một số nghiên cứu tại phòng thí nghiệm đã xem xét các cách để cải thiện hiệu suất hấp thụ ánh sáng của vi tảo bằng kỹ thuật di truyền. Một phương án đã được đưa ra là giảm kích thước ăng-ten diệp lục của tổ hợp thu sáng (Hình 1.11). Các loài có kích thước ăng-ten diệp lục nhỏ đã được chứng minh là sử dụng ánh sáng hiệu quả hơn ở cường độ ánh sáng cao hơn, dẫn đến năng suất cao gấp 2 – 3 lần so với các tế bào có kích thước ăng-ten bình thường [78]. Việc giảm kích thước ăng-ten sẽ làm giảm lượng sắc tố có trong tổ hợp ăng-ten thu sáng (LHC) của tế bào, do đó làm giảm hiệu ứng tự che sáng và cải thiện sự phân bố ánh sáng trong LHC [79]. Một nhược điểm lớn của phương án này là giảm khả năng tiêu tan năng lượng photon dư thừa vì protein ăng-ten đóng vai trò trung tâm. Điều này có thể dẫn đến các loài có ăng-ten càng nhỏ càng dễ bị tổn thương bởi ánh sáng hơn.



Hình 1.11: Tương quan giữa kích thước ăng-ten diệp lục và hiệu suất hấp thụ ánh sáng [65]

Hoạt động của enzyme RuBisCO thường để giới hạn tốc độ quang hợp và cải thiện chức năng làm tăng hiệu quả sử dụng ánh sáng. Độ bão hòa và tiêu tán ánh sáng là những hạn chế trong chu trình Calvin do tính không hiệu quả của RuBisCO và các enzyme cần thiết để tái tạo chất nền của nó [80]. Áp dụng kỹ thuật di truyền vào RuBisCO để tăng các quá trình enzyme và tăng tính đặc hiệu đối với CO<sub>2</sub> thay vì tính đặc hiệu đối với O<sub>2</sub> đã được đề xuất như là cách để khắc phục những hạn chế này [80, 81]. Phương án chèn gen của các sắc tố phụ, chẳng hạn như sắc tố phycobilin do vi

khuẩn lam tạo ra, thành các loài mong muốn để cải thiện sự hấp thụ ánh sáng trên toàn bộ phổ PAR cũng được đề xuất như một phương pháp cải thiện năng suất sinh khối trong HRAPs [80]. Nhiều nghiên cứu đã được thực hiện để cải thiện các đặc tính mong muốn ở vi tảo nhưng cho đến nay có rất ít thành công. Kỹ thuật di truyền hiện đang là một lựa chọn không thực tế do các vấn đề xung quanh việc sử dụng các loài biến đổi gen trong ao ngoài trời, bao gồm sự ngăn chặn các sinh vật, cũng như nhiễm các chủng cạnh tranh hơn.

❖ Lựa chọn chủng loài:

Một cách tiếp cận sinh học khác là lựa chọn chủng vi tảo có các đặc tính mong muốn, chẳng hạn như hiệu quả quang hợp cao, hấp thụ CO<sub>2</sub> cao và cơ chế cô đặc cacbon, hoặc chịu được biến động rộng biến đổi về môi trường [82]. Để nuôi cấy riêng biệt các loài tảo trong các hồ HRAP ngoài trời là khó khăn, mặc dù nghiên cứu gần đây đã chứng minh rằng việc kiểm soát các loài có thể đạt được bằng cách tái sử dụng các loài mong muốn sau mỗi chu kỳ thu hoạch HRAP [38].

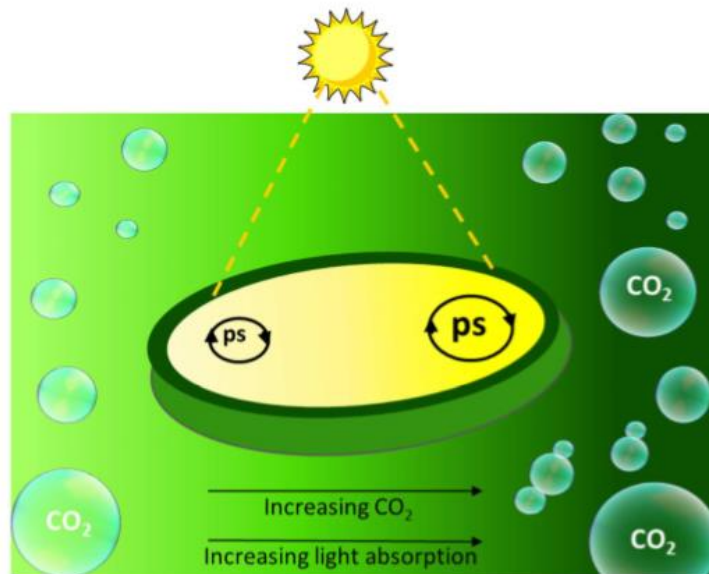
#### ***1.4.4.2. Cải tiến hóa học***

❖ Bổ sung CO<sub>2</sub>:

Bổ sung khí CO<sub>2</sub> đã được chứng minh là giúp tăng cường sản xuất sinh khối và loại bỏ chất dinh dưỡng trong HRAPs thông qua việc bổ sung cacbon và giảm pH của nước thải. Việc bổ sung CO<sub>2</sub> thường ứng dụng trong hồ HRAP sản xuất tảo thương mại và không được sử dụng trong hồ HRAPs xử lý nước thải, ngoại trừ một vài thử nghiệm quy mô nhỏ [38]. Nồng độ CO<sub>2</sub> tăng cao có thể làm giảm lượng photon của quá trình đồng hóa cacbon vì trong hầu hết các trường hợp, nó thay thế hoạt động của cơ chế cô đặc cacbon, đòi hỏi năng lượng, tăng năng suất sinh khối hơn nữa [83, 84].

Ngoài việc khắc phục hạn chế cacbon và giảm pH, việc bổ sung CO<sub>2</sub> còn có thể làm thay đổi sinh lý trong tế bào giúp tăng cường cả sự hấp thụ và sử dụng ánh sáng. Việc bổ sung CO<sub>2</sub> đã được chứng minh là có tác động tích cực đến sự hấp thụ ánh sáng trong tảo cát qua việc giảm hàm lượng chất diệp lục đồng thời làm tăng sự hấp thụ ánh sáng đặc hiệu của chất diệp lục của tế bào [85]. Các tác động của việc bổ sung CO<sub>2</sub> lên sự hấp thụ ánh sáng vi tảo, quang hợp và nồng độ sinh khối được tóm tắt trong Hình 1.12.

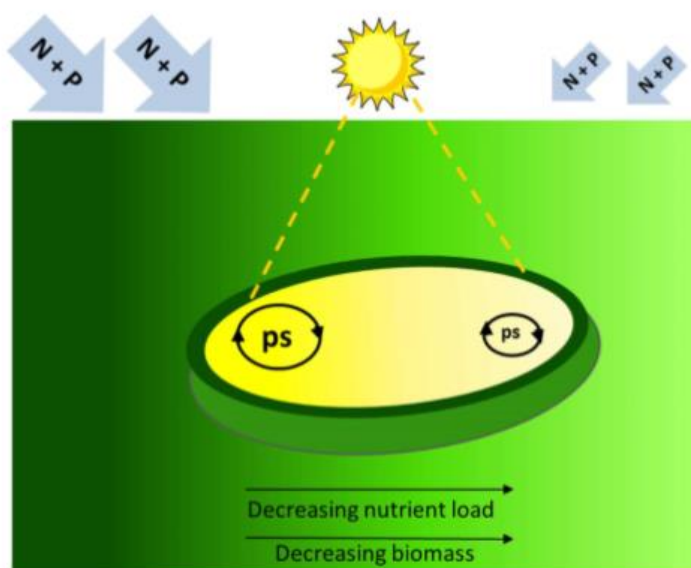




Hình 1.12: Tương quan của việc bổ sung  $CO_2$  lên sự hấp thụ ánh sáng, quang hợp và nồng độ sinh khối [65]

❖ Tải trọng dinh dưỡng:

Việc bổ sung các chất dinh dưỡng giới hạn để tối ưu hóa tỷ lệ nitơ:photpho làm tăng năng suất sinh khối là không cần thiết ở hầu hết các hệ thống xử lý nước thải. Do đó để thay đổi tỷ lệ nitơ:photpho có thể thông qua các cách như pha loãng dòng chảy với nước thải tuần hoàn ứng với tỷ lệ loại bỏ giữa nitơ và photpho khác nhau. Tuy nhiên, giải pháp này không đủ để giải quyết hoàn toàn hạn chế. Tải lượng chất dinh dưỡng còn bị ảnh hưởng bởi cả đặc tính chất lượng của nước thải cũng như thời gian lưu thủy lực. Những thay đổi về tải chất dinh dưỡng đã được chứng minh liên quan đến tỷ lệ loại bỏ chất dinh dưỡng, chất lượng nước thải và sản xuất sinh khối. Tuy nhiên, làm thế nào tải chất dinh dưỡng ảnh hưởng đến sinh lý vi tảo, đặc biệt là hấp thụ và sử dụng ánh sáng vẫn chưa được nghiên cứu [65]. Các tác động của tải chất dinh dưỡng lên quá trình quang hợp và nồng độ sinh khối được tóm tắt trong Hình 1.13.



Hình 1.13: Tương quan giữa tải chất dinh dưỡng lên quá trình quang hợp và nồng độ sinh khối [65]

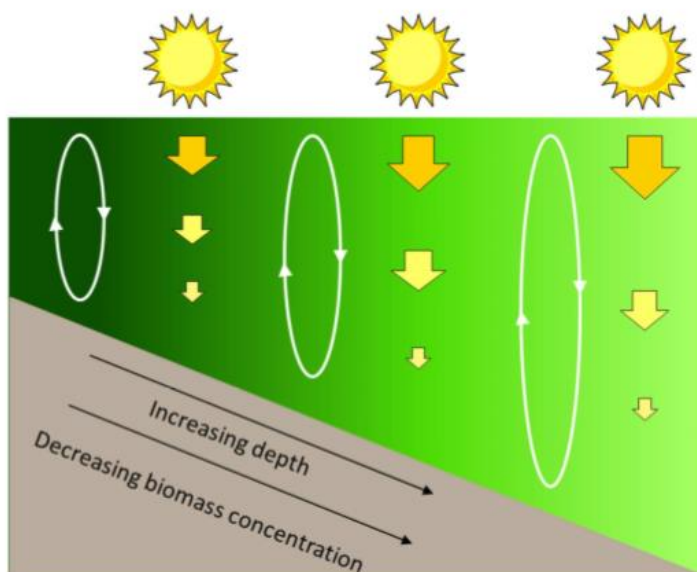
#### 1.4.4.3. Cải tiến vật lý

##### ❖ Độ sâu hồ

Độ sâu của nuôi cấy kết hợp với nồng độ sinh khối tác động đến môi trường ánh sáng trong hồ và tỷ lệ của vùng euphotic (vùng có đủ ánh sáng để hỗ trợ quang hợp). Độ sâu của hồ có thể được tối ưu hóa dựa trên mật độ diện tích tối ưu, tuy nhiên, khả năng chịu đựng của ao sẽ thay đổi theo sự thay đổi của các yếu tố hạn chế tăng trưởng, và hiện tại, hiểu biết về những ảnh hưởng của độ sâu hồ đến năng suất còn hạn chế. Độ sâu tối ưu cho HRAP được báo cáo trong phạm vi tài liệu từ 15 - 100 cm [38, 51], các tài liệu khác khuyến nghị HRAP càng nông càng tốt để cung cấp lượng ánh sáng tối đa cho vi tảo [52].

Độ sâu bị giới hạn bởi các yêu cầu kỹ thuật, bao gồm độ chính xác của mặt bằng và lực hút của các cánh quạt nước để hút nước xung quanh hồ [86]. Độ sâu của hồ cũng ảnh hưởng đến nhu cầu đất đai, chi phí xây dựng, vận hành cũng như chi phí thu hoạch [87]. Đất thường bị khan hiếm ở hầu hết các quốc gia nên việc vận hành đủ số lượng HRAP ở độ sâu ao nông nhất có thể là không khả thi về kinh tế và xã hội. Để giảm chi phí, các hồ HRAP xử lý nước thải thường được thiết kế để trang bị thêm vào các hệ thống hiện có [40]. Để đạt hiệu quả cần phải nắm vững mối quan hệ giữa quá trình quang hợp vi tảo, năng suất NRE với diện tích, độ sâu của ao. Các ảnh hưởng của độ sâu ao

đến sự suy giảm ánh sáng, nồng độ sinh khối và độ sâu trộn được tóm tắt trong Hình 1.14.



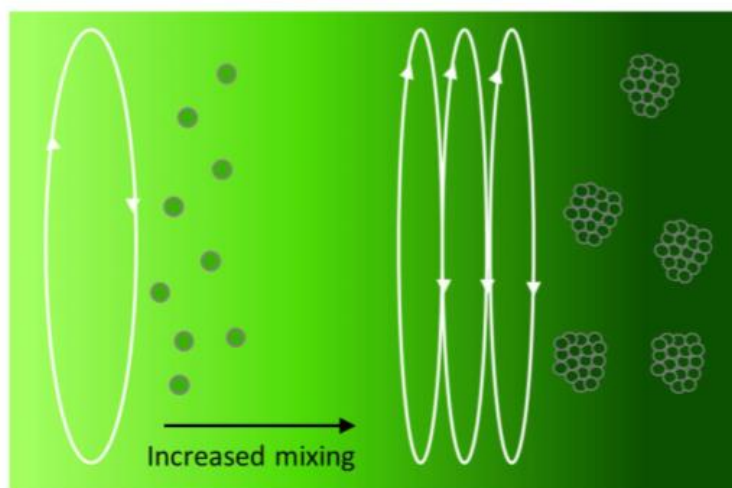
Hình 1.14: Tương quan giữa độ sâu ao đến sự suy giảm ánh sáng, nồng độ sinh khối và độ sâu trộn [65]

❖ Khuấy trộn:

Trộn theo phương đứng quyết định số lượng và tần suất tiếp xúc với ánh sáng của từng tế bào vi tảo [57]. Để khắc phục sự suy giảm ánh sáng nhanh trong các hồ HRAP, việc trộn là rất cần thiết vì nó đảm bảo tất cả các tế bào ít nhất tiếp xúc với ánh sáng bão hòa ở thời gian thường xuyên, đặc biệt ở các hồ hạn chế ánh sáng. Lý tưởng nhất là các tế bào trong vùng euphotic phải được tiếp xúc tối ưu với ánh sáng trong thời gian rất ngắn đủ để phản ứng quang hóa diễn ra, sau đó các tế bào này được di chuyển vào vùng tối trong khi được các tế bào từ vùng tối thay thế [88]. Tại khu vực chết (nơi sự xáo trộn không xảy ra) cả hiệu quả quang hợp và năng suất vi tảo có thể bị giảm [43].

Một số nghiên cứu thành công đã chứng minh rằng sự pha trộn theo phương đứng tăng lên làm tăng quá trình quang hợp và năng suất của vi tảo do các chu kỳ sáng tối tăng, được gọi là hiệu ứng sáng tối liên tục (flashing light effect) [89]. Tuy nhiên, những nghiên cứu này dựa trên sự dao động ánh sáng tần số cao (<100 ms), chỉ có thể đạt được ở các thiết bị nuôi tảo quang học hoặc hồ dốc lớp mỏng có chiều dài đường truyền nhỏ hơn 25 mm [43]. Sự pha trộn gia tăng tạo điều kiện cho sự hấp thu chất dinh dưỡng trong điều kiện hạn chế, dẫn đến tăng trưởng. Ngoài ra còn làm tăng tỷ lệ trao đổi các chất dinh dưỡng và các chất chuyển hóa giữa các tế bào vi khuẩn và môi trường [89].

Trộn cũng ngăn chặn sự lắng đọng của các tế bào [90]. Các kết cụm vi tảo lớn và nặng được mong đợi do dễ thu hoạch thông qua quá trình lắng trọng lực đơn giản [38]. Thách thức là cung cấp đủ khuấy trộn theo phương đứng và thường xuyên sao cho các cụm vi tảo này vẫn được giữ. Tần số trộn, cũng như tốc độ trộn đóng vai trò quan trọng để duy trì các cụm vi tảo lớn trong các hồ HRAP. Tần suất của sự khuấy trộn ảnh hưởng đến hiệu suất của vi tảo, bao gồm quang hợp, năng suất, cũng như thích ứng sinh lý và hình thái. Kích thước cụm vi tảo cũng ảnh hưởng đến hiệu ứng tự che sáng, khi tăng kích thước cụm thì hiệu suất hấp thụ ánh sáng giảm tốc độ trao đổi chất dinh dưỡng và khí cũng giảm [60]. Các tác động của việc trộn theo chiều dọc tăng lên kích thước khuẩn lạc và nồng độ sinh khối được nêu trong Hình 1.15.

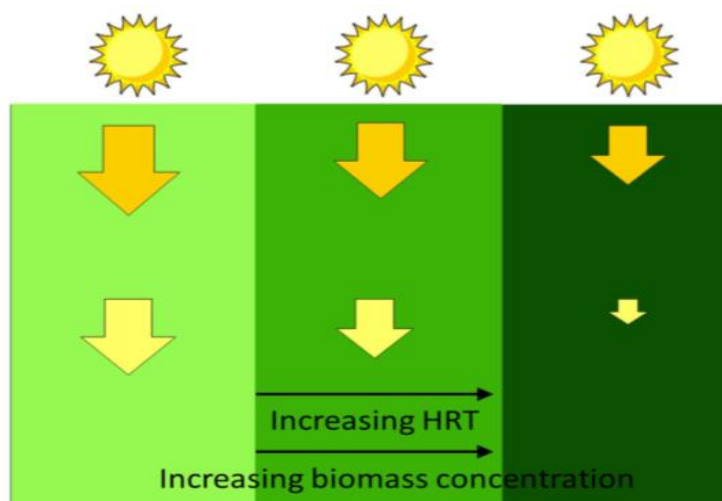


Hình 1.15: Tương quan giữa việc trộn theo chiều dọc lên kích thước khuẩn lạc và nồng độ sinh khối [65]

❖ Thời gian lưu nước:

Thời gian lưu nước (HRT) quyết định nồng độ sinh khối trong ao thông qua cho phép hoặc ngăn chặn sự tích lũy sinh khối tương ứng. HRT trong HRAP xử lý nước thải thường thay đổi trong khoảng 3 – 9 ngày, tùy theo mùa và vĩ độ. HRT có thể được thay đổi bằng cách điều chỉnh độ sâu của hồ, điều này sẽ tăng thêm môi trường ánh sáng trong hồ, hoặc thông qua pha loãng với nước thải tuần hoàn. Việc thay đổi HRT cũng sẽ ảnh hưởng đến tải chất dinh dưỡng vào HRAP cũng như chất lượng của nước thải bằng ảnh hưởng đến tổng nitơ được loại bỏ bởi vi tảo [48]. Park và Craggie [38] đã chứng minh rằng cả năng suất sinh khối và chất lượng nước thải được cải thiện vào mùa hè bằng cách giảm HRT thông qua pha loãng với nước thải đầu tuần hoàn. Mặc dù ảnh hưởng của HRT và tải chất dinh dưỡng đã được nghiên cứu liên quan đến việc loại bỏ chất dinh dưỡng và sản xuất sinh khối, nhưng tác dụng của chúng đối với sinh lý vi tảo

vẫn chưa được nghiên cứu. Các tác động của HRT đối với sự suy giảm ánh sáng và nồng độ sinh khối được nêu trong Hình 1.16.



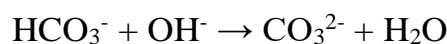
Hình 1.16: Tương quan giữa thời gian lưu nước với sự suy giảm ánh sáng và nồng độ sinh khối [65]

## 1.5. Ý NGHĨA CỦA CO<sub>2</sub> TRONG NUÔI TRỒNG VI TẢO

### 1.5.1. Cơ chế sử dụng CO<sub>2</sub> của vi tảo

Trong quang hợp, vi tảo sử dụng CO<sub>2</sub> từ khí quyển như một nguồn cacbon để sinh trưởng. Tế bào vi tảo chứa gần 50% cacbon, trong đó 1.8 kg CO<sub>2</sub> được cố định có thể sản xuất 1 kg sinh khối vi tảo nên trong quá trình sinh trưởng vi tảo đòi hỏi cacbon vô cơ hòa tan để tổng hợp tế bào. Chính vì vậy cacbon vô cơ hòa tan đóng vai trò quan trọng trong quá trình tăng trưởng của vi tảo. Hiệu quả cố định CO<sub>2</sub> của vi tảo cao hơn khoảng 10 – 50 lần so với các loài thực vật trên cạn [91]. Vi tảo nói chung sống trong môi trường nước trong đó cacbon vô cơ tồn tại ở dạng CO<sub>2</sub> hòa tan, ion HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> và CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>. Nồng độ của các dạng hợp chất cacbon này cũng như sự cân bằng các dạng này phụ thuộc vào pH môi trường [92].

Thông thường, vi tảo sử dụng cacbon ở dạng HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> và hình thành các ion OH<sup>-</sup>, CO<sub>3</sub><sup>2-</sup> dẫn tới việc pH trong dịch huyền phù luôn có xu hướng tăng lên. Nếu tiếp tục cấp CO<sub>2</sub> vào dịch tảo thì pH sẽ giảm xuống theo các phương trình sau đây [93]:



Klinthong (2015) đã báo cáo rằng vi tảo có khả năng sử dụng ba con đường hấp thu cacbon vô cơ khác nhau: (1) đồng hóa trực tiếp CO<sub>2</sub> qua màng tế bào; (2) sử dụng bicacbonat bằng enzyme cacbonic anhydrase, chuyển đổi HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> thành CO<sub>2</sub>; và (3) vận chuyển trực tiếp bicacbonat qua màng tế bào (Bảng 1.1) [94].

**Bảng 1.3. Con đường đồng hóa cacbon vô cơ của một số loài vi tảo [94]**

Loài vi tảo	CO <sub>2</sub> (con đường 1)	CA (con đường 2)	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (con đường 3)
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	+	+	+
<i>Dunaliella tertoelecta</i>	+	+	+
<i>Scenedesmus obliquus</i>	+	+	+
<i>Chlorella saccharophila</i>	+	+	+
<i>Chlorella ellipsoidea</i>	+	-	+
<i>Chlorella kesslerii</i>	+	-	+
<i>Navicula pelliculosa</i>	+	-	+
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	+	+	+
<i>Cyclotella sp.</i>	+	+	+
<i>Ditylum brightwellii</i>	+	-	+
<i>Skeletonema costatum</i>	+	-	+
<i>Chaetoceros calcitrans</i>	+	-	+
<i>Thalassiosira punctigera</i>	+	-	n/a
<i>Thalassiosira pseudonanna</i>	n/a	+	+
<i>Porphyridium cruentum</i>	+	+	+
<i>Emiliana huxleyi</i>	+	+	n/a

<i>Dicrateria inornata</i>	+	+	+
<i>Isochrysis galbana</i>	+	+	+
<i>Nannochloropsis gaditana</i>	-	-	+
<i>Nannochloropsis oculata</i>	-	-	+

Nhìn chung, các nghiên cứu trước đây đều thấy rằng các loài vi tảo hấp thụ cacbon vô cơ bao gồm CO<sub>2</sub> và HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> như là một phần của cơ chế tập trung cacbon (CCM). Đồng thời cơ chế CCM này đã được nghiên cứu như là một chiến lược đối với vấn đề giảm lượng CO<sub>2</sub> và tăng O<sub>2</sub> trong khí quyển trong thời gian dài. Mặt khác, vào ban ngày vi tảo thực hiện quá trình quang hợp cần một lượng bicacbonnat để sinh trưởng, đặc biệt trong những thời điểm cường độ ánh sáng cao vi tảo cần tiêu tốn một lượng bicacbonnat nhưng lượng bicacbonnat có sẵn không cung cấp đủ cho vi tảo làm hạn chế sự sinh trưởng. Vì vậy, trong quá trình nuôi cấy vi tảo cần cung cấp thêm CO<sub>2</sub> để quá trình tăng trưởng của vi tảo tối ưu nhất [95].

### 1.5.2. Ảnh hưởng của CO<sub>2</sub> đến sự sinh trưởng và tích lũy lipid của vi tảo

Trong cùng điều kiện nuôi cấy vi tảo sống trong môi trường bổ sung thêm một lượng CO<sub>2</sub> cố định có tốc độ tăng trưởng và hàm lượng lipid cao hơn so với môi trường chỉ cấp khí thông thường [96]. Tuy nhiên, khi cung cấp một lượng lớn CO<sub>2</sub> vượt quá khả năng tiêu thụ của vi tảo làm cho pH giảm mạnh gây ức chế sự tăng trưởng và làm giảm hàm lượng lipid của vi tảo [97]. Do đó, lượng CO<sub>2</sub> cung cấp trong quá trình nuôi cấy vi tảo cần được kiểm soát hợp lý để đạt được hiệu quả cao nhất.

### 1.5.3. Tình hình nghiên cứu bổ sung CO<sub>2</sub> trong nuôi trồng vi tảo

Trong những năm gần đây nghiên cứu ảnh hưởng của thành phần khí thải và khả năng hấp thụ CO<sub>2</sub> trong khí thải của vi tảo đã được nhiều tác giả quan tâm. Trên thế giới, từ những năm 1970 của thế kỷ trước đã có nhiều nhà nghiên cứu về vấn đề này. Dưới đây là một số nghiên cứu trên thế giới:

Theo Negoro (1991) đã lựa chọn được loài vi tảo biển có thể sử dụng tốt CO<sub>2</sub> ở nồng độ 15% [98]. Bên cạnh đó, một số loài thuộc chi *Scenedesmus* và *Chlorella* đã có thể sinh trưởng trên môi trường có đến 50% CO<sub>2</sub> [99]. Hirata (1996) đã nuôi thành công *Chlorella vulgaris* dưới điều kiện 3% CO<sub>2</sub> trong 8 ngày và tốc độ cố định CO<sub>2</sub> là 865mg/l ngày [100].

Vào năm 1998, Amoroso đã sử dụng phương pháp phân tích cân bằng khối lượng phổ để nghiên cứu sự hấp thụ CO<sub>2</sub> và vận chuyển HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> trong tế bào và lục lạp của các loài vi tảo *Dunaliella tertiolecta* và *Chlamydomonas reinhardtii*, được nuôi trồng trong môi trường sục không khí giàu CO<sub>2</sub> 5% hoặc không khí xung quanh. Kết quả nghiên cứu cho thấy, trong các tế bào của *D. tertiolecta*, HCO<sup>-</sup> là dạng các bon vô cơ chiếm ưu thế, trong khi đó *C. reinhardtii* lại sử dụng HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> và CO<sub>2</sub> [101].

De Moraes và cộng sự (2007) đã phân lập được 2 loài tảo *Scenedesmus obliquus* và *Chlorella kesleri* từ nguồn nước thải của nhà máy nhiệt điện sử dụng than đá ở Brazil. Cả hai loài vi tảo này đều có khả năng sử dụng nguồn CO<sub>2</sub> từ 6-12%. Trong đó, chủng *Chlorella vulagris* có tốc độ sinh trưởng đặc trưng  $\mu_{max}$  là 0.267/ngày với năng suất sinh khối đạt cực đại (P<sub>max</sub>) là 0,087 g/l/ngày ở nồng độ 6% CO<sub>2</sub>. Còn đối với *S. obliquus*, sinh khối khô đạt cực đại là 1.14 g/l ở 12% CO<sub>2</sub>. Cả hai loài này đều có thể sinh trưởng tốt dưới điều kiện CO<sub>2</sub> có nồng độ 18% khi tảo được nuôi trồng trong các hệ thống bể quang sinh kín có thể tích 2 lít với lượng môi trường chiếm đến 1.8 lít, nhiệt độ là 30°C, ánh sáng 3200 LUX, đèn neon 40W, có chu kỳ sáng:tối là 12:12, tốc độ dòng khí là 0.540 l/phút có bổ sung CO<sub>2</sub> với nồng độ 6, 12 và 18%; mật độ ban đầu của tảo đạt 0.15 g/l tính theo sinh khối khô [102].

Yoo và cộng sự (2010) cũng đã thông báo sàng lọc được các loài vi tảo có sinh khối và hàm lượng lipit cao, trong đó loài *Botryococcus braunii*, *Chlorella vulgaris* và *Scenedesmus sp.* có khả năng sinh trưởng tốt dưới điều kiện CO<sub>2</sub> đến 10%. Khi đó sinh khối tảo và hàm lượng lipit của *Scenedesmus sp.* đạt 217.50 và 20.65 mg/l ngày (chiếm 9% sinh khối) trong khi đó *B. braunii* là 26.55 và 5.51 mg/l ngày (chiếm 21% sinh khối). Với loài *Scenedesmus sp.* và *Botryococcus braunii*, sản lượng lipit tăng cao hơn 1.9 lần (39.44 mg/L ngày) và 3.7 lần (20.55 mg/L ngày), tương ứng, trong đó, axit oleic là thành phần axit béo chính chiếm đến 55% tổng số axit béo. Các kết quả nghiên cứu thu được cho thấy ở nồng độ CO<sub>2</sub> 5.5% *B. braunii* và *Scenedesmus sp.* có tốc độ sinh trưởng cao hơn so với ở 10% [103].

Việt Nam cũng không ngoại lệ, việc tìm kiếm các giải pháp khác nhau nhằm giảm chi phí thu hồi CO<sub>2</sub> bằng phương pháp sinh học đặc biệt là trong nuôi vi tảo cũng rất được quan tâm. Đặng Đình Kim và cộng sự (1994) đã sử dụng nước khoáng thiên nhiên giàu bicacbonat kết hợp sục hỗn hợp không khí có chứa 1-3% CO<sub>2</sub> để nuôi *S. platensis*. Trong thực nghiệm này, *S. platensis* sinh trưởng tốt ở cả 2 điều kiện nuôi tĩnh và nuôi có sục hỗn hợp không khí bổ sung 1-3% CO<sub>2</sub> khi dùng nước khoáng Đắc Min. Chất



lượng vi khuẩn lam (xét về hàm lượng protein) là tốt trong toàn bộ các công thức thí nghiệm [104].

Nguyễn Minh Tuấn (2012) đã nghiên cứu ảnh hưởng của các điều kiện nuôi trồng đến sinh trưởng và năng suất thu dầu của vi tảo *Chlorella Vulgaris* nhằm làm nguyên liệu sản xuất nhiên liệu sinh học. Kết quả ban đầu cho thấy các điều kiện nuôi trồng: ánh sáng 7000 LUX, 600 mg NH<sub>4</sub>Cl/lít và tốc độ sục khí 20 ml CO<sub>2</sub>/phút kết hợp với sục 650 ml không khí/phút cho kết quả khả quan. Chất lượng của lipid thu được khá phù hợp cho mục tiêu sản xuất biodiesel [97].

Đặng Đình Kim (2018) đã tiến hành thực nghiệm nuôi *Spirulina platensis* trong nước thải từ hầm biogas có chứa CO<sub>2</sub> thu từ Trung tâm năng lượng mới, Đại học Bách Khoa Hà Nội, kết hợp bổ sung một lượng nhỏ chất khoáng. Thí nghiệm tiến hành trong điều kiện chiếu sáng 3000 LUX, chu kỳ sáng tối 12:12, 1 lít môi trường pha loãng chứa 2 g NaHCO<sub>3</sub>, 5 g NaCl, 0.05 g K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>. Kết quả nghiên cứu cho thấy năng suất và hàm lượng protein nuôi trong môi trường nước thải không thua kém so với tảo nuôi trên môi trường Zarrouk [105].

## Chương 2: ĐỐI TƯỢNG, PHẠM VI, NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU

#### 2.1.1. Vi tảo *Scenedesmus sp.*

Vi tảo *Scenedesmus sp.* được phân lập từ nước thải nuôi tôm tại Trung tâm giống hải sản cấp 1 tỉnh Ninh Thuận theo dự án RENEWABLE.



Hình 2.1: Vi tảo *Scenedesmus sp.* được chụp thông qua kính hiển vi

#### 2.1.2. Nước thải và bùn thải nuôi tôm

Nước thải và bùn thải được lấy từ ao nuôi tôm tại Trung tâm giống và hải sản cấp I tỉnh Ninh Thuận vào thời điểm tôm 1 tháng tuổi có tính chất như bảng dưới đây:

**Bảng 2.1: Tính chất nước thải và bùn thải nuôi tôm**

STT	Chỉ tiêu	Đơn vị	Nước thải	Bùn đáy ao	QCVN 02 -	QCVN 02 -	QCVN 10-
					19:2014/ BNNPTNT (Bảng 1)	19:2014/ BNNPTNT (Bảng 2)	MT:2015/ BTNMT (Bảng 1)
1	pH	-	7.5 – 9	6.0-7.2	7 – 9	5.5 – 9	6.5 – 8.5

2	Độ đục	NTU	1 – 20	2000 – 3000	-	-	-
3	NO <sub>2</sub> -N	mg/l	≤0.01 – 5	0.01 – 5	-	-	-
4	NO <sub>3</sub> -N	mg/l	0.1 – 1	0.1 – 2	-	-	-
5	NH <sub>4</sub> -N	mg/l	0.1 – 16	80 – 290	-	-	0.1
6	TN	mg/l	2 – 25	130 – 450	-	-	-
7	PO <sub>4</sub> -P	mg/l	0.1 – 0.4	0.5 – 6	-	-	0.2
8	BOD <sub>5</sub>	mg/l	24 – 80	200 – 2500	-	≤ 50	-
9	COD	mg/l	307 – 399	500 – 4000	-	≤ 150	-

**Chú thích:**

- QCVN 02 - 19:2014/BNNPTNT: Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia về cơ sở nuôi tôm nước lợ - điều kiện bảo đảm vệ sinh thú y, bảo vệ môi trường và an toàn thực phẩm:

Bảng 1. Chất lượng nước cấp vào ao nuôi và nước ao nuôi tôm Sú và tôm Chân trắng.

Bảng 2. Chất lượng nước thải từ ao xử lý nước thải trước khi thải ra môi trường bên ngoài.

- QCVN 10-MT:2015/BTNMT: Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia về chất lượng nước biển.

Bảng 1: Giá trị giới hạn của các thông số chất lượng nước biển vùng biển ven bờ.

Theo kết quả phân tích, ta thấy mức độ ô nhiễm của nước thải nuôi tôm khu vực Xã An Hải, Huyện Ninh Phước, Tỉnh Ninh Thuận ô nhiễm ở mức độ thấp, tuy nhiên mức độ ô nhiễm của bùn thải lại rất cao. Tùy thuộc vào loại hình và quy mô sản xuất mà chỉ số ô nhiễm khác nhau, các ao nuôi tôm mật độ cao và số ngày nuôi lớn ô nhiễm cao hơn so với các ao nuôi mật độ thấp và ngày nuôi nhỏ.

### 2.1.3. Hồ nuôi tảo mật độ cao

Hồ nuôi tảo mật độ cao quy mô Pilot được thiết kế bởi giáo sư Jenluc-Vasel và được xây dựng theo dự án hợp tác quốc tế RENEWABLE giữa Vương quốc Bỉ và Việt Nam.



Hình 2.2: Hồ nuôi tảo mật độ cao quy mô Pilot

**Bảng 2.2: Bảng thông số thiết kế và vận hành hồ nuôi tảo mật độ cao quy mô Pilot**

Thông số	Giá trị
Thể tích hồ (lít)	500
Dài x Rộng (m <sup>2</sup> )	2.416x1.032
Chiều cao (cm)	15
Chiều sâu mực nước (cm)	10
Vận tốc nước (m/s)	0.1-0.4
Chế độ sục khí	Dạng elip
Cường độ ánh sáng (LUX)	0 – 100 000
Thời gian chiếu sáng	12/24

## **2.2. PHẠM VI NGHIÊN CỨU**

Toàn bộ nghiên cứu được thực hiện tại tỉnh Ninh Thuận và chia thành các giai đoạn sau:

- Khảo sát tình hình nuôi trồng và mức độ ô nhiễm chất thải nuôi tôm dạng thâm canh và bán thâm canh ở hai huyện Ninh Hải và Ninh Phước tỉnh Ninh Thuận vào tháng 3/2019
- Quá trình tăng sinh khối vi tảo thực hiện song song với các hoạt động khác và xuyên suốt nghiên cứu tại phòng vô trùng chuyên biệt dành cho nuôi cấy vi tảo.
- Các thí nghiệm phân tích thông số hóa học của nước và thông số tích lũy của vi tảo được thực hiện trong phòng thí nghiệm hóa học.
- Thí nghiệm xác định nồng độ bùn và CO<sub>2</sub> tối ưu được thực hiện trong phòng thí nghiệm vi sinh với điều kiện nhiệt độ và ánh sáng đèn led theo tiêu chuẩn. Thời gian thực hiện từ tháng 3/2019 đến 5/2019.
- Vận hành hồ nuôi tảo cao tải quy mô Pilot ở điều kiện thực tế tỉnh Ninh Thuận được thực hiện vào tháng 6/2019.

## **2.3. NỘI DUNG NGHIÊN CỨU**

- Khảo sát, đánh giá chất lượng nước thải, bùn thải nuôi tôm khu vực hai Huyện Ninh Phước, Tỉnh Ninh Thuận.
- Xây dựng các phương pháp phân tích chỉ tiêu nước thải trong phòng thí nghiệm
- Khảo sát khả năng thích nghi và phát triển của vi tảo môi trường bùn pha trộn nước thải trong điều kiện phòng thí nghiệm. Xác định nồng độ bùn tối ưu.
- Khảo sát khả năng tăng trưởng của vi tảo trong môi trường có bổ sung khí CO<sub>2</sub> trong điều kiện phòng thí nghiệm. Xác định nồng độ CO<sub>2</sub> tối ưu.
- Khảo sát khả năng thích nghi và phát triển của vi tảo trong mô hình nuôi tảo mật độ cao quy mô Pilot ở điều kiện thực tế khí hậu tỉnh Ninh Thuận, xác định hiệu suất xử lý nước thải thực tế.
- Đánh giá chất lượng sinh khối vi tảo.

## **2.4. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**

### **2.4.1. Phương pháp phân tích và tổng hợp lý thuyết**

Tìm kiếm và thu thập các tài liệu tham khảo trong và ngoài nước có liên quan đến đề tài nghiên cứu. Tìm hiểu và phân loại các kiến thức cần thiết. Từ đó nắm vững bản chất của toàn bộ vấn đề đang nghiên cứu. Trên cơ sở lý thuyết đã phân tích, tổng

hợp chúng để tạo ra một hệ thống có sự liên kết, từ đó hiểu đầy đủ, toàn diện, sâu sắc về lí thuyết đang nghiên cứu.

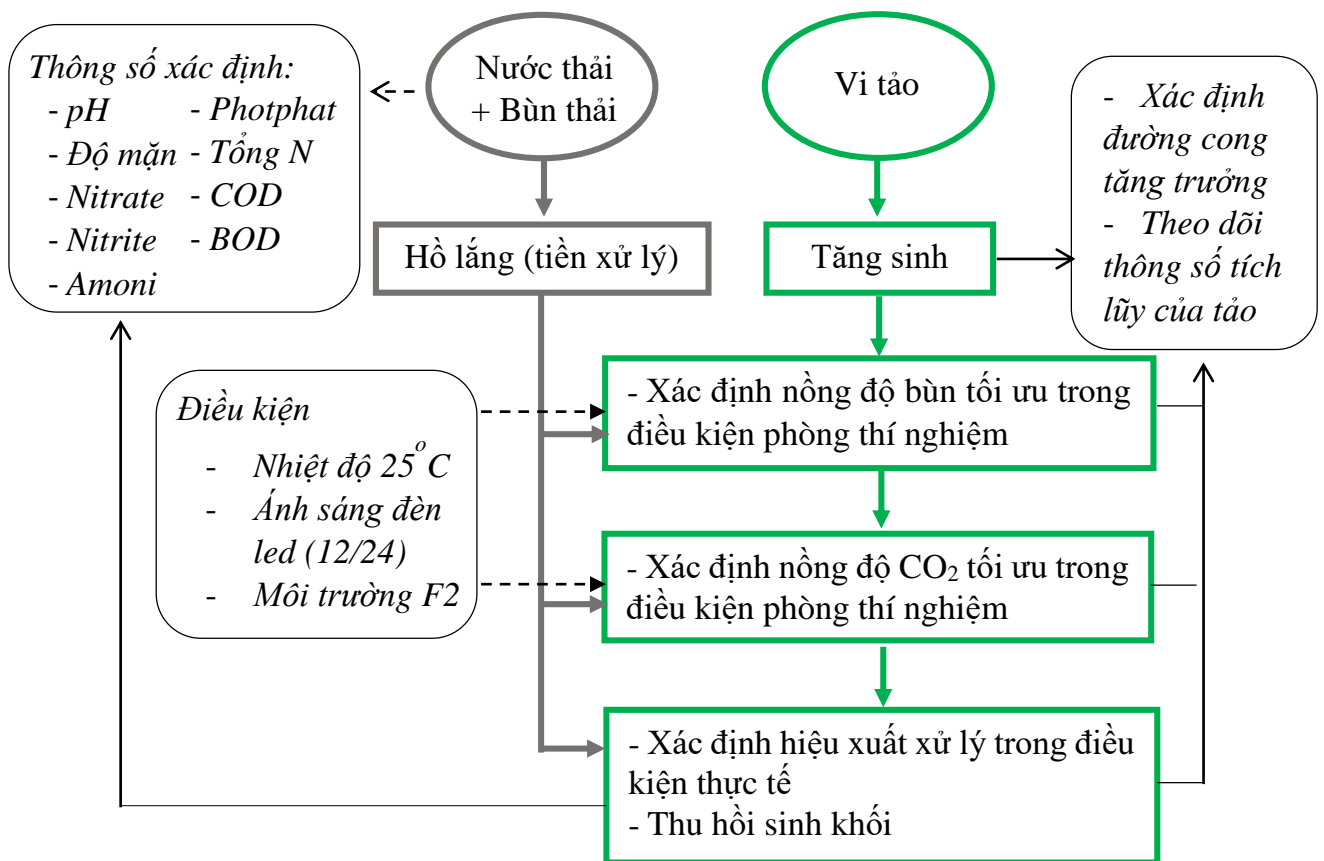
### 2.4.3. Phương pháp quan sát khoa học và điều tra

Thực hiện khảo sát và điều tra hơn 30 hộ dân nuôi tôm khu vực hai huyện Ninh Hải và Ninh Phước tỉnh Ninh Thuận kết hợp quan sát thực tiễn và các kiến thức đã thu thập xác định được quy trình và quy cách xả thải, nguyên nhân và nguồn gốc gây ô nhiễm, từ đó đưa ra phương án xử lý phù hợp nhất.

### 2.4.5. Phương pháp chuyên gia

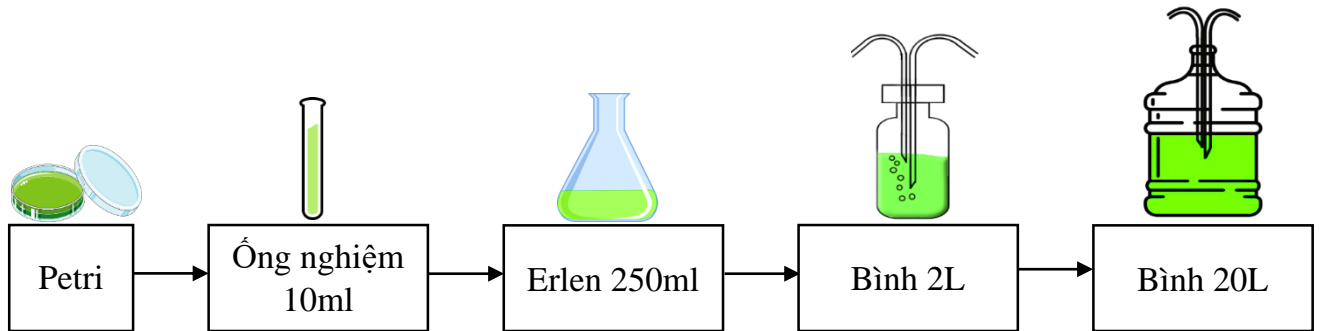
Nghiên cứu thực hiện dựa trên ý tưởng của các chuyên gia từ dự án RENEWABLE. Trong quá trình thực hiện nhận được nhiều ý kiến đóng góp từ phía các kỹ sư nuôi trồng thủy sản và người dân để hoàn thiện hơn.

### 2.4.6. Phương pháp bố trí và theo dõi thí nghiệm



Hình 2.3: Sơ đồ tổng quát bố trí và theo dõi thí nghiệm

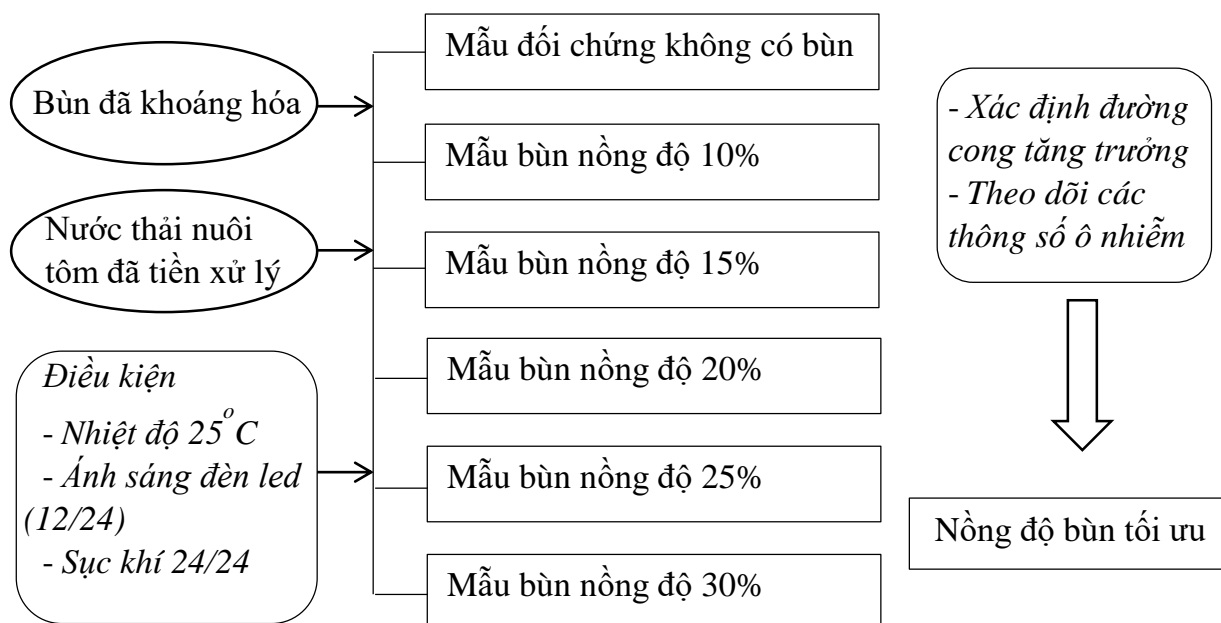
### 2.4.2.1. Tăng sinh



Hình 2.4: Sơ đồ bố trí tăng sinh

Trong quy trình tăng sinh, đối tượng được sử dụng nghiên cứu là giống tảo *Scenedesmus sp.* được phân lập từ dự án RENEWABLE. Giai đoạn đầu quá trình tăng sinh, tảo sau khi phân lập được nuôi cấy trên đĩa petri với môi trường F/2 (Phụ lục A). Tiếp đến tảo tiếp tục được cấy lần lượt sang ống nghiệm 10 mL và erlen 250 mL với môi trường F/2. Các giai đoạn nuôi cấy được tiến hành trong phòng thí nghiệm, môi trường và dụng cụ được khử trùng bằng nồi hấp tiệt trùng autoclave, nhiệt độ nuôi cấy khoảng 20 – 25°C, ánh sáng trung bình trong khoảng 4000 – 5000 LUX, với phương pháp hiếu khí lỏng, lắc tròn. Kết quả nuôi cấy trong điều kiện môi trường phòng thí nghiệm từ 8 – 10 ngày. Tiếp tục quá trình tăng sinh, tảo được nuôi cấy trong bình thủy tinh 2 lít trong cùng điều kiện với giai đoạn trên và bổ sung quá trình sục khí vô trùng. Kết quả nuôi cấy trong bình thủy tinh 2 lít đạt được sau 6 – 8 ngày nuôi cấy tương tự như trong erlen. Để đạt được mật độ tảo cần thiết để vận hành mô hình hồ thực tế HRAPs, cần phải tăng sinh với quy mô lớn trong bình nhựa 20 lít. Điều kiện nuôi cấy tương tự bình 2 lít, tuy nhiên dụng cụ và môi trường được khử trùng bằng Clorine với nồng độ 10 ppm trong 12 giờ. Sau khi đạt được mật độ tảo mong muốn, sử dụng tảo để vận hành mô hình HRAPs. Song với thời điểm vận hành hồ thực nghiệm vẫn tiến hành các quá trình tăng sinh cùng lúc để đảm bảo mật độ tảo cho các quá trình vận hành thực nghiệm tiếp theo.

**2.4.2.2. Thí nghiệm 1: Xác định nồng độ bùn tối ưu trong điều kiện phòng thí nghiệm.**



Hình 2.5: Sơ đồ bố trí thí nghiệm xác định nồng độ bùn tối ưu trong điều kiện phòng thí nghiệm

Thí nghiệm này được bố trí như sau: Vi tảo *Scenedesmus sp.* được nuôi trồng trong nước thải nuôi tôm đã qua tiền xử lý pha trộn với bùn đã được khoáng hóa với nồng độ lần lượt là 0%, 10%, 15%, 20%, 25% và 30% (v/v) trong mô hình photobioreactor 2 lít (Mỗi nồng độ được lặp lại 3 lần). Mẫu đầu vào được kiểm tra thông số vật lý bằng thiết bị đo Multiparameter (Phụ lục A). Thí nghiệm được thực hiện ở điều kiện phòng thí nghiệm với nhiệt độ ổn định 20-27°C, ánh sáng đèn led 12/24 (theo như điều kiện ánh sáng thực tế) và sục khí liên tục. Sự tăng trưởng của vi tảo và các thông số chất lượng nước thải được theo dõi với tần suất 2 ngày lấy mẫu 1 lần, riêng 2 ngày đầu của thí nghiệm lấy mẫu hằng ngày để xác định chính xác nồng độ bùn tối ưu.

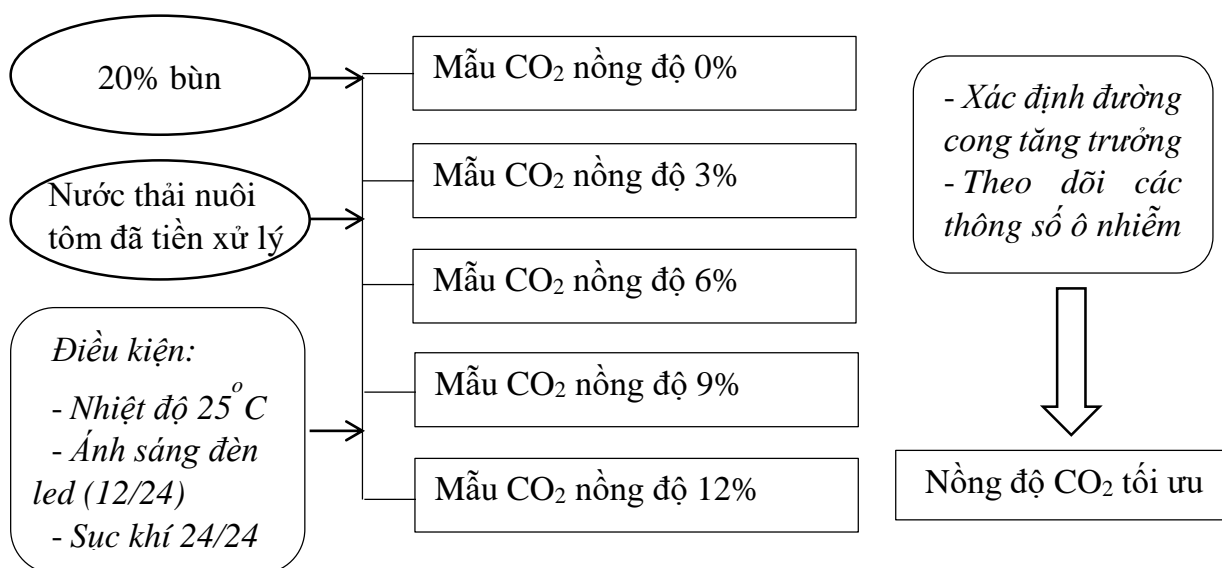
❖ **Khoáng hóa bùn**

Bùn thải được lấy từ đáy ao nuôi tôm tại thời điểm sau khi thu hoạch tôm và trước khi cải tạo ao, đựng trong can 20 lít và vận chuyển về địa điểm nghiên cứu. Thành phần bùn bao gồm cát, vỏ tôm, mùn bã hữu cơ, thức ăn dư thừa, chất thải của tôm.... Bùn sau đó được lọc qua lưới lọc Nylon có kích thước 500 µm để loại bỏ cát và các cặn không tan có kích thước lớn. Sau khi lọc, bùn được khoáng hóa bằng chế phẩm sinh học Vibrotech ở điều kiện hiếu khí trong 24 giờ để phân hủy các chất hữu cơ không tan (phân tôm, thức ăn thừa, xác tảo chết,...) về dạng tảo có thể hấp thụ được. Sau khi



khoáng hóa nồng độ dinh dưỡng của bùn tăng từ 2 – 4 lần, đồng thời làm giảm các khí có thể gây độc cho tảo có trong bùn. Bùn đã khoáng hóa sẽ được pha trộn với nước thải theo tỉ lệ tối ưu được xác định ở Thí nghiệm 1.

#### 2.4.2.3. Thí nghiệm 2: Xác định nồng độ CO<sub>2</sub> tối ưu trong điều kiện phòng thí nghiệm



Hình 2.6: Sơ đồ bố trí thí nghiệm xác định nồng độ CO<sub>2</sub> tối ưu trong điều kiện phòng thí nghiệm

Thí nghiệm này được bố trí như sau: Vi tảo *Scenedesmus sp.* được nuôi trồng trong hỗn hợp nước thải nuôi tôm đã qua tiền xử lý với bùn có nồng độ tối ưu (Được xác định ở thí nghiệm 1) và có sục thêm khí CO<sub>2</sub> với nồng độ lần lượt là 0%, 3%, 6%, 9% và 12% (v/v) trong mô hình photobioreactor 2 lít (Mỗi nồng độ được lặp lại 3 lần). Thí nghiệm được thực hiện ở điều kiện phòng thí nghiệm với nhiệt độ ổn định 20-27°C, ánh sáng đèn led 12/24 (Theo như điều kiện ánh sáng thực tế) và sục khí liên tục. Sự tăng trưởng của vi tảo và các thông số chất lượng nước thải được theo dõi với tần suất 2 ngày lấy mẫu 1 lần, riêng 2 ngày đầu của thí nghiệm lấy mẫu hằng ngày để xác định chính xác nồng độ CO<sub>2</sub> tối ưu.

#### 2.4.2.4. Thí nghiệm 3: Xác định hiệu suất xử lý các chất ô nhiễm của vi tảo *Scenedesmus sp.* trong điều kiện thực tế

Vi tảo *Scenedesmus sp.* được nuôi trồng theo mẻ trong hỗn hợp nước thải và bùn có bổ sung khí CO<sub>2</sub> với nồng độ tối ưu đã được xác định ở thí nghiệm 1 và 2 trong hồ nuôi tảo mật độ cao HRAP quy mô Pilot ở điều kiện khí hậu thực tế tại Trung tâm giống

và hải sản cấp I tỉnh Ninh Thuận. Khu vực nuôi có bố trí hệ thống mái che kết hợp phun sương nhằm giảm nhiệt độ và ánh sáng trong quá trình vận hành. Các thông số vật lý (Nhiệt độ nước, pH, độ mặn, oxi hòa tan, carotenoid) được theo dõi thông qua thiết bị đo trực tiếp Multiparameter với tần suất 5 phút/lần. Sự tăng trưởng của tảo và các thông số hóa học được theo dõi với tần suất 2 lần/ ngày.

#### 2.4.7. Phương pháp phân tích mẫu

Các phương pháp phân tích được xây dựng dựa theo phương pháp có sẵn như bảng 2.1 và 2.2. Các bước tiến hành được nêu trong Phụ lục C.

**Bảng 2.3: Phương pháp phân tích các thông số tích lũy của tảo**

STT	Thông số	Phương pháp	Thiết bị
1	Mật độ tế bào	Đếm trực tiếp	Kính hiển vi Buồng đếm Neubauer
2	Khối lượng khô		Tủ sấy
3	Chlorophyll	Phương pháp Lichtenthaler	Máy đo quang phổ UV/VIS
4	Lipid	Phương pháp Folch	Tủ sấy
5	Protein	Phương pháp Kjeldahl	Bộ phá mẫu tự động Kjeldahl

**Bảng 2.4: Phương pháp phân tích các chỉ tiêu chất lượng nước thải**

STT	Chi tiêu	Phương pháp	Thiết bị
1	Nitrite (NO <sub>2</sub> -N)	TCVN 6178 – 1996 ISO 6777:1984	Máy đo quang phổ UV/VIS
2	Nitrate (NO <sub>3</sub> -N)	TCVN 6180 – 1996 ISO 7890-3:1988 (E)	Máy đo quang phổ UV/VIS
3	Amonium (NH <sub>4</sub> -N)	TCVN 6179/1 – 1996	Máy đo quang phổ UV/VIS

ISO 7150-1:1984 (E)			
4	Tổng Nitơ (TN)	TCVN 6638 – 2000 ISO 10048 – 1991	Bộ phá mẫu tự động Kjeldahl
5	Phosphate (PO <sub>4</sub> -N)	TCVN 6202 – 2008 ISO 6878:2004	Máy đo quang phổ UV/VIS
6	COD	TCVN 6491 – 1999 ISO 6060:1989	Máy đo quang phổ UV/VIS
7	BOD <sub>5</sub>	TCVN 6001/2 – 2008 ISO 5815-2:2003	Tủ ủ
8	Độ mặn		Khúc xạ kế

#### 2.4.8. Phương pháp đánh giá kết quả

➤ Đánh giá đặc tính của nước thải thông qua:

- QCVN 02 - 19:2014/BNNPTNT: Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia về cơ sở nuôi tôm nước lợ - điều kiện bảo đảm vệ sinh thú y, bảo vệ môi trường và an toàn thực phẩm:

Bảng 1. Chất lượng nước cấp vào ao nuôi và nước ao nuôi tôm Sú và tôm Chân trắng

Bảng 2. Chất lượng nước thải từ ao xử lý nước thải trước khi thải ra môi trường bên ngoài

- QCVN 10-MT:2015/BTNMT: Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia về chất lượng nước biển:

Bảng 1: Giá trị giới hạn của các thông số chất lượng nước biển vùng biển ven bờ.

➤ Đánh giá hiệu quả loại bỏ chất dinh dưỡng thông qua kết quả phân tích ban đầu và sau khi kết thúc thí nghiệm.

$$H = \left(1 - \frac{C_e}{C_0}\right) \times 100$$

Trong đó :

- $H$  là hiệu quả xử lý dinh dưỡng;
- $C_o$  là nồng độ chất ô nhiễm ban đầu;
- $C_e$  là nồng độ chất ô nhiễm sau khi kết thúc thí nghiệm.

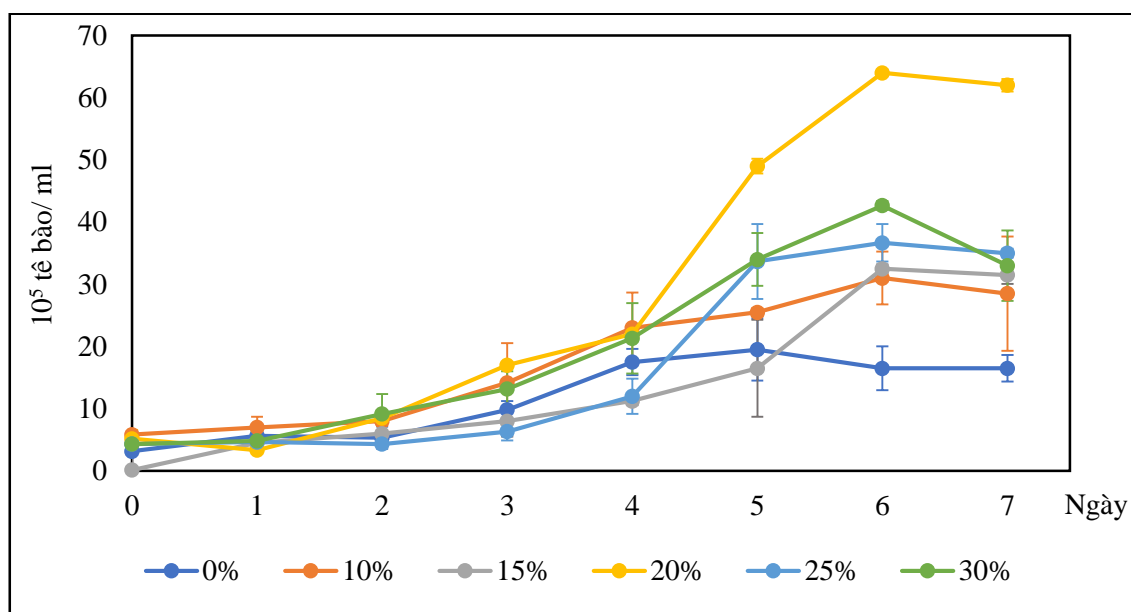
#### **2.4.9. Phương pháp xử lý số liệu và trình bày kết quả**

Tất cả số liệu trong nghiên cứu được xử lý và biểu diễn thông qua phần mềm Excel (2010).

## Chương 3: KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

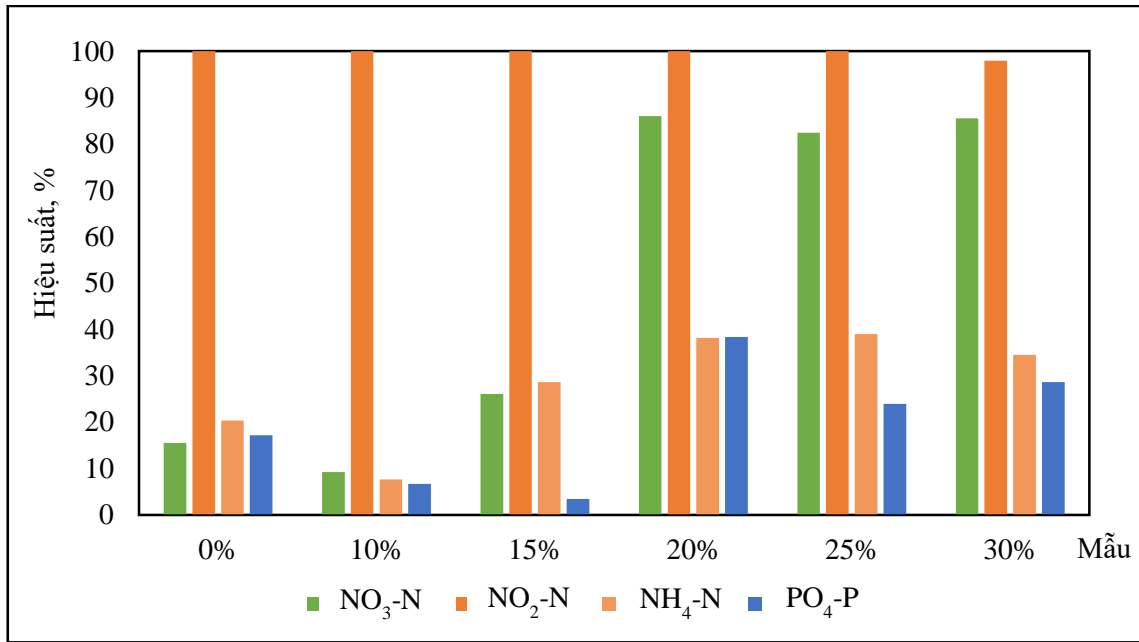
### 3.1. ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG SINH TRƯỞNG VÀ XỬ LÝ CHẤT Ô NHIỄM CỦA VI TẢO *SCENEDESMUS SP.* TRONG PHÒNG THÍ NGHIỆM

#### 3.1.1. Thí nghiệm xác định lượng bùn tối ưu

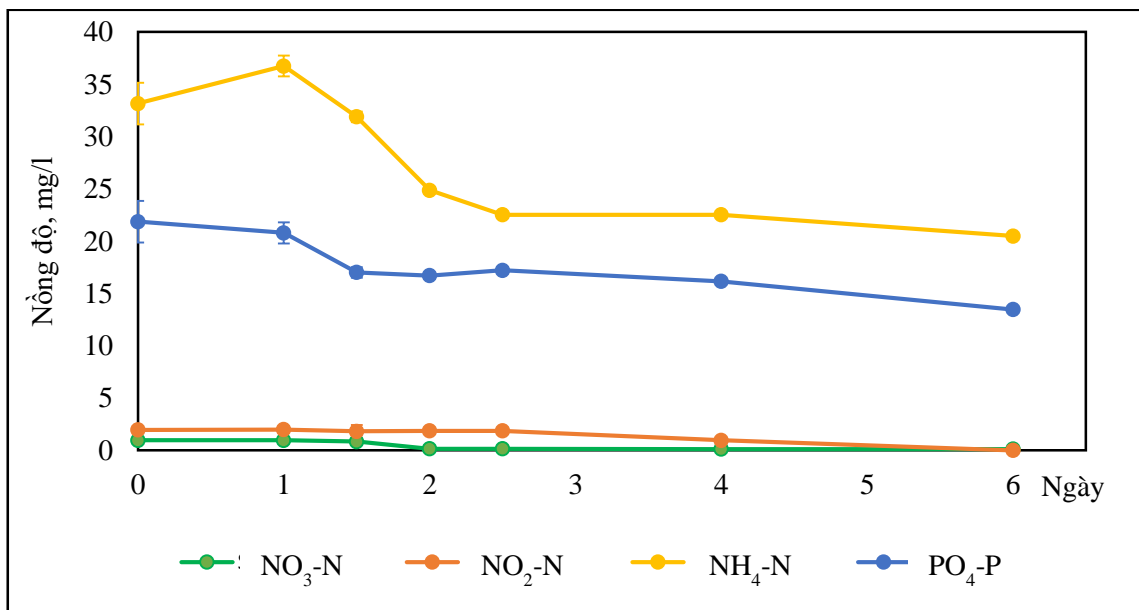


Hình 3.1: Đường cong tăng trưởng ( $10^5$  tế bào/ ml) của *Scenedesmus sp.* nuôi trồng trong nước thải với các nồng độ bùn khác nhau ở mô hình photobioreactor 2 lít

Tốc độ tăng trưởng tế bào của vi tảo *Scenedesmus sp.* được nuôi trồng trong nước thải nuôi tôm pha trộn với bùn có nồng độ lần lượt là 0, 10, 15, 20, 25 và 30% (v/v) trong mô hình photobioreactor 2 lít được diễn tả trong hình 3.1. Ta thấy, vi tảo thích nghi với môi trường nuôi cấy trong 4 ngày đầu; tăng trưởng mạnh ở những ngày kế tiếp, đạt số lượng tế bào cực đại ở ngày thứ 5 (đối với mẫu không pha bùn và mẫu 15% bùn) và ngày thứ 6 (đối với những mẫu còn lại); giảm dần và tiến đến pha chết của quá trình nuôi cấy. Nhìn chung, *Scenedesmus sp.* phát triển mạnh nhất ở mẫu 20% bùn với số lượng tế bào cực đại  $(6.4 \pm 0.05) \times 10^6$  tế bào/ ml, theo sau là mẫu có nồng độ bùn 30, 25, 15, 10 và 0% với số lượng tế bào cực đại tương ứng là  $(4.27 \pm 0.07) \times 10^6$ ,  $(3.67 \pm 0.3) \times 10^6$ ,  $(3.25 \pm 0.07) \times 10^6$ ,  $(3.1 \pm 0.4) \times 10^6$  và  $(1.9 \pm 2) \times 10^6$  tế bào/ ml. So sánh với nghiên cứu của Ma, H., et al. (2012) [106], nuôi cấy tảo *Scenedesmus sp.* với nước thải nuôi trồng thủy sản đạt số lượng tế bào cực đại là  $7.46 \times 10^6$  tế bào/ ml thì nghiên cứu của chúng tôi có số lượng tế bào cực đại thấp hơn khoảng  $10^6$  tế bào/ ml.



Hình 3.2: Hiệu suất xử lý chất ô nhiễm của vi tảo nuôi trồng trong nước thải với các nồng độ bùn khác nhau ở mô hình photobioreactor 2 lít



Hình 3.3: Nồng độ chất ô nhiễm của vi tảo nuôi trồng trong nước thải với 20% bùn theo thời gian ở mô hình photobioreactor 2 lít

Các chất ô nhiễm, đặc biệt là Nitơ và Photpho là những yếu tố quan trọng trong nước cho sự tăng trưởng của vi tảo. Do đó, sau khi bố trí thí nghiệm nuôi cấy *Scenedesmus sp.* trong nước thải với các nồng độ bùn khác nhau ở mô hình photobioreactor 2 lít, chúng tôi đã tiến hành đo một số hàm lượng chất ô nhiễm và hiệu suất xử lý các chất ô nhiễm của vi tảo này được trình bày trên biểu đồ hình 3.2.

Kết quả thu được cho thấy, sau 6 ngày nuôi cấy, hàm lượng  $\text{NO}_3\text{-N}$  giảm mạnh nhất ở mẫu 20% bùn là 86.02%, tiếp đến là mẫu 30, 25, 15, 0 và 10% bùn với hiệu suất tương ứng 85.53%, 82.44%, 26.11%, 15.50% và 9.25%. So với kết quả công bố trước đây về nuôi tảo *Scenedesmus sp.* với nước thải nuôi trồng thủy sản của Ansari [107], sau 14 ngày nuôi cấy vi tảo làm giảm 77% hàm lượng  $\text{NO}_3\text{-N}$  và của H.Ma [106], sau 16 ngày hàm lượng  $\text{NO}_3\text{-N}$  giảm 85.50%; còn Y.Liu [108] thì sau 5 ngày nuôi tảo *Parachlorella kessleri* trên nước thải từ ngành nuôi trồng thủy sản, hàm lượng  $\text{NO}_3\text{-N}$  giảm 94.3%. Thì hiệu suất xử lý  $\text{NO}_3\text{-N}$  của nghiên cứu có giá trị hiệu suất cao hơn thí nghiệm cùng loài *Scenedesmus sp.* của FA.Ansari nhưng thấp hơn loài *Parachlorella kessleri* trong nghiên cứu của Y.Liu. Một lần nữa khẳng định rằng nước thải nuôi trồng thủy sản có trộn bùn rất thích hợp để nuôi cấy vi tảo *Scenedesmus sp.*

Hàm lượng  $\text{NO}_2\text{-N}$  hầu như đã được xử lý hoàn toàn kể từ ngày thứ tư của quá trình nuôi cấy. So với các kết quả công bố trước đây hiệu suất xử lý  $\text{NO}_2\text{-N}$  trong thí nghiệm của chúng tôi đều cao hơn, trong nghiên cứu của FA.Ansari [107], H.Ma [106] và Y.Liu. (2019) [108] hàm lượng  $\text{NO}_2\text{-N}$  giảm lần lượt là 73.83%, 96.3% và 99%.

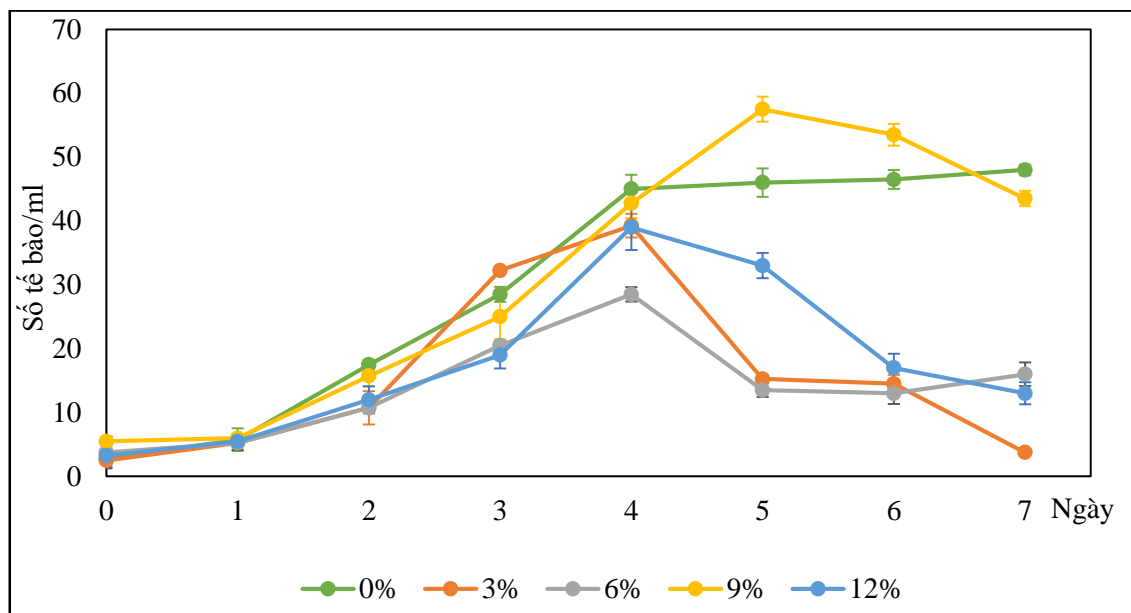
Bên cạnh đó, thông số  $\text{NH}_4\text{-N}$  cũng đáng được chú ý trong thí nghiệm này. Hiệu suất xử lý  $\text{NH}_4\text{-N}$  tương đối thấp - dưới 50%, trong đó hiệu suất cao nhất cũng là 39.01% ở mẫu 25% bùn. Theo sau là các mẫu 20, 30, 15, 0 và 10% bùn tương ứng các hiệu suất xử lý là 38.20%, 34.53%, 28.64%, 20.37% và 7.69%. Trong khi các nghiên cứu khác hiệu suất xử lý  $\text{NH}_4\text{-N}$  đều cao, cụ thể là FA.Ansari [107] đạt 88.71%, Y.Liu [108] đạt 96.2%, gấp đôi hiệu suất nghiên cứu này với cùng giống tảo, nước thải nuôi trồng thủy sản.

Còn về thành phần  $\text{PO}_4\text{-P}$  sau 6 ngày nuôi cấy, hiệu quả xử lý ở các mẫu cũng tương đối thấp dưới 50%, cao nhất là ở mẫu có nồng độ bùn 20% đạt giá trị 38.38%. So với công bố trước đây của FA.Ansari [107], sau 4 ngày nuôi tảo *Scenedesmus sp.* với nước thải nuôi trồng thủy sản, hàm lượng  $\text{PO}_4\text{-P}$  đã được xử lý hết. Theo công bố của M.Tossavainen (2018) [109], sau 4-5 ngày nuôi tảo *Selenastrum* với nước thải nuôi trồng thủy sản, hàm lượng  $\text{PO}_4\text{-P}$  giảm xuống 98.4 – 99.8%. Như vậy, nghiên cứu này đã có hiệu quả xử lý Photpho thấp hơn khoảng 2 lần so với các công bố nêu trên.

Từ những kết quả nêu trên đã cho thấy, sự phát triển của tảo theo thời gian ở mẫu nuôi bằng nước thải nuôi tôm với 20% bùn có hiệu quả cao nhất. Chi tiết hiệu quả xử lý các chất ô nhiễm ở mẫu có 20% bùn được trình bày trên biểu đồ hình 3. Hàm lượng các chất ô nhiễm có xu hướng giảm dần theo thời gian. Riêng  $\text{NH}_4\text{-N}$  tăng đột ngột vào sáng

ngày thứ nhất, sau đó giảm dần ở những ngày nuôi tiếp theo và giảm mạnh trong ngày thứ nhất và ngày thứ 2 của quá trình nuôi cấy.

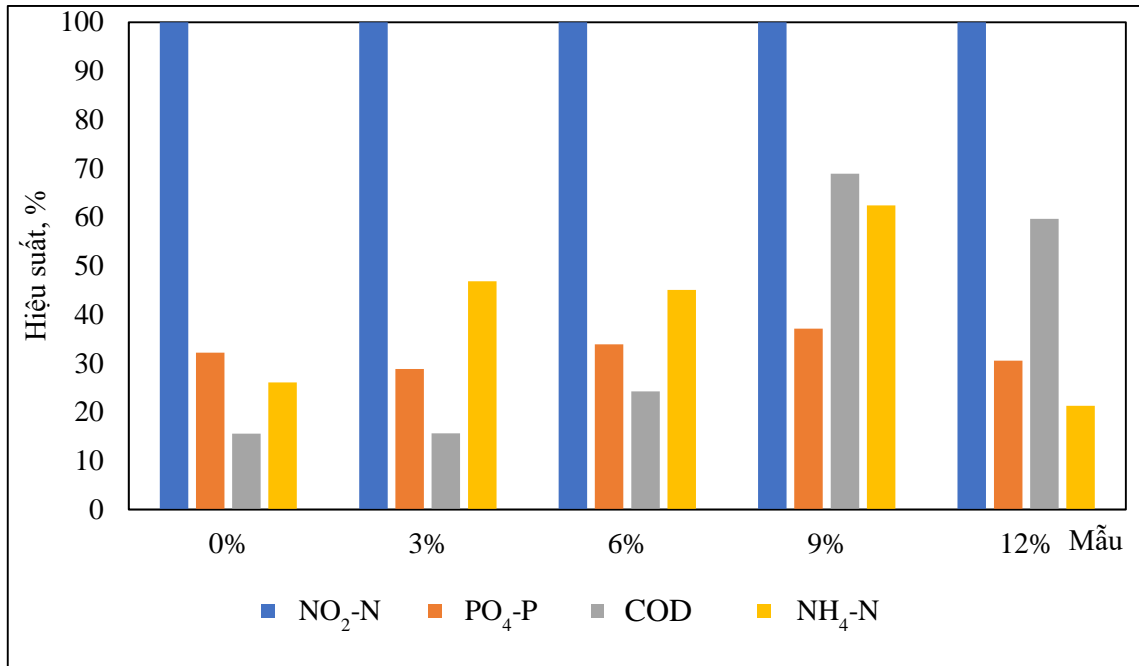
### 3.2.2. Thí nghiệm xác định nồng độ CO<sub>2</sub> tối ưu



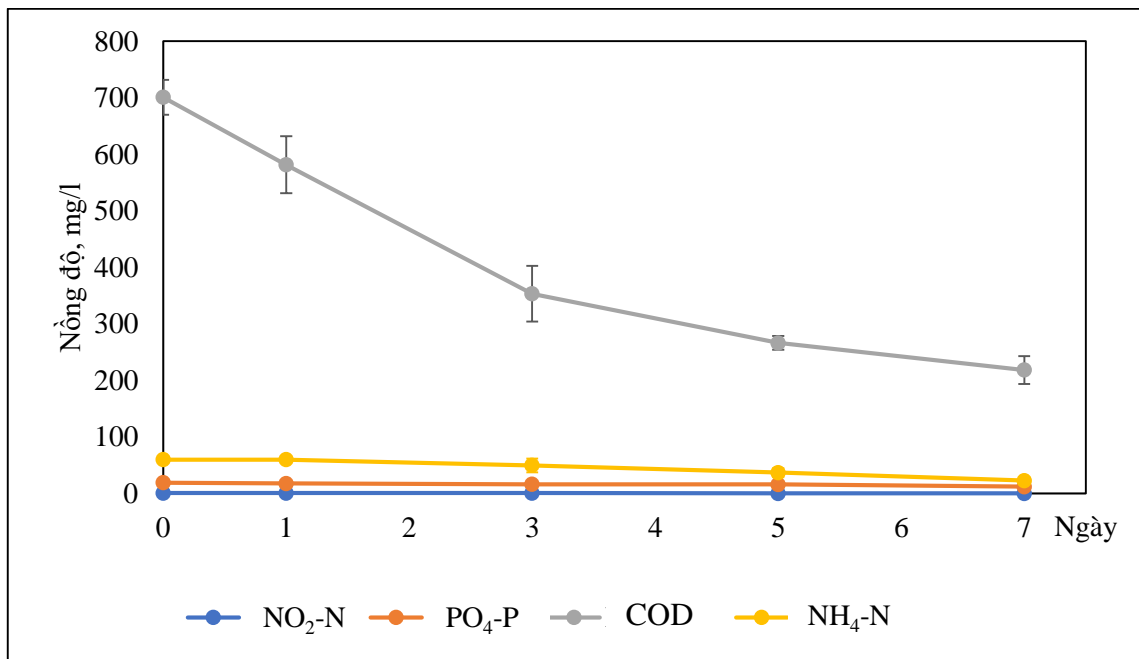
Hình 3.4: Đường cong tăng trưởng ( $10^5$  tế bào/ ml) của vi tảo nuôi trồng trong nước thải 20% bùn với các nồng độ CO<sub>2</sub> khác nhau ở mô hình photobioreactor 2 lít

Hình 3.4 biểu diễn tốc độ tăng trưởng tế bào của vi tảo *Scenedesmus sp.* được nuôi trồng trong nước thải nuôi tôm pha trộn 20% bùn (nồng độ bùn tối ưu) có sục thêm khí CO<sub>2</sub> với các nồng độ lần lượt là 0, 3, 6, 9 và 12% trong mô hình photobioreactor 2 lít. Theo hình 3.4, *Scenedesmus sp.* thích nghi với môi trường nuôi cấy trong ngày đầu tiên; những ngày kế tiếp tế bào tăng trưởng theo pha log và đạt số lượng tế bào cực đại ở ngày thứ 4 của quá trình nuôi cấy, riêng mẫu 9% CO<sub>2</sub> đạt cực đại ở ngày thứ 5; tiếp theo tế bào tăng trưởng ổn định, càng về sau giảm dần và tiến đến pha chết. Nhóm tảo này phát triển mạnh nhất ở mẫu 9% CO<sub>2</sub> với số lượng tế bào cực đại  $(5.75 \pm 0.18) \times 10^6$  tế bào/ ml; theo sau là mẫu 0, 3, 12 và 6% CO<sub>2</sub> với số lượng tế bào cực đại tương ứng là  $(4.8 \pm 0.08) \times 10^6$ ,  $(3.93 \pm 0.19) \times 10^6$ ,  $(3.90 \pm 0.35) \times 10^6$  và  $(2.85 \pm 0.07) \times 10^6$  tế bào/ ml.





Hình 3.5: Hiệu suất xử lý chất ô nhiễm của vi tảo nuôi trồng trong nước thải 20% bùn với các nồng độ CO<sub>2</sub> khác nhau ở mô hình photobioreactor 2 lít



Hình 3.6: Nồng độ chất ô nhiễm của vi tảo nuôi trồng trong nước thải 20% bùn với 9% CO<sub>2</sub> theo thời gian ở mô hình photobioreactor 2 lít

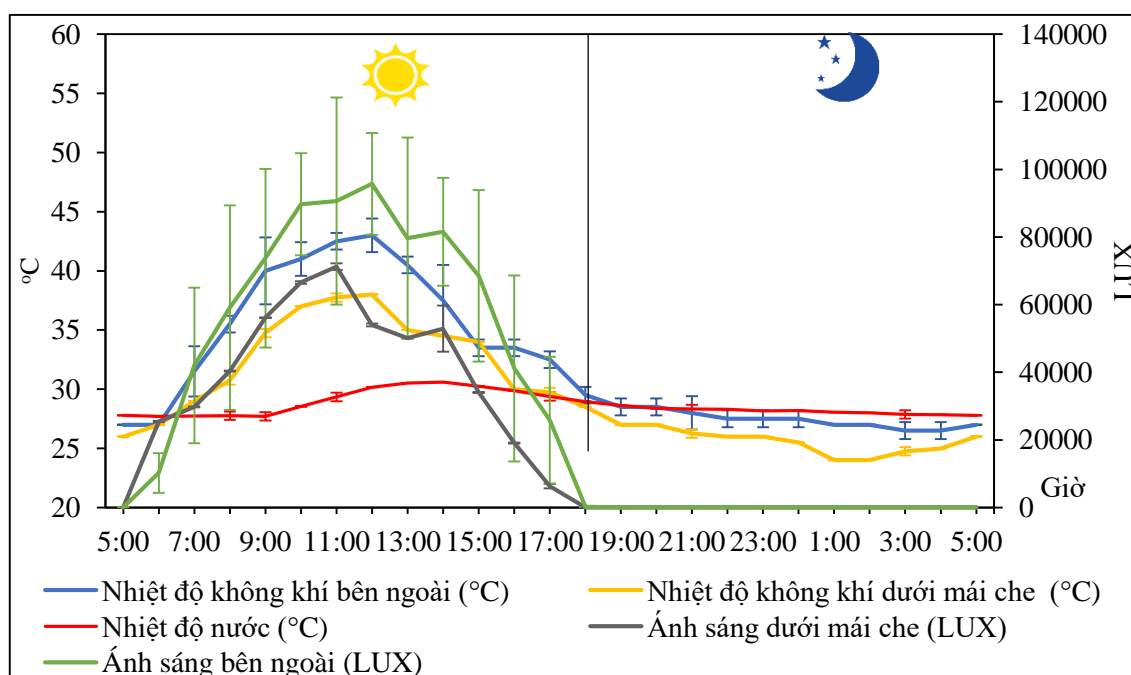
Bên cạnh đó, hàm lượng các chất ô nhiễm mà vi tảo đã sử dụng cho sự tăng trưởng tế bào trong nghiên cứu này cũng cần quan tâm. Do đó, chúng tôi đã tiến hành đo một số chỉ tiêu ô nhiễm và hiệu suất xử lý các chất ô nhiễm được trình bày trên biểu đồ hình 3.5.

Kết quả nghiên cứu cho thấy, hiệu suất xử lý chất ô nhiễm ở mẫu sục thêm 9% CO<sub>2</sub> là cao nhất. Cụ thể, hàm lượng NO<sub>2</sub>-N đã được xử lý hoàn toàn kể từ ngày thứ 4 của quá trình nuôi cấy; hiệu suất xử lý NH<sub>4</sub>-N đạt 62.38% cao hơn 17.36% so với mẫu sục 3% CO<sub>2</sub> (46.82%), hơn 15.55% so với mẫu 6% CO<sub>2</sub>, cao hơn gấp 2 lần so với mẫu không sục và sục 12% CO<sub>2</sub> với hiệu suất tương ứng là 26.05% và 21.24%. Hàm lượng PO<sub>4</sub>-P giảm 37.11% cao hơn không nhiều so với các mẫu còn lại, hiệu suất xử lý PO<sub>4</sub>-P của các mẫu còn lại là: 6% - 33.90%, 0% - 32.14%, 12% - 30.52% và 3% - 28.78%. Thêm vào đó, hiệu quả xử lý COD tương đối cao đạt 68.86%, cao hơn rất nhiều so với hiệu suất của các mẫu còn lại.

Như vậy, nuôi cấy tảo *Scenedesmus sp.* bằng nước thải nuôi tôm với 20% bùn có sục thêm 9% CO<sub>2</sub> có hiệu quả cao nhất. Chi tiết hiệu quả xử lý các chất ô nhiễm ở mẫu này được trình bày trên biểu đồ hình 6. Nhìn vào đồ thị ta thấy, Hàm lượng các chất ô nhiễm có xu hướng giảm dần theo thời gian và giảm mạnh trong 3 ngày đầu. Cụ thể, sau 7 ngày nuôi cấy, hàm lượng COD giảm 482.61 mg/l, hàm lượng NH<sub>4</sub>-N giảm 37.27 mg/l, hàm lượng PO<sub>4</sub>-P giảm 7 mg/l và hàm lượng NO<sub>2</sub>-N đã được xử lý hết trong 3 ngày đầu.

### 3.2. ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG SINH TRƯỞNG VÀ HIỆU QUẢ XỬ LÝ NƯỚC THẢI BẰNG VI TẢO *SCENEDESMUS SP.* TRONG HỒ NUÔI TẢO QUY MÔ PILOT THỰC TẾ

#### 3.2.1. Kiểm soát điều kiện môi trường bên ngoài

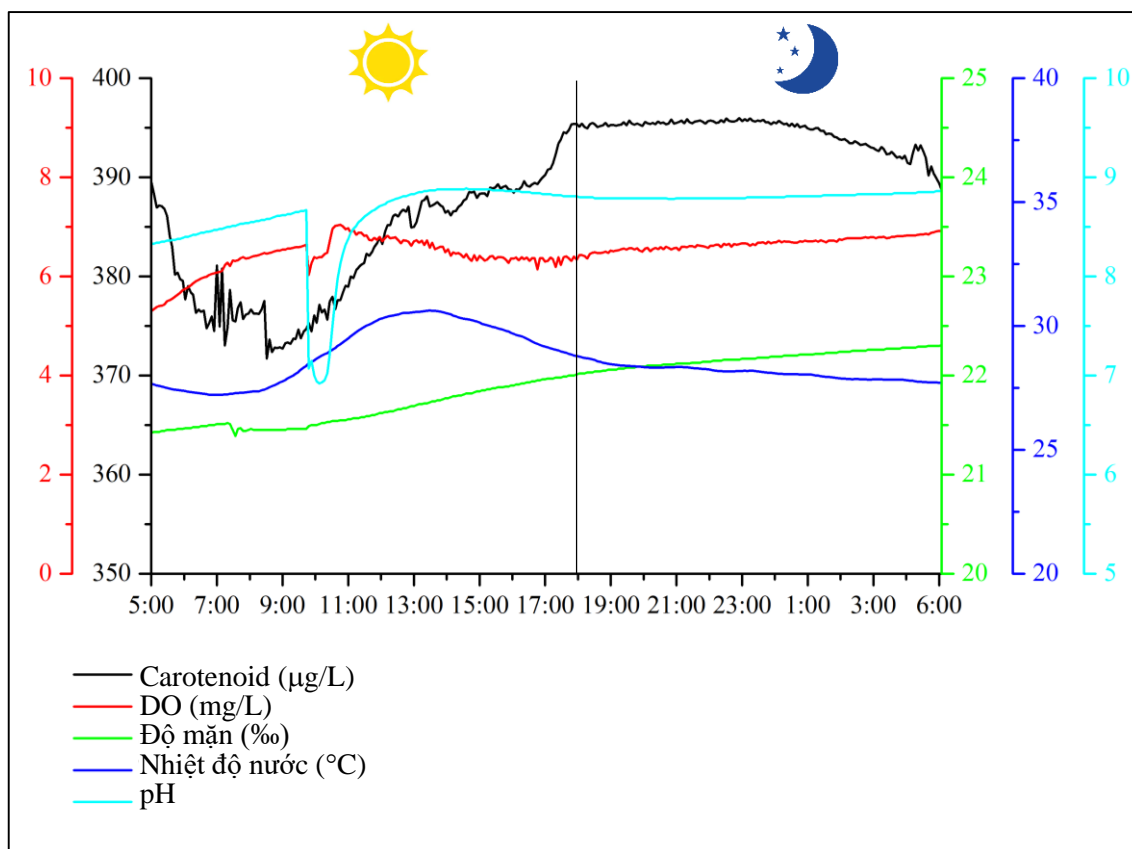


Hình 3.7: Biến đổi nhiệt độ và ánh sáng trong ngày tại hồ nuôi

Điều kiện ánh sáng nhiệt độ khu vực nuôi ảnh hưởng rất lớn đến sự thích nghi và phát triển của vi tảo, nên cần có sự theo dõi và kiểm soát phù hợp. Khu vực nghiên cứu thuộc khu vực ven biển tỉnh Ninh Thuận nên có khí hậu đặc trưng khô nóng, gió nhiều và lượng nước bốc hơi mạnh. Nhiệt độ trung bình năm tại Ninh Thuận cao nhất nước vào khoảng từ 26-27°C. Nhiệt độ trung bình tháng cao nhất có khi lên tới 40°C. Bên cạnh đó biên độ nhiệt ngày đêm tại đây có sự giao động lớn [110]. Hình 3.7 thể hiện sự biến thiên nhiệt độ và cường độ ánh sáng trong ngày được đo tại thời điểm vận hành hồ cao tải. Cụ thể cường độ ánh sáng tăng vào thời điểm từ 6 giờ sáng đến 12 trưa, lên đến 96000 LUX vào lúc 12 giờ. Cùng thời điểm đó, nhiệt độ cũng tăng khá nhanh, tăng từ 27°C lên đến 41°C, và giảm nhanh từ 12 giờ đến 18 giờ (giảm từ 41°C xuống còn 29°C), vào ban đêm nhiệt độ giảm xuống chỉ còn 26.5°C vào lúc 2 giờ đến 4 giờ sáng. Chênh lệch nhiệt độ giữa ngày và đêm lên đến 14.5°C, biên độ giao động nhiệt có khi lên đến 3°C/giờ. Vào những thời điểm này, nhiệt độ môi trường có nguy cơ vượt quá vùng chịu đựng của tảo (từ 14-30°C), vì vậy để duy trì ánh sáng và nhiệt độ phù hợp cho tảo cần giảm nhiệt hằng ngày bằng cách trang bị hệ thống mái che kết hợp phun sương hoạt động từ 9 giờ đến 16 giờ.

Kết quả cho thấy cường độ ánh sáng và nhiệt độ có sự dao động ít hơn. Cụ thể cường độ ánh sáng bên dưới mái che vào thời điểm 12 giờ trưa chỉ còn 54000 LUX, nhiệt độ dưới mái che lúc này chỉ còn khoảng 38°C. Kết hợp với hệ thống phun sương nên độ ẩm trong không khí tăng làm lượng nước bốc hơi cũng giảm. Do đó nhiệt độ dưới nước khá ổn định chỉ dao động từ 27.79 – 30.6°C, biên độ nhiệt không vượt quá 1°C/giờ.

### 3.2.2. Theo dõi các thông số vật lý trong quá trình vận hành



Hình 3.8: Biểu đồ theo dõi các thông số vật lý trong ngày tại hồ

Hình 3.8 biểu diễn sự biến thiên của các thông số vật lý thu được trong ngày bằng thiết bị đo trực tiếp, bao gồm carotenoid ( $\mu\text{g/L}$ ), oxy hòa tan DO ( $\text{mg/L}$ ), độ mặn ( $\text{‰}$ ), nhiệt độ nước ( $^{\circ}\text{C}$ ) và pH theo giờ. Kết quả cho thấy các thông số có sự tương quan với nhau và ảnh hưởng trực tiếp bởi điều kiện khí hậu bên ngoài.

Carotenoid là một dạng sắc tố hữu cơ có tự nhiên trong thực vật và các loài sinh vật quang hợp khác như là tảo, một vài loài nấm và một vài loài vi khuẩn. Do đó hàm lượng carotenoid biểu thị rõ nhất khả năng quang hợp của vi tảo. Dựa theo kết quả đã thực hiện trong điều kiện không bổ sung khí  $\text{CO}_2$  cho thấy vào thời điểm từ 11 giờ môi trường bắt đầu thiếu hụt cacbon vô cơ cung cấp cho vi tảo quang hợp, lúc này hàm lượng Carotenoid bão hòa và ổn định. Do đó để tăng năng suất vi tảo cần bổ sung thêm  $\text{CO}_2$  từ 10 giờ theo đúng nồng độ tối ưu 9 đã xác định ở Thí nghiệm 2. Kết quả cho thấy Carotenoid tăng trưởng cực đại trong giai đoạn từ 8 đến 14 giờ. Tuy nhiên từ 14 giờ đến 16 giờ hàm lượng Carotenoid trở nên ổn định. Có thể giải thích lượng  $\text{CO}_2$  bổ sung đã được vi tảo tiêu thụ hoàn toàn, lúc này cường độ chiếu sáng vẫn còn cao do đó quá trình quang hợp bị chậm lại. Đến thời điểm từ 16 giờ đến 18 giờ, giai đoạn chuyển giao giữa

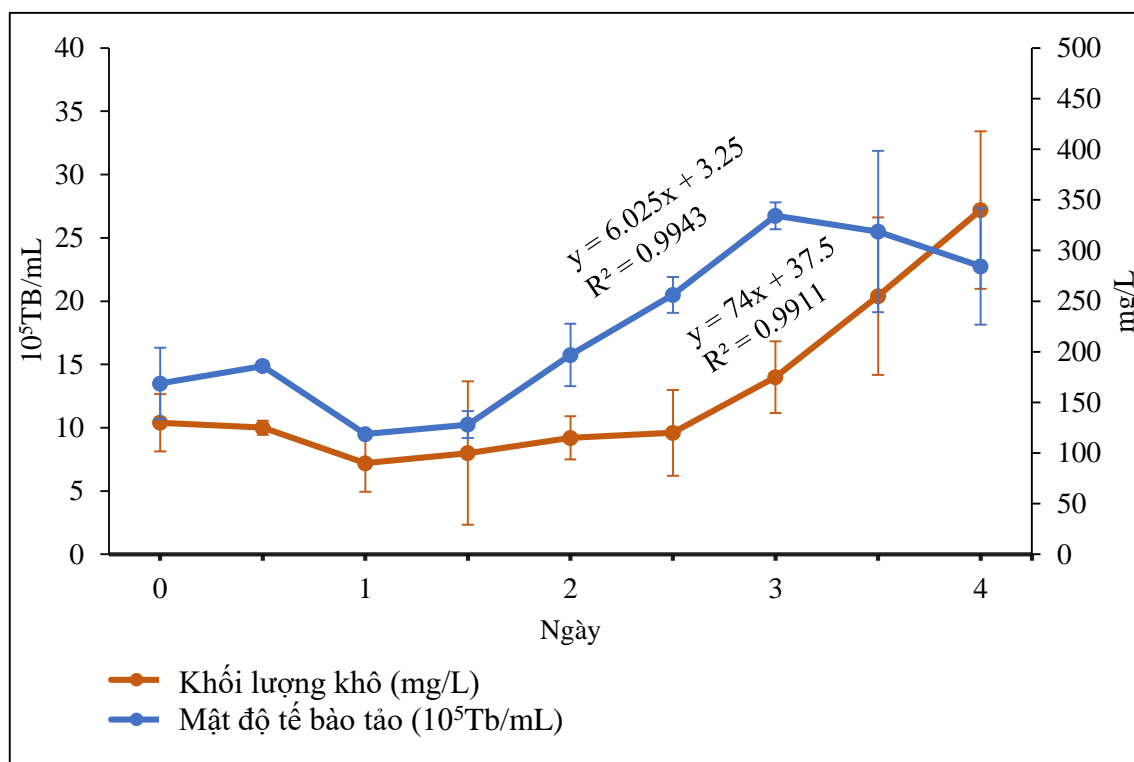
pha sáng và pha tối, Carotenoid có sự biến động tăng nhẹ do lúc này cường độ ánh sáng mặt trời nhẹ hơn, phù hợp để vi tảo tiếp tục quang hợp, sử dụng tiếp  $\text{HCO}_3^-$  có sẵn trong nước. Qua đến 18 giờ bước vào pha tối, quá trình quang hợp được thay thế bởi hô hấp, hàm lượng Carotenoid trở nên ổn định. Ngoài ra trong quá trình chuyển từ pha tối sang pha sáng, hàm lượng Carotenoid giảm rõ rệt do sự thay đổi từ hô hấp sang quang hợp, quá trình này thể hiện rõ nhất từ 6 đến 7 giờ sáng.

Bên cạnh Carotenoid, hàm lượng  $\text{CO}_2$  bổ sung thể hiện rõ nhất qua thông số pH. Đối với môi trường không cung cấp  $\text{CO}_2$ , pH của nước luôn ổn định ở trong khoảng 8.5-9.0, tăng dần khi diễn ra quá trình quang hợp vào ban ngày và giảm đi khi hô hấp vào ban đêm. Vào thời điểm bổ sung  $\text{CO}_2$ , pH giảm do nồng độ  $\text{HCO}_3^-$  trong nước tăng. Tuy nhiên lưu lượng  $\text{CO}_2$  được kiểm soát sao cho pH luôn nằm trong khoảng 7 – 9 là khoảng tối ưu cho vi tảo *Scenedesmus sp.* sinh trưởng.

Vi tảo nói riêng và các loài động vật thủy sinh nói riêng đều cần có oxy. Do đó thông số oxy hòa tan trong nước là nhân tố hạn chế mang tính quyết định đến sự sinh tồn trong quá trình sống của chúng. Hàm lượng khí oxy trong không khí cao và ổn định, chiếm khoảng 21%. Trường hợp bình thường, lượng oxy hòa tan bão hòa có trong nước ngọt chỉ tương đương với 1/20 hàm lượng khí oxy có trong không khí, trong nước mặn chiếm tỉ lệ càng ít. Hàm lượng oxy hòa tan buổi chiều cao hơn sáng sớm, ban ngày cao hơn ban đêm. Vào ban ngày, oxy sẽ tăng lên do quá trình quang hợp của tảo, cho đến lúc trước khi mặt trời mọc sẽ đạt đến giá trị cao nhất (đạt 7.04 mg/L vào thời điểm 11 giờ). Ban đêm do tảo không tiến hành được quá trình quang hợp mà những hoạt động tiêu hao oxy lại vẫn diễn ra bình thường, do vậy mà oxy hòa tan trong nước sẽ giảm đi và giữ mức ổn định (từ 5.3 – 6.55 mg/L), thấp nhất vào thời điểm mặt trời mọc (5.3 mg/L vào lúc 5 giờ sáng). Nhiệt độ của nước cũng có ảnh hưởng đáng kể đến hàm lượng oxy trong nước. Vào mùa hè khi nhiệt độ của nước tăng, quá trình oxy hóa sinh hóa các chất hữu cơ xảy ra với cường độ mạnh hơn. Trong khi đó độ hòa tan của oxy vào nước lại giảm xuống. Vì vậy về mùa hè, độ thiếu hụt oxy tăng nhanh hơn so với mùa đông. Về mùa đông nhiệt độ nước nguồn thấp nên độ hòa tan tăng, tuy nhiên với nhiệt độ thấp các vi khuẩn hiếu khí tham gia vào quá trình oxy hóa sinh hóa các chất hữu cơ sẽ hoạt động yếu.

Thông số độ mặn của nước có sự tăng nhẹ, giao động từ 21.5‰ đến 22.25‰ do lượng nước bốc hơi trong ngày. Vì thế để duy trì độ mặn trong hồ cần châm thêm nước ngọt hằng ngày, đảm bảo luôn trong khoảng 20-23‰.

### 3.2.3. Khả năng sinh trưởng của vi tảo ngoài hồ

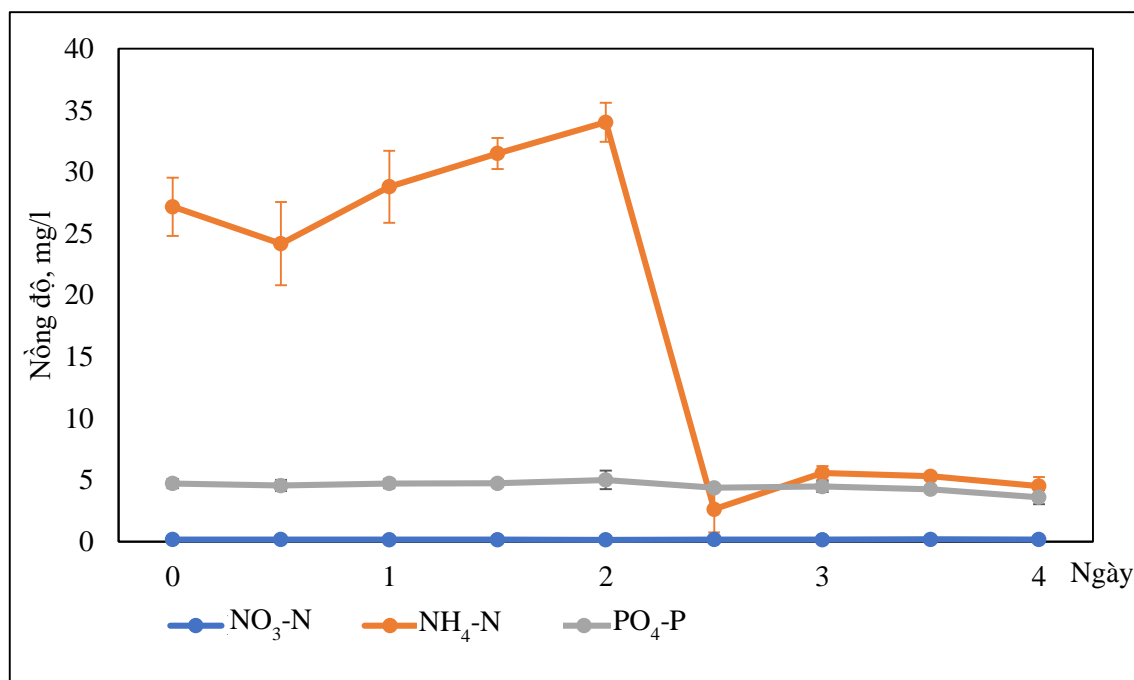


Hình 3.9: Biểu đồ biến động mật độ tảo ( $10^5$  Tb/mL) và khối lượng khô ở hồ theo thời gian nuôi trồng

Hình 3.9 biểu diễn tốc độ tăng trưởng của vi tảo *Scenedesmus sp.* thông qua biến động mật độ tảo (tế bào/mL) và khối lượng khô (mg/L). Kết quả cho thấy vi tảo có khả năng thích nghi và phát triển tốt ở điều kiện khí hậu bên ngoài. Mật độ tế bào tăng từ  $(1.35 \pm 2) \times 10^6$  tế bào/mL tại thời điểm thả tảo lên  $(2.68 \pm 1) \times 10^6$  tế bào/mL tại thời điểm cuối pha tăng trưởng. Khối lượng khô thu được tăng từ  $130 \pm 28$  mg/L tại thời điểm thả tảo lên đến  $340 \pm 77$  mg/L tại thời điểm thu hoạch. Trong ngày đầu tiên, mật độ vi tảo có xu hướng giảm do đây là giai đoạn thích nghi, một số tế bào yếu hơn không chịu được thay đổi đột ngột của môi trường sẽ chết đi và phân hủy, do đó khối lượng khô cũng giảm theo. Vì vậy để thu hoạch sinh khối tảo cho chất lượng cao nhất cần được thực hiện ở các pha tăng trưởng hoặc ổn định, tránh vào pha chết do tế bào vi tảo lúc này có khả năng phân hủy cao, hiệu suất thu hoạch thấp. Qua đến ngày thứ hai, khi đã thích nghi với môi trường, vi tảo *Scenedesmus sp.* bắt đầu tiến đến pha tăng trưởng, số lượng tế bào liên tục phân chia theo cấp số nhân, do đó khối lượng khô thu hoạch được cũng tăng. Hệ số tăng trưởng cực đại  $\mu_{max}$  đạt  $0.53 \text{ ngày}^{-1}$ , cao hơn so với các nghiên cứu khác. Cụ thể là  $0.44 \text{ ngày}^{-1}$  trong nghiên cứu của H.Ma trên cùng giống tảo *Scenedesmus sp.* trong môi trường nước thải nuôi trồng thủy sản [106] và  $0.32-0.42$

ngày<sup>-1</sup> trong nghiên cứu của M.Toyub trên cùng giống tảo và sử dụng nước thải nhà máy sản xuất bánh kẹo [111]. Hết ngày thứ 3 vào cuối pha Log, số lượng tế bào ổn định và giảm nhẹ, lúc này tuy tế bào không còn phân chia nhưng kích thước vẫn tiếp tục tăng nên khối lượng khô thu được không có dấu hiệu giảm. Đây là thời điểm thích hợp nhất để thu hoạch sinh khối vi tảo.

### 3.2.4. Khả năng xử lý ô nhiễm của vi tảo ngoài hồ



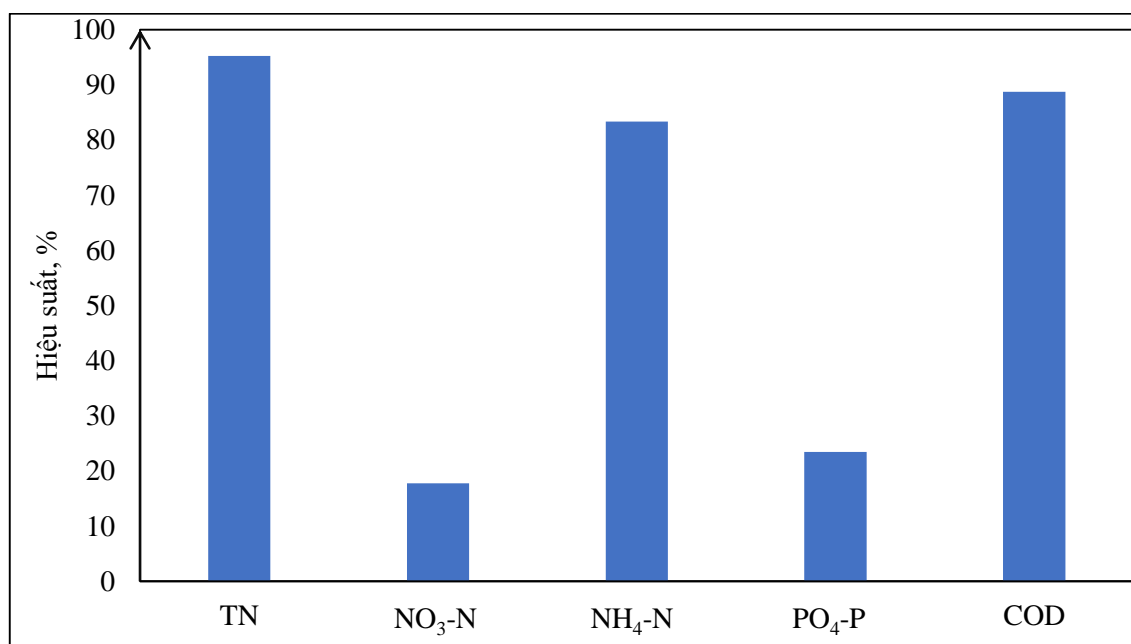
Hình 3.10: Biến thiên hàm lượng chất ô nhiễm theo thời gian nuôi cấy ngoài hồ

Kết hợp hình và kết quả trình bày ở hình 3.10 ta thấy hàm lượng dinh dưỡng liên quan đến tốc độ tăng trưởng của tế bào tảo, thể hiện rõ nhất qua thông số NH<sub>4</sub>-N. Cụ thể NH<sub>4</sub>-N tăng nhẹ trong 2 ngày đầu tương ứng với giai đoạn tảo thích nghi với môi trường, tiếp đến giảm nhanh trong ngày thứ ba ứng với pha tăng trưởng của tảo, nồng độ NH<sub>4</sub>-N giảm từ 34.02±2.37 mg/L còn 2.63±1.87 mg/L. Đến ngày thứ tư có sự biến động nhẹ lên 4.51±0.72 mg/L do đây là giai đoạn pha chết, tế bào tảo giảm, một số phân hủy ra môi trường làm hàm lượng Nitơ tăng.

Hàm lượng NO<sub>3</sub>-N trong nghiên cứu này có giá trị thấp, chỉ đạt 0.17±0.03 mg/L, dưới ngưỡng sử dụng được của vi tảo nên không có sự biến động rõ rệt. Hàm lượng Nitơ tiêu thụ chủ yếu dưới dạng NH<sub>4</sub>-N.

Hàm lượng PO<sub>4</sub>-P có khuynh hướng giảm dần từ ngày đầu đến ngày thứ 4 nhưng với hàm lượng thấp, cụ thể là 1.11 mg/L trong 4 ngày nuôi cấy (giảm từ 4.72±0.37 mg/L xuống còn 3.61±0.51 mg/L). Do đó có thể kết luận cho rằng photpho không là yếu tố

giới hạn cho quá trình phát triển vi tảo *Scenedesmus sp.*, điều này cũng đã được chứng minh ở nghiên cứu của LianDong Wang và MF Eida [112, 113].



Hình 3.11: Hiệu suất xử lý các chất ô nhiễm trong hồ

**Bảng 3.1: Hiệu suất xử lý chất ô nhiễm trong hồ nuôi tảo**

Chỉ tiêu	TN	NO <sub>3</sub> -N	NH <sub>4</sub> -N	PO <sub>4</sub> -P	COD
Nồng độ đầu vào (mg/L)	142.97	0.20	27.17	4.72	300.48
Nồng độ đầu ra (mg/L)	6.78	0.17	4.52	3.61	33.81
Hiệu suất (%)	95.26	17.76	83.38	23.44	88.75

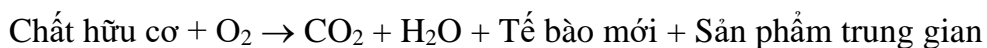
Từ hình 3.11 và bảng 3.1 cho thấy tảo *Scenedesmus sp.* nuôi cấy bằng hồ nuôi tảo mật độ cao HRAPs cung cấp khí CO<sub>2</sub> có khả năng xử lý nước thải cao. Trong vòng 4 ngày nuôi cấy hàm lượng chất ô nhiễm giảm đi đáng kể. Cụ thể hiệu suất xử lý của các chỉ tiêu TN, NO<sub>3</sub>-N, NH<sub>4</sub>-N, PO<sub>4</sub>-P và COD lần lượt là 95.26%, 17.76%, 83.38%, 23.44% và 88.75%. Chỉ tiêu NO<sub>3</sub>-N có sự biến động nhỏ do hàm lượng đo được trong nước thải khá thấp (0.198 mg/L), nằm trong vùng ngưỡng dưới giới hạn sử dụng của vi tảo. Lượng Nitơ vi tảo sử dụng chủ yếu ở dạng NH<sub>4</sub>-N được cung cấp từ bùn thải đáy ao theo nồng độ tối ưu đã xác định ở Thí nghiệm 1. Hiệu suất xử lý NH<sub>4</sub>-N là 83.38% đạt giá trị tương đương so với các nghiên cứu khác. Cụ thể là nghiên cứu của F.A.Ansari



và H.Ma trên cùng nước thải nuôi trồng thủy sản trong 14 ngày và 16 ngày với hiệu suất xử lý NH<sub>4</sub>-N có giá trị lần lượt là 88.71% và 95.5% [107] [106]. Hiệu suất xử lý TN của nghiên cứu cũng khá cao lên đến 95.26%, cao hơn nghiên cứu của MF.Eida trên cùng giống tảo *Scenedesmus sp.* trong nước thải sinh hoạt ở 14 ngày nuôi cấy liên tục là 78.5% [113]. Trong nghiên cứu của S.Zhang ở cùng điều kiện trong 24 ngày nuôi cấy liên tục, kết quả cho thấy hiệu suất xử lý TN là 98.04 % [114].

Giống tảo *Scenedesmus sp.* có khả năng tự điều chỉnh tỉ lệ N:P theo chất lượng môi trường nuôi cấy. Cụ thể đối với môi trường chứa nhiều Photpho, vi tảo sử dụng nhiều hơn và ngược lại, đối với môi trường ít Photpho, hàm lượng sử dụng thấp hơn rất nhiều. Nghiên cứu cho thấy qua 4 ngày nuôi cấy, với tỉ lệ N:P là 20:1 thì vi tảo vẫn có khả năng phát triển tốt, kết quả này có giá trị gần bằng so với Arbib về tỉ lệ N:P tối ưu cho giống *Scenedesmus sp.* trong nước thải là (22 – 24):1. Tuy nhiên theo Shashirekha, tỉ lệ N:P tối ưu trong quá trình dị dưỡng là 14:8 [8]. Có thể nói Photpho không phải là yếu tố giới hạn sự phát triển của giống vi tảo này. Trong nghiên cứu này nồng độ PO<sub>4</sub>-P đầu vào khá thấp (4.715 mg/L) do đó hiệu suất xử lý Photpho chỉ đạt 23.44%, thấp hơn rất nhiều so với các nghiên cứu khác. Tuy nhiên nồng độ PO<sub>4</sub>-P đầu ra đạt chuẩn xả thải cho phép.

Khác với chỉ số dinh dưỡng Nitơ và Photpho, sự tích lũy Cacbon hữu cơ ở nghiên cứu này có giá trị khác biệt, điều này được biểu hiện ở thông số COD, hiệu suất xử lý lên đến 88.75%, cao hơn 2 lần so với nghiên cứu của F.A.Ansari là 42% [107]. Điều này được giải thích thông qua quá trình oxy hóa các chất hữu cơ trong nước thải của vi tảo trong hồ nuôi tảo mật độ cao quy mô Pilot được tăng cường. Hồ được trang bị máy thổi khí đặt tại hố chuyển dòng có nhiệm vụ vừa tạo dòng chảy cho nước vừa cung cấp đầy đủ lượng oxy hòa tan. Vi tảo phát triển bằng cách sử dụng chất hữu cơ và oxy hòa tan có trong nước để tổng hợp ra tế bào mới theo phương trình phản ứng sau:



### 3.3. ĐÁNH GIÁ CHẤT LƯỢNG SINH KHỐI VI TẢO

Chất lượng sinh khối vi tảo được đánh giá thông qua các chỉ tiêu tích lũy bao gồm khối lượng khô (mg/L), lipid (%), protein (%).

**Bảng 3.2: Chỉ tiêu tích lũy sinh khối vi tảo trong hồ nuôi tảo**

Chỉ tiêu	Đơn vị	Giá trị
Khối lượng khô	mg/L	340±77
Chlorophyll-a	mg/L	6.56±0.06
Lipid	%	35.06
Protein	%	21.47

Kết quả cho thấy sinh khối vi tảo *Scenedesmus sp.* có giá trị cao. Cụ thể khối lượng sinh khối khô thu được trong nghiên cứu lên đến 340±77 mg/L, cao hơn so với nghiên cứu của S.Zhang trên cùng giống tảo sử dụng nước thải sinh hoạt là 244 mg/L [114]. Giá trị đạt được tương đương so với nghiên cứu của H.Ma trên cùng giống tảo *Scenedesmus sp.* trong môi trường nước thải thủy sản là 380 mg/L [106]. Bên cạnh đó giá trị cực đại Chlorophyll-a đạt được là 6.56±0.06 mg/L chứng tỏ hiệu suất quang hợp cao, cao hơn các nghiên cứu còn lại. Cụ thể trong nghiên cứu của M.Toyub ở cùng giống tảo trong môi trường nước thải sản xuất đường, Chlorophyll-a đạt được là 5.52 mg/L, và cao hơn 4 lần so nghiên cứu của MR.Eida trong môi trường nước thải sinh hoạt là 1.7 mg/L [111, 113]. Ngoài ra giá trị của sinh khối vi tảo thể hiện thông qua hàm lượng lipid và protein. Kết quả đạt được cho thấy vi tảo *Scenedesmus sp.* được nuôi cấy bằng môi trường pha trộn bùn và nước thải nuôi tôm trong hồ nuôi tảo mật độ cao có bổ sung khí CO<sub>2</sub> có khả năng tích lũy lipid cao, lên đến 35.06%, cao hơn so với nuôi ở các môi trường khác. Trong môi trường sử dụng nước thải sinh hoạt, nghiên cứu của S.Zhang đã công bố hàm lượng lipid tích lũy được là 26.06% và của MF.Eida là 22.7% [113, 114]. Trong môi trường nước thải nuôi trồng thủy sản, hàm lượng lipid tích lũy được cao hơn. Cụ thể trong nghiên cứu của FA.Ansari và H.Ma trên cùng giống tảo *Scenedesmus sp.* đạt được giá trị lipid lần lượt là 30.85% và 31.6% [106, 107]. Điều này đã chứng minh sinh khối vi tảo *Scenedesmus sp.* có tiềm năng sản xuất nhiên liệu sinh học do có hàm lượng lipid tích lũy cao (cao hơn 30%). Ngoài ra hàm lượng protein trong vi tảo chiếm 21.47%, cao hơn so với nghiên cứu của FA.Ansari là 19.52% [107]. Với hàm lượng protein này, vi tảo *Scenedesmus sp.* là nguồn thức ăn đầy dinh dưỡng cho các loài sinh vật thủy sinh, là mắt xích quan trọng trong chuỗi thức ăn, bên cạnh đó hứa hẹn sẽ nguồn nguyên liệu tiềm năng cho các ngành y dược, mỹ phẩm, thực phẩm, ...

## Chương 4: KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

### 4.1. KẾT LUẬN

- Chất thải nuôi tôm tại khu vực Xã An Hải, Huyện Ninh Phước, tỉnh Ninh Thuận có hàm lượng chất ô nhiễm cao, tùy thuộc vào độ đặc của bùn thải hòa tan trong nước thải. Do đó cần có biện pháp xử lý phù hợp trước khi thải ra môi trường.

- Thí nghiệm xác định nồng độ bùn tối ưu thực hiện ở các nồng độ lần lượt là 0%, 10%, 15%, 20%, 25% và 30% đã tìm ra được điểm tối ưu tại giá trị 20%. Chứng minh được vi tảo *Scenedesmus sp.* có khả năng sinh trưởng và phát triển tốt trong môi trường bùn pha trộn nước thải.

- Thí nghiệm xác định nồng độ CO<sub>2</sub> tối ưu thực hiện ở các nồng độ lần lượt là 0%, 3%, 6%, 9%, và 12% đã tìm ra được điểm tối ưu tại giá trị 9%, thích hợp để bổ sung làm tăng năng suất vi tảo.

- Thông qua mô hình nuôi tảo thực tế quy mô Pilot môi trường pha trộn 20% bùn và bổ sung 9% khí CO<sub>2</sub> đã chứng minh được vi tảo *Scenedesmus sp.* sinh trưởng và phát triển tốt khi ở điều kiện khí hậu bên ngoài, tốc độ tăng trưởng vi tảo lên đến 0.53 ngày<sup>-1</sup>. Mô hình có khả năng xử lý ô nhiễm, hiệu suất xử lý TN, NO<sub>3</sub>-N, NH<sub>4</sub>-N, PO<sub>4</sub>-P và COD lần lượt là 95.26%, 17.76%, 83.38%, 23.44% và 88.75%.

- Sinh khối tảo thu được có giá trị cao với khối lượng khô đạt 340mg/L, Chlorophyll-a đạt 6.56 mg/L, hàm lượng lipid và protein lần lượt là 35.06% và 21.47%.

### 4.2. KIẾN NGHỊ

Sau quá trình nghiên cứu phương pháp nuôi cấy vi tảo ứng dụng xử lý chất thải nuôi tôm, chúng tôi đề xuất một số ý kiến sau:

- Vi tảo *Scenedesmus sp.* sau 3 ngày nuôi trong điều kiện thực tế đạt cực đại, sang ngày thứ 4 có hiện tượng suy giảm mật độ. Do đó sau 3 ngày nuôi phải tiến hành thu hoạch tảo để có chất lượng tốt nhất.

- Các dụng cụ nuôi cấy tảo phải được khử trùng trước khi sử dụng để tránh bị tạp nhiễm.

- Trong quá trình vận hành ngoài điều kiện thực tế có sự xuất hiện của giống *Tetrahymena thermophila* sử dụng tảo làm thức ăn, cần có nhiều nghiên cứu thêm về loài này cũng như ảnh hưởng của chúng đến quá trình nuôi cấy vi tảo.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Hào, K. *Xử lý nước thải nuôi tôm*. 01/03/2017; Available from: [www.xulymoitruong.com](http://www.xulymoitruong.com).
2. VASEP. *Tổng quan ngành thủy sản Việt Nam*. 2018; Available from: [www.vasep.com.vn](http://www.vasep.com.vn).
3. *Nuôi tôm công nghiệp và những ảnh hưởng của nó đến môi trường*. 16/1/2017; Available from: [www.ecoclean.com.vn](http://www.ecoclean.com.vn).
4. Páez-Osuna, F., S.R. Guerrero-Galván, and A.C.J.M.P.B. Ruiz-Fernández, *The environmental impact of shrimp aquaculture and the coastal pollution in Mexico*. 1998. **36**(1): p. 65-75.
5. Chen, S., Z. Ning, and R.F. Malone. *Aquaculture sludge treatment using an anaerobic and facultative lagoon system*. in *International Conference on Recirculation Technology, Roanoke, Virginia, Virginia-Tech*. 1996.
6. Huỳnh, N., *Phương Pháp Xử Lý Nước Thải Ao Nuôi Tôm Thâm Canh Hiệu Quả*.
7. Meyen, F.J.F., *Beobachtungen über einige niedere algenformen*. 1829.
8. Shashirekha, V., et al., *Effective C–N–P ratio for growth and nutrient removal efficiency of Scenedesmus obliquus in sugar mill effluent*. 2016. **1**(5): p. 283-295.
9. Difusa, A., et al., *Effect of light intensity and pH condition on the growth, biomass and lipid content of microalgae Scenedesmus species*. 2015. **6**(1-2): p. 37-44.
10. Pickett-Heaps, J.D. and L.A.J.J.o.P. Staehelin, *The ultrastructure of Scenedesmus (chlorophyceae). ii. cell division and colony formation 1*. 1975. **11**(2): p. 186-202.
11. Lavens, P. and P. Sorgeloos, *Manual on the production and use of live food for aquaculture*. 1996: Food and Agriculture Organization (FAO).
12. Tùng, A. *Thế giới vi tảo*. Tạp chí STINFO Số 5/2017; Available from: [www.cesti.vn](http://www.cesti.vn).
13. *Sản xuất nhiên liệu sinh học từ vi tảo*. 09/03/2017; Available from: [www.dantri.com.vn](http://www.dantri.com.vn).
14. *Sản xuất nhiên liệu sinh học: Điều kỳ diệu từ tảo*. 15/02/2013; Available from: [www.baomoi.com](http://www.baomoi.com).

15. Nuôi vi tảo làm nhiên liệu. 09/11/2012; Available from: [www.baotintuc.vn](http://www.baotintuc.vn).
16. Sản xuất thức ăn nuôi trồng thủy sản bền vững từ sản phẩm tương tự vi tảo biển. 31/08/2018; Available from: [www.hanam.gov.vn](http://www.hanam.gov.vn).
17. Charoonnart, P., S. Purton, and V.J.B. Saksmerprome, *Applications of microalgal biotechnology for disease control in aquaculture*. 2018. **7**(2): p. 24.
18. Phuong, K.N.T.M. Lợi ích lớn của tảo. 20/02/2013; Available from: [www.tepbac.com](http://www.tepbac.com).
19. Nguyen, P., *Nghiên cứu ứng dụng vi sinh vật và vi tảo lam Spirulina trong xử lý nước thải*. . 2013.
20. Oswald, W.J. and C.G. Golueke, *Biological transformation of solar energy*, in *Advances in applied microbiology*. 1960, Elsevier. p. 223-262.
21. Tang, E.P., et al., *Polar cyanobacteria versus green algae for tertiary wastewater treatment in cool climates*. 1997. **9**(4): p. 371-381.
22. Lau, P., N. Tam, and Y.J.E.t. Wong, *Wastewater nutrients removal by Chlorella vulgaris: optimization through acclimation*. 1996. **17**(2): p. 183-189.
23. Colak, O. and Z.J.D.B.S. Kaya, *A study on the possibilities of biological wastewater treatment using algae*. 1988. **12**: p. 18-29.
24. Talbot, P., R. Lencki, and J.J.J.o.a.p. De la Noüe, *Carbon dioxide absorption characterization of a bioreactor for biomass production of Phormidium bohneri: comparative study of three types of diffuser*. 1990. **2**(4): p. 341-350.
25. Wang, L., et al., *Cultivation of green algae Chlorella sp. in different wastewaters from municipal wastewater treatment plant*. 2010. **162**(4): p. 1174-1186.
26. Hongyang, S., et al., *Cultivation of Chlorella pyrenoidosa in soybean processing wastewater*. 2011. **102**(21): p. 9884-9890.
27. González, L.E., R.O. Cañizares, and S.J.B.t. Baena, *Efficiency of ammonia and phosphorus removal from a Colombian agroindustrial wastewater by the microalgae Chlorella vulgaris and Scenedesmus dimorphus*. 1997. **60**(3): p. 259-262.
28. Ruiz-Marin, A., L.G. Mendoza-Espinosa, and T.J.B.t. Stephenson, *Growth and nutrient removal in free and immobilized green algae in batch and semi-continuous cultures treating real wastewater*. 2010. **101**(1): p. 58-64.

29. Zhang, S., et al., *Cultivation of Scenedesmus dimorphus with domestic secondary effluent and energy evaluation for biodiesel production*. 2015. **36**(7): p. 929-936.
30. Rai, L., J. Gaur, and H.J.B.R. Kumar, *Phycology and heavy-metal pollution*. 1981. **56**(2): p. 99-151.
31. Gale, N. *The role of algae and other microorganisms in metal detoxification and environmental clean-up*. in *Biotechnology and bioengineering symposium*. 1986. Wiley.
32. McHardy, B.M. and J.J.J.E.P. George, *Bioaccumulation and toxicity of zinc in the green alga, Cladophora glomerata*. 1990. **66**(1): p. 55-66.
33. Parhad, N. and N.J.I.J.o.E.H. Rao, *Decrease of bacterial content in different types of stabilization ponds*. 1976. **18**(1).
34. Hoang, T., *Mô hình hóa mô phỏng hệ thống xử lý nước thải giàu dinh dưỡng bằng tảo chlorella vulgaris* 2016.
35. Oanh, D.T.H., *Nghiên cứu kỹ thuật nuôi sinh khối tảo spirulina platensis*. 2011.
36. Rawat, I., et al., *Dual role of microalgae: phycoremediation of domestic wastewater and biomass production for sustainable biofuels production*. 2011. **88**(10): p. 3411-3424.
37. Benemann, J.R. and W.J. Oswald, *Systems and economic analysis of microalgae ponds for conversion of CO<sub>2</sub> to biomass. Final report*. 1996, California Univ., Berkeley, CA (United States). Dept. of Civil Engineering.
38. Park, J., R. Craggs, and A.J.B.t. Shilton, *Wastewater treatment high rate algal ponds for biofuel production*. 2011. **102**(1): p. 35-42.
39. Park, J., R. Craggs, and A.J.W.r. Shilton, *Recycling algae to improve species control and harvest efficiency from a high rate algal pond*. 2011. **45**(20): p. 6637-6649.
40. Craggs, R., D. Sutherland, and H.J.J.o.A.P. Campbell, *Hectare-scale demonstration of high rate algal ponds for enhanced wastewater treatment and biofuel production*. 2012. **24**(3): p. 329-337.
41. Craggs, R., et al., *High rate algal pond systems for low-energy wastewater treatment, nutrient recovery and energy production*. 2014. **52**(1): p. 60-73.
42. Oswald, W.J.J.M.b., *Micro-algae and wastewater treatment*. 1988: p. 305-328.
43. Grobbelaar, J.U.J.P.r., *Microalgal biomass production: challenges and realities*. 2010. **106**(1-2): p. 135-144.

44. Hadiyanto, H., et al., *Hydrodynamic evaluations in high rate algae pond (HRAP) design*. 2013. **217**: p. 231-239.
45. Roshdy, A. *Utilizing wastewater as a nutrition source for the cultivation of chlorella vulgaris*. 2019.
46. Kiepper, B.H.J.U.o.G.U.D.o.P.S.C.o.A. and G. Environmental Sciences, *Microalgae utilization in wastewater treatment*. 2013.
47. Sutherland, D.L., M.H. Turnbull, and R.J.J.W.r. Craggs, *Increased pond depth improves algal productivity and nutrient removal in wastewater treatment high rate algal ponds*. 2014. **53**: p. 271-281.
48. Garcia, J., R. Mujeriego, and M.J.J.o.A.P. Hernandez-Marine, *High rate algal pond operating strategies for urban wastewater nitrogen removal*. 2000. **12**(3-5): p. 331-339.
49. Azov, Y., G.J.W.s. Shelef, and technology, *The effect of pH on the performance of high-rate oxidation ponds*. 1987. **19**(12): p. 381-383.
50. Grobbelaar, J.U.J.J.o.a.p., *Factors governing algal growth in photobioreactors: the "open" versus "closed" debate*. 2009. **21**(5): p. 489.
51. Larsdotter, K.J.V., *Wastewater treatment with microalgae-a literature review*. 2006. **62**(1): p. 31.
52. Kroon, B.M., et al., *Modelling microalgal productivity in a high rate algal pond based on wavelength dependent optical properties*. 1989. **1**(3): p. 247-256.
53. Eshaq, F.S., M.N. Ali, and M.K.J.I.J.E.S.T. Mohd, *Spirogyra biomass a renewable source for biofuel (bioethanol) production*. 2010. **2**(12): p. 7045-7054.
54. Sutherland, D.L., et al., *Seasonal variation in light utilisation, biomass production and nutrient removal by wastewater microalgae in a full-scale high-rate algal pond*. 2014. **26**(3): p. 1317-1329.
55. Ralph, P.J., et al., *Fluorescence as a tool to understand changes in photosynthetic electron flow regulation*, in *Chlorophyll a fluorescence in aquatic sciences: Methods and applications*. 2010, Springer. p. 75-89.
56. Raven, J.A., J. Beardall, and M.J.P.r. Giordano, *Energy costs of carbon dioxide concentrating mechanisms in aquatic organisms*. 2014. **121**(2-3): p. 111-124.

57. Diehl, S.J.E., *Phytoplankton, light, and nutrients in a gradient of mixing depths: theory*. 2002. **83**(2): p. 386-398.
58. Borowitzka, M.A., *Limits to growth*, in *Wastewater treatment with algae*. 1998, Springer. p. 203-226.
59. Finkel, Z.V., et al., *Phytoplankton in a changing world: cell size and elemental stoichiometry*. 2009. **32**(1): p. 119-137.
60. Kirk, J.T., *Light and photosynthesis in aquatic ecosystems*. 1994: Cambridge university press.
61. Goss, R. and T.J.P.r. Jakob, *Regulation and function of xanthophyll cycle-dependent photoprotection in algae*. 2010. **106**(1-2): p. 103-122.
62. Wilhelm, C., T.J.A.m. Jakob, and biotechnology, *From photons to biomass and biofuels: evaluation of different strategies for the improvement of algal biotechnology based on comparative energy balances*. 2011. **92**(5): p. 909-919.
63. Sosik, H.M. and B.G.J.J.o.P. Mitchell, *Effects of temperature on growth, light absorption, and quantum yield in dunalietta tertiolecta (chlorophyceae) 1*. 1994. **30**(5): p. 833-840.
64. Stramski, D., et al., *Effects of temperature, nitrogen, and light limitation on the optical properties of the marine diatom Thalassiosira pseudonana*. 2002. **47**(2): p. 392-403.
65. Sutherland, D.L., *Enhancing the performance of wastewater microalgae through chemical and physical modifications in High Rate Algal Ponds*. 2015.
66. Benemann, J.R.J.F.R.t.t.U.D.o.E.N.E.T.L., *Bio-fixation of CO<sub>2</sub> and greenhouse gas abatement with microalgae-technology roadmap*. 2003.
67. Low-Décarie, E., et al., *Aquatic primary production in a high-CO<sub>2</sub> world*. 2014. **29**(4): p. 223-232.
68. Reynolds, C., *Phytoplankton population dynamics: concepts and performance measurement*. 2009.
69. Azov, Y. and J.C.J.A.E.M. Goldman, *Free ammonia inhibition of algal photosynthesis in intensive cultures*. 1982. **43**(4): p. 735-739.



70. Admiraal, W.J.M.B., *Tolerance of estuarine benthic diatoms to high concentrations of ammonia, nitrite ion, nitrate ion and orthophosphate*. 1977. **43**(4): p. 307-315.
71. Slegers, P., et al., *Scenario evaluation of open pond microalgae production*. 2013. **2**(4): p. 358-368.
72. Picot, B., et al., *Using diurnal variations in a high rate algal pond for management pattern*. 1993. **28**(10): p. 169-175.
73. Sawayama, S., et al., *Nitrate and phosphate ion removal from water by *Phormidium laminosum* immobilized on hollow fibres in a photobioreactor*. 1998. **49**(4): p. 463-468.
74. Dodds, W.K.J.J.o.t.N.A.B.S., *Misuse of inorganic N and soluble reactive P concentrations to indicate nutrient status of surface waters*. 2003. **22**(2): p. 171-181.
75. Rodríguez-Román, A. and R.J.M.B. Iglesias-Prieto, *Regulation of photochemical activity in cultured symbiotic dinoflagellates under nitrate limitation and deprivation*. 2005. **146**(6): p. 1063-1073.
76. Cromar, N.J. and H.J.J.J.o.A.P. Fallowfield, *Effect of nutrient loading and retention time on performance of high rate algal ponds*. 1997. **9**(4): p. 301-309.
77. Aslan, S. and I.K.J.E.e. Kapdan, *Batch kinetics of nitrogen and phosphorus removal from synthetic wastewater by algae*. 2006. **28**(1): p. 64-70.
78. Melis, A., J. Neidhardt, and J.R.J.J.o.A.P. Benemann, **Dunaliella salina* (Chlorophyta) with small chlorophyll antenna sizes exhibit higher photosynthetic productivities and photon use efficiencies than normally pigmented cells*. 1998. **10**(6): p. 515-525.
79. Simionato, D., et al., *Optimization of light use efficiency for biofuel production in algae*. 2013. **182**: p. 71-78.
80. Stephenson, P.G., et al., *Improving photosynthesis for algal biofuels: toward a green revolution*. 2011. **29**(12): p. 615-623.
81. Satagopan, S. and R.J.J.B.p.b. Spreitzer, *Plant-like substitutions in the large-subunit carboxy terminus of *Chlamydomonas* Rubisco increase CO<sub>2</sub>/O<sub>2</sub> specificity*. 2008. **8**(1): p. 85.
82. Grobbelaar, J.U.J.J.o.A.P., *Physiological and technological considerations for optimising mass algal cultures*. 2000. **12**(3-5): p. 201-206.

83. Clark, D.R. and K.J.J.P.o.t.R.S.o.L.S.B.B.S. Flynn, *The relationship between the dissolved inorganic carbon concentration and growth rate in marine phytoplankton*. 2000. **267**(1447): p. 953-959.
84. Beardall, J. and J.A.J.P. Raven, *The potential effects of global climate change on microalgal photosynthesis, growth and ecology*. 2004. **43**(1): p. 26-40.
85. Sobrino, C., et al., *Acclimation to elevated carbon dioxide and ultraviolet radiation in the diatom *Thalassiosira pseudonana*: effects on growth, photosynthesis, and spectral sensitivity of photoinhibition*. 2008. **53**(2): p. 494-505.
86. Vonshak, A. and A.J.B. Richmond, *Mass production of the blue-green alga *Spirulina*: an overview*. 1988. **15**(4): p. 233-247.
87. Grobbelaar, J.U., *Mass production of microalgae at optimal photosynthetic rates*, in *Photosynthesis*. 2013, IntechOpen.
88. Richmond, A., Z. Cheng-Wu, and Y.J.B.E. Zarmi, *Efficient use of strong light for high photosynthetic productivity: interrelationships between the optical path, the optimal population density and cell-growth inhibition*. 2003. **20**(4-6): p. 229-236.
89. Grobbelaar, J.U.J.J.o.A.P., *Turbulence in mass algal cultures and the role of light/dark fluctuations*. 1994. **6**(3): p. 331-335.
90. Reynolds, C.J.F.b., *Phytoplankton periodicity: the interactions of form, function and environmental variability*. 1984. **14**(2): p. 111-142.
91. Chisti, Y.J.T.i.b., *Biodiesel from microalgae beats bioethanol*. 2008. **26**(3): p. 126-131.
92. Zarrouk, C.J.T.U.o.P., France., *Contribution a l'etude d'une Cyanophycee. Influence de Divers Facteurs Physiques et Chimiques sur la croissance et la photosynthese de *Spirulina mixima**. 1966.
93. Kim, Đ.Đ., et al., *Nghiên cứu sử dụng co2 từ khí thải đốt than để nuôi vi tảo *spirulina platensis**. 2011. **49**(4).
94. Klinthong, W., et al., *A review: microalgae and their applications in CO2 capture and renewable energy*. 2015. **15**(2): p. 712-42.
95. Gardner, R.D., et al., *Use of sodium bicarbonate to stimulate triacylglycerol accumulation in the chlorophyte *Scenedesmus sp.* and the diatom *Phaeodactylum tricorutum**. 2012. **24**(5): p. 1311-1320.

96. Eustance, E., et al., *Growth, nitrogen utilization and biodiesel potential for two chlorophytes grown on ammonium, nitrate or urea*. 2013. **25**(6): p. 1663-1677.
97. Tuân, k.n.n., *ngiên cứu ảnh hưởng của các điều kiện nuôi trồng đến sinh trưởng và năng suất thu dầu của vi tảo chlorella vulgaris nhằm làm nguyên liệu sản xuất biodiesel*.
98. Negoro, M., et al., *Growth of microalgae in high CO<sub>2</sub> gas and effects of SO<sub>x</sub> and NO<sub>x</sub>*. 1991. **28**(1): p. 877.
99. Hanagata, N., et al., *Tolerance of microalgae to high CO<sub>2</sub> and high temperature*. 1992. **31**(10): p. 3345-3348.
100. Hirata, S., et al., *Carbon dioxide fixation in batch culture of Chlorella sp. using a photobioreactor with a sunlight-collection device*. 1996. **81**(5): p. 470-472.
101. Amoroso, G., et al., *Uptake of HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> and CO<sub>2</sub> in cells and chloroplasts from the microalgae Chlamydomonas reinhardtii and Dunaliella tertiolecta*. 1998. **116**(1): p. 193-201.
102. de Moraes, M.G., J.A.V.J.E.c. Costa, and Management, *Isolation and selection of microalgae from coal fired thermoelectric power plant for biofixation of carbon dioxide*. 2007. **48**(7): p. 2169-2173.
103. Yoo, C., et al., *Selection of microalgae for lipid production under high levels carbon dioxide*. 2010. **101**(1): p. S71-S74.
104. Nguyễn Tiên Cư, Đ.Đ.K., Nguyễn Thị Ninh, Đặng Diễm Hồng, Trần Văn Tựa, Phan Phương Lan, Nguyễn Văn Hoà, *Thực nghiệm nuôi trồng Spirulina trong nước khoáng Đắc Min Tạp chí sinh học*, 1994. **16** (3): p. 95 – 98.
105. Đặng Đình Kim, et al., *Công nghệ sản xuất và ứng dụng vi tảo*. Nhà xuất bản Khoa học tự nhiên và công nghệ, 2018: p. 153.
106. Ma, H., et al., *Growth, removal of nitrogen and phosphorus, and lipid accumulation property of Scenedesmus sp. LX1 in aquaculture wastewater*. 2012. **33**(6): p. 1891-1896.
107. Ansari, F.A., et al., *Microalgal cultivation using aquaculture wastewater: integrated biomass generation and nutrient remediation*. 2017. **21**: p. 169-177.
108. Liu, Y., et al., *Treatment of real aquaculture wastewater from a fishery utilizing phytoremediation with microalgae*. 2019. **94**(3): p. 900-910.

109. Tossavainen, M., et al., *Integrated utilization of microalgae cultured in aquaculture wastewater: wastewater treatment and production of valuable fatty acids and tocopherols*. 2018: p. 1-11.
110. *Điều kiện tự nhiên và xã hội*.
111. Toyub, M., et al., *Growth performance and nutritional value of Scenedesmus obliquus cultured in different concentrations of sweetmeat factory waste media*. 2008. **37**(1): p. 86-93.
112. Zhu, L., et al., *Nutrient removal and biodiesel production by integration of freshwater algae cultivation with piggery wastewater treatment*. 2013. **47**(13): p. 4294-4302.
113. Eida, M.F., O.M. Darwesh, and I.A.J.J.E.E. Matter, *Cultivation of oleaginous microalgae Scenedesmus obliquus on secondary treated municipal wastewater as growth medium for biodiesel production*. 2018. **19**(5): p. 38-51.
114. Zhang, T.-Y., et al., *Isolation and heterotrophic cultivation of mixotrophic microalgae strains for domestic wastewater treatment and lipid production under dark condition*. 2013. **149**: p. 586-589.

## PHỤ LỤC A

Phụ lục bao gồm các bảng biểu bổ sung

### Bảng thành phần của môi trường F/2

#### Môi trường F/2

Chuẩn bị 950 mL nước cất đã được tiệt trùng và thêm các thành phần bên dưới vào và định mức thành 1000 mL.

Thành phần	Nồng độ	Số lượng
NaNO <sub>3</sub>	75 g/L	1 mL
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	5 g/L	1 mL
Nguyên tố vi lượng	Xem thành phần bên dưới	1 mL
Vitamin	Xem thành phần bên dưới	0.5 mL

#### Nguyên tố vi lượng

Chuẩn bị 950 mL nước cất sau đó thêm các thành phần bên dưới vào và định mức lên thành 1000 mL và hấp tiệt trùng.

Thành phần	Nồng độ	Số lượng
FeCl <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O	-	3.15 g
Na <sub>2</sub> EDTA.2H <sub>2</sub> O	-	4.36 g
CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	9.8 g/L	1 mL
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	6.3 g/L	1 mL
ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	22 g/L	1 mL
CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	10 g/L	1 mL
MnCl <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O	180 g/L	1 mL

---

### Vitamin

Chuẩn bị 950 mL nước cất sau đó thêm các thành phần bên dưới vào và định mức lên thành 1000 mL

---

Thành phần	Nồng độ	Số lượng
Vitamin B <sub>1</sub>	-	200 mg
Vitamin H	1 g/L	1 mL
Vitamin B <sub>12</sub>	1 g/L	1 mL

---

**Bảng thông số vật lý các mẫu nước thải đầu vào của thí nghiệm 1**

---

Mẫu	pH	DO	Carotenoid (µg/L)	Độ mặn (‰)	Độ đục (NTU)	Nhiệt độ (°C)
Nước thải 0% bùn	8.9	4.6	28.6	25.7	42.3	20
Nước thải 10% bùn	8.8	4.3	58.3	23.62	15.3	17.4
Nước thải 15% bùn	8.84	5.5	66	25	17.4	17
Nước thải 20% bùn	8.35	6.2	69.3	24.2	21.2	19
Nước thải 25% bùn	8.4	6.3	83	24	28	19
Nước thải 30% bùn	8.2	4.9	92	23.4	61.6	21

---

## PHỤ LỤC B

Phụ lục bao gồm hình ảnh trong quá trình thực hiện nghiên cứu.

### 1. Hình ảnh tăng sinh



*Khu vực lưu giữ giống tảo*



*Tăng sinh trong Erlen 250mL*



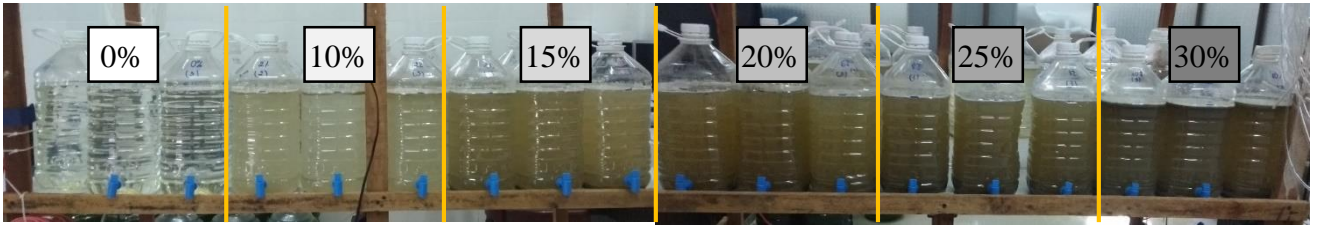
*Tăng sinh trong bình 2 lít*



*Tăng sinh trong bình 20 lít*

### 2. Hình ảnh thí nghiệm 1





*Bố trí thí nghiệm xác định bùn tối ưu*



*Thí nghiệm xác định bùn tối ưu tại ngày 6*

### 3. Hình ảnh thí nghiệm 2



*Thí nghiệm xác định nồng độ  $CO_2$  tối ưu tại ngày 0*





*Thí nghiệm xác định nồng độ CO<sub>2</sub> tối ưu tại ngày 6*

#### **4. Hình ảnh vận hành hồ nuôi tảo mật độ cao**



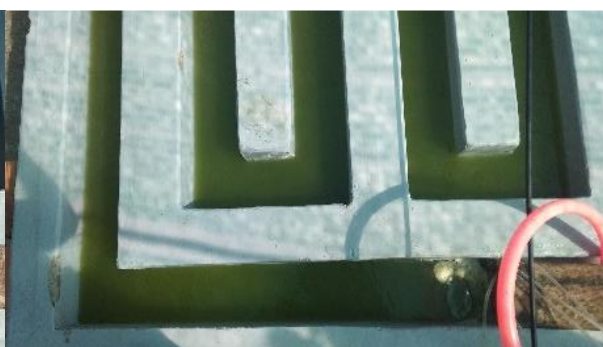
*Ngày 0 (Chưa thả tảo)*



*Ngày 1*



*Ngày 3*

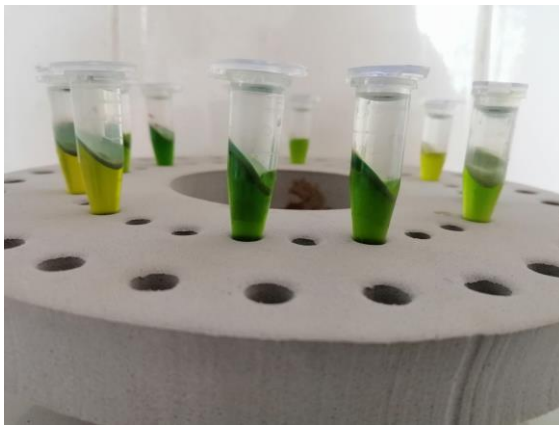


*Ngày 4*

**5. Hình ảnh thí nghiệm xác định các thông số tích lũy vi tảo**

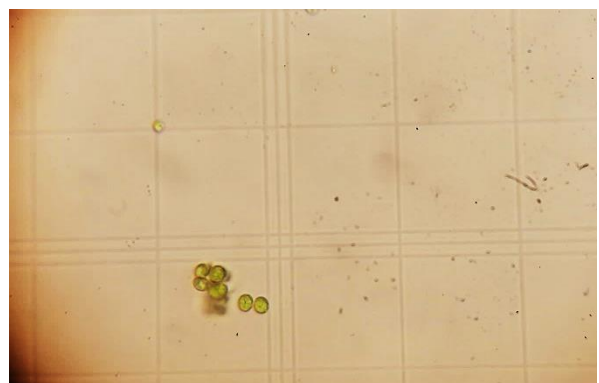
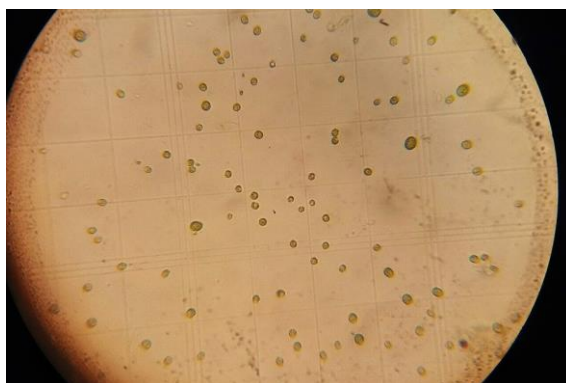


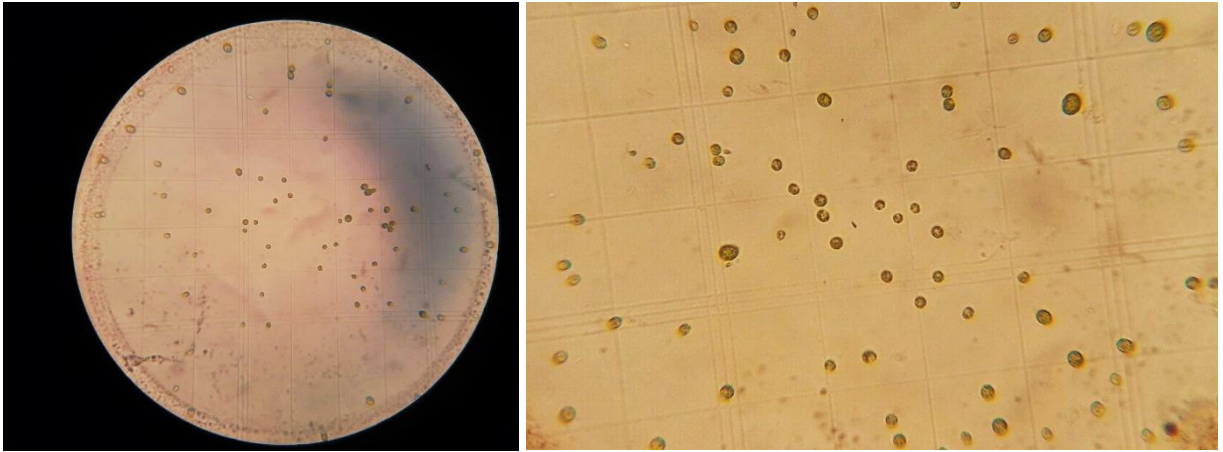
*Khối lượng khô*



*Chiết xuất Lipid*

**6. Hình ảnh vi tảo dưới kính hiển vi**





## 7. Hình ảnh sinh khối tảo



*Sinh khối tảo ướt*



*Sinh khối tảo khô*

## PHỤ LỤC C

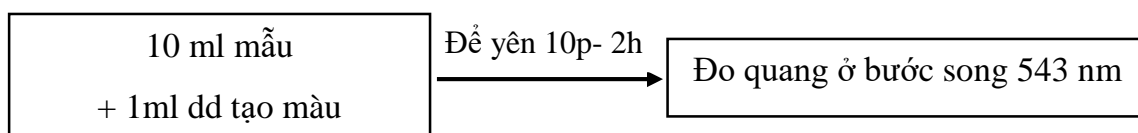
Phụ lục bao gồm các phương pháp phân tích mẫu.

### 1. Phương pháp phân tích chỉ tiêu Nitrite (TCVN 6178 – 1996 /ISO 6777:1984)

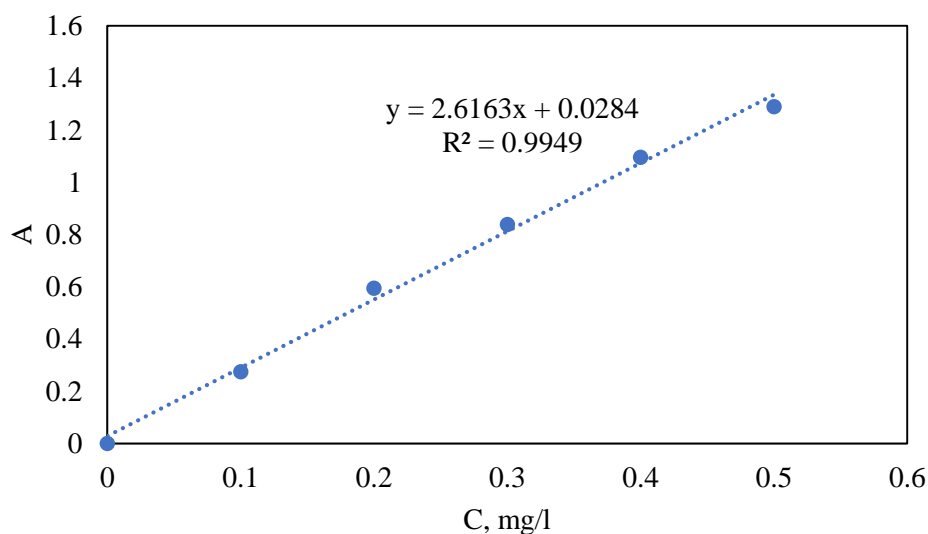
#### 1.1. Chuẩn bị hóa chất

**Dung dịch tạo màu:** Cho 50ml acid phosphoric + 5g sulfanilamide vào 400ml nước cất (hòa tan hoàn toàn) → thêm 0.5g N-(1-naphthyl)-ethylenediamine dihydrochloride (hòa tan hoàn toàn) → Định mức 500ml. (dd ổn định trong 1 tháng đựng trong chai tối màu bảo quản trong tủ lạnh).

#### 1.2. Cách tiến hành



#### 1.3. Phương trình đường chuẩn: $y = 2.6163x + 0.028$



Đồ thị đường chuẩn chỉ tiêu nitrite

### 2. Phương pháp phân tích chỉ tiêu Nitrate (TCVN 6180 – 1996/ISO 7890 – 3:1988 (E))

#### 2.1. Chuẩn bị hóa chất

- Acid sulfuric đậm đặc 98%
- Acid acetic đậm đặc 100%
- Dung dịch kiềm:

Hòa tan 100g NaOH trong 400ml nước cất → thêm 25g EDTANa → Định mức 500ml.

- **Dung dịch Acid sunfamic ( $NH_2SO_3H$  0.75g/l):** 0.375g → định mức 500ml.

- **Dung dịch Natri salicylate 10g/l:** 0.1g → định mức 10ml (*chuẩn bị hằng ngày, chứa trong chai thủy tinh*)

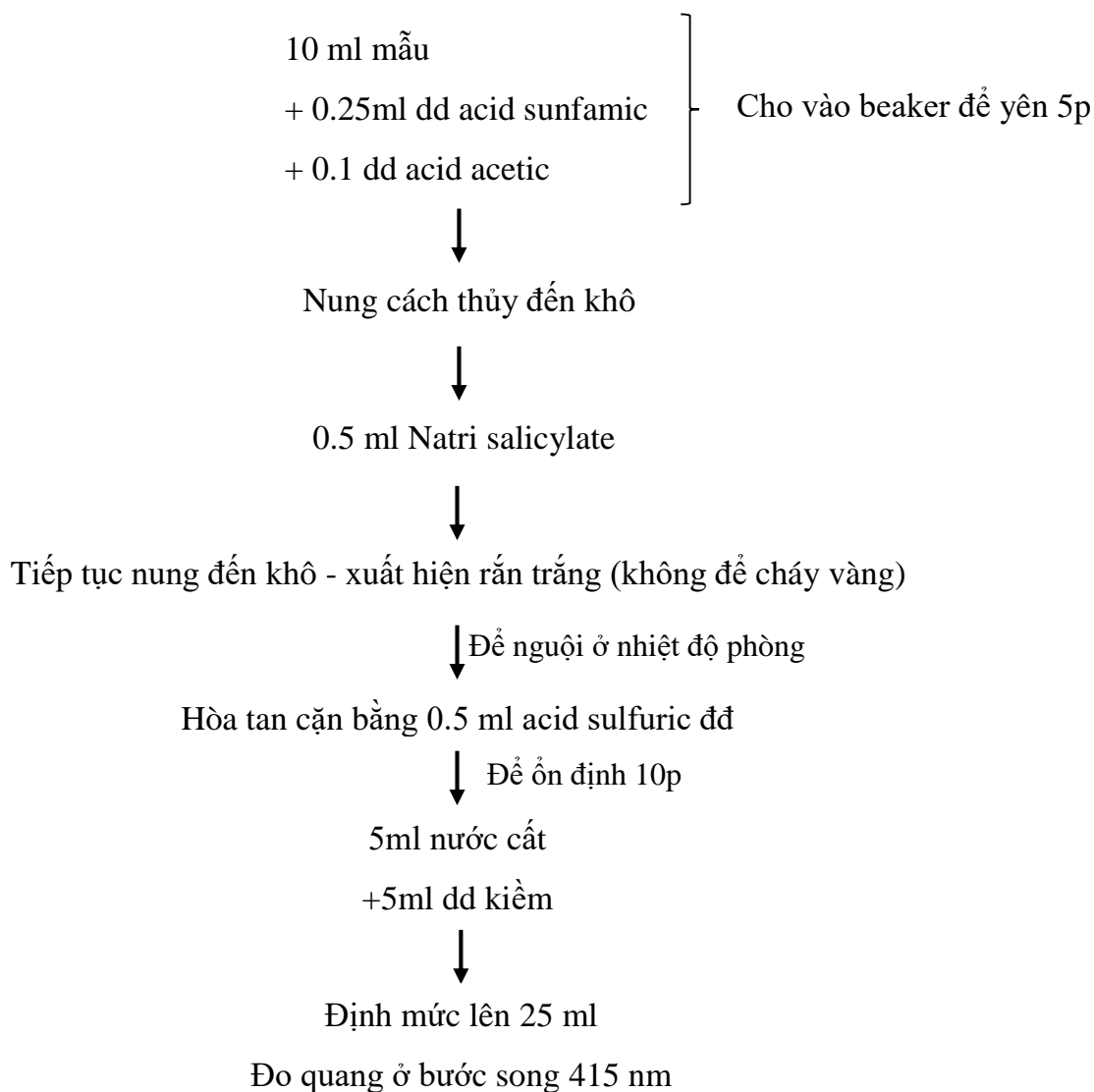
## 2.2. Cách tiến hành

### 2.2.1. Chuẩn bị mẫu

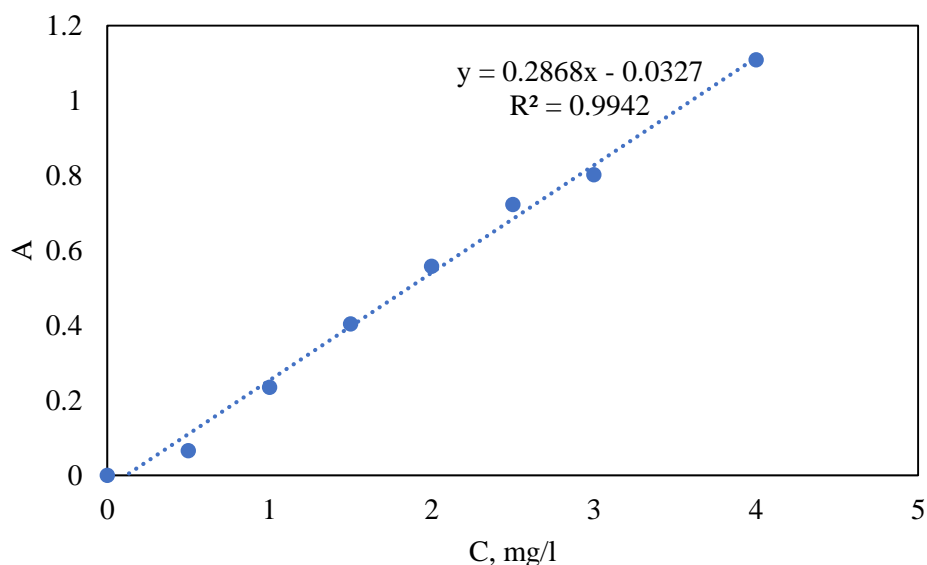
- Mẫu chứa vào chai thủy tinh hoặc chai nhựa và phân tích càng sớm càng tốt (nếu không thì bảo quản lạnh mẫu ở  $4^{\circ}C$ ).

- Mẫu có **chất rắn lơ lửng** cần **lọc** trước khi phân tích.

### 2.2.2. Phân tích mẫu



**2.3. Phương trình đường chuẩn:  $y = 0.2868x - 0.0327$**



*Đồ thị đường chuẩn chỉ tiêu nitrate*

**3. Phương pháp phân tích chỉ tiêu ammonium (Phương pháp AmVer™ Salicylate Test 'N Tube™, Hach Method 10031, Salicylate)**

**3.1. Hóa chất**

**Thuốc thử Amoni HACH 2606945:**

Dung dịch test kit: AmVer™ Diluent Reagent High Range Test 'N Tube™

Gói 1: Ammonia Salicylate

Gói 2: Ammonia Cyanurate

**3.2. Cách tiến hành**

Rút 1 ml + 0.5 dung dịch test kit

↓ Xáo trộn ly tâm

Thêm 1/5 gói 1 thêm vào

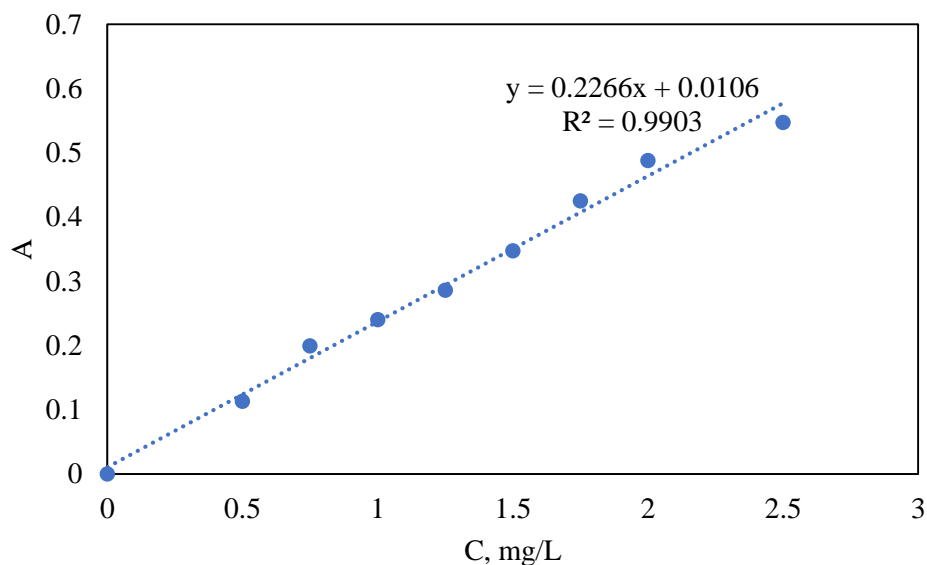
↓ Lắc ly tâm và chờ 3 phút

Thêm 1/5 gói 2 thêm vào

↓ Lắc ly tâm và chờ 15 phút

Đo quang ở bước sóng 415 nm

### 3.3. Phương trình đường chuẩn $y = 0.2266x + 0.0106$



*Đồ thị đường chuẩn chỉ tiêu ammonium*

## 4. Phương pháp phân tích chỉ tiêu nitơ tổng (TCVN 6638:2000/ISO10048:1991)

### 4.1. Hóa chất

- *Axit sunfuric* ( $H_2SO_4$ ) đậm đặc,  $\rho = 1,84$  g/ml.

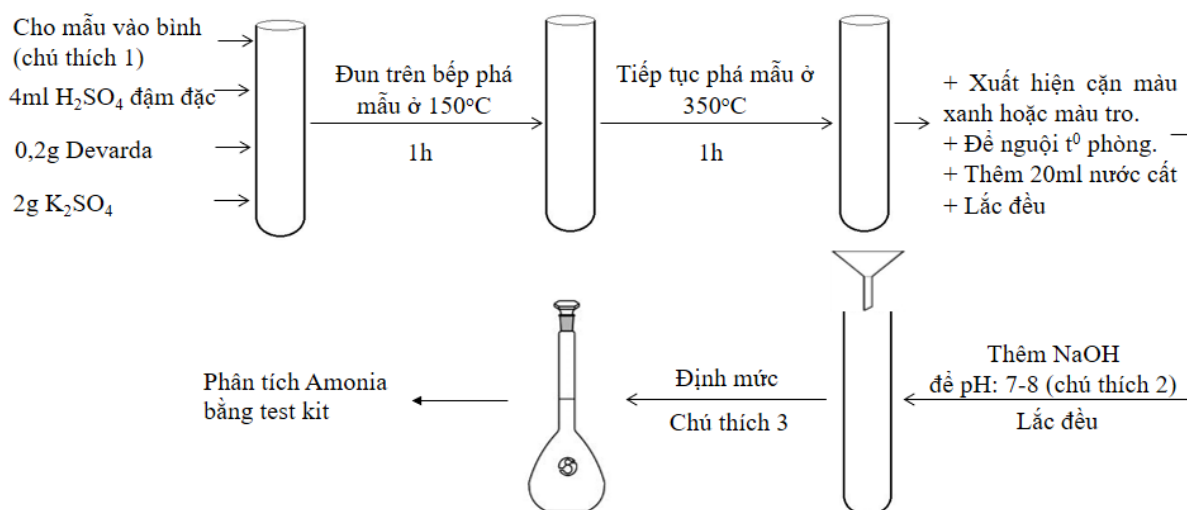
Cảnh báo : Thuốc thử này gây bỏng nặng. Axit sunfuric cần có độ tinh khiết cao nhất. Cần chú ý đến các qui định kỹ thuật của hãng sản xuất về hàm lượng nitơ tạp chất, và đảm bảo rằng hàm lượng này càng nhỏ càng tốt.

- *Natri hydroxyt* (NaOH), dung dịch khoảng 6N.

- *Hợp kim Devarda* [khoảng 45% (m/m) Al, 50% (m/m) Cu và 5% (m/m) Zn], dạng bột. Chọn mua loại có hàm lượng nitơ càng thấp càng tốt.

- *Kali sunfat* ( $K_2SO_4$ ).

## 4.2. Cách tiến hành



*Chú thích 1: Mẫu cần chứa không quá 200 mg nitơ trên lít. Nếu hàm lượng nitơ cao hơn thì pha loãng mẫu bằng nước trước khi hút 50 ml phần mẫu thử đã qua li tâm loại bỏ cặn.*

*Chú thích 2:*

+ *Lượng NaOH để trung hòa dung dịch có pH từ 7- 8 (sẽ được xác định ở lần thí nghiệm đầu tiên).*

+ *Thêm NaOH bằng cách: nhỏ từ từ dung dịch NaOH lên phễu thủy tinh để tránh gây bắn hóa chất lên người gây nguy hiểm.*

*Chú thích 3: Lượng định mức phụ thuộc vào thể tích NaOH thêm vào.*

## 5. Phương pháp phân tích chỉ tiêu photphat (Phương pháp so màu dùng Ammoni Molybdate)

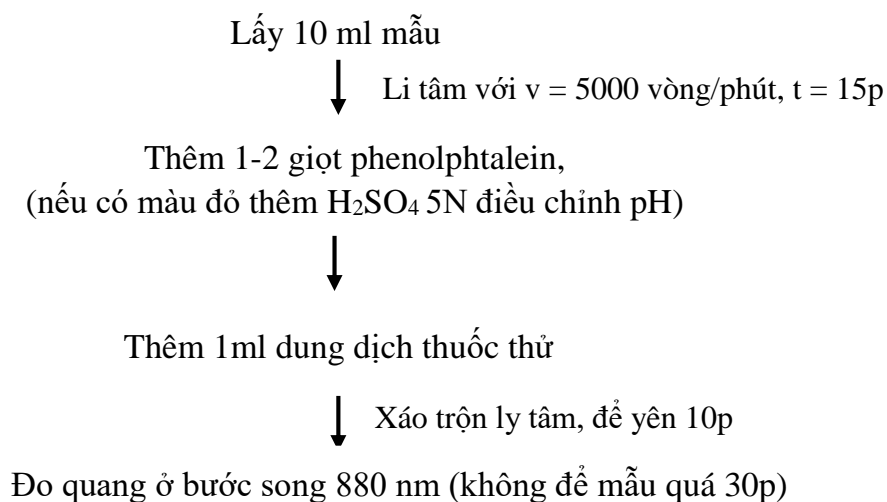
### 5.1. Chuẩn bị hóa chất

- *Chỉ thị phenolphthalein 0.1% cồn*
- *Dung dịch H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 5N: 70 ml axit đậm đặc định mức thành 500ml.*
- *Kali Antimonyl tartrat: 1.3715g K(SbO)C<sub>4</sub>H<sub>4</sub>O<sub>6</sub>.1/2H<sub>2</sub>O pha loãng trong 500ml nước cất.*
- *Ammonium molybdate 40g/l: 20g Ammonium molybdate + 500ml nước cất*
- *Axit ascorbic 0.1M: 1.76g Axit ascorbic trong 100ml nước cất. bảo quản trong tủ lạnh.*

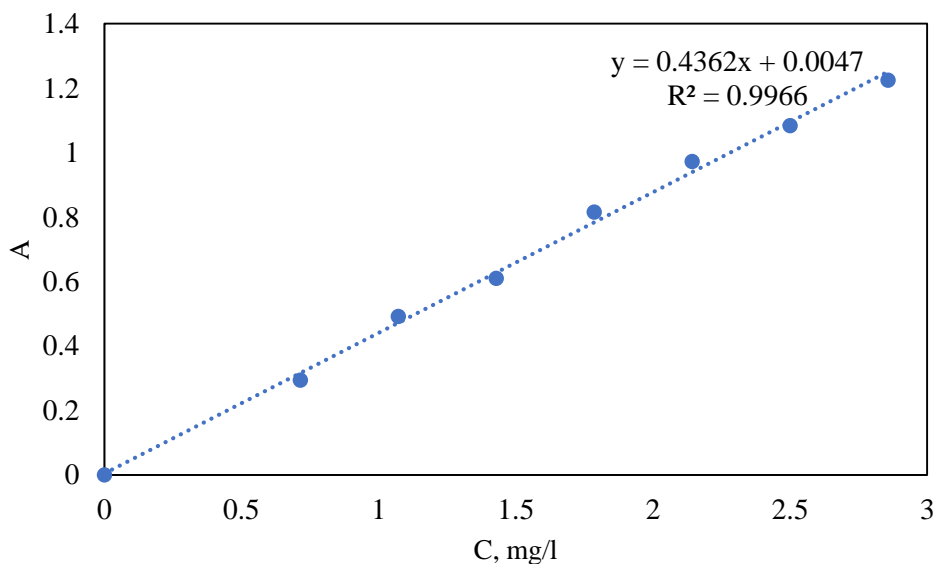


- **Thuốc thử** (pha mỗi lần sử dụng): hòa trộn các dung dịch theo tỷ lệ
  - + 100ml dung dịch  $H_2SO_4$  5N
  - + 10 ml dung dịch Kali Antimonyl tartrat
  - + 30 ml dung dịch Ammonium molybdate
  - + 60 ml axit ascorbic

## 5.2. Cách tiến hành



## 5.3. Phương trình đường chuẩn $y = 0.4362x + 0.0047$



*Đồ thị đường chuẩn chỉ tiêu photphate*

## 6. Phương pháp phân tích chỉ tiêu COD (TCVN 6491 – 1999/ISO 6060:1989)

### 6.1. Chuẩn bị hóa chất

- **Dung dịch chuẩn  $K_2Cr_2O_7$  0.0167M**: hòa tan 4.9226 g  $K_2Cr_2O_7$  (sấy ở  $105^{\circ}C$  trong 2 giờ) trong 500 ml nước cất, thêm vào 167 ml  $H_2SO_4$  đậm đặc và 33.3 g  $HgSO_4$  khuấy tan để nguội đến nhiệt độ phòng, định mức thành 1.000 ml.

- **Acid sulfuric (sulfuric acid reagent)**: cân 11 g  $Ag_2SO_4$  trong 1 kg  $H_2SO_4$  đậm đặc (1 lít = 1.84 kg), để 1-2 ngày cho hòa tan hoàn toàn  $Ag_2SO_4$ .

- **Chỉ thị màu ferroin**: hòa tan hoàn toàn 1.485 g 1-10 phenanthroline monohydrate và thêm 0.695 g  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$  trong nước cất và định mức thành 100 ml (khi hai chất này trộn lẫn với nhau thì dung dịch chỉ thị sẽ tan hoàn toàn và có màu đỏ).

- **Dung dịch (FAS) 0.10M**: hòa tan 39.2g  $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$  trong một ít nước cất, thêm vào 20 ml  $H_2SO_4$  đậm đặc, làm lạnh và định mức thành 1 lít.

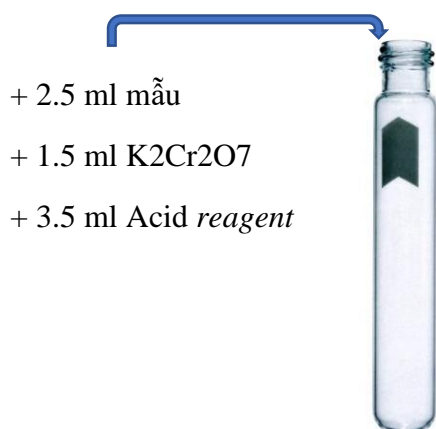
- **Dung dịch chuẩn (KHP)**: hòa tan 425mg potassium hydrogen phthalate ( $HOOC_6COOK$ ) sấy khô ở nhiệt độ  $120^{\circ}C$  trong 2 giờ thêm nước cất thành 1 lít. Dung dịch này (KHP) có COD = 1,176 mg  $O_2$ /mg hay 500 mg  $O_2$ /ml

- **Sulfamic acid**: sử dụng nếu như ảnh hưởng của nitrite đáng kể.

### 6.2. Cách tiến hành

- Rửa sạch ống COD và nút vặn với  $H_2SO_4$  20% trước khi sử dụng.

- Cho thể tích mẫu và hoá chất (hình minh họa). Lưu ý phản ứng xảy ra mạnh, cẩn thận khi cho acid vào, chảy dọc theo thành ống nghiệm.



- Nếu mẫu xuất hiện kết tủa trắng → Pha loãng mẫu (20 – 30 lần)

- Đun ống nghiệm ở nhiệt độ  $150^{\circ}C$  trong 2 giờ.

- Để nguội đến nhiệt độ phòng, tiến hành đo quang phổ  $\lambda = 420 \text{ nm}$ .

- Tính toán số liệu theo đường chuẩn.

## 7. Phương pháp phân tích chỉ tiêu $BOD_5$ (Sử dụng tủ ủ BOD)

### 7.1. Chuẩn bị hóa chất

**Chất dinh dưỡng:** Bao gồm 4 loại hóa chất:

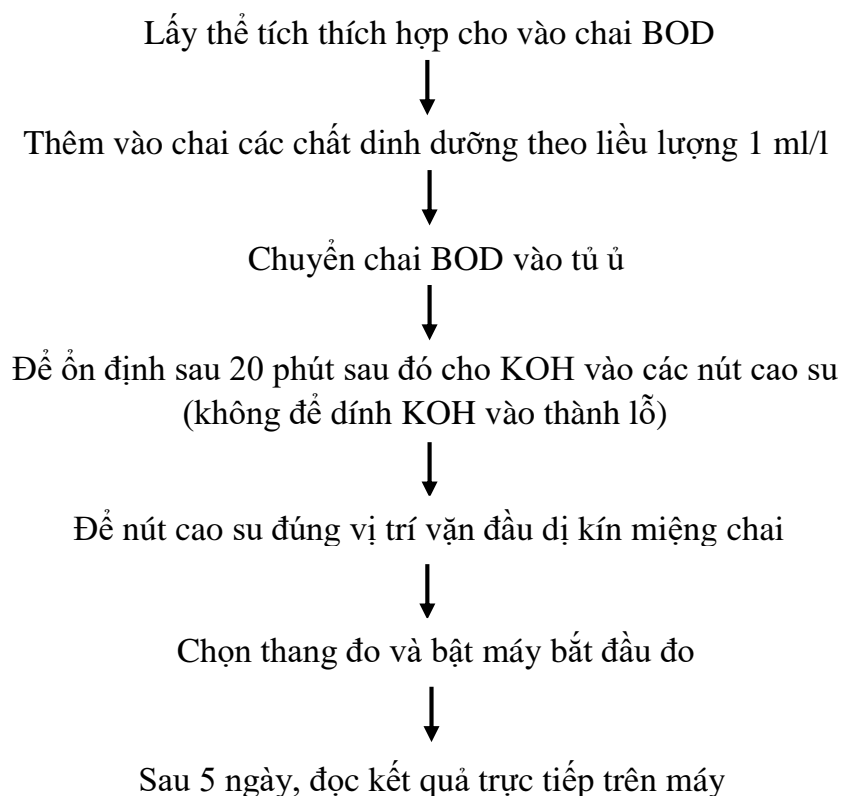
Dung dịch **A**: Hòa tan 0.25g  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  và định mức thành 1 lít dung dịch

Dung dịch **B**: 27.5g  $\text{CaCl}_2$  khan (anhydrous) vào tan và định mức thành 1l dung dịch bằng nước cất 2 lần.

Dung dịch **C**: 22.5g  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  vào tan và định mức thành 1l dung dịch bằng nước cất 2 lần.

Dung dịch **D** (dung dịch đậm): hòa tan hỗn hợp gồm 8.5g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 33.4g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  hoặc 21.7g  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , 1.7g  $\text{NH}_4\text{Cl}$  và định mức thành 1l dung dịch bằng nước cất 2 lần.

## 7.2. Cách tiến hành



**Thể tích mẫu cho vào chai tuân theo bảng sau đây:**

BOD (mg/l)	Thể tích mẫu (ml)
0-1000	100
0-600	150
0-250	250
0-90	400

## 8. Phương pháp phân tích protein

### 8.1. Chuẩn bị mẫu

Lấy 50ml mẫu đi li tâm với  $v = 5000$  vòng/phút,  $t = 10$  phút, loại bỏ dung dịch. Rửa phần rắn qua nước cất 2 – 3 lần, định mức lên 50ml.

### 8.2. Cách tiến hành

Tương tự như phương pháp phân tích nitơ tổng

## 9. Phương pháp xác định mật độ tế bào (Sử dụng buồng đếm Neubauer)

### 9.1. Cách tiến hành

**Bước 1:** Pha loãng mẫu cần đếm sao cho trong mỗi ô nhỏ của buồng đếm có khoảng 5-10 tế bào (không lớn hơn 10 tế bào và nhỏ hơn 2.5 tế bào). Ô lớn từ 10-50 tế bào.

**Bước 2:** Lắc đều ống nghiệm pha loãng mẫu. Dùng Pipet Pasteur hoặc micropipette nhỏ một giọt dung dịch mẫu vào giữa buồng đếm, dùng tay tráng nhẹ buồng đếm để dung mẫu tràn đầy khoang đếm.

**Bước 3:** Đậy lại bằng phiến kính, thao tác tránh bọt khí lọt vào trong phiến kính đi đậy.

**Bước 4:** Đặt buồng đếm lên bàn soi dưới kính hiển vi và chỉnh cửa sập kính hiển vi cho cường độ ánh sáng phù hợp để tiến hành đếm số lượng tế bào. Tùy vào số lượng tế bào mà người dùng có thể đếm tất cả tế bào có trong ô hay chỉ đếm tế bào có trong một số ô vuông lớn đại diện.

**Bước 5:** Bắt đầu đếm tế bào sau khi nhỏ giọt dung dịch từ 3 - 5 phút.

### 9.2. Công thức tính số lượng tế bào

$$N = \frac{A \times 4000 \times 10^3 \times n}{a \times 16} \text{ (số tế bào/ml)}$$

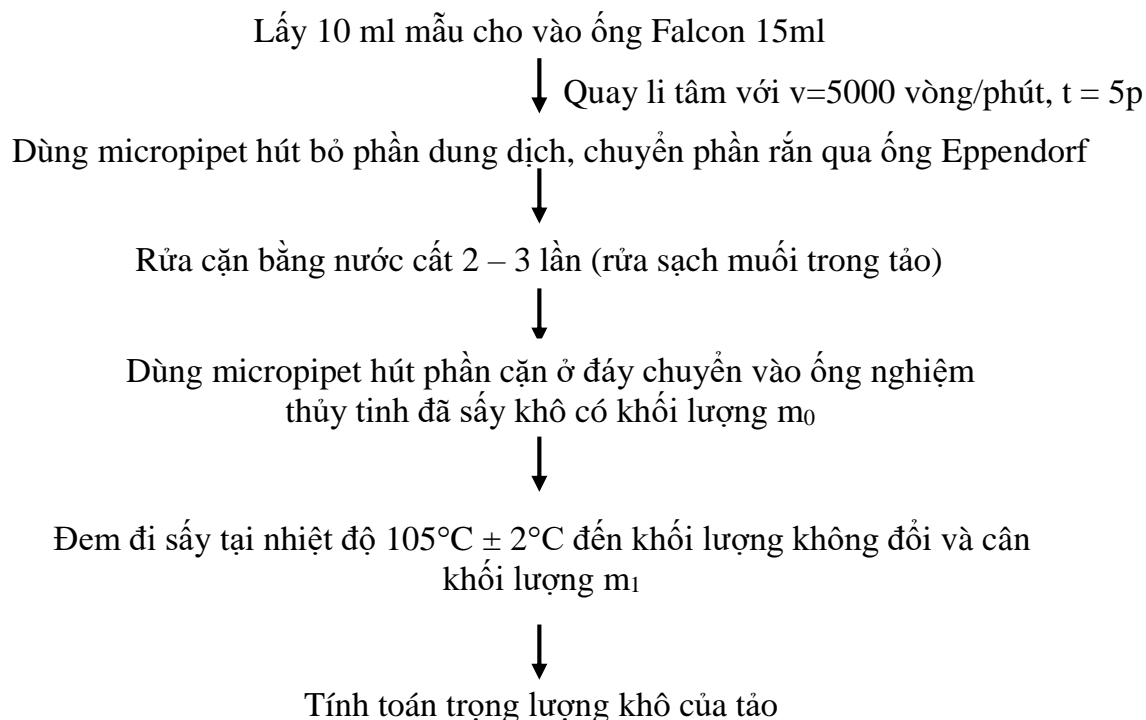
**Trong đó:** N: mật độ tế bào trong 1ml mẫu

A: Số lượng tế bào đếm

n: hệ số pha loãng

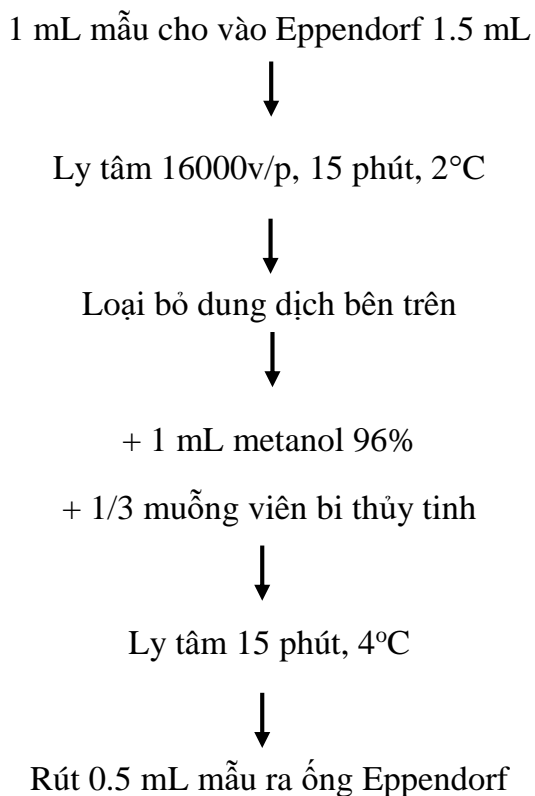
a: số ô được đếm

## 10. Phương pháp xác định trọng lượng khô (Phương pháp sấy khô)



- Công thức tính trọng lượng khô:  $m_2 = m_1 - m_0$

## 11. Phương pháp xác định Chlorophyll



↓  
+ 0.5 metanol (pha loãng) → xáo nhẹ  
↓  
Ly tâm 10 phút, 2°C  
↓  
Đo độ hấp thu  $\lambda = 653, 666, 470$

Công thức tính:  $Ch-a = 15.65A_{666} - 7.34A_{653}$

$Ch-b = 27.05A_{653} - 11.21A_{666}$

$Ch-(x+c) = (1000A_{470} - 2.86Ch-a - 129.2Ch-b)/245$

## 12. Phương pháp xác định lipid

Lấy 10 ml mẫu (dạng lỏng) hoặc 4 – 5 ml mẫu đặc

↓  
Ly tâm với  $v = 5000$  vòng,  $t = 10$  phút

↓  
Tách bỏ chất lỏng, giữ lại rắn

↓  
+ 1 mL dung dịch Folch (Cloroform:Metanol tỉ lệ 2:1)

↓  
Lắc trong phòng lạnh 20 phút

↓  
+ 0.3 mL nước cất

↓  
Ly tâm cho tách lớp

↓  
Hút lớp dầu phía dưới chuyển qua ống nghiệm thủy tinh (2 mL) đã được sấy khô và cân

(lặp lại thao tác cho đến khi chiết xuất hết dầu)

Đun ống nghiệm thủy tinh ở 80°C cho đến khi khối lượng không đổi (~ 2 ngày)



Cân và ghi lại khối lượng

Lưu ý: Tỷ lệ Chloroform:Methanol:Nước cất = 2 : 1 : 0.8

*Công thức tính trọng lượng khô:*

$$\text{Hàm lượng lipid (\%)} = \frac{\text{Lượng lipid } \left(\frac{\text{g}}{\text{L}}\right)}{\text{Khối lượng khô } \left(\frac{\text{g}}{\text{L}}\right)} \times 100 (\%)$$

