

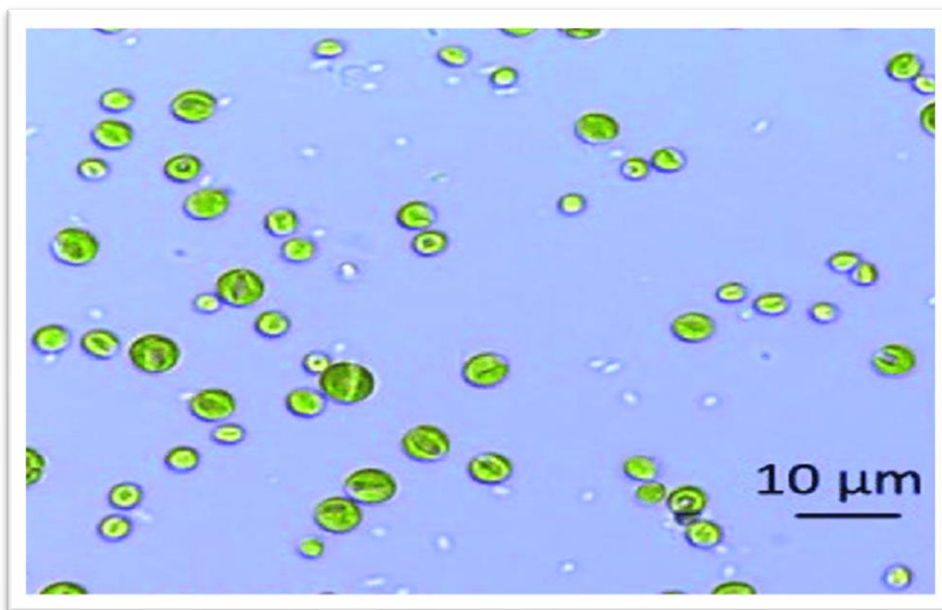
Chương 1. TỔNG QUAN VỀ NGHIÊN CỨU

1.1. TẢO *CHLORELLA VULGARIS*

1.1.1. Đặc điểm và hình thái

Chlorella Vulgaris là loài vi tảo được nhà nghiên cứu người Hà Lan Martinus Beijerinck khám phá ra vào năm 1890 và có giá trị dinh dưỡng cao (Koley et al., 2017; Safi et al., 2014). *Chlorella Vulgaris* là một loài vi sinh vật nhân thực màu xanh lá cây:

- Miền: Eukaryota
- Ngành: Chlorophyta
- Giới: Protista
- Lớp: Trebouxiophyceae
- Họ: Chlorellaceae
- Bộ: Chlorellales
- Chi: Chlorella
- Loài: *Chlorella Vulgaris*



Hình 1.1. Hình ảnh các tế bào CV qua kính hiển vi (Detrell, 2021)

Chlorella Vulgaris là một loài tảo xanh nhỏ, đơn bào, độ dài khoảng từ 2-10 microme, có hình cầu dẹt hoặc bầu dục với một vỏ tế bào mỏng và một màng tế bào chắc chắn (hình 1.1).

Các tế bào của *Chlorella Vulgaris* có màu xanh lam đậm, thường tồn tại trong môi trường nước ngọt hoặc được nuôi cấy tại phòng thí nghiệm. Cấu trúc tế bào của *Chlorella Vulgaris* gồm lõi tế bào, vỏ tế bào mỏng và một màng tế bào chắc chắn. Lõi tế bào chứa nhiều vòng tròn đại phân của DNA, được gọi là nucleoids, và nhiều vị trí ribosome, mỗi vị trí chứa hàng trăm ribosome. Các ribosome được dùng để tổng hợp protein trong quá trình phát triển tảo.

1.1.2. Ứng dụng của *Chlorella Vulgaris*

Chlorella Vulgaris, một loài tảo sinh sản nhanh và có thể được nuôi cấy cả trong môi trường có độ pH thấp hoặc cao. Nó có thể chịu được nhiều điều kiện sống khác nhau, bao gồm cường độ ánh sáng mạnh, biến đổi nhiệt độ và có sự hiện diện của các chất độc hại. *Chlorella Vulgaris* là một nguồn thực phẩm phong phú giàu vitamin, axit amin, chất xơ và các khoáng chất đa dạng. Nó cũng cung cấp những chất ngừa oxy hóa như astaxanthin, lutein và được dùng trong việc sản xuất dược phẩm (Fan et al., 2014; Panahi et al., 2016; Yun et al., 2011).

Một số ứng dụng của tảo *Chlorella Vulgaris* được trình bày tại bảng 1.1.

Bảng 1.1. Ứng dụng tảo *Chlorella Vulgaris* trong các ngành khác nhau

STT	Lĩnh vực	Ứng dụng
1	Nhiên liệu sinh học	<ul style="list-style-type: none">– Tảo <i>Chlorella vulgaris</i> có tiềm năng sản xuất dầu diesel tái sinh, cung cấp protein, carbohydrate, sắc tố, vitamin, và khoáng chất.– Chúng hấp thụ carbon dioxide và dùng để giảm khí nhà kính, sản xuất nhiên liệu sinh học và không cần đất canh tác.
2	Dinh dưỡng cho con người	<ul style="list-style-type: none">– CV cũng được dùng dưới dạng thực phẩm bổ sung hoặc cung cấp chất tạo màu và nhũ tương thực phẩm có là một nguồn giàu protein, lipid, polysacarit, sắc tố và vitamin, đem lại nguồn dinh dưỡng cao.
3	Thức ăn chăn nuôi	<ul style="list-style-type: none">– CV giúp tích lũy carotenoid quan trọng: có tiềm năng cải thiện giá trị dinh dưỡng thịt cá và lòng đỏ trứng ở gia cầm, đồng thời nâng cao sức khỏe và tăng tuổi thọ cho động vật.– CV giúp động vật tránh tác động từ kim loại nặng và các chất gây hại như: chì, cadmium và naphtalen bằng cách giảm áp lực oxy hóa do các hợp chất gây ra và tăng cao hoạt động ngừa oxy hóa trong cơ thể của vật nuôi.
4	Xử lý nước thải	<ul style="list-style-type: none">– CV có khả năng loại trừ nitơ, phot pho, carbon dioxide,.. từ nước thải và các mầm bệnh ẩn chứa trong nước thải. Giúp chất lượng nước cải thiện và giảm tác động của các chất ô nhiễm.– Sử dụng tảo CV trong quá trình loại bỏ các chất không mong muốn có trong nước thải giúp tiết kiệm chất xử lý và nước ngọt (Feng Y, 2011; González LE, 1997; Keffer JE, 2002).

1.2. Tổng quan phương pháp keo tụ

1.2.1. Khái niệm

Keo tụ được biết đến là một quá trình dùng để kết hợp và lắng đọng các chất cần loại bỏ, chẳng hạn như: kim loại nặng, vi khuẩn hoặc chất thải hữu cơ dạng rắn.

Quá trình tạo keo tụ thường gồm hai giai đoạn:

- Giai đoạn đầu, chất tạo keo tụ phát sinh kết hợp với các hạt lơ lửng, tạo thành dung dịch keo tụ.
- Tiếp theo, sau khi các tạp chất chứa ở bên trong nước đã được lọc, chúng kết tụ thành các cụm hạt lớn lắng, tạo điều kiện thuận lợi loại trừ tạp chất không mong đợi.

1.2.2. Những yếu tố tác động quá trình keo tụ

Keo tụ và kết bông tảo đóng vai trò đặc biệt trong việc điều chỉnh chất lượng nước của các lĩnh vực khoa học và công nghệ môi trường. Dưới đây là những yếu tố ảnh hưởng đến quá trình này:

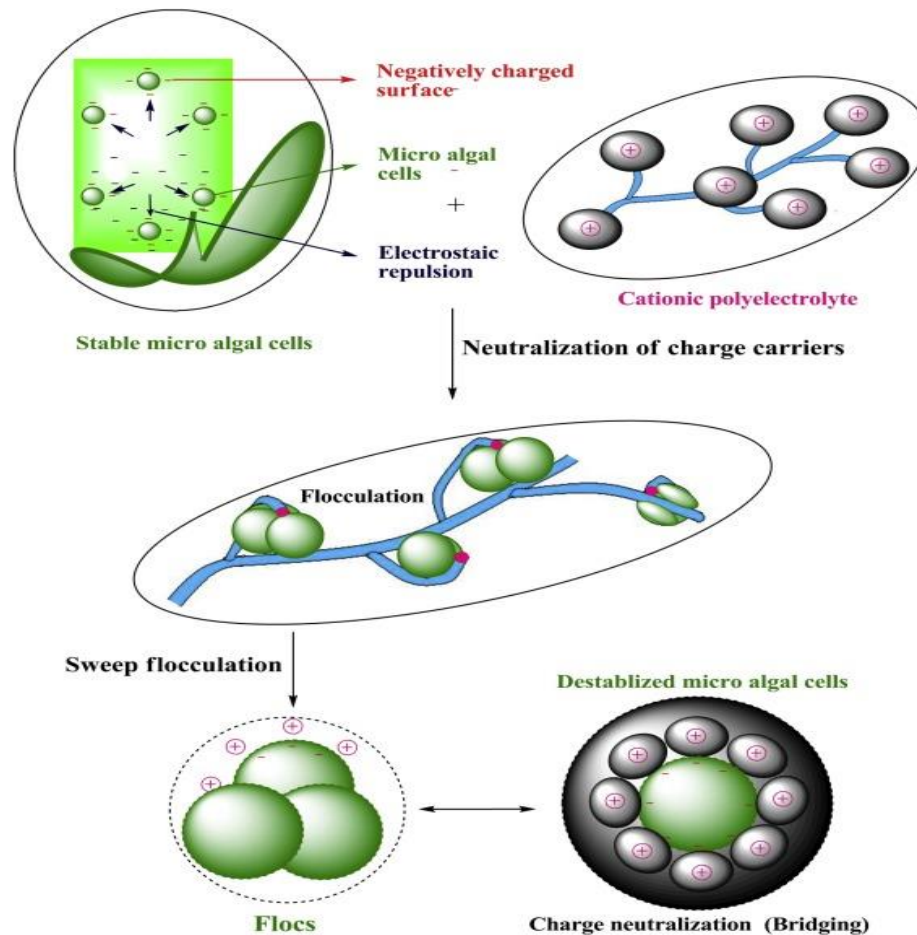
- Thay đổi pH: Tại môi trường độ kiềm thấp, những chất hữu cơ có điện tích âm, trong khi ở môi trường có độ kiềm cao, chúng mang điện tích dương. Sự liên quan tại thời gian tạo bông của dung dịch keo và trị số zeta là khi trị số zeta giảm, lực đẩy giữa các hạt keo sẽ giảm, dẫn đến tăng tốc độ đông tụ. Vì vậy, khi trị số zeta đạt giá trị bằng 0, tốc độ đông tụ sẽ đạt đỉnh điểm cao nhất.
- Độ đục: Độ đục ban đầu của nước ảnh hưởng lên hiệu quả keo tụ. Nếu nước ban đầu ở trạng thái trong thì hàm lượng các chất lơ lửng cũng thấp, làm giảm sự tạo liên kết giữa các chất keo tụ và hiệu quả quá trình xử lý.
- Các ion trong nước: Giúp tăng khả năng kết tụ qua việc giảm tính ổn định của hệ kết tụ với tác động của việc khuấy. Quá trình keo tụ sẽ đạt hiệu suất cao với một tốc độ khuấy trộn thích hợp.
- Nhiệt độ: Làm ảnh hưởng cho hiệu quả một số chất keo tụ vì khi nhiệt độ cao, hiệu suất lắng sẽ giảm.

- Tăng động năng hạt keo: Khi khuấy trộn, động năng các hạt keo tăng lên, giúp chúng tương tác và kết tụ các hạt lơ lửng một cách hiệu quả hơn. (Gunning et al., 2016).
- Độ dẫn điện (còn gọi là Cond - Electrical Conductivity) EC của môi trường tác động đến hiệu suất keo tụ tảo *Chlorella Vulgaris* trong quá trình xử lý nước. EC đo lường môi trường dẫn điện, có thể ảnh hưởng đến các quá trình liên quan đến việc tạo bông và tách tảo.
- Chất rắn hòa tan (TDS - Total Dissolved Solids) là tham số quan trọng khác có ảnh hưởng quá trình tạo bông tảo. TDS đo tổng lượng các chất hòa tan trong nước, bao gồm các ion, khoáng chất và các chất hữu cơ như hữu cơ.

1.2.3. Cơ chế keo tụ polymer

Vi tảo có kích thước từ 3-25 mm là những tế bào điện tích âm, chúng tồn tại dưới dạng huyền phù trong môi trường nuôi cấy do điện tích âm của chúng cân bằng với sự tích tụ. Bên cạnh đó, thành tế bào vi tảo mang điện tích âm, chủ yếu bởi các nhóm chức carboxylic (COOH) và amino ($-NH_2$). Tuy nhiên, cơ chế kết tủa chưa được công nhận rõ ràng (Esser & Kües, 1983; Pushparaj et al., 1993).

Keo tụ polymer là một kỹ thuật dễ dàng để thu hoạch các loại vi tảo khác nhau (Pushparaj et al., 1993), đòi hỏi liên tục bổ sung chất đa điện phân có điện tích dương mạnh. Do đó, việc thu hoạch sinh khối vi tảo đa loại được thực hiện bởi một số chất keo tụ polyelectrolyte dựa trên cation acrylamide (Van Haver & Nayar, 2017).



Hình 1.2. Cơ chế keo tụ polymer (Pugazhendhi et al., 2019)

Thông thường, sử dụng những chất keo tụ sẽ giảm được khâu chi phí, không độc hại và có hiệu suất tốt hơn so với những chất khác, ngay cả ở nồng độ thấp (Bleeke et al., 2015; Van Haver & Nayar, 2017). Cơ chế làm mất ổn định hình thành bông cặn đảm nhận quá trình hấp phụ polymer và phụ thuộc vào độ kiềm. Có ba cơ chế làm mất ổn định hình thành bông cặn, đó là trung hòa chất mang điện tích, keo tụ quét và lọc trọng lực (Hình 1.2).

1.2.4. Một số chất keo tụ phổ biến

Các chất làm lắng là hợp chất hoặc sản phẩm ứng dụng để thu hoạch tảo từ môi trường nước với khả năng gây ra sự kết tụ, làm cho các vi tảo lắng xuống hoặc tạo thành các cụm lớn hơn, từ đó dễ dàng thu thập. Điều này có giá trị trong khâu sản xuất sinh khối tảo, nhằm cung cấp nguồn dinh dưỡng cho ngành NTTS một cách hiệu quả. Vì vậy các chất keo tụ giúp thuận lợi cho việc thu hoạch, kiểm soát tảo hoặc thậm chí làm sạch môi trường nước. Dưới đây là danh sách một số chất keo tụ (Bảng 1.2).

Bảng 1.2. Danh sách những chất keo tụ phổ biến

Hóa chất	Đặc tính
Anionic polyacrylamide (PAM)	<p>PAM là polymer từ acrylamide, chúng tạo độ nhớt cho nước và giúp lắng đọng làm các chất bẩn lơ lửng.</p> <p>PAM thích hợp cho việc xử lý hồ bơi, nước thải công nghiệp và nước sinh hoạt. Nó cải thiện sự đặc, có khả năng hút nước nhanh, tăng hiệu suất lắng và được dùng để xử lý bùn hữu cơ.</p>
Poly Aluminum Chloride (PAC)	<p>PAC là một loại polymer vô cơ đa dụng, thường chứa một lượng nhôm trung bình ở khoảng 29% đến 32% và dùng để hỗ trợ lắng, cải thiện hiệu suất kết tụ, loại các chất bẩn trong quá trình xử lý nước ô nhiễm.</p>
Iron(II) sulfate (FeSO₄.7H₂O)	<p>Thực hiện quá trình xử lý nước ô nhiễm với cách phân giải để tạo ra axit. Không giống như các muối nhôm, muối sắt ít ảnh hưởng bởi nhiệt độ khi thủy phân. Để sử dụng phèn sắt hiệu quả, nước thải có mức pH khoảng từ 5 đến 9.</p>
Iron(III) chloride (FeCl₃.6H₂O)	<p>Hoạt động tốt ở nhiệt độ thấp và trong khoảng pH 7 đến 8.5, tạo keo tụ chất lượng tốt. Nó thích hợp để xử lý nước với nồng độ muối lớn và thường dùng xử lý rác thải công nghiệp với nước thải đô thị.</p>
Aluminium sulphate (Al₂(SO₄)₃.18H₂O)	<p>Al₂(SO₄)₃ là hợp chất trong nước. Khi được dùng xử lý hay lọc nước, phèn nhôm giúp keo tụ các tạp chất thành các hạt lớn, sau đó lắng thành cặn ở dưới đáy.</p>
Aluminum chloride (AlCl₃.6H₂O)	<p>AlCl₃ là hợp chất vô cơ hình thành từ nhôm, clo và áp dụng phổ biến như một chất keo tụ trong quy trình xử lý nước làm loại bỏ tạp chất và hạt.</p>

Chitosan

Là cấu tạo từ các D-glucosamine và N-acetyl-D-Glucosamine (đơn vị chứa nhóm acetyl) liên kết tại vị trí β -(1-4).

Chitosan được sản xuất từ quá trình xử lý vỏ các loài giáp xác với dung dịch kiềm NaOH, được sử dụng như một chất hấp phụ các chất ô nhiễm.

Chitosan hữu ích trong việc giảm độ đục bằng việc kết tụ các chất hữu cơ và loại trừ chất ô nhiễm trong nước, kim loại nặng và chất hữu cơ bằng phương pháp kết bông trong nhiều ngành công nghiệp nặng.

1.2.5. Các phương pháp thu hoạch tảo

Chi phí thu hoạch tảo chiếm 20-30% tổng chi phí sản xuất tảo, có thể thấy việc thực hiện thu sinh khối tảo một cách hiệu quả rất cần thiết để cải thiện điều kiện sống cho thủy sản, giảm thiểu chi phí thức ăn, tránh được lượng thức ăn còn thừa ở ao nuôi gây ảnh hưởng đến môi trường. Tảo còn là nguồn dinh dưỡng giúp chủ động và kiểm soát được nguồn thức ăn cho thủy sản, hướng đến phát triển nông nghiệp bền vững.

Áp dụng hóa chất keo tụ

Áp dụng những hóa chất kết bông như phèn sắt, phèn nhôm, chitosan,... để kết tụ tảo thành các cụm lớn, dễ thu hoạch. Quá trình keo tụ bằng hóa chất làm cho tảo trở nên dày đặc và dễ dàng tách ra khỏi nước (Hình 1.3).



Hình 1.3. Các hóa chất keo tụ

Lọc cơ học

Sử dụng hệ thống lọc cơ học để lấy tảo từ nước. Các phương tiện lọc như bộ lọc thấp áp, lọc sơ cấp và lọc màng có thể dùng mang tảo ra khỏi nước. Phương pháp lọc cơ học tốn kém vì tốn năng lượng do phải lọc thường xuyên (Hình 1.4).



Hình 1.4. Máy lọc nước thu hoạch tảo

Thu hoạch bằng cách cuốn

Sử dụng các hệ thống cuốn để thu hoạch tảo từ mặt nước hoặc các bể chứa. Tảo được cuốn lên theo các vật liệu dùng trong hệ thống sau đó thu hoạch tảo (Hình 1.5). Phương pháp này chủ yếu dùng cho tảo sợi và chi phí cao do vận hành hệ thống lọc liên tục.



Hình 1.5. Lò phản ứng màng sinh học tảo quay

Sử dụng hệ thống lọc màng

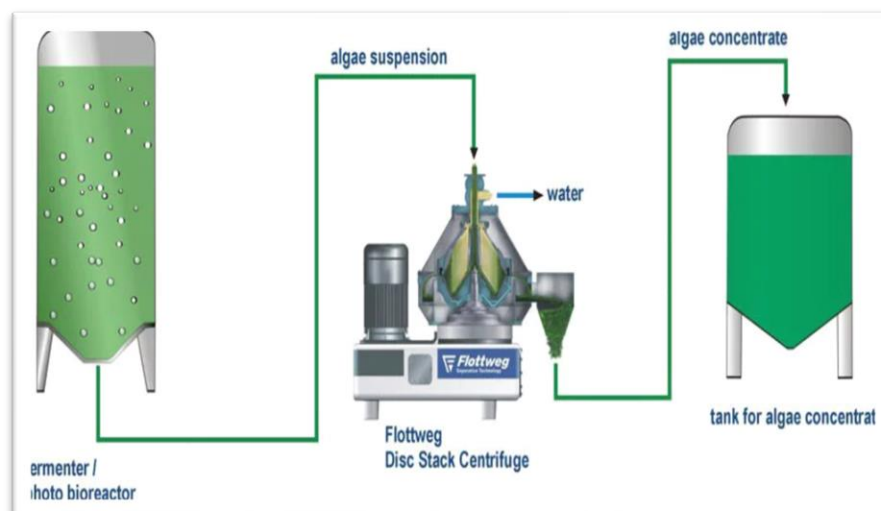
Dùng lọc bằng màng giúp thu tảo dựa trên kích thước và tính chất của chúng (Hình 1.6). Lọc màng cho phép tách tảo bằng cách chọn màng lọc theo đặc tính loại tảo. Phương pháp màng lọc không dùng được cho tảo có kích thước nhỏ.



Hình 1.6. Tách sinh khối tảo bằng lọc màng vải

Ly tâm

Phương pháp này dễ tiếp cận trong việc thực hiện và duy trì giá trị dinh dưỡng của tảo mang lại hiệu suất thu hồi đáng kể nhưng khi tảo trải qua quá trình ly tâm vận tốc mạnh, có nguy cơ làm phá vỡ cấu trúc tế bào. Đồng nghĩa khi thu hoạch một lượng lớn tảo có thể tốn thời gian và cần những thiết bị đắt tiền và vận hành với chi phí cao (Hình 1.7).



Hình 1.7. Thu hoạch tảo bằng máy Flottweg

1.3. TÌNH HÌNH NGHIÊN CỨU TRONG NƯỚC VÀ NGOÀI NƯỚC

1.3.1. Các nghiên cứu trong nước

Theo tác giả T.S. Ngọc (2017) nhằm khám phá ra điều kiện dinh dưỡng và hàm lượng glucose phù hợp cho sự phát triển của vi tảo *Chlorella sp.* Nghiên cứu này thực hiện gồm hai thí nghiệm tiến hành tại phòng thí nghiệm với tảo được nuôi trong bình thủy tinh 8 lít có mật độ 2×10^6 tế bào/mL, nhiệt độ 26 - 28°C, độ mặn 25% và môi trường nuôi cấy tảo là Walne. Tảo được nuôi trong các điều kiện khác nhau như: Quang dưỡng, dị dưỡng và quang dị dưỡng. Kết quả cho biết tảo *Chlorella sp.* tăng trưởng tốt nhất tại nghiệm thức quang dị dưỡng và cho số lượng tế bào đạt đến $106,534 \pm 0,69 \times 10^6$ tế bào/mL (Ngọc et al., 2017).

Nhà nghiên cứu P.T. Mai đã tiến hành một nghiên cứu thu hoạch vi tảo *Chlorella sorokiniana* và *Scenedesmus acuminatus* với nhiều phương pháp. Trong đó, phương pháp kết bông dùng PACI đem lại hiệu quả tốt nhất tại hiệu suất đạt trên 94% so với các phương pháp khác như ly tâm và lọc. Qua đó có thể kết luận rằng vi tảo được thu thập bằng cách keo tụ ở đề tài này rất tiềm năng cho công nghệ xử lý nước thải (Mai et al., n.d.).

Theo một nghiên cứu vào năm 2022, việc sử dụng tảo để loại đạm và lân trong nước thải nuôi tôm của tác giả Lâm đã chứng minh ứng dụng của tảo CV trong quá trình xử lý nước và chất thải là điều quan tâm và cấp thiết. Công trình này dùng tảo CV kết hợp bể phản ứng quang sinh học màng (PMBR) và kiểm tra sự tương thích của tảo ở môi trường nước với độ mặn là 13%. Qua đó đánh giá khả năng xử lý nước thải nuôi tôm với các chỉ số được phân tích là nitrat ($N-NO_3^-$), nitrit ($N-NO_2^-$), amoni ($N-NH_4^+$), phốt pho ($P-PO_4^{3-}$). Kết quả cho biết vi tảo thuần chủng thích nghi tốt với độ mặn của nước thải và với chế độ chạy không tiêu tốn năng lượng cấp khí, hiệu suất khử $N-NO_3^-$, $N-NO_2^-$, $N-NH_4^+$, $P-PO_4^{3-}$ của mô hình với nước thải nuôi tôm tương ứng là 56, 76, 15, 65 và 78,07% (Lâm et al., 2022).

Nghiên cứu sự ảnh hưởng của vật liệu nano bạc lên khả năng sinh trưởng của tảo lục *Chlorella Vulgaris* vào năm 2017 của nhóm tác giả T. Hương, với các phương pháp như: Kính hiển vi điện tử truyền qua (TEM), kính hiển vi điện tử quét (SEM) và phổ hấp phụ phân tử (UV-VIS) dùng để kiểm tra những đặc trưng các vật liệu. Vật liệu nano bạc tổng hợp bởi phương pháp điện hóa và các hạt nano bạc thể hiện hoạt tính ức chế

sinh trưởng đối với chủng tảo lục CV. Tại nồng độ dung dịch bạc bổ sung là 0,05; 0,1 và 1 (ppm) thấy rõ khả năng diệt tảo lớn nhất sau 10 ngày thí nghiệm với hiệu suất ức chế >90% ghi nhận từ các nồng độ thử nghiệm từ 0,05 đến 1 (ppm) (Thi Thu Huong & Thi Thuy, 2017).

Năm 2013, tác giả C. Bắc đã thực hiện thí nghiệm nuôi trồng sinh khối *Chlorella sp.* sử dụng nước thải ao cá tra. Thí nghiệm này thực hiện 10 ngày và sử dụng mẫu đối chứng là nước cất với các nghiệm thức là dung dịch Walne, 75% và 100% nước thải 10 lít (trong đó 4,5 lít nước thải và 0,5 lít dung dịch tảo). Sinh khối *Chlorella sp.* nuôi với dung dịch Walne. Mật độ của tảo và các yếu tố như nhiệt độ, pH, DO, N- NO_3^- và N- NH_4^+ , P- PO_4^{3-} được thu thập và phân tích vào ngày 0, 1, 3, 5, 7, 9 của quá trình nuôi trồng tảo. Kết quả là những điều kiện trên thích hợp cho sự tăng trưởng của tảo *Chlorella*, với khả năng phát triển tốt nhất trong nghiệm thức 100% nước thải ở ngày thứ 3. Tảo *Chlorella* hấp thu chất dinh dưỡng khá nhiều trong ngày 3 và hàm lượng N- NO_3^- giảm từ 5,49 mg/L đến 0,26 mg/L, N- NH_4^+ từ 0,782 mg/L đến 0,042 mg/L và P- PO_4^{3-} từ 0,97 mg/L đến 0,11 mg/L cho hiệu quả lần lượt là 95,27%, 43,48% và 88,66% (Chân Bắc, n.d.).

1.3.2. Các nghiên cứu ngoài nước

Nhà nghiên cứu M. Mubarak và cộng sự năm 2020 đã nghiên cứu thu hoạch tảo *Chlorella pyrenoidosa* bằng nhiều phương pháp cụ thể như ly tâm, lọc và thực hiện quá trình kết bông vi tảo dùng sự điều chỉnh pH và phương pháp dùng hóa chất keo tụ. Sau khi đã tiến hành tối ưu những tham số như nồng độ chất keo tụ, nồng độ sinh khối và thời gian keo tụ bằng FeCl_3 . Trong số các phương pháp trên, hóa chất tạo keo tụ được sử dụng là FeCl_3 và keo tụ điện sử dụng điện cực sắt cho hiệu suất cao nhất lần lượt là 98,5, 95%. Kết quả thể hiện FeCl_3 thích hợp cho việc tạo keo tụ và thu hoạch vi tảo (Mubarak et al., 2020).

Năm 2012, nhà nghiên cứu KU. Leuven cùng những cộng sự đã nghiên cứu đề tài về sự bài tiết một lượng tương đối lớn chất hữu cơ tảo (AOM) cản trở quá trình keo tụ. Ảnh hưởng của AOM đến quá trình keo tụ của *Chlorella Vulgaris* đã được nghiên cứu bằng năm phương pháp keo tụ khác nhau: nhôm sunfat, chitosan, tinh bột cation, keo tụ do pH và keo tụ điện kết bông (ECF). Sự hiện diện của AOM có tác dụng ức chế quá trình keo tụ đối với tất cả các phương pháp keo tụ dẫn đến tăng nhu cầu về liều lượng.

Đối với quá trình keo tụ do pH gây ra, liều lượng cần thiết để đạt được mức keo tụ 85% chỉ tăng gấp 2 lần khi có AOM, trong khi đối với chitosan, liều lượng này tăng gấp 9 lần. Đối với quá trình keo tụ tinh bột bằng phèn, ECF và cation, liều lượng tăng gấp 5–6 lần. Sự can thiệp của AOM là một thông số quan trọng phải xem xét khi thu hoạch vi tảo dựa trên phương pháp keo tụ (Vandamme et al., 2012).

Năm 2014, nhóm tác giả tại Đài Loan đã nghiên cứu về đặc tính của chất tạo bông từ tảo tạo bông tự nhiên *Chlorella Vulgaris* JSC-7. Trong công trình này, quá trình keo tụ tế bào của vi tảo tạo bông tự nhiên *Chlorella Vulgaris* JS-7 đã được nghiên cứu và chất keo tụ được xác định là polysaccharides của thành tế bào mà chiết xuất thô được bổ sung ở liều lượng thấp 0,5 mg/L đã tạo ra hơn 80% quá trình keo tụ. tỷ lệ vi tảo lơ lửng tự do *C. Vulgaris* CNW11 và *Scenedesmus obliquus* FSP. Phân tích hồng ngoại biến đổi Fourier (FTIR) cho thấy dải hấp thụ đặc trưng ở 1238 cm^{-1} , phát sinh từ dao động kéo dài không đối xứng P = O của phosphodiester PO_2^- . Polysaccharit liên kết với thành tế bào duy nhất có trọng lượng phân tử 9,863103 g/mol và các monome bao gồm glucose, mannose và galactose với tỷ lệ phân tử là 5:5:2. Kết luận rằng chất keo tụ từ *C. Vulgaris* đã được xác định đặc tính, có thể cung cấp cơ sở để hiểu về quá trình keo tụ tế bào của vi tảo và nhân giống tảo keo tụ mới để thu hoạch sinh khối hiệu quả về mặt chi phí (Alam et al., 2014).

Chương 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. VẬT LIỆU VÀ HÓA CHẤT

2.1.1. Vật liệu

2.1.1.1. Nguồn tảo

Giống tảo *Chlorella Vulgaris* sử dụng trong thí nghiệm được cung cấp từ Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản II. Sau đó, tảo được phát triển và nhân giống ở phòng thí nghiệm Quan trắc Môi trường, tọa lạc tại lầu 3, Khoa Kỹ thuật Thực phẩm và Môi trường, Đại học Nguyễn Tất Thành, địa chỉ số 331 Quốc lộ 1A, Quận 12, Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam. Môi trường để nuôi cấy tảo *Chlorella Vulgaris* là môi trường BG11.

2.1.1.2. Nuôi cấy nhân giống tảo CV

Nhân giống tảo được thực hiện như sau: 40mL tảo gốc *Chlorella Vulgaris* từ bình tam giác 250mL BG-11 được cấy sang bình nuôi duy trì 2L BG-11 và nuôi trong vòng 3 tuần dưới điều kiện nhiệt độ, ánh sáng đã trình bày ở phần trên để đạt OD từ 0.9-1,0 phục vụ cho thí nghiệm lắng tảo để thu hồi sinh khối tảo.



Hình 2.1. Bình tảo gốc và bình tảo được cấy nuôi duy trì

2.1.2. Hóa chất nghiên cứu

Những chất sử dụng để làm keo tụ tảo *Chlorella Vulgaris* là phần quan trọng trong quá trình lọc và thu hoạch tảo. Những chất này giúp tách tảo CV khỏi môi trường và tạo thành một khối tảo dễ dàng thu thập. Dưới đây là một số chất hóa học dùng trong quá trình này:

Bảng 2.1. Chất tạo keo tụ tảo *Chlorella Vulgaris*

Chất tạo keo tụ	
FeCl ₃	Xilong, Trung Quốc (Độ tinh khiết 99.0 – 102.0 %)
FeSO ₄	Xilong, Trung Quốc (Độ tinh khiết 99.0 - 101.0%)
AlCl ₃	Xilong, Trung Quốc (Độ tinh khiết ≥ 97%)
Al ₂ (SO ₄) ₃	Xilong, Trung Quốc (Độ tinh khiết ≥ 99.0%)
Chitosan	Bột chitosan (độ deacetyl hóa trung bình từ 80-95%) được mua ở công ty TNHH MTV Chitosan Kiên Giang.



Hình 2.2. Hệ thống nuôi cấy sinh khối tảo

Bảng 2.2. Thành phần môi trường BG11 (Blue-Green-Medium) nuôi tảo *Chlorella Vulgaris*

STT	Hóa chất	Nồng độ (g/mL)
1	NaNO ₃	75g/500mL
2	K ₂ HPO ₄	2g/500mL
3	MgSO ₄ ·7H ₂ O	3.75g/500mL
4	CaCl ₂ ·2H ₂ O	1.8g/500mL
5	Citric acid	0.3g/500mL
6	Ferric ammonium citrate	0.3g/500mL
7	EDTA (disodium salt)	0.05g/500mL
8	Na ₂ CO ₃	1g/500mL
9	Trace metal solution bao gồm:	
	H ₃ BO ₃	2.86g
	MnCl ₂ ·4H ₂ O	1.81g
	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0.222g
	Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0.39g
	CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.079g
	Co(NO ₃) ₂ ·6H ₂ O	0.049g

- Cách pha môi trường BG11

Chuẩn bị một bình thủy tinh có nắp với dung tích 2L, sử dụng ống bóp cao su và pipet dung tích 10ml để trộn những thành phần tạo thành môi trường BG11 vào bình. Trong quá trình này, rút lần lượt 20mL/2L của mỗi thành phần các bình chứa hóa chất từ số 1-8 và rút 10mL/2L cho bình chứa hóa chất số 9. Sau đó, đổ tất cả vào bình 2L và bổ sung nước cất.

Khi đã hoàn thành việc pha trộn, đặt bình chứa môi trường BG11 vào nồi hấp tiệt trùng ở nhiệt độ 121°C, sau đó để bình môi trường BG11 nguội ở nhiệt độ phòng. Môi trường BG11 này sẽ được sử dụng để nuôi trồng tảo *Chlorella Vulgaris*.

2.1.3. Dụng cụ và thiết bị

Bảng 2.3. Các thiết bị thí nghiệm

Thiết bị Thí nghiệm			
STT	Tên thiết bị	Tên công ty	Nước sản xuất
1	Máy lác ổn nhiệt Jinghong Trung Quốc I.S-316000	Jinghong	China
2	Tủ âm Lovibond Úc 0002	Lovibond	Australia
3	Kính hiển vi - dòng bScope	Euromex	Netherlands
4	Tủ an toàn sinh học cấp II Class II Biosafety Cabinet		China
5	Máy quan phổ UV - VIS - Halo XB10	Dynamica	England
6	Nồi hấp tiệt trùng		
7	Tủ đông	Sanaky	VietNam
8	Tủ mát	Sanaky	VietNam

Bảng 2.4. Dụng cụ thí nghiệm

Dụng cụ thí nghiệm			
STT	Tên dụng cụ	Tên công ty	Nước sản xuất
1	Bình nắp xanh 1000ml, 2000ml	Duran	Germany
2	Erlen 250ml	Duran	Germany
3	Ống nghiệm	Duran	Germany
4	Bình cùn		Italy
5	Bình tia		China
6	Pipet	Gamalab	Germany
7	Micropipet	Dragon Lab	China
8	Giá đựng ống ly tâm		Vietnam
9	Giá đựng ống nghiệm		Vietnam
10	Đầu tuýp micropipet	Biologix	Ameria
11	Ống ly tâm	Biologix	Ameria
12	Cuvet	Kartell	Italy
13	Ống đong	Duran	Germany
14	Bình nhựa 1000ml, 2000ml	Duy Tân	Vietnam
15	Máy sủi oxy	Resun	China
16	Đèn led	Rạng Đông	Vietnam

2.2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Bố trí thí nghiệm

Môi trường BG11 sử dụng để nuôi sinh khối tảo CV. Hệ thống nuôi sinh khối được triển khai trong bình 2L và sử dụng hệ thống chiếu sáng và sục khí oxy liên tục. Thí nghiệm được tiến hành khi điều kiện sinh khối tảo đạt trạng thái ổn định với pH duy trì ở mức 7,0 – 8,0; mật độ đo quang của dung dịch huyền phù tảo ở $OD_{680} = 0,9 - 1$. Chất keo tụ được đưa vào từng cốc chứa tảo và được trộn với tốc độ 100 vòng/phút trong 5 phút, sau đó để yên trong một giờ.

Thí nghiệm 1: Xác định nồng độ dung dịch muối vô cơ và chitosan tối ưu trong quá trình kết bông và keo tụ tảo *Chlorella Vulgaris*

Bảng 2.5. Nồng độ các dung dịch muối vô cơ và chitosan trong quá trình kết bông và keo tụ tảo CV

Nhân tố cố định: pH = 8,5 - 9; 37°C; $OD_{680} = 0,95 - 1$						
Nhân tố khảo sát	Nồng độ mg/L					
FeCl ₃	0	50	100	150	200	250
FeSO ₄	0	50	100	150	200	*
AlCl ₃	0	10	30	50	70	100
Al ₂ (SO ₄) ₃	0	50	100	150	200	*
Chitosan	0	5	10	15	20	30

Thí nghiệm 2: Xác định sự ảnh hưởng của pH, TDS và EC đến quá trình keo tụ tảo CV

Bảng 2.6. Khảo sát ảnh hưởng của pH, TDS và EC đến quá trình keo tụ tảo CV

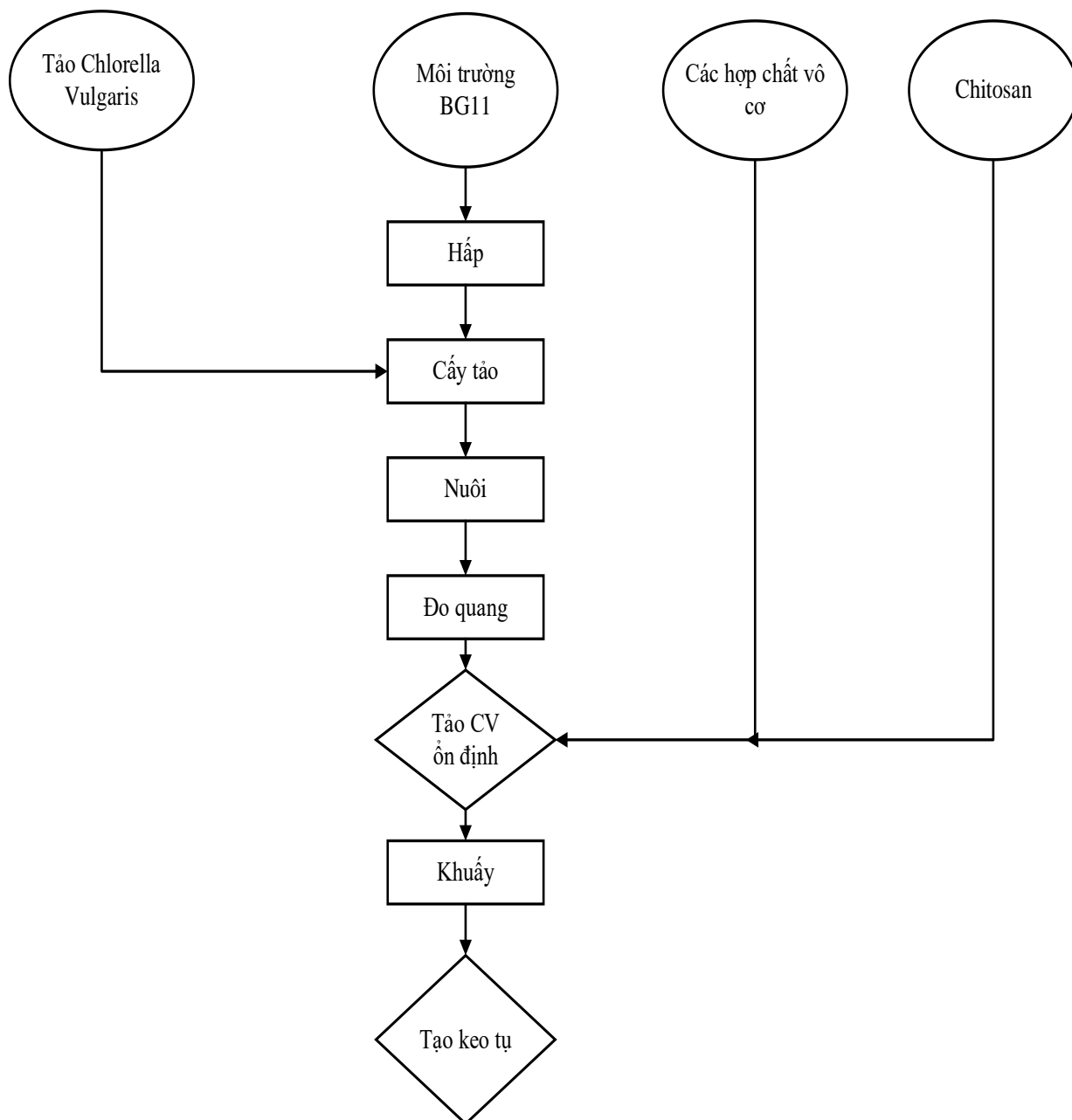
Nhân tố khảo sát pH	Nhân tố cố định	Đánh giá
8	– Nồng độ chất keo tụ tối ưu	– Độ dẫn điện (EC)
9	– Nhiệt độ: 37°C	– Chất rắn hòa tan (TDS)
10	– $OD_{680} = 0,95 - 1$	– Hiệu suất keo tụ (T%)
11		

Thí nghiệm 3: Đánh giá hình ảnh keo tụ tảo CV

Tảo CV sau khi được keo tụ bằng các nguyên liệu tạo keo sẽ được chụp lại hình ảnh lắng và soi cấu trúc vi tảo bằng kính hiển vi.

2.3. QUY TRÌNH THÍ NGHIỆM

Sơ đồ quy trình được trình bày trong hình 2.3



Hình 2.3. Sơ đồ quy trình nghiên cứu quá trình keo tụ tảo CV

Thuyết minh quy trình

Môi trường BG11 được chuẩn bị và đã hấp khử trùng để nuôi tảo *Chlorella Vulgaris*. Tảo CV 2% được lấy từ bình tảo gốc. Tảo được nhân giống đủ số lượng đưa vào mô hình thực hiện thí nghiệm nuôi sinh khối tảo. Sau 10 ngày nuôi trồng tảo bắt đầu đo OD bước sóng 680 nm. Khi tảo có giá trị OD ổn định sẽ được làm thí nghiệm lắng tảo (Hình 2.3).

Thí nghiệm tảo lắng với các muối vô cơ (AlCl_3 , $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$, FeCl_3 , FeSO_4) và chitosan sau đó ghi nhận lại các hiện tượng, đánh giá hình thái kết bông (lắng) và keo tụ tảo. Sau khi tìm ra nồng độ tối ưu của các chất keo tụ, bắt đầu khảo sát pH ở những giá trị 8, 9, 10 và 11 với các nồng độ tối ưu nhất của các chất keo tụ.

2.4. PHƯƠNG PHÁP PHÂN TÍCH

2.4.1. Xác định hiệu suất kết bông tảo

Hiệu suất thu hồi sinh khối tảo xác định dựa trên thể tích tảo sau khoảng thời gian lắng nhất định. Hiệu suất kết bông xác định bằng công thức sau:

$$H (\%) = \frac{V_f}{V_i} \times 100$$

Trong đó:

V_i là thể tích tảo sử dụng;

V_f là thể tích tảo sau khi lắng.

2.4.2. Xác định hiệu suất keo tụ

Hiệu suất thu hồi sinh khối tảo xác định dựa trên sau khoảng thời gian nhất định. Hiệu suất keo tụ được xác định bằng công thức:

$$T (\%) = \frac{OD_i - OD_f}{OD_i} \times 100$$

Trong đó:

OD_i là mật độ quang trước khi cho chất tạo lắng;

OD_f là mật độ quang sau khi lắng.

2.4.3. Cấu trúc tảo qua kính hiển vi

Để soi tảo qua kính hiển vi, cần tuân thủ theo những bước dưới đây:

Bước 1: Chuẩn bị mẫu tảo:

Thu thập mẫu tảo và chuẩn bị mẫu dưới dạng một giọt nước chứa tảo hoặc một lát mỏng tảo trên lam kính.

Bước 2: Chuẩn bị kính hiển vi:

Bật kính hiển vi và điều chỉnh độ lớn của đèn chiếu sáng để có độ sáng phù hợp. Điều chỉnh tiêu cự chuẩn bị cho việc quan sát tảo.

Bước 3: Đặt mẫu tảo lên lam kính

Bước 4: Điều chỉnh đèn chiếu sáng lên từ dưới đáy để ánh sáng chiếu vào mẫu.

Bước 5: Quan sát tảo:

Điều chỉnh độ lớn và nét của hình ảnh bằng cách sử dụng các nút điều chỉnh trên kính hiển vi để có hình ảnh rõ ràng và sắc nét.

Bước 6: Ghi chú lại các đặc điểm quan sát của tảo, hình dạng, kích thước, cấu trúc tế bào, và các đặc điểm sinh học khác.

2.4.4. Xử lý số liệu

Các thí nghiệm sắp xếp ngẫu nhiên và thực hiện lặp lại ba lần. Số liệu kết quả thí nghiệm thu được sẽ phân tích bằng phần mềm Excel 2016.

Chương 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

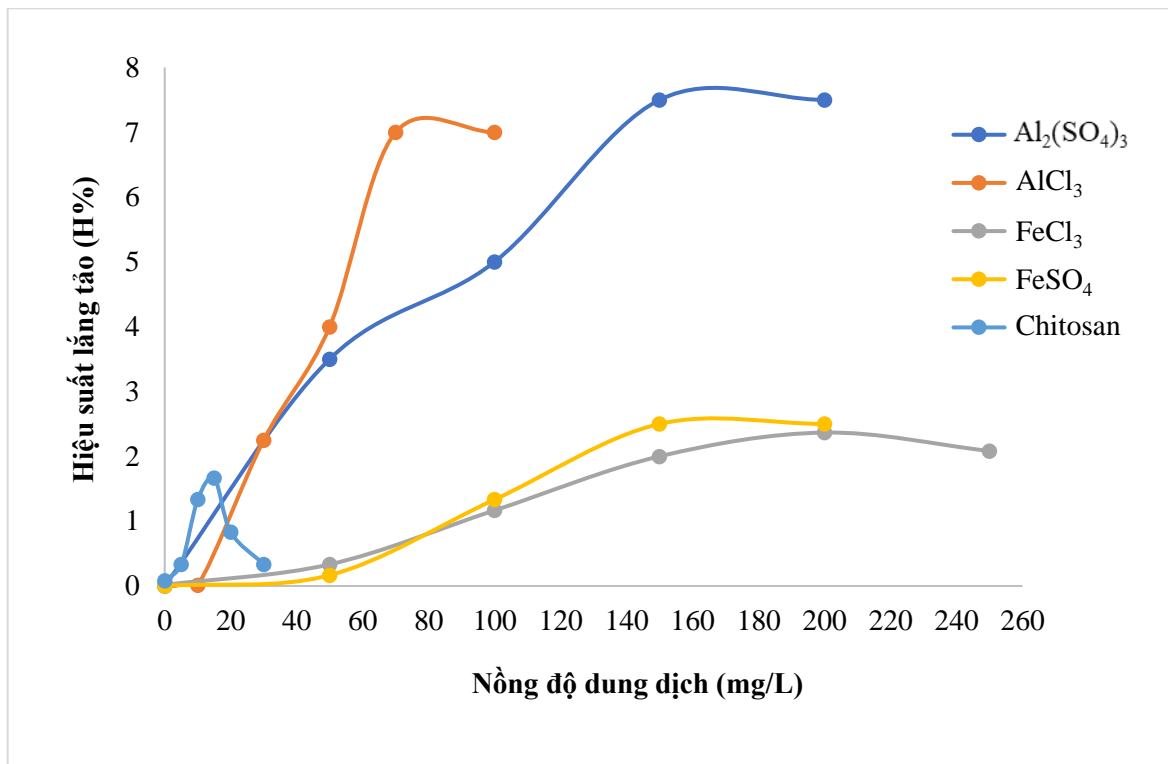
3.1. XÁC ĐỊNH NỒNG ĐỘ DUNG DỊCH MUỐI VÔ CƠ VÀ CHITOSAN TỐI ƯU TRONG QUÁ TRÌNH LẮNG TẢO *CHLORELLA VULGARIS*

3.1.1. Ảnh hưởng của nồng độ các chất keo tụ đến hiệu suất kết bông của tảo *Chlorella Vulgaris*

Hiệu quả của các chất kết tụ đến hiệu suất tạo bông của tảo CV thể hiện trong biểu đồ đường (hình 3.1). Nhìn chung, hiệu suất kết bông tảo CV từ các muối vô cơ có xu hướng tăng dần khi nồng độ muối tăng, sau khi đạt giá trị cực đại thì hầu như không thay đổi nếu vẫn tiếp tục tăng nồng độ.

Số liệu từ đồ thị đường cho thấy cho hiệu suất kết bông lớn nhất của các muối vô cơ: FeCl_3 200mg/L, FeSO_4 150mg/L, AlCl_3 70mg/L và $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ 150mg/L tương ứng lần lượt là 2.36%, 2.50%, 7% và 7.5%. Còn đối với chitosan, hiệu suất kết bông tảo CV đạt giá trị cực đại 1.67% mặc dù nồng độ chitosan sử dụng thấp tại 15mg/L. Các tảo CV mang điện tích âm khá ổn định trong dạng huyền phù, nên khi bổ sung muối vô cơ tích điện dương thì sẽ trung hòa điện tích trong các tế bào CV (Walker TL, 2005).

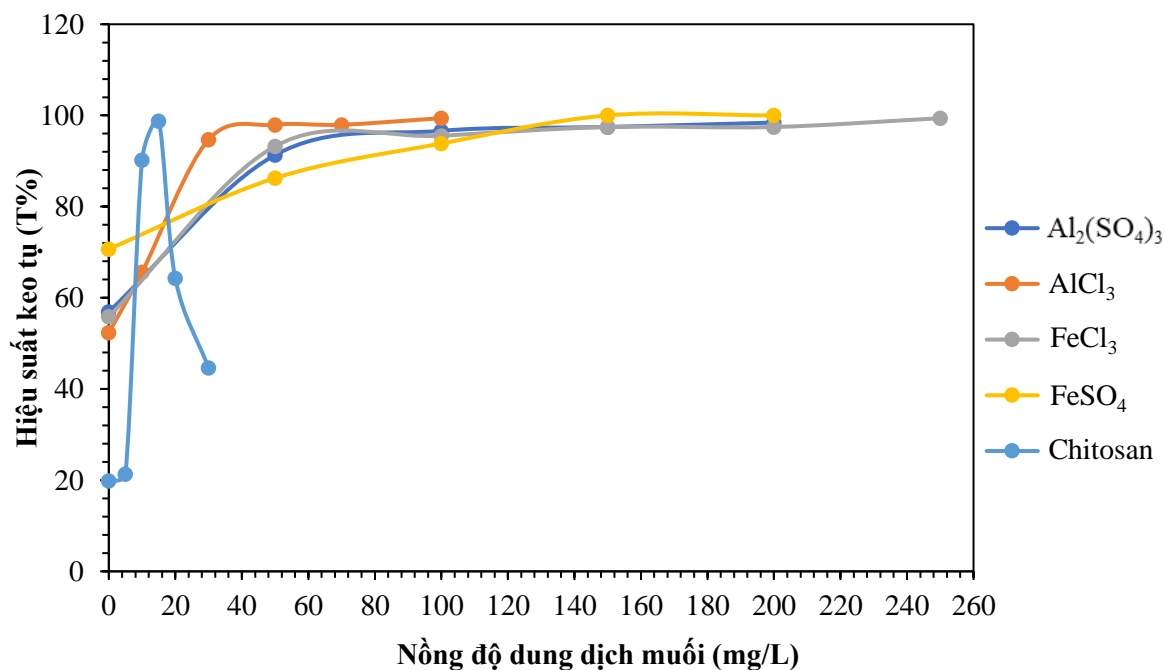
Mặc dù nồng độ tối ưu mang lại hiệu quả kết bông (lắng tảo) của muối nhôm AlCl_3 và $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ là chấp nhận được (khoảng 7%) nhưng liều lượng sử dụng là rất cao khi được so với chitosan. Điều này phù hợp với các kết quả tài liệu trong đó hiệu suất keo tụ được cải thiện (>90%) của các chất keo tụ vô cơ như sắt clorua, nhôm sunfat cần liều lượng cao (Bảng A.1). Phương pháp thu hoạch tảo bằng cách cho tảo kết bông bằng các chất hóa học so với chitosan cho ra hiệu suất cao, nhưng việc loại bỏ những kim loại chứa trong tảo đã trải qua quá trình lắng bằng các chất hóa chất không được khuyến khích về mặt lâu dài. Chitosan là một chất keo tụ tốt, có khả năng xử lý môi trường sống cho vật nuôi và đặc biệt là chitosan không chứa các thành phần như ion kim loại loại gây độc. Vì vậy, sử dụng chitosan dùng để lắng tảo an toàn hơn chỉ với nồng độ dung dịch thấp, thích hợp làm thức ăn cho vật nuôi.



Hình 3.1. Ảnh hưởng của nồng độ các chất kết bông đến hiệu suất lắng của tảo *Chlorella Vulgaris*

3.1.2. Ảnh hưởng của nồng độ các chất keo tụ đến hiệu suất keo tụ của tảo *Chlorella Vulgaris*

Ảnh hưởng của nồng độ những hợp chất vô cơ và chitosan đến hiệu suất keo tụ của tảo *Chlorella Vulgaris* được thể hiện qua hình 3.2. Độ keo tụ của muối $FeCl_3$ 50mg/L, $FeSO_4$ 100mg/L, $AlCl_3$ 30mg/L, $Al_2(SO_4)_3$ 50mg/L, và chitosan 10mg/L đều đem lại giá trị đạt trên 90% khi để tảo keo tụ trong khoảng thời gian từ 10 đến 20 phút, sau đó tiếp tục tăng nhẹ khi tăng dần nồng độ các chất tạo keo tụ. Đồ thị cho thấy nồng độ các chất keo tụ để hiệu suất keo tụ trên 90% đều thấp hơn khi so với nồng độ để đạt hiệu suất kết bông tối ưu. Nếu tiếp tục tăng nồng độ chitosan thì dẫn đến sự ổn định của vi tảo nuôi cấy, làm giảm hiệu quả loại bỏ vi tảo của quá trình keo tụ. Như vậy, sự có mặt của các chất keo tụ vô cơ đã cải thiện hiệu suất keo tụ của dung dịch huyền phù tảo CV, phù hợp với các kết quả tài liệu trước đó. Sự thay đổi trong quá trình nuôi cấy và tăng trưởng của vi tảo các điều kiện có thể chịu trách nhiệm cho sự khác biệt về liều lượng tối ưu giữa các nghiên cứu này.



Hình 3.2. Ảnh hưởng của nồng độ các chất kết bông đến hiệu suất keo tụ của tảo *Chlorella Vulgaris*

Như vậy, có thể kết luận rằng nồng độ của dung dịch các chất keo tụ có sự ảnh hưởng lớn đến quá trình lắng tảo CV. Cụ thể nồng độ dung dịch các chất tối ưu để thu hoạch được thể hiện ở bảng 3.1.

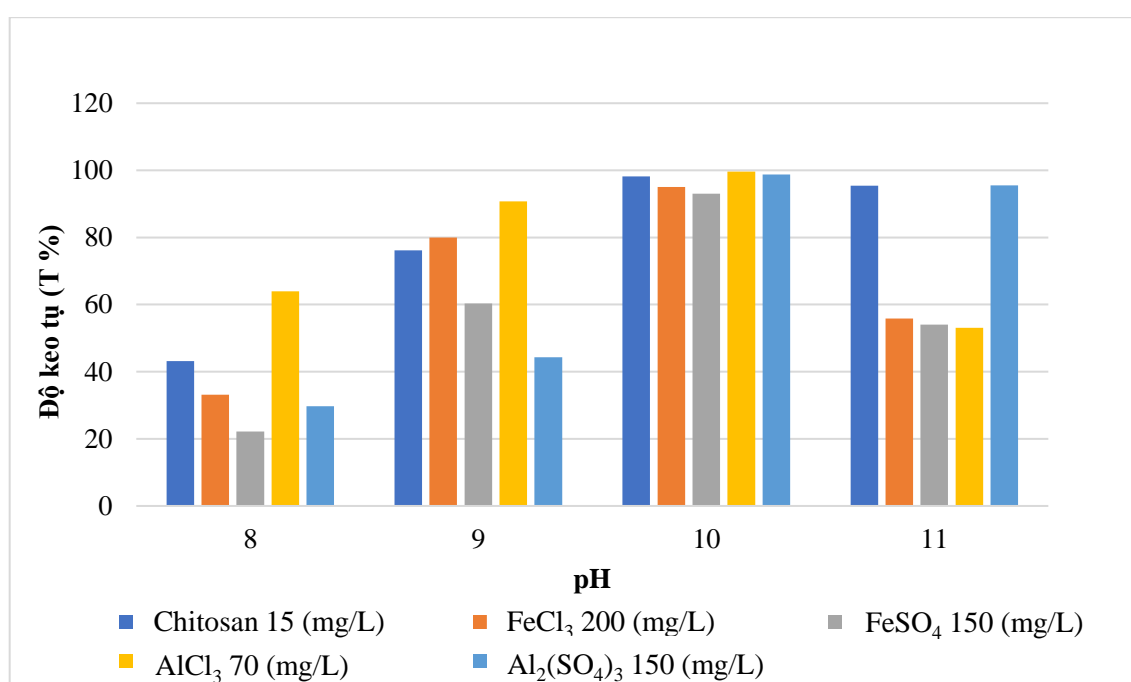
Bảng 3.1. Nồng độ dung dịch tối ưu thu hoạch tảo CV với giá trị OD₆₈₀ > 93%

Điều kiện	Kết quả keo tụ	
	Chất keo tụ	Nồng độ tối ưu (mg/L)
pH = 9 t = 37°C	FeCl ₃	200
	FeSO ₄	150
	AlCl ₃	70
	Al ₂ (SO ₄) ₃	150
	Chitosan	15

3.2. KHẢO SÁT SỰ ẢNH HƯỞNG CỦA pH ĐẾN QUÁ TRÌNH KEO TỤ, CHẤT RẮN HÒA TAN VÀ ĐỘ DẪN ĐIỆN CỦA DUNG DỊCH TẢO *CHLORELLA VULGARIS*

3.2.1. Ảnh hưởng của pH lên hiệu suất keo tụ trong quá trình lắng tảo CV bằng các chất keo tụ

Qua các kết quả thí nghiệm, có thể xác định hiệu suất keo tụ mà lượng muối vô cơ và chitosan tối ưu đã được sử dụng cho quá trình keo tụ tảo CV để thể hiện sự thay đổi pH trong hình trên. Tiêu chí để lựa chọn pH tối ưu là tại thời điểm hiệu suất tạo keo tụ lớn nhất trong quá trình lắng tảo.



Hình 3.3. Sự ảnh hưởng của pH lên T% trong quá trình lắng tảo của các chất keo tụ

Tại pH = 10, ở nồng độ tối ưu của các chất keo tụ là FeCl₃ 200mg/L, FeSO₄ 150mg/L, AlCl₃ 70mg/L, Al₂(SO₄)₃ 150mg/L, và chitosan 15mg/L, đạt hiệu suất keo tụ lần lượt là 95%, 93%, 99.5%, 98.7% và 98%. Tuy nhiên tại pH = 8, các chất keo tụ với nồng độ tối ưu là FeCl₃ 200mg/L, FeSO₄ 150mg/L, AlCl₃ 70mg/L, Al₂(SO₄)₃ 150mg/L, và chitosan 15mg/L nhưng có hiệu suất keo tụ thấp hơn lần lượt là 33%, 22%, 64%, 29.6% và 43%.

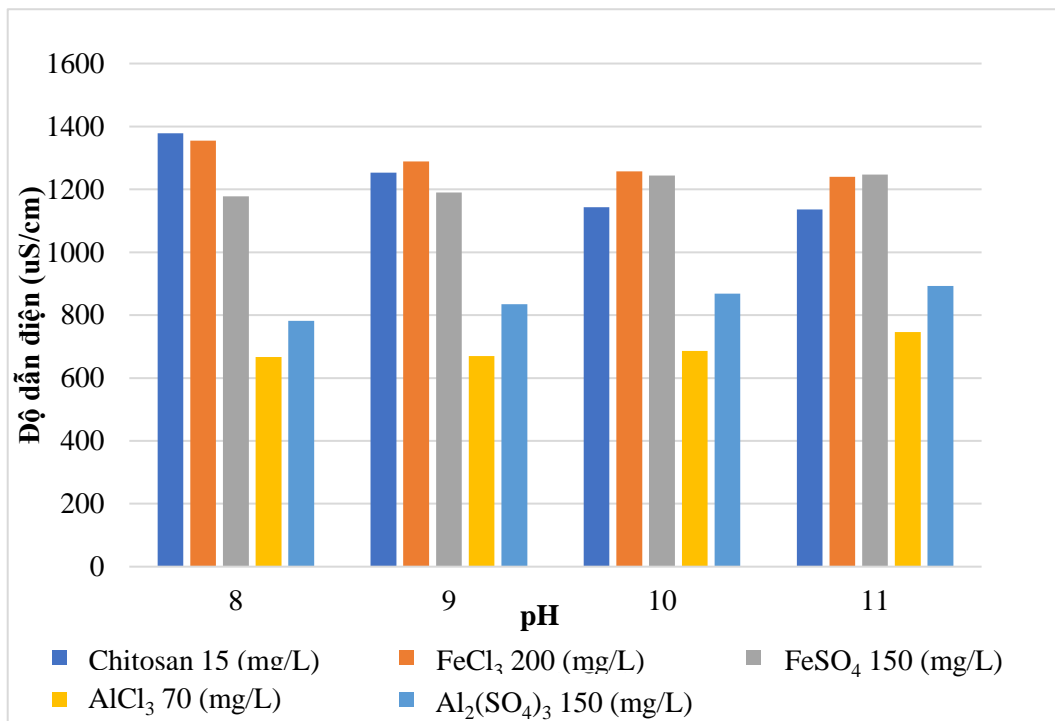
Các kết quả trên cho thấy tảo *Chlorella Vulgaris* sẽ có độ keo tụ cao và chất lượng khi giá trị pH tại 10 và thấp nhất tại pH 8. Vì pH là một yếu tố quan trọng và có sự ảnh hưởng đến hiệu suất keo tụ tảo *Chlorella Vulgaris*. Khi thay đổi pH sẽ làm thay đổi môi trường và ảnh hưởng đến khả năng tạo keo của các chất lắng đọng. Để đạt được

giá trị pH mong muốn, bằng cách thêm NaOH và HCl sau đó cho lần lượt các chất keo tụ với nồng độ tối ưu. Khi pH đã được thay đổi, các ion trong nước và tảo *Chlorella Vulgaris* có thể tạo thành kết tủa khó tan hoặc ngược lại, tùy thuộc vào điều kiện pH. Điều này giải thích cho việc ảnh hưởng đến khả năng loại bỏ tảo và các chất hữu cơ khác từ nước. Có thể thấy, hiệu suất keo tụ tại giá trị pH = 8 rất thấp và tại pH = 11 độ keo tụ không đạt được hiệu suất tối đa nhưng sẽ chững lại hoặc thấp hơn hẳn hiệu suất keo tụ của các chất keo tụ tại pH = 10. Điều đó được lý giải rằng độ pH có tác động đến sự sống còn của tảo, vì *Chlorella Vulgaris* là một loài tảo nhạy cảm đối với sự thay đổi pH.

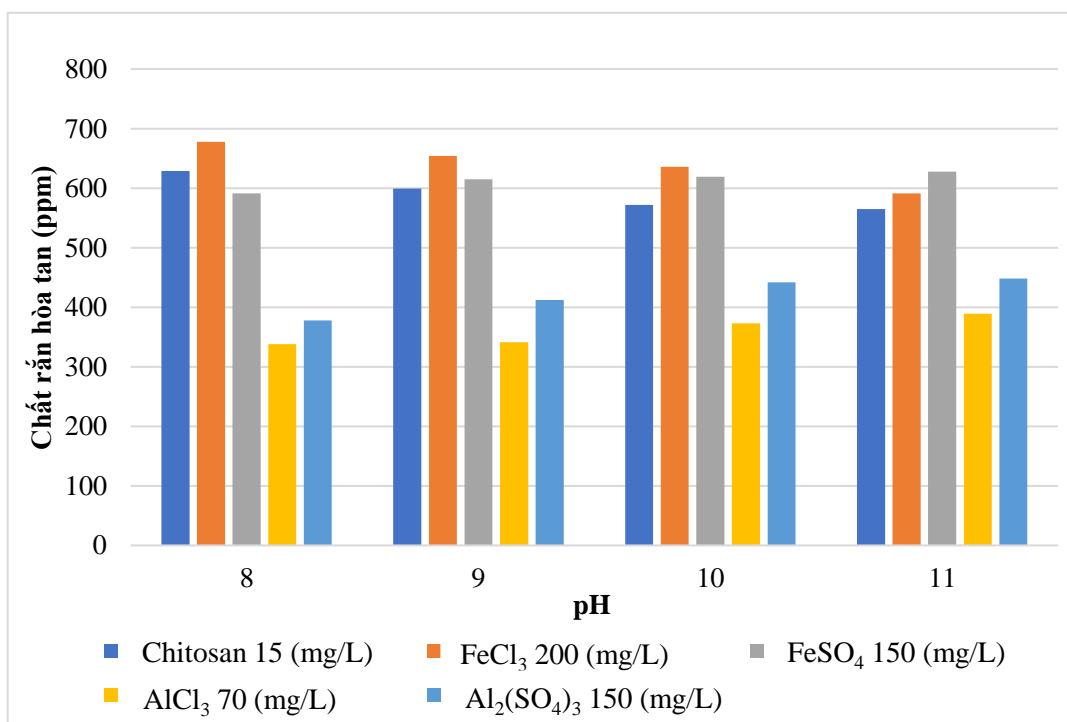
Chất keo tụ chitosan với nồng độ tối ưu là 15 mg/L thể hiện rõ sự ổn định và mang lại hiệu suất keo tụ tốt nhất tại pH = 10. Tuy nhiên, có thể thấy tại pH = 8, độ dẫn điện và giá trị chất rắn hòa tan của chất keo tụ này khá cao. Điều này dẫn đến hiệu suất keo tụ của chitosan tại pH = 8 rất thấp với kết quả là 43.2% bởi vì tảo luôn có sự thay đổi khi ở trong môi trường pH quá cao hoặc quá thấp. Cũng tại pH = 9, hiệu suất keo tụ tăng dần và đạt chất lượng tốt nhất ở pH = 10, sau đó giảm dần ở pH = 11 với kết quả lần lượt là 76%, 98% và 95%. Có thể thấy sự thay đổi pH ảnh hưởng nhiều đến hiệu suất lắng tảo và chất keo tụ chitosan với nồng độ sử dụng nhỏ nhưng vẫn mang lại hiệu quả keo tụ khá tốt, đem lại giá trị chất lượng cao cho việc thu hoạch tảo.

3.2.2. Ảnh hưởng của pH lên EC và TDS trong quá trình lắng tảo CV bằng các chất keo tụ

Sự ảnh hưởng của pH đến độ dẫn điện và chất rắn hòa tan của dung dịch tảo CV bằng chitosan và các muối vô cơ được thể hiện trong hình 3.3 và 3.4:



Hình 3.4. Sự ảnh hưởng của pH lên EC trong quá trình lắng tảo của các chất keo tụ



Hình 3.5. Sự ảnh hưởng của pH lên TDS trong quá trình lắng tảo của các chất keo tụ

Độ dẫn điện (EC) là một yếu tố có sự ảnh hưởng đến quá trình keo tụ tảo vì EC đo lường khả năng của nước hoặc dung dịch dẫn điện dẫn dòng điện. Đối với quá trình keo tụ tảo, EC quyết định mức ion trong nước, và điều đó gây ảnh hưởng đến hiệu suất của các chất keo tụ. Cụ thể, khi EC tăng lên có thể thấy hiệu suất keo tụ cũng tăng dần (Hình 3.3 và 3.4). Tuy nhiên, sự tăng EC cao cũng có thể gây ra sự cạnh tranh giữa các ion và chất keo tụ, làm giảm hiệu quả của chúng. Do đó, EC cần được kiểm soát và điều chỉnh cẩn thận trong quá trình keo tụ tảo để đảm bảo hiệu quả tốt nhất.

Chất rắn hòa tan (TDS) tổng hàm lượng các chất có khả năng hòa tan trong nước, bao gồm các muối khoáng, các chất hữu cơ, và các hợp chất khác. TDS ảnh hưởng đến hiệu suất keo tụ tảo *Chlorella Vulgaris* thông qua nhiều cách khác nhau như tác động đến đặc tính của nước và tác động đến quá trình xử lý nước. TDS có thể thay đổi tính chất của nước, ví dụ như độ trong hoặc độ mặn và điều này sẽ làm thay đổi môi sống và ảnh hưởng đến sự phát triển của tảo. Có thể thấy ở pH = 8 và pH = 11, TDS luôn cao sẽ làm ảnh hưởng đến các thiết bị và quá trình xử lý nước và tác động đến quá trình tạo keo và việc thu hoạch tảo trở nên khó khăn hơn. Vì vậy, để đạt được hiệu quả tốt nhất trong quá trình keo tụ tảo, việc kiểm soát TDS và duy trì một môi trường nước ổn định là quan trọng.

3.3. HÌNH THÁI TẢO CV SAU QUÁ TRÌNH LẮNG TỪ CÁC CHẤT KEO TỤ KHÁC NHAU

3.3.1. Hình ảnh tảo CV sau quá trình lắng từ các chất keo tụ khác nhau

Trong nuôi trồng thủy sản, những hạt keo mang điện tích âm lơ lửng không có khả năng tự lắng. Khi các chất tạo keo được bổ sung sẽ làm phá vỡ độ bền của hạt keo, ngăn cản sự chuyển động hỗn loạn trong nước. Các tế bào vi tảo CV sau khi được trung hòa sẽ kết tụ lại với nhau và lắng xuống. Bảng 3.2 cho thấy mẫu vi tảo đối chứng (không bổ sung chất keo tụ) có nước có màu xanh lục và khi soi kính hiển vi, mật độ tế bào tảo cũng khá ít. Còn đối với mẫu có bổ sung muối vô cơ thì muối FeCl_3 , $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ và chitosan cho hiệu quả lắng tốt hơn các muối còn lại, trong đó các tụ bông kết cụm lại và lắng dưới đáy. Mật độ vi tảo dày đặc ở mẫu chitosan, tiếp theo là muối FeCl_3 , FeSO_4 và cuối cùng là AlCl_3 . Kết quả lắng tảo bằng chitosan trong nghiên cứu này cũng cho hiệu suất lắng cao tương đương so với các hóa chất và thời gian lắng tảo cũng nhanh hơn. Chitosan có chứa 3 nhóm chức phân cực là $-\text{OH}$, $-\text{NH}_2$, và $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ nên làm cho chitosan có khả năng hấp thụ nước cao (Ma & Sahai, 2013). Bên cạnh đó, nhóm amino làm cho



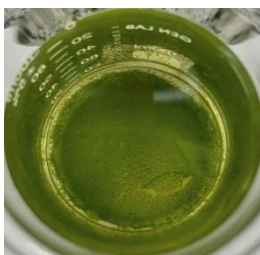
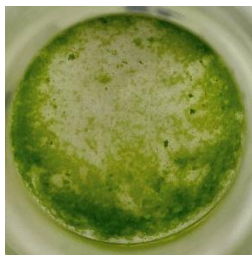

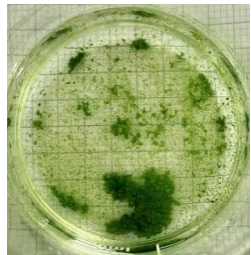
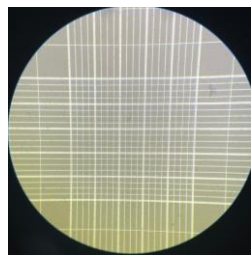
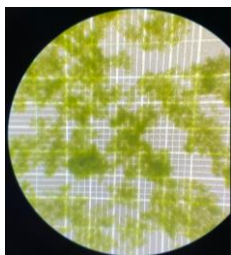
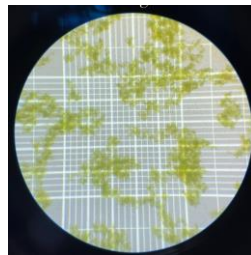
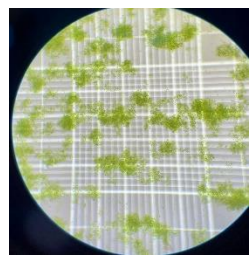
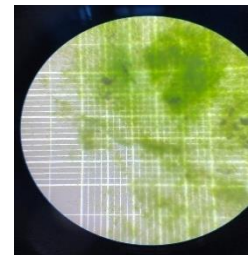
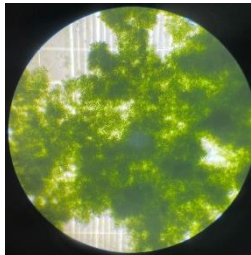
chitosan trở thành một chất đa điện cực cation (Miretzky & Cirelli, 2011) do đó khi tương tác với các tế bào mang ion âm thì chitosan trở thành chất kết lắng tảo rất hiệu quả. Kết quả nghiên cứu khá tương đồng với kết quả của AL Ahmad và cộng sự, ở đó quá trình lắng tảo đạt hiệu quả loại bỏ các tế bào vi tảo ở $99,0 \pm 0,4\%$ ở nồng độ chitosan 10mg/L, và thời gian lắng 20 phút (Singh A 2011.).

3.3.2. Cấu trúc tảo CV sau quá trình lắng bằng kính hiển vi

Kính hiển vi là một công cụ quan trọng được sử dụng để nghiên cứu cấu trúc và tình trạng của tảo *Chlorella Vulgaris* sau khi thực hiện quá trình lắng tảo. Ở bước này giúp hiểu rõ hơn về hình dạng, kích thước, và tổ chức tế bào của tảo sau khi chúng đã trải qua quá trình lắng tảo. Quan sát tảo CV trải qua quá trình lắng với các muối sắt (FeSO_4 và FeCl_3) thu hồi sinh khối cao nhưng thời gian lại không được vượt trội như các phèn nhôm và chitosan. Có thể thấy các tế bào của tảo lắng bằng phèn sắt có đặc điểm hơi vàng. Phần nước của tảo sử dụng chất keo tụ là phèn sắt cũng có màu ngả vàng. Tảo lắng dùng FeCl_3 với bông xanh hơi vàng, dạng lắng từng cụm và ở đáy cốc. Còn dạng tảo lắng của chất keo tụ FeSO_4 có đặc điểm kết bông xanh vàng, tảo bám ở đáy cốc và nước ngả vàng. Những chất keo tụ là muối nhôm ($\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ và AlCl_3) thu hồi sinh khối hiệu quả với thời gian tế bào bị tổn thương ngắn. Tảo lắng bằng AlCl_3 có cấu kết rời rạc và bám ở dưới đáy cốc và $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ thì tảo lắng thành các cụm lớn. Phần nước của tảo sử dụng chất keo tụ là muối nhôm có màu trắng trong suốt.

Bằng cách sử dụng kính hiển vi giúp quan sát tảo *Chlorella Vulgaris* ở tế bào mức độ phóng đại cao và xác định được tình trạng tảo còn nguyên vẹn hay đã bị hủy hoại trong quá trình này. Có thể thấy, tảo lắng bằng chitosan có kết bông rõ, có màu xanh tươi, các tế bào tảo phân bố với mật độ dày đặc cùng với chất lượng nước trong so với các tảo lắng từ những muối sắt và các muối nhôm. Chứng minh rằng chitosan là một chất lắng tảo hiệu quả và giữ được cấu trúc tảo CV một cách chất lượng. Những thông tin thu thập được từ quá trình soi kính hiển vi đóng vai trò quan trọng trong việc tối ưu hóa quy trình nuôi tảo và đảm bảo chất lượng sản phẩm cuối cùng. Điều đó cho thấy mẫu đối chứng tảo có màu sắc xanh nhưng không thể tự làm lắng tảo bằng cách để tự nhiên, và mật độ tế bào vi tảo soi được qua kính hiển vi cũng khá thưa thớt. Vì vậy, để lắng tảo hiệu quả cần dùng chất keo tụ hợp lý và an toàn để có thể ứng dụng vào công nghiệp, và quản lý môi trường liên quan đến sử dụng nguồn nhiên liệu xanh là tảo *Chlorella Vulgaris* một cách lâu bền.

Bảng 3.2. Cấu trúc và hình ảnh vi tảo CV sau quá trình lắng

	Đối chứng	FeCl₃	FeSO₄	AlCl₃	Al₂(SO₄)₃	Chitosan
ND	-	200mg/L	150mg/L	70mg/L	150mg/L	15mg/L
Thời gian RE > 93%	-	20 phút	60 phút	20 phút	20 phút	10 phút
pH	10					
Hình dạng tụ bông						
	Không có hiện tượng, nước màu xanh lục và đục.	Tảo lắng từng cụm dưới đáy cốc, nước ngả vàng và trong.	Tảo lắng bám vào đáy và thành cốc, nước ngả vàng.	Tảo lắng dạng rời rạc, bám dưới đáy cốc, nước màu trắng.	Tảo lắng ở đáy cốc thành cụm lớn, nước màu trắng và trong.	Kết bông rõ và phân bố dày đặc, nước màu trắng và trong.
Tế bào tảo qua kính hiển vi						

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

1. KẾT LUẬN

So với các hóa chất vô cơ, chitosan cũng cho khả năng tạo keo tụ các tế bào vi tảo hiệu quả. Tảo CV được lắng với chitosan ở các nồng độ 15 mg/L đạt hiệu suất loại bỏ vi tảo cao 98% và hiệu suất lắng tảo 1.67% trong thời gian lắng 10 phút. Qua đó có thể thấy, chitosan có thể được xem là một chất keo tụ hiệu quả và an toàn, thân thiện với môi trường trong việc keo tụ vi tảo CV, có thể áp dụng trong xử lý nước thải nuôi trồng thủy sản.

Kết quả các thí nghiệm trên đã khám phá được khả năng tạo keo do độ pH để thu hoạch *Chlorella Vulgaris*, chứng minh rằng có thể tạo ra sự keo tụ chất lượng bằng cách tăng độ pH của môi trường lên 10. Khi giá trị pH quá cao hoặc quá thấp có thể gây tổn thương cho tảo và làm giảm hiệu suất của quá trình keo tụ vì vậy cần lưu ý giá trị pH khi thực hiện quá trình lắng tảo CV.

Sự gia tăng giá trị EC (đo độ dẫn điện) và TDS (tổng chất rắn hòa tan) có thể dẫn đến tình trạng cạnh tranh giữa các ion và chất keo tụ, dẫn đến sự giảm hiệu quả của quá trình keo tụ ở pH = 8 điều này cho thấy rằng hiệu suất keo tụ ở pH này rất kém. Tuy nhiên, tại pH = 11, hiệu suất keo tụ không thay đổi đáng kể. Do đó, giữa độ dẫn điện và chất rắn hòa tan có mối liên hệ tỉ lệ thuận. Độ dẫn điện ảnh hưởng đến lượng ion có trong môi trường nuôi tảo và có thể tạo ra sự cạnh tranh giữa các hạt tảo, làm ảnh hưởng đến hiệu suất keo tụ. Chất rắn hòa tan cũng ảnh hưởng đến giá trị pH của nước và có thể gây ra vấn đề liên quan đến mùi vị và độ trong suốt của nước sau quá trình keo tụ.

2. KIẾN NGHỊ

- Nên sử dụng chitosan để thu hoạch tảo lắng, chỉ cần một lượng dung dịch vừa đủ có thể mang lại hiệu quả keo tụ tốt và thu được sinh khối tảo chất lượng, thân thiện với môi trường.
- Việc đo lường và điều chỉnh EC đúng cách giúp đạt được kết quả tối ưu trong việc loại bỏ tảo và duy trì sự cân bằng trong môi trường nước.
- Cần thiết phải đo lường và điều chỉnh TDS một cách cân nhắc để đảm bảo rằng chất keo tụ hoạt động tốt và không bị ảnh hưởng tiêu cực bởi TDS cao hoặc bị tác động đến các ion khác trong nước.