

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



NGUYỄN THỊ PHƯƠNG DUNG

**NGHIÊN CỨU SẢN XUẤT SINH KHỐI GIÀU NHỰA PHÂN HUỶ SINH
HỌC (PHB) TỪ NƯỚC THẢI SINH HOẠT BẰNG VI KHUẨN LAM**

Ngành: **Kỹ thuật môi trường**

Mã số: **9 52 03 20**

**TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ KỸ THUẬT HOÁ HỌC,
VẬT LIỆU, LUYỆN KIM VÀ MÔI TRƯỜNG**

Hà Nội – 2026

Công trình được hoàn thành tại: Học viện Khoa học và Công nghệ -
Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Người hướng dẫn khoa học 1: PGS.TS. Trần Đăng Thuận

Người hướng dẫn khoa học 2: TS. Phan Quang Thăng

Phản biện 1: PGS.TS. Phạm Thị Mai Hương

Phản biện 2: TS. Nguyễn Kim Thoa

Luận án được bảo vệ trước Hội đồng chấm luận án tiến sĩ, họp tại Học viện Khoa học và Công nghệ - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam vào hồi 99giờ 00, ngày 22 tháng 4 năm 2026.

Có thể tìm hiểu luận án tại:

- Thư viện Học viện Khoa học và Công nghệ
- Thư viện Quốc gia Việt Nam

MỞ ĐẦU

1. Tính cấp thiết của luận án

Ô nhiễm nước thải sinh hoạt đang là thách thức môi trường tại Việt Nam do quá trình đô thị hóa nhanh trong khi tỷ lệ nước thải được xử lý đạt quy chuẩn còn thấp. Nước thải sinh hoạt chứa hàm lượng cao các chất hữu cơ và dinh dưỡng (nitrogen, phosphorus), nếu không được xử lý hiệu quả sẽ gây phú dưỡng nguồn nước và suy giảm chất lượng môi trường. Các công nghệ xử lý sinh học truyền thống tuy có hiệu quả và đã được ứng dụng rộng rãi nhưng còn tồn tại những hạn chế về tiêu hao năng lượng, phát sinh bùn thải thứ cấp và chưa tạo ra giá trị kinh tế gia tăng, do đó chưa đáp ứng yêu cầu cho nền kinh tế tuần hoàn và phát triển bền vững. Song song với vấn đề nước thải, ô nhiễm nhựa có nguồn gốc từ nhiên liệu hóa thạch đang gia tăng, đặt ra nhu cầu cấp thiết về các vật liệu phân hủy sinh học như polyhydroxybutyrate (PHB). Tuy nhiên, chi phí sản xuất PHB hiện còn cao do phụ thuộc vào nguồn nguyên liệu tinh khiết và quy trình công nghệ tiêu tốn năng lượng. Trong bối cảnh đó, vi khuẩn lam với khả năng quang dưỡng, sử dụng CO₂ làm nguồn carbon, đồng thời đồng hóa hiệu quả nitrogen và phosphorus trong nước thải và tích lũy PHB trong sinh khối tạo ra giá trị gia tăng kinh tế, được xem là đối tượng tiềm năng cho mô hình công nghệ tích hợp xử lý nước thải và sản xuất nhựa sinh học. Việc nghiên cứu tuyển chọn chủng vi khuẩn lam phù hợp, tối ưu hóa các điều kiện hóa lý ảnh hưởng đến sinh trưởng và tích lũy PHB, xây dựng mối quan hệ giữa sinh khối và hàm lượng PHB, đồng thời đánh giá hiệu quả xử lý nước thải sinh hoạt có ý nghĩa khoa học và thực tiễn cấp thiết, góp phần phát triển công nghệ môi trường theo định hướng kinh tế tuần hoàn và bền vững.

2. Mục tiêu nghiên cứu của luận án

- Lựa chọn được chủng vi khuẩn lam có khả năng sinh trưởng nhanh, thích nghi tốt trong môi trường nuôi cấy quang dưỡng đồng thời cho năng suất sinh khối và hàm lượng tích lũy PHB cao.

- Ứng dụng chủng vi khuẩn lam được lựa chọn để xử lý nước thải sinh hoạt kết hợp sản xuất sinh khối giàu PHB trong hệ thống quang sinh dạng

ống ở quy mô 30L ngoài trời; đồng thời thu hồi và tinh sạch PHB từ sinh khối để phân tích các đặc tính cơ bản của vật liệu PHB, qua đó khẳng định tiềm năng thay thế một phần nhựa truyền thống, góp phần phát triển công nghệ sinh học xanh theo định hướng kinh tế tuần hoàn.

3. Các nội dung nghiên cứu chính của luận án

- Lựa chọn chủng vi khuẩn lam có tốc độ sinh trưởng nhanh, khả năng thích nghi tốt trong môi trường nuôi cấy quang dưỡng, đồng thời cho năng suất sinh khối và hàm lượng tích lũy PHB cao.

- Nghiên cứu tối ưu hoá các điều kiện hoá lý ảnh hưởng đến quá trình sinh trưởng và tích lũy PHB của chủng vi khuẩn lam được lựa chọn. Các yếu tố hoá lý bao gồm: pH, nhiệt độ, cường độ ánh sáng, sục khí, nồng độ carbon, tỷ lệ C:N:P,... nhằm nâng cao hiệu suất sinh khối và hàm lượng PHB tích lũy.

- Nghiên cứu ảnh hưởng của điều kiện môi trường nuôi đến khả năng sinh trưởng, tích lũy hàm lượng PHB và hiệu quả xử lý nước thải sinh hoạt của chủng vi khuẩn lam được lựa chọn trong điều kiện phòng thí nghiệm.

- Ứng dụng thử nghiệm chủng vi khuẩn lam trong hệ thống quang sinh dạng ống quy mô 30 L ngoài trời nhằm tích hợp xử lý nước thải sinh hoạt và sản xuất sinh khối giàu PHB, đồng thời đánh giá hiệu quả và tính ổn định của hệ thống.

- Thu hồi sinh khối vi khuẩn lam, chiết tách và tinh sạch PHB, nghiên cứu các đặc tính của vật liệu sinh học nhằm làm rõ tiềm năng ứng dụng của nhựa phân hủy sinh học PHB và từng bước thay thế một phần cho nhựa truyền thống.

CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN

1.1. Tổng quan về vi khuẩn lam

1.1.1. Khái niệm, đặc điểm sinh học và phân loại vi khuẩn lam

Tổng quan về vi khuẩn lam, cơ chế sinh trưởng và phát triển, các dạng hình thái và đặc tính sinh học, cũng như sự phân bố của vi khuẩn lam trong các hệ sinh thái khác nhau.

1.1.2. Các yếu tố ảnh hưởng đến sự sinh trưởng và phát triển của vi khuẩn lam

Sự sinh trưởng của vi khuẩn lam phụ thuộc chủ yếu vào ánh sáng, nhiệt độ, pH và nguồn dinh dưỡng, đặc biệt là nitrogen và phosphorus trong điều kiện nhiệt đới. Hiệu quả quang hợp và tích lũy sinh khối được tăng cường khi bổ sung CO₂ và duy trì pH trong khoảng 7–10. Một số chủng chịu mặn hoặc kiềm cho phép nuôi cấy trong môi trường không tiệt trùng, giảm nguy cơ nhiễm tạp. Mô hình nuôi theo mẻ hai giai đoạn giúp tối ưu hóa sinh khối và kích thích tích lũy PHB phục vụ ứng dụng quy mô lớn.

1.1.3. Tiềm năng ứng dụng của vi khuẩn lam

S. salina M8 là vi khuẩn lam quang hợp chịu mặn, có khả năng sinh trưởng linh hoạt trong nhiều môi trường khác nhau, xử lý hiệu quả các chất dinh dưỡng và kim loại trong nước thải, đồng thời tích lũy các hợp chất giá trị như PHB, lipid và sắc tố sinh học. Nhờ đó, chủng này thể hiện tiềm năng lớn cho các hệ thống xử lý nước thải tích hợp sản xuất vật liệu và năng lượng sinh học theo định hướng kinh tế tuần hoàn. Các hợp chất thứ cấp thu hồi từ sinh khối có hoạt tính sinh học cao, mở ra triển vọng ứng dụng rộng rãi trong các lĩnh vực công nghiệp, nông nghiệp, y tế và dược – mỹ phẩm.

1.2. Vi khuẩn lam trong xử lý nước thải sinh hoạt

1.2.1. Thực trạng phát sinh và hậu quả của ô nhiễm do nước thải sinh hoạt

Tỷ lệ nước thải được xử lý trên Thế giới và tại Việt Nam còn rất thấp, gây ô nhiễm nghiêm trọng và gia tăng các bệnh liên quan đến nguồn nước. Thực trạng này đặt ra nhu cầu cấp thiết phát triển các công nghệ xử lý hiệu quả và bền vững hơn trong tương lai.

1.2.2. Phương pháp xử lý nước thải sinh hoạt bằng vi khuẩn lam

Các công nghệ xử lý nước thải sinh hoạt truyền thống chủ yếu tập trung vào loại bỏ chất ô nhiễm nhưng tiêu tốn nhiều năng lượng, phát sinh bùn thải và hầu như không tạo ra giá trị kinh tế. Ngược lại, xử lý nước thải bằng vi tảo và vi khuẩn lam cho phép chuyển hóa trực tiếp các chất ô nhiễm (C, N, P) thành sinh khối có giá trị kinh tế cao, chứa protein, lipid, sắc tố sinh học và polymer phân hủy sinh học như PHB. Cách tiếp cận này không chỉ đảm bảo hiệu quả xử lý môi trường mà còn tạo nguồn nguyên liệu sinh học tái tạo, góp phần nâng cao hiệu quả kinh tế của hệ thống xử lý nước thải theo định hướng kinh tế tuần hoàn.

1.3. Vi khuẩn lam trong sản xuất nhựa sinh học

1.3.1. Nhựa sinh học phân huỷ polyhydroxybutyrate (PHB)

Polyhydroxybutyrate (PHB) là một loại polymer thuộc nhóm polyhydroxyankanoat (PHA), một nhóm polymer sinh học thuộc lớp polyeste. PHB thu hút sự quan tâm của con người nhờ khả năng được tổng hợp và chiết xuất bằng con đường sinh học, đồng thời có thể phân hủy sinh học một cách tự nhiên.

1.3.2. Vi khuẩn lam trong sản xuất nhựa sinh học PHA/PHB

a. Vi khuẩn lam *Spirulina sp.2* và *Spirulina sp.4*

Spirulina sp.2 và *sp.4* là các chủng vi khuẩn lam dạng sợi có khả năng sinh trưởng nhanh, đồng hóa hiệu quả N và P trong nước thải và có tiềm năng tích lũy PHB dưới điều kiện stress dinh dưỡng. Tuy nhiên, khả năng tích lũy PHB của *Spirulina* còn phụ thuộc mạnh vào chủng và điều kiện nuôi cấy, cần được đánh giá thực nghiệm cụ thể.

b. Vi khuẩn lam *S. salina* M8

S. salina M8 là vi khuẩn lam chịu mặn, sinh trưởng tốt trong môi trường ven biển với độ mặn 1–5% và có khả năng tích lũy các hợp chất dự trữ nội bào, đặc biệt là PHB. Nhờ đặc tính quang tự dưỡng, sử dụng trực tiếp CO₂, ánh sáng và muối khoáng, chủng này phù hợp cho các mô hình sản xuất PHB từ nước thải theo định hướng kinh tế tuần hoàn. Trong điều kiện dư carbon và thiếu nitrogen hoặc phosphorus, dòng acetyl-CoA được ưu tiên chuyển hóa

vào con đường tổng hợp PHB nhằm dự trữ carbon và năng lượng. Khả năng tích lũy PHB của *S. salina* M8 chịu chi phối bởi đặc tính di truyền và các điều kiện môi trường nuôi cấy, trong đó cân bằng dinh dưỡng (C, N, P; tỷ lệ C:N:P), ánh sáng, nhiệt độ và pH đóng vai trò quyết định. Việc tối ưu đồng bộ các điều kiện này là yếu tố then chốt để nâng cao hiệu suất tích lũy PHB trong hệ thống xử lý nước thải tích hợp.

1.4. Ứng dụng phương pháp thống kê trong sàng lọc các yếu tố ảnh hưởng và tối ưu hóa các yếu tố ảnh hưởng đến sản xuất sinh khối và PHB của vi khuẩn lam

Thiết kế Plackett–Burman (PB) được áp dụng để xác định các yếu tố hóa học, vật lý và sinh học có ảnh hưởng đáng kể đến sinh trưởng và khả năng tích lũy PHB. Các yếu tố quan trọng sau sàng lọc được đưa vào bước tối ưu hóa bằng phương pháp bề mặt đáp ứng (Response Surface Methodology – RSM), cho phép phân tích đồng thời ảnh hưởng riêng lẻ và tương tác giữa các yếu tố, từ đó xác định điều kiện tối ưu cho quá trình nuôi cấy. Mối quan hệ giữa các biến độc lập và biến đáp ứng (sinh khối hoặc hàm lượng PHB) trong RSM thường được mô tả bằng phương trình hồi quy bậc hai tổng quát như sau:

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i X_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i < j} \beta_{ij} X_i X_j + \varepsilon \quad (1.1)$$

Trong đó Y là giá trị hàm mục tiêu đo được theo thí nghiệm đã thiết kế theo phương pháp đáp ứng bề mặt; β là các hệ số của phương trình, và X_i và X_j lần lượt là mức không được mã hóa của các tham số i và j ; k là số lượng các yếu tố nghiên cứu; và ε là sai số thực nghiệm ngẫu nhiên.

1.5. Các nghiên cứu ứng dụng vi khuẩn lam trong sản xuất nhựa sinh học từ nước thải trên thế giới và tại Việt Nam

1.5.1. Nghiên cứu ứng dụng vi khuẩn lam trong sản xuất nhựa sinh học từ nước thải trên Thế giới

Trong những năm gần đây, vi khuẩn lam được nghiên cứu rộng rãi trong xử lý nước thải kết hợp sản xuất nhựa sinh học PHB. Nhiều nghiên cứu cho thấy các chủng như *Synechocystis*, *Nostoc*, *Anabaena* và *Spirulina* có khả năng loại bỏ hiệu quả nitrogen, phosphorus từ nước thải, đồng thời tích lũy PHB

trong điều kiện thiếu dinh dưỡng hoặc dư thừa carbon. Hàm lượng PHB tích lũy thường đạt 6–20% trọng lượng khô tế bào và có thể cao hơn khi tối ưu hóa điều kiện nuôi cấy hoặc áp dụng kỹ thuật di truyền. Các hệ thống thí điểm và ngoài trời đã chứng minh tiềm năng ứng dụng thực tiễn của mô hình tích hợp xử lý nước thải – sản xuất nhựa sinh học. Tuy nhiên, hiệu suất tích lũy PHB và chi phí thu hồi vẫn là những thách thức cần tiếp tục nghiên cứu.

1.5.2. Nghiên cứu ứng dụng vi khuẩn lam trong sản xuất nhựa sinh học từ nước thải tại Việt Nam

Việc tích hợp xử lý nước thải với sản xuất nhựa sinh học PHB bằng vi khuẩn lam đang được quan tâm tại Việt Nam nhờ lợi ích kép về môi trường và kinh tế. Các nghiên cứu trong nước hiện chủ yếu tập trung vào vi khuẩn dị dưỡng, trong khi các nghiên cứu về vi khuẩn lam còn hạn chế, thiếu đánh giá trong điều kiện nước thải thực tế và quy trình công nghệ hoàn chỉnh. Do đó, cần tiếp tục nghiên cứu có hệ thống nhằm khai thác tiềm năng vi khuẩn lam, hướng tới mô hình xử lý nước thải kết hợp sản xuất PHB theo định hướng kinh tế tuần hoàn và phát triển bền vững.

1.5.3. Sự cần thiết phải triển khai nghiên cứu

Các nghiên cứu trong và ngoài nước cho thấy tồn tại mối quan hệ đánh đổi giữa sinh trưởng và tích lũy PHB của vi khuẩn lam, song các nghiên cứu nhằm tối ưu đồng thời hai quá trình này còn rất hạn chế. Tại Việt Nam, nghiên cứu về vi khuẩn lam chủ yếu dừng ở phân lập và mô tả hình thái, thiếu các đánh giá tích hợp về sinh trưởng, khả năng thích nghi môi trường và hàm lượng PHB, đặc biệt trong điều kiện nước thải. Bên cạnh đó, các nghiên cứu kết hợp xử lý nước thải và thu hồi PHB từ vi khuẩn lam còn ít, thiếu dữ liệu hệ thống và giải pháp kỹ thuật phù hợp điều kiện trong nước. Những khoảng trống này cho thấy sự cần thiết phải thực hiện nghiên cứu nhằm lựa chọn chủng vi khuẩn lam thích nghi tốt, tích lũy PHB hiệu quả và có khả năng ứng dụng trong xử lý nước thải sinh hoạt kết hợp sản xuất nhựa sinh học.

CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng, hoá chất và thiết bị nghiên cứu

2.1.1. Đối tượng nghiên cứu

- Vi khuẩn lam: *S.salina* M8, *Spirirunila* sp.2, *Spirirunila* sp.4 được lấy từ bộ sưu tập giống được lưu giữ và nuôi cấy tại Viện Khoa học Công nghệ năng lượng và môi trường.

- Vật liệu nhựa phân huỷ sinh học PHB được tinh chiết từ vi khuẩn lam.

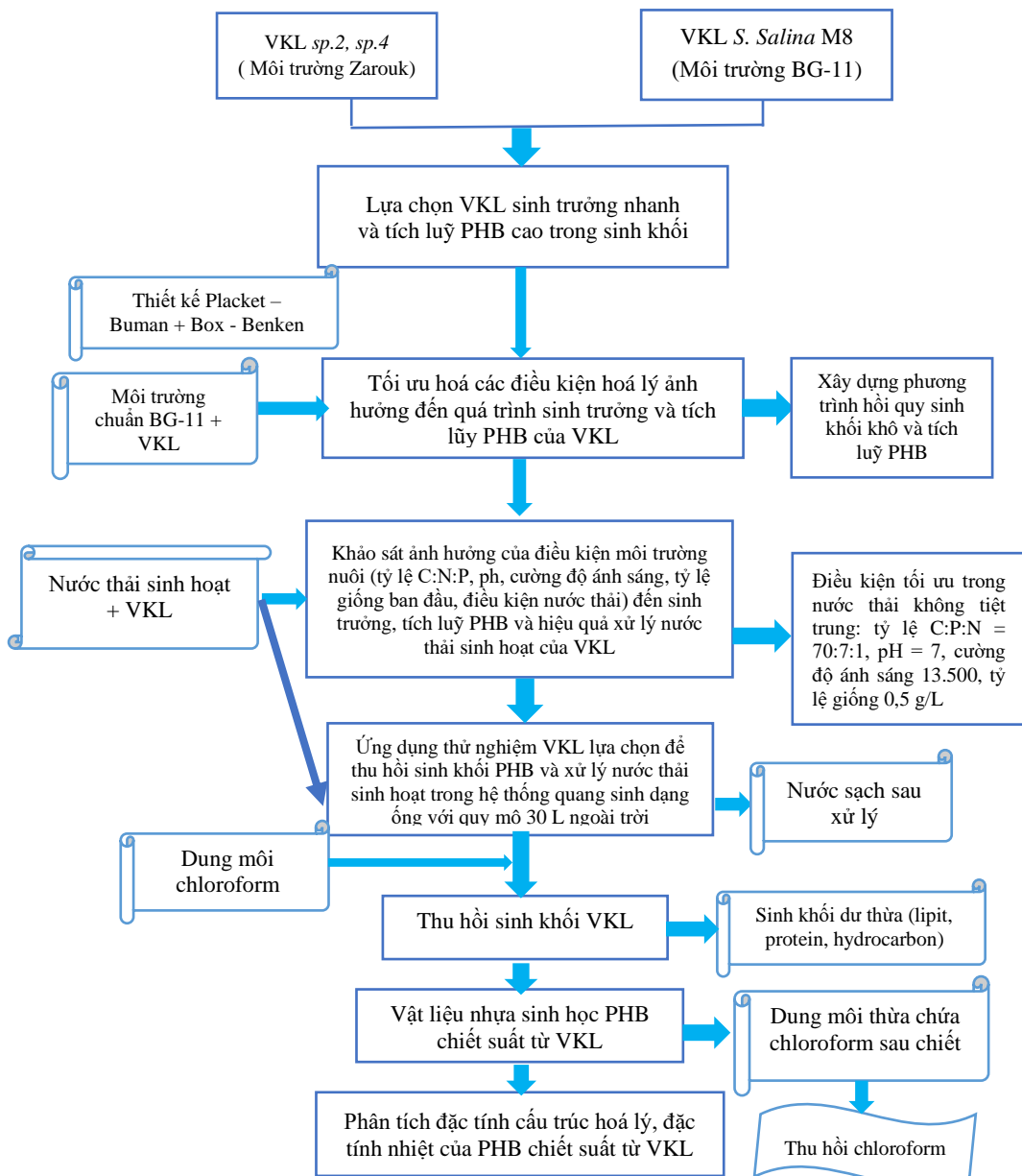
- Nước thải sinh hoạt được thu thập tại khu vực phường Thanh Liệt, Hà Nội.

2.1.2. Hóa chất, thiết bị: Các hóa chất, thiết bị, máy móc phù hợp cho nghiên cứu tại phòng thí nghiệm của Viện Hoá học và Viện Khoa học công nghệ năng lượng và môi trường.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp nghiên cứu thực nghiệm

Sơ đồ thể hiện chi tiết các bước thực hiện trong nghiên cứu này được mô tả trong Hình 2.1.



Hình 2.1. Sơ đồ nghiên cứu thu hồi sinh khối, sản xuất vật liệu nhựa sinh học PHB kết hợp xử lý nước thải sinh hoạt bằng *S.salina* M8

2.2.2. Phương pháp phân tích

- Phân tích đặc tính nước thải và đánh giá hiệu quả xử lý
- Phương pháp thu hoạch và đánh giá tăng trưởng của vi khuẩn lam
- Phương pháp chiết xuất, định lượng và đặc tính của PHB

2.2.3. Phương pháp xử lý số liệu

- Dữ liệu thí nghiệm được xử lý bằng phần mềm Excel và Minitab 18 (Minitab, LLC, Pennsylvania, Mỹ).

- Phân tích bề mặt đáp ứng (RSM) được thực hiện nhằm xác định mối quan hệ giữa các biến độc lập và phản ứng đầu ra thông qua mô hình hồi quy phi tuyến. Tầm quan trọng của các biến được đánh giá bằng kiểm định t-Student.

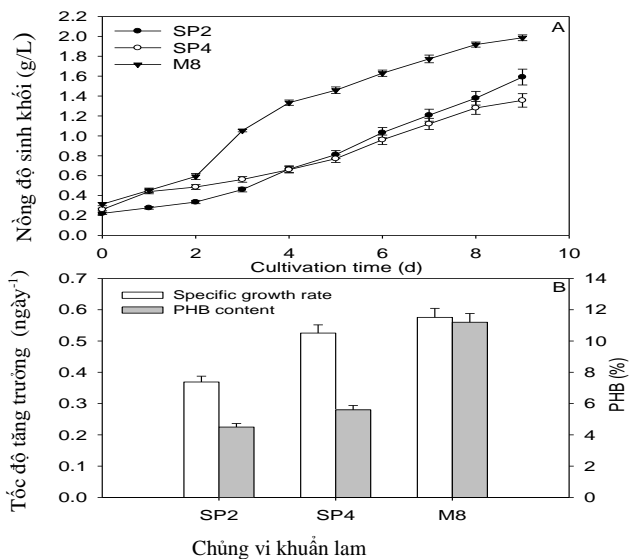
- Các thí nghiệm Plackett–Burman và Box–Behnken được thực hiện với một lần lặp lại duy nhất, trong khi các thử nghiệm xác nhận được tiến hành với hai lần lặp lại. Kết quả được trình bày dưới dạng giá trị trung bình \pm độ lệch chuẩn (Mean \pm SD).

- Sự khác biệt giữa các điều kiện được phân tích bằng ANOVA một chiều và so sánh sự khác nhau thông qua chỉ số p-value với $p < 0,05$ được xem là sự sai khác có ý nghĩa thống kê.

CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả lựa chọn chủng vi khuẩn lam tăng trưởng nhanh và hàm lượng tích lũy PHB cao trong sinh khối

Kết quả cho thấy, chủng *S.salina* M8 tăng trưởng tốt trong môi trường chuẩn, sinh khối khô đạt 1,986 g/L, cao hơn so với 1,591 g/L và 1,357 g/L đo được tương ứng cho *Spirulina* sp.2 và *Spirulina* sp.4 sau cùng một thời gian nuôi cấy là 8 ngày. Tích lũy PHB của *S.salina* M8 đạt 11,2% cao tương đương gấp đôi so với *Spirulina* sp.2 và *Spirulina* sp.4 tích lũy được là 4,5 và 5,6%. Kết quả này cho thấy chủng *S.salina* M8 là vượt trội hơn so với hai chủng *Spirulina* sp.2, *Spirulina* sp.4 trong cả mục tiêu sản xuất sinh khối và tích lũy PHB.



Hình 3.1. Tăng trưởng sinh khối (A), tốc độ tăng trưởng riêng và hàm lượng PHB (B) trong sinh khối của 3 chủng vi khuẩn lam

3.2. Kết quả sàng lọc các yếu tố hóa - lý ảnh hưởng lớn đến tăng trưởng sinh khối và hàm lượng tích lũy PHB bởi *S.salina* M8

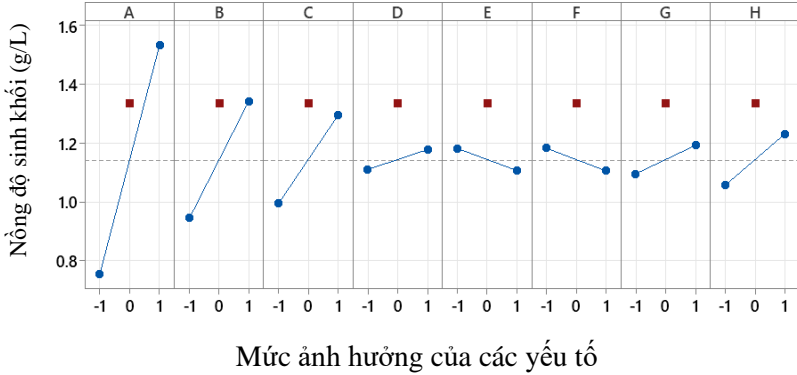
Kết quả khảo sát ảnh hưởng của 08 yếu tố hoá – lý đến sinh khối khô ($Y_{sinh\ khối}$, g/L) và hàm lượng PHB (Y_{PHB} , %) được thể hiện trong **Bảng 3.1.**

Bảng 3.1. Ma trận của biến mã hóa theo thiết kế Plackett Burman nghiên cứu sản xuất sinh khối và PHB bởi *S.salina* M8 (n = 2)

STT	Mức của biến								$Y_{sinh\ khối}$ (g/L)	Y_{PHB} (%)
	A	B	C	D	E	F	G	H		
1	-1	1	1	1	-1	1	1	-1	0,95	8,56
2	0	0	0	0	0	0	0	0	1,38	15,50
3	1	-1	1	1	-1	1	-1	-1	1,53	11,50
4	0	0	0	0	0	0	0	0	1,40	15,49
5	-1	1	-1	-1	-1	1	1	1	1,05	17,60
6	1	1	-1	1	1	-1	1	-1	1,68	10,40
7	-1	1	1	-1	1	-1	-1	-1	1,01	13,60
8	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	0,23	5,60
9	1	-1	1	-1	-1	-1	1	1	1,70	9,50
10	0	0	0	0	0	0	0	0	1,39	15,70
11	-1	-1	-1	1	1	1	-1	1	0,44	5,89
12	1	1	-1	1	-1	-1	-1	1	1,62	17,36
13	1	1	1	-1	1	1	-1	1	1,73	16,83
14	-1	-1	1	1	1	-1	1	1	0,84	6,26
15	1	-1	-1	-1	1	1	1	-1	0,93	7,73
16	0	0	0	0	0	0	0	0	1,38	15,44
17	0	0	0	0	0	0	0	0	1,41	15,26

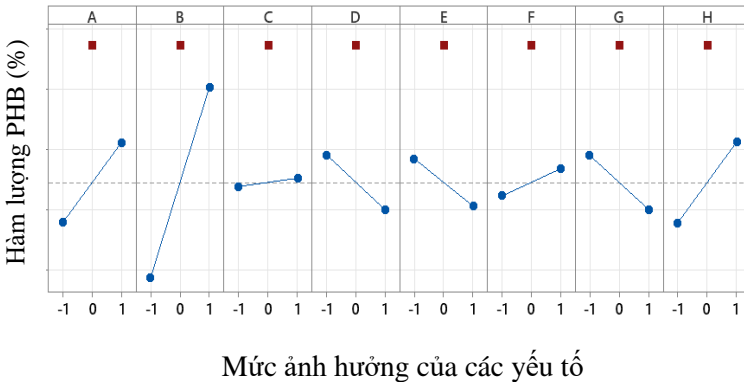
3.2.1. Kết quả sàng lọc các yếu tố hóa - lý ảnh hưởng lớn đến tăng trưởng sinh khối bởi *S.salina* M8

Kết quả cho thấy ánh sáng (A), pH (B) và nhiệt độ (C) trong khoảng khảo sát có ảnh hưởng rõ rệt và có ý nghĩa thống kê đến sự gia tăng sinh khối của *S. salina* M8.



Hình 3.2. Ảnh hưởng của các yếu tố hóa - lý đối với tăng trưởng sinh khối của *S.salina* M8

3.2.2. Kết quả sàng lọc các yếu tố hóa - lý ảnh hưởng lớn đến hàm lượng tích lũy PHB bởi *S.salina* M8



Hình 3.3. Ảnh hưởng của các yếu tố hóa - lý đối với hàm lượng PHB tích lũy trong sinh khối của *S.salina* M8

Kết quả phân tích cho thấy pH là yếu tố duy nhất có ảnh hưởng có ý nghĩa thống kê đến hàm lượng PHB tích lũy trong sinh khối *S. salina* M8 trong khoảng khảo sát.

3.3. Kết quả về tối ưu hóa sinh khối và hàm lượng PHB tích lũy bởi *S.salina* M8

3.3.1. Tối ưu hoá sinh khối khô tích lũy bởi *S.salina* M8

Phương trình của hàm hồi quy của năng suất sinh khối biểu diễn theo ba biến cường độ ánh sáng, pH ban đầu và nhiệt độ (3.1):

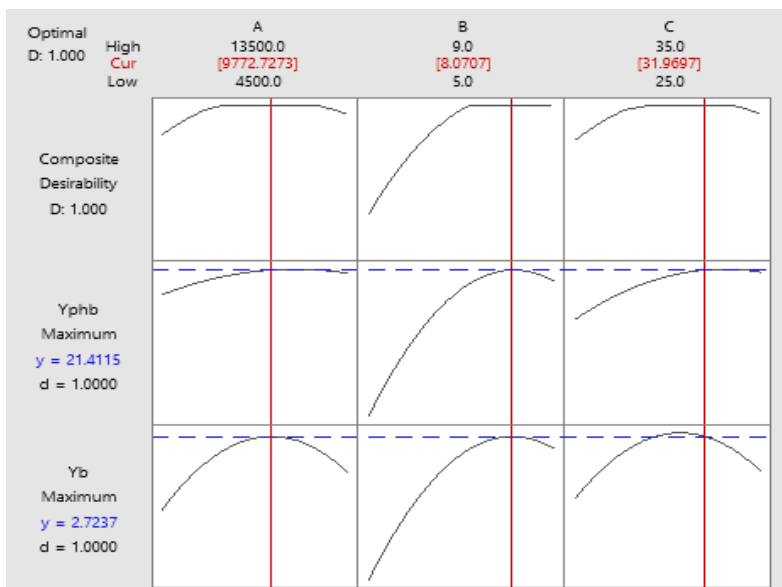
$$Y_{\text{sinh khối}} = 2,5567 + 0,1262A + 0,6500B + 0,1537C - 0,5171A \times A - 0,5846B \times B - 0,4971C \times C \quad (3.1)$$

3.3.2. Tối ưu hàm lượng PHB tích lũy bởi *S.salina* M8

Phương trình của hàm hồi quy của hàm lượng PHB trong sinh khối *S.salina* M8 biểu diễn theo ba biến cường độ ánh sáng, pH ban đầu và nhiệt độ nuôi:

$$Y_{\text{PHB}} = 19,620 + 0,935A + 4,498B + 1,468C - 0,8921A \times A - 4,277B \times B - 1,397C \times C - 0,885A \times C \quad (3.2)$$

Điều kiện tối ưu là cường độ ánh sáng 9.800 Lux, pH = 8,0, nhiệt độ 32°C, sinh khối khô đạt 2,73 g/L, hàm lượng PHB đạt trên 21,4% (**Hình 3.4**).



Hình 3.4. Đồ thị kết quả tối ưu đồng thời sinh khối khô và hàm lượng PHB tích lũy bởi *S.salina* M8

3.3.3. Kết quả thí nghiệm kiểm chứng mô hình tối ưu và đánh giá độ tin cậy của mô hình hồi quy bậc hai sinh khối khô và hàm lượng PHB

Kết quả liệt kê trong Bảng 3.2 cho thấy sai số của kết quả đo sinh khối khô và hàm lượng PHB của *S.salina* M8 tính từ mô hình và kết quả đo thực tế có sai số đều dưới 5%, chứng minh hai mô hình hồi quy $Y_{\text{sinh khối}}$ và Y_{PHB} có khả năng dự đoán chính xác sinh khối khô và hàm lượng PHB sản xuất bởi *S.salina* M8.

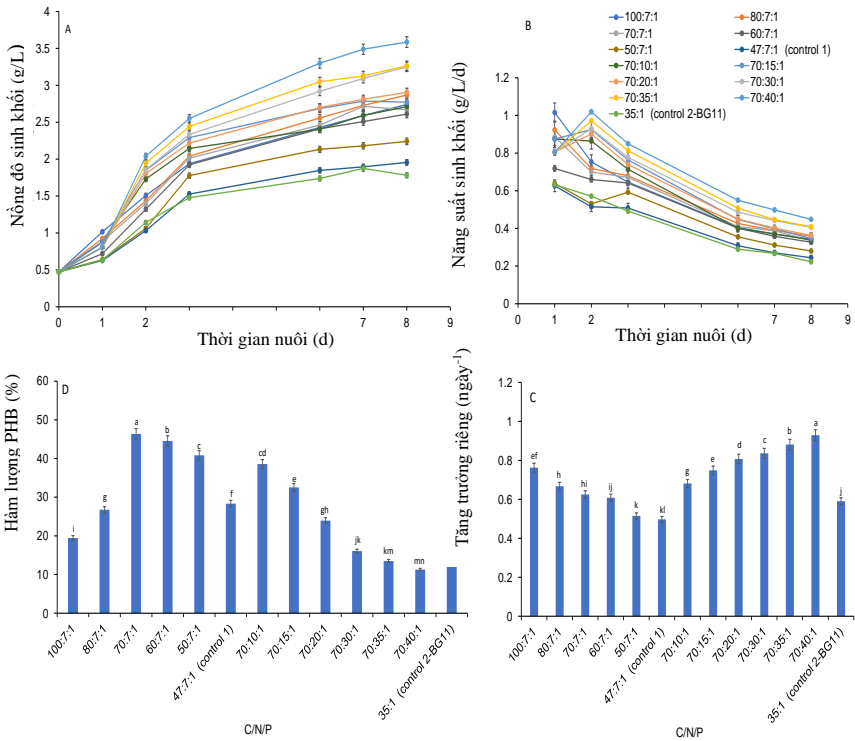
Bảng 3.2. Kết quả tính toán theo mô hình hồi quy và đo thực tế từ thí nghiệm kiểm chứng hàm lượng sinh khối và PHB bởi *S.salina* M8

TT	Cường độ ánh sáng (Lux)	pH	Nhiệt độ (°C)	Sinh khối khô ($Y_{\text{sinh khối}}$, g/L)			Hàm lượng PHB (Y_{PHB} , %)		
				Tính từ mô hình	Đo thực tế	Sai số (%)	Tính từ mô hình	Đo thực tế	Sai số (SD)
1	9.000	7	30	2,57	2,61±0,04	1,56	19,62	20,02±1,34	2,04
2	13.000	9	35	2,07	1,99±0,07	-3,86	20,23	20,98±0,86	3,71
3	10.000	8	30	2,74	2,71±0,11	-1,09	21,00	20,85±0,98	-0,71
4	10.000	8,5	30	2,73	2,81±0,09	2,93	20,81	21,07±1,22	1,25
5	10.000	8,5	35	2,35	2,42±0,05	2,98	21,19	20,98±0,78	-0,99

3.4. Kết quả về ảnh hưởng của điều kiện môi trường đến sinh trưởng, tích lũy PHB và hiệu quả xử lý nước thải sinh hoạt bởi *S.salina* M8

3.4.1. Kết quả về ảnh hưởng của tỷ lệ C:N:P

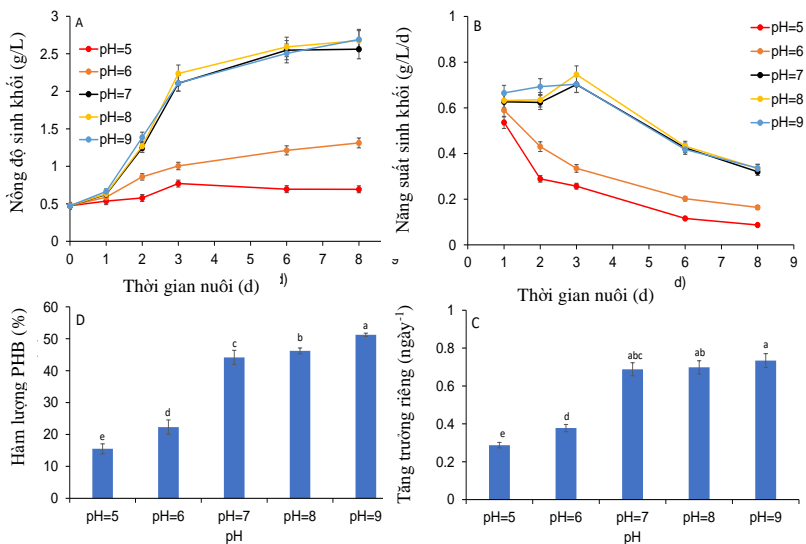
Kết quả cho thấy tỷ lệ C:N:P = 70:10:1 được xác định là điều kiện dinh dưỡng tối ưu cho sinh trưởng, tích lũy PHB và hiệu quả xử lý các chất ô nhiễm của *S.salina* M8 trong nước thải sinh hoạt với nồng độ sinh khối đạt 3,59 g/L; hàm lượng tích lũy PHB đạt 44,6% và hiệu suất xử lý N-NH₄⁺, T-N, P-PO₄³⁻ đạt trên 83%, COD đạt 98%, riêng T-P đạt 78%.



Hình 3.5. Sinh trưởng và tích lũy PHB của *S.salina* M8 trong nước thải tại các tỷ lệ C:N:P

3.4.2. Kết quả về ảnh hưởng của pH

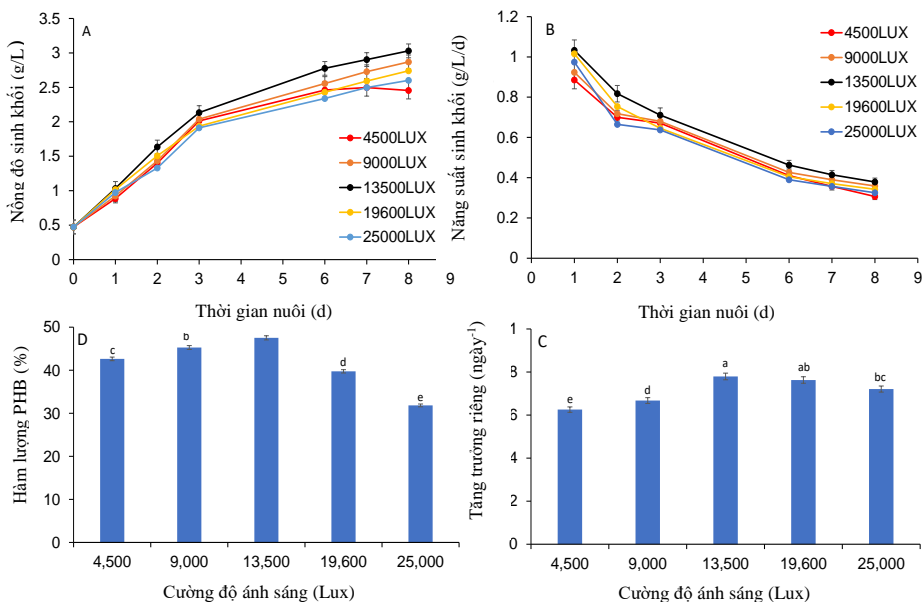
Số liệu trong (Hình 3.15-A) cho thấy, tại pH = 7 là môi trường thích hợp cho sinh trưởng và tích lũy PHB của *S.salina* M8, sinh khối cao nhất (2,6 – 2,7 g/L) tại pH = 7 – 9; Hàm lượng PHB có giá trị cao nhất tại pH = 8 và 9 (tương ứng với PHB = 46–51%), mức trung bình tại pH = 7 (PHB = 44%). Hiệu suất xử lý các chất ô nhiễm tại pH = 7 đạt trên 80%, COD đạt 98,1%.



Hình 3.6. Sinh trưởng và tích lũy PHB của *S.salina* M8 trong nước thải ở các giá trị pH khác nhau

3.4.3. Kết quả về ảnh hưởng của cường độ ánh sáng

Sinh khối cao nhất đạt được tại cường độ ánh sáng 13.500 lux là 3,1 g/L), hàm lượng PHB đạt 48% đồng thời hiệu suất xử lý các chất ô nhiễm đạt trên 82%, COD đạt 98,3%.



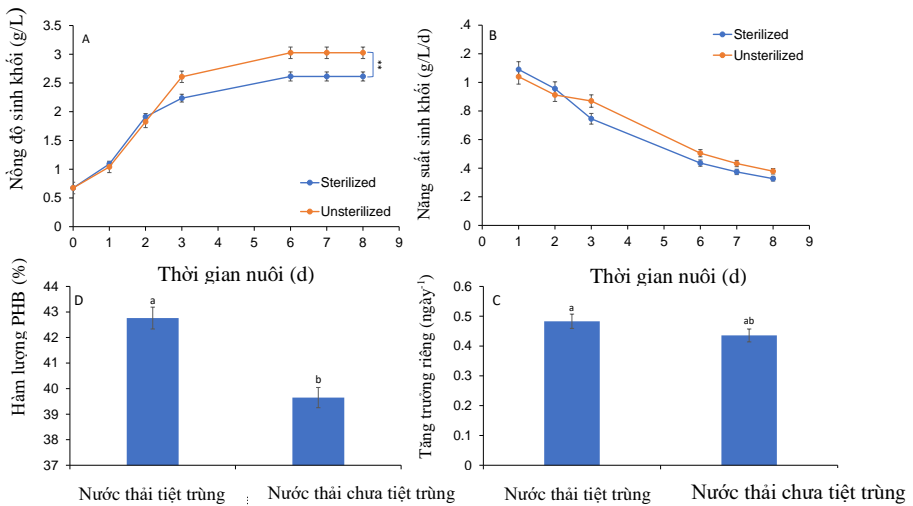
Hình 3.7. Sinh trưởng và tích lũy PHB của *S.salina* M8 trong nước thải ở cường độ ánh sáng khác nhau

3.4.4. Kết quả về ảnh hưởng của tỷ lệ giống *S.salina* M8 ban đầu đến sinh trưởng của *S.salina* M8 trong nước thải

Tỷ lệ 0,2-0,5 g/L tảo giống cho kết quả sinh trưởng và ổn định tốt nhất. Kết quả này phù hợp với các nghiên cứu trước đây, khẳng định rằng mật độ giống nuôi ban đầu ảnh hưởng lớn đến hiệu suất quang hợp và tốc độ tăng trưởng của sinh khối. Do đó, tỷ lệ cấp giống 0,2-0,5 g/L được lựa chọn cho các thí nghiệm tiếp theo.

3.4.5. Kết quả về khả năng sinh trưởng của *S.salina* M8 trong nước thải tiết trùng và không tiết trùng

S.salina M8 sinh trưởng và phát triển tốt trong môi trường nước thải không tiết trùng. Sinh khối khô với nước thải tiết trùng và không tiết trùng đạt được tương ứng là 2,8 và 3,0 g/L đồng thời hàm lượng PHB đạt trong nước thải tiết trùng là 43% và nước thải không tiết trùng là 40% (**Hình 3.8**).

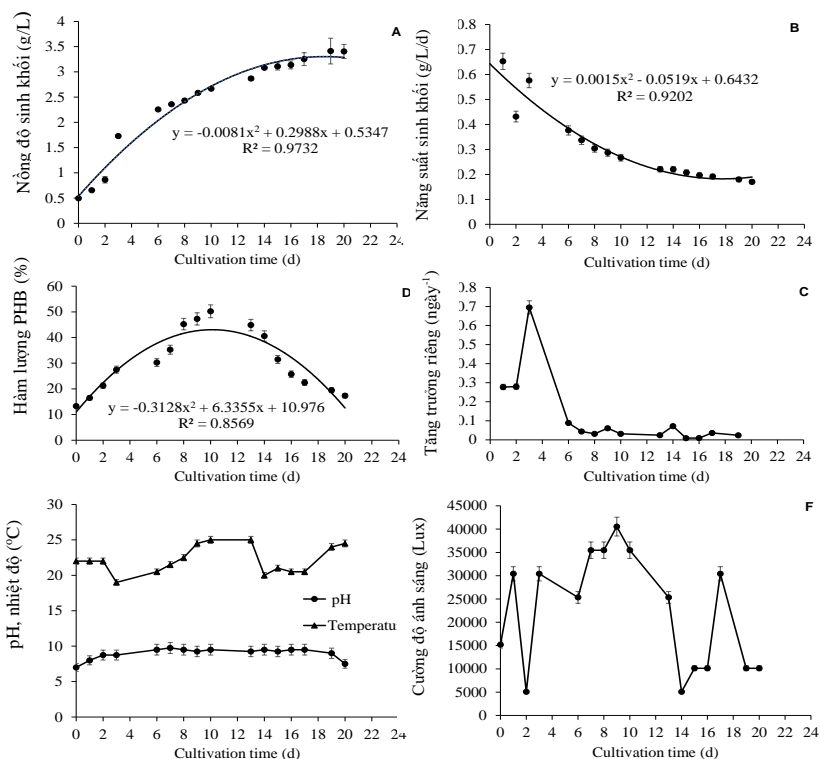


Hình 3.8. Sinh trưởng và tích lũy PHB của *S.salina* M8 trong nước thải tiết trùng và không tiết trùng

Kết quả cho thấy *S. salina* M8 sinh trưởng tốt trong nước thải sinh hoạt không tiết trùng, đạt sinh khối 3,0 g/L, PHB 40% và hiệu suất xử lý các hợp chất chứa N, P trên 80%, riêng COD đạt trên 98%, đáp ứng QCVN 14:2025/BTNMT (cột B). Nghiên cứu khẳng định tiềm năng ứng dụng *S. salina* M8 trong xử lý nước thải kết hợp thu hồi sinh khối và sản xuất nhựa sinh học PHB.

3.5. Thử nghiệm sản xuất sinh khối và PHB từ *S.salina* M8 nuôi trong nước thải sinh hoạt dùng hệ thống phản ứng 30 L

Kết quả cho thấy hệ thống hoạt động ổn định và hiệu quả cao, sinh khối khô đạt lớn nhất khoảng 3,4 g/L vào ngày thứ 17 trước khi ổn định; năng suất sinh khối đạt đỉnh khoảng 0,65 g/L/d (ngày thứ 2) sau đó giảm dần. Hàm lượng tăng từ 10% khối lượng khô (DCW) trong pha lũy thừa ban đầu lên mức cực đại 50% (DCW) vào ngày thứ 10, sau đó giảm dần xuống còn 17% (DCW) vào ngày thứ 20 (Hình 3.9-D); Hiệu suất xử lý các chất ô nhiễm trong nước thải đạt trên 90%.



Hình 3.9. Sự sinh trưởng và hàm lượng tích lũy PHB của *S.salina* M8 nuôi trong nước thải ở hệ thống quang sinh dạng ống đứng 30 L

3.6. Kết quả về nghiên cứu chiết tách và đặc trưng vật liệu nhựa sinh học PHB từ sinh khối *S. salina* M8

3.6.1. Kết quả về ảnh hưởng của các yếu tố chiết tách đến hiệu suất thu hồi PHB

Hàm lượng thu hồi PHB tối ưu đạt 27,65 %, tương ứng với hiệu suất chiết PHB đạt 92% khi dùng 5 mL dung môi (≈ 10 mL/g sinh khối), nhiệt độ chiết ($T = 80^\circ\text{C}$) và thời gian chiết ($t_{\text{chiết}} = 60$ phút).

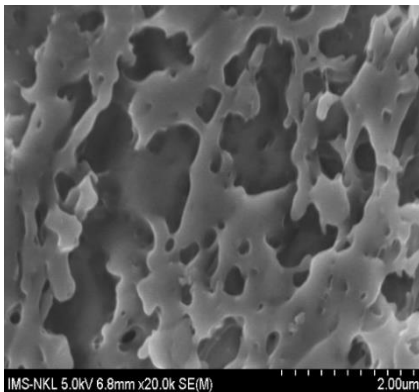
Bảng 3.3. Tổng hợp so sánh hàm lượng PHB sản xuất bởi một số chủng thuộc loài *Synechocystis*

STT	Tên chủng	Chế độ nuôi	Hàm lượng PHB (%)	Tài liệu tham khảo
1	<i>Synechococcus</i> sp. PCC 7942	Tạp dưỡng, acetate, thiếu N	25,6	[93]
2	<i>Synechocystis</i> PCC 6803	Quang dưỡng, thiếu N	26	[168]
3	<i>Synechocystis</i> PCC 6803	Dị dưỡng, acetate	35	[168]
4	<i>Synechocystis</i> PCC 6803	Dị dưỡng, acetate, fructose, thiếu P	38	[121, 169]
5	<i>S.salina</i> M8	Tạp dưỡng, acetate, thiếu P	27 – 31	Nghiên cứu này

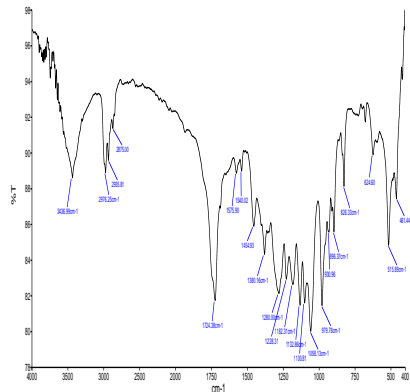
3.6.2. Đặc tính của vật liệu nhựa sinh học PHB chiết suất từ sinh khối *S. salina* M8

3.6.2.1. Đặc tính về vật liệu và cấu trúc phân tử nhựa sinh học PHB

Ảnh SEM cho thấy PHB có cấu trúc xốp với lỗ rỗng micro–meso bất quy tắc, làm tăng diện tích bề mặt nhưng có thể gây giòn và hạn chế tính cơ học.



A. Hình thái cấu trúc bề mặt

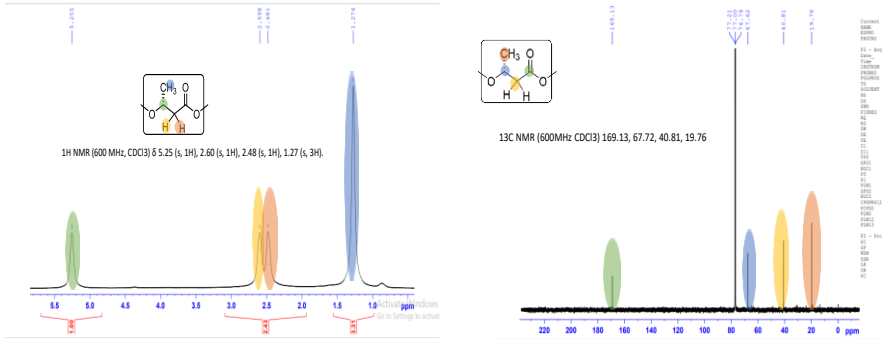


B. Cấu trúc phổ FT-IR

Hình 3.10. Đặc điểm của vật liệu nhựa PHB từ *S.salina* M8

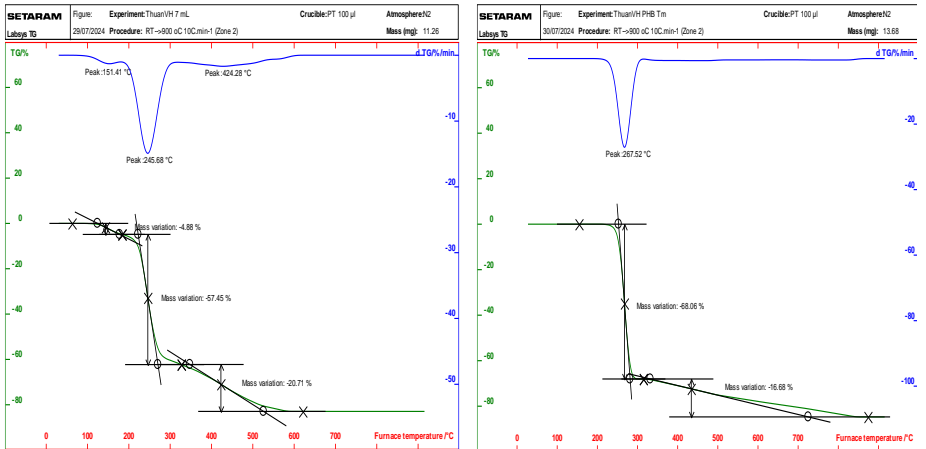
Phổ FT-IR của PHB từ sinh khối *S. salina* M8 xuất hiện các pic đặc trưng tại 1724 cm^{-1} (C=O) và 1280 cm^{-1} (C–O–C), xác nhận sự hiện diện của liên kết este trong cấu trúc PHB

3.6.2.2. Đặc tính cấu trúc của vật liệu nhựa sinh học PHB thông qua phổ $^1\text{H-NMR}$ và $^{13}\text{C-NMR}$



Hình 3.11. Phổ cộng hưởng từ hạt nhân $^1\text{H-NMR}$ (A) và phổ $^{13}\text{C-NMR}$ (B) của vật liệu nhựa sinh học PHB

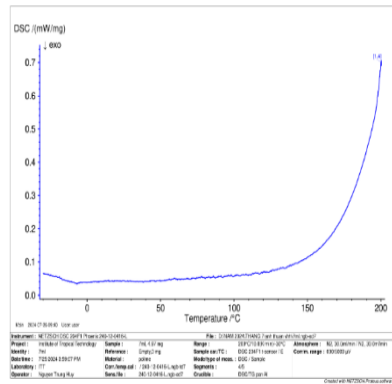
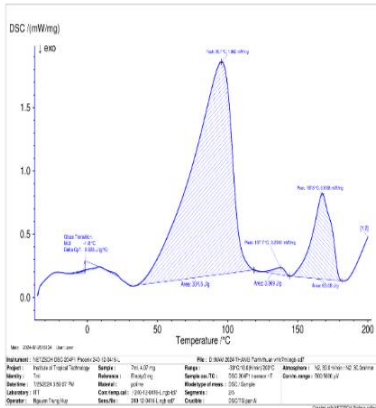
3.6.2.3. Đặc tính phổ nhiệt học qua phân tích TGA và DSC của vật liệu nhựa sinh học PHB



A- Phổ TGA/DTG của PHB chiết từ sinh khối *S.salina* M8

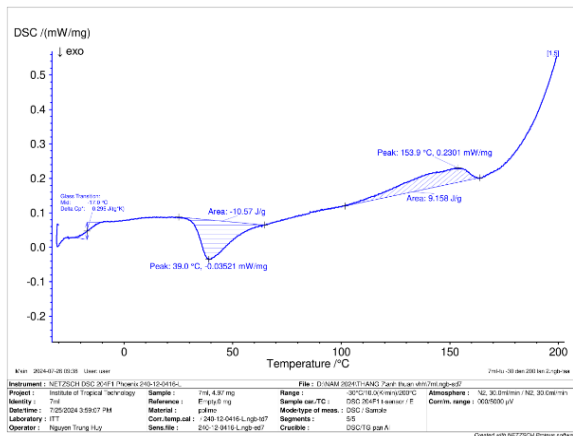
(B) - Phổ TGA/DTG của PHB thương mại

Hình 3.12. Phổ TGA/DTG của vật liệu nhựa sinh học PHB



A- Phổ DSC của PHB chiết từ sinh khối *S.salina* M8 từ (-30°C) đến 200°C

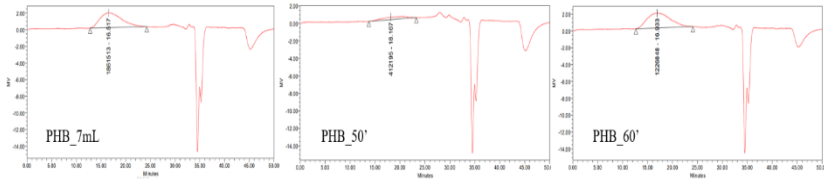
(B) - Phổ DSC của PHB chiết từ sinh khối *S.salina* M8 từ 200° đến -30°C



(C) - Phổ DSC của PHB chiết từ sinh khối *S.salina* M8 từ (-30°C) đến 200°C lần 2

Hình 3.13. Phổ DSC của PHB chiết từ sinh khối *S.salina* M8

3.6.2.4. Khối lượng phân tử trung bình của PHB tinh sạch từ *S.salina* M8



Sample	RT (min)	Mn	Mw	Mw/Mn	Area %
PHB_7mL	16.52	197393	856874	4.341	100
PHB_50'	18.17	129495	492901	3.806	
PHB_60'	16.93	193269	797780	4.129	

Hình 3.14. Khối lượng phân tử của PHB chiết và tinh sạch từ sinh khối *S.salina* M8

3.7. Đánh giá tổng hợp mô hình tuần hoàn kết hợp xử lý nước thải – thu hồi sinh khối – sản xuất vật liệu nhựa sinh học PHB

Mô hình tích hợp chứng minh khả năng khai thác chuỗi giá trị khép kín, bao gồm: tái sử dụng nước sau xử lý; tận dụng N, P và C trong nước thải làm nguồn dinh dưỡng; thu hồi sinh khối để sản xuất PHB phân hủy sinh học; và giảm phát thải CO₂ thông qua quá trình quang hợp. Nhờ đó, mô hình đóng vai trò như giải pháp kép, vừa xử lý ô nhiễm nước thải sinh hoạt hiệu quả, vừa tạo ra tài nguyên tái tạo từ chất thải, phù hợp với định hướng công nghệ xanh, kinh tế tuần hoàn và phát triển bền vững, đặc biệt có tiềm năng nhân rộng cho các hệ thống xử lý nước thải đô thị, khu công nghiệp và nông nghiệp giàu dinh dưỡng.

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

1. Kết luận

Các kết quả nghiên cứu chính mà luận án đạt được bao gồm:

- Xác định được chủng *S. salina* M8 có tốc độ sinh trưởng tốt, khả năng thích nghi cao và tích lũy PHB vượt trội. Chủng này thể hiện tính ổn định sinh học và có tiềm năng ứng dụng cao trong các hệ thống nuôi cấy sử dụng nước thải, do đó được lựa chọn làm đối tượng nghiên cứu chính cho các bước tiếp theo.

- Xác định được điều kiện tối ưu: cường độ ánh sáng ≈ 9.800 lux, pH $\approx 8,0$ và nhiệt độ $\approx 32^\circ\text{C}$, tại đó cho sinh khối $2,73$ g/L và hàm lượng PHB $21,4\%$ lớn nhất. Mô hình hồi quy dự đoán sinh khối và PHB được xây dựng với độ phù hợp cao.

- Nghiên cứu đã chứng minh khả năng nuôi cấy vi khuẩn lam bằng nước thải sinh hoạt ở quy mô phòng thí nghiệm, với sinh trưởng tối ưu tại C:N:P = 70:7:1, pH = 7 và ánh sáng 13.500 lux, đạt sinh khối $3,0$ g/L và PHB đạt trên 40% khối lượng khô (DWC).

- Bước đầu triển khai thử nghiệm thành công chủng *S. salina* M8 trong hệ thống quang sinh quy mô 30 L dưới điều kiện nuôi ngoài trời. Hệ thống được vận hành ở các điều kiện tối ưu, vi khuẩn lam sinh trưởng tốt với sinh khối khô đạt $3,4$ g/L và hàm lượng PHB đạt $50,2\%$ khối lượng khô tế bào. Đồng thời, hiệu suất loại bỏ các chất ô nhiễm, bao gồm $99,6\%$ COD, $99,6\%$ BOD₅, $90,3\%$ tổng nitrogen và $95,9\%$ tổng phosphorus, qua đó khẳng định tính khả thi của mô hình tích hợp xử lý nước thải sinh hoạt và sản xuất sinh khối giàu PHB, định hướng mở rộng quy mô và ứng dụng thực tiễn.

- Xây dựng quy trình thu hồi, chiết tách và tinh sạch PHB, đồng thời đặc trưng đầy đủ cấu trúc, hóa-lý và nhiệt học của vật liệu. Kết quả FT-IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR và GPC xác nhận PHB có độ tinh khiết cao, khối lượng phân tử lớn ($M_w = 856,9$ kg/mol) và chỉ số đa phân tán rộng ($M_w/M_n = 4,34$) và tính chất phù hợp cho ứng dụng vật liệu sinh học, cho thấy tiềm năng thay thế nhựa hóa thạch.

2. Kiến nghị

- Tiếp tục nghiên cứu các dung môi chiết tách PHB thân thiện và an toàn với môi trường hơn để thay thế chloroform.

- Mở rộng thử nghiệm chủng *S. salina* M8 trên các loại nước thải khác (như nước thải thực phẩm, chăn nuôi, chế biến thủy sản...) nhằm đánh giá khả năng thích nghi, hiệu quả xử lý và tích lũy PHB trong các điều kiện thực tế đa dạng, đồng thời giảm chi phí bổ sung nguồn carbon tinh khiết.

- Triển khai nuôi cấy *S. salina* M8 trong các hệ quang sinh mở vận hành theo chế độ dòng liên tục, nhằm đánh giá tính ổn định dài hạn của hệ thống, khả năng duy trì sinh khối và tích lũy PHB, làm cơ sở cho định hướng mở rộng quy mô và ứng dụng thực tiễn.

NHỮNG ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN

- Lựa chọn và chứng minh tiềm năng ứng dụng của chủng vi khuẩn lam *S. salina* M8 trong xử lý nước thải sinh hoạt kết hợp thu hồi sinh khối giàu nhựa phân hủy sinh học PHB. Xây dựng được phương trình hồi quy về nồng độ sinh khối khô và hàm lượng PHB tích lũy của *S. salina* M8. Xác định được điều kiện nuôi cấy tối ưu trong môi trường chuẩn cho *S. salina* M8 tại cường độ ánh sáng ≈ 9.800 lux, pH $\approx 8,0$ và nhiệt độ $\approx 32^\circ\text{C}$, nồng độ sinh khối khô cực đại đạt 2,73 g/L và hàm lượng PHB tích lũy lớn nhất 21,4 % sinh khối khô, góp phần làm rõ cơ sở khoa học cho việc tối ưu hóa quá trình nuôi cấy vi khuẩn lam phục vụ thu hồi vật liệu sinh học.

- Luận án đã chứng minh khả năng xử lý hiệu quả nước thải sinh hoạt bằng vi khuẩn lam *S. salina* M8, với hiệu suất loại bỏ COD và BOD₅ đạt 99,6%, tổng nitrogen đạt 90,3% và tổng phosphorus đạt 95,9%. Chất lượng nước sau xử lý đáp ứng Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia QCVN 14:2025/BTNMT, cho thấy tiềm năng ứng dụng của chủng vi khuẩn lam này trong các hệ thống xử lý nước thải sinh học.

- Luận án đã triển khai thử nghiệm thành công chủng *S. salina* M8 trong hệ quang sinh dạng ống quy mô 30 L dưới các điều kiện tối ưu, đạt nồng độ sinh khối khô 3,4 g/L và hàm lượng PHB tích lũy tối đa 50,2% khối lượng khô tế bào. Kết quả khẳng định tính khả thi của mô hình tích hợp xử lý nước thải sinh hoạt và sản xuất sinh khối giàu PHB, đồng thời tạo cơ sở khoa học cho việc mở rộng quy mô và ứng dụng trong thực tiễn.