### TRƯỜNG ĐẠI HỌC CÔNG THƯƠNG TP HỒ CHÍ MINH VIỆN NGHIÊN CỨU ỨNG DỤNG VÀ CHUYỂN GIAO CÔNG NGHỆ HUFI

### TWIN-Layer ở Việt Nam bước đầu tiếp cận và thành công

PGS. TS. Trần Hoàng Dũng

### Công nghệ nuôi tảo ở Việt Nam



Hình P12. Nuôi trồng *H. pluvialis* HB trong các môi trường dinh dưỡng quy mô khác nhau: bình tam giác 250 (A), 500 mL (B), 1,5 L (C) và 10 L (D).



26 L

100 L



50 L



Hình P17. Ảnh chụp các hệ thống kín 26, 50 và 100 L vi tảo lục *H. pluvialis* HB đã chuyển trạng thái tích lũy cao astaxanthin

### Công nghệ nuôi vi tảo cố định trên TL-PSBR phương thẳng đứng

Hình 3. Mô hình tổng quát của các module hai lớp màng trong hệ thống quang sinh học (Naumann và cs, 2013)





Hình 4. Chi tiết các thành phần trong hệ thống hai lớp màng (Naumann và cs, 2013)



Hình 5. Hệ thống quang sinh học hai lớp màng đang vận hành. A) Tám module được thiết lặp để nuôi cấy thử nghiệm vi tảo; B) Hệ thống nhỏ ở quy mô phòng thí nghiệm; C) Thu hoạch vi tảo (Naumann và cs, 2013)

### 2. Giải pháp đột phá: Nuôi cấy vi tảo cố định trên màng cơ chất xốp phương nghiêng (TL-PSBR phương nghiêng)

Thiết kế, chế tạo hệ thống TL-PSBR phương nghiêng kích thước nhỏ và vận hành thử nghiệm nuôi vi tảo *H*. *pluvialis* 



Phụ lục 2. Hệ thống TL-PSBR phương nghiêng quy mô nhỏ ban đầu (năm 2017)



Phụ lục 3. Sơ đồ thiết kế hệ thống TL-PSBR phương nghiêng quy mô nhỏ sau khi được cải tiến lần 1



Phụ lục 4. Hệ thống TL-PSBR phương nghiêng quy mô nhỏ sau khi được cải tiến lần 2



Phụ lục 6. Hệ thống TL-PSBR phương nghiêng quy mô nhỏ sau khi được cải tiến lần 3



Phụ lục 5. Sơ đồ thiết kế hệ thống TL-PSBR phương nghiêng quy mô nhỏ sau khi được cải tiến lần 3



Hình 4. 1. Bản vẽ thiết kế buồng nuôi (chamber) của hệ thống TL-PSBR phương nghiêng kích thước nhỏ



**Hình 4. 2.** a) Sơ đồ hệ thống cung cấp dinh dưỡng, không khí cho các buồng nuôi (chamber) của hệ thống nhỏ; b) Sơ đồ bố trí các chamber và đèn chiếu sáng trong hệ thống nhỏ; c) Hệ thống TL-PSBR nhỏ đang được sử dụng để nuôi H. pluvialis

Thiết kế, chế tạo hệ thống TL-PSBR phương nghiêng kích thước lớn và vận hành thử nghiệm nuôi vi tảo *Haematococcus pluvialis* 



Phụ lục 8. Hệ thống TL-PSBR phương nghiêng quy mô lớn 1 m<sup>2</sup> sau khi được cải tiến lần 1



Phụ lục 8. Hệ thống TL-PSBR phương nghiêng quy mô lớn 1 m² sau khi được cải tiến lần 1



Phụ lục 9. Hệ thống TL-PSBR phương nghiêng quy mô lớn (105 x 70 cm) sau khi được cải tiến lần 2



Phụ lục 10. Hệ thống TL-PSBR phương nghiêng quy mô lớn 4 x 0,5 m<sup>2</sup> sau khi được cải tiến lần 3



Phụ lục 11. Hệ thống TL-PSBR phương nghiêng quy mô lớn 4 x 0,5 m<sup>2</sup> sau khi được cải tiến lần 4



Hình 4. 4. a) Sơ đồ thiết kế buồng nuôi (chamber) của hệ thống lớn; b) Các thành phần của hệ thống quang sinh học hai lớp màng.



Hình 6. Bản vẽ sơ đồ hệ thống cung cấp dinh dưỡng, không khí cho buồng nuôi (Chamber) của hệ thống 2m<sup>2</sup>



Hình 7. Bản vẽ sơ đồ bố trí chamber và đèn chiếu sáng trong hệ thống 2 m<sup>2</sup>

### Lợi ích và ưu điểm hệ thống TL-PSBR

- Tạo môi trường nuôi trồng tối ưu
- Tương tác giữa vi tảo và màng cơ chất xốp
- Dễ dàng thu hoạch
- Kiểm soát ô nhiễm

=> Công nghệ này đóng góp quan trọng vào việc tối ưu hóa hiệu suất nuôi trồng vi tảo và tận dụng tối đa lợi ích của chúng.

# Một số kết quả nuôi tảo trên hệ thống TL-PSBR

# Tảo Haematococcus pluvialis

# Tảo Nannochloropsis oculata

# Kết quả nuôi tảo Haematococcus pluvialis

- Pha sinh dưỡng
- Pha tích luỹ astaxanthin

# Nghiên cứu ảnh hưởng của một số yếu tố lên *H. pluvialis* khi nuôi bằng hệ thống hai lớp màng quy mô 0,05 m2 để tăng sinh khối tảo giai đoạn sinh dưỡng

1. Kết quả thí nghiệm chọn nguồn sáng để tăng sinh khối tảo giai đoạn xanh





Hình 3.11. Sinh khối sau cùng và tỉ lệ carotenoid/chlorophyll của H. pluvialis sau 10 ngày nuôi với 2 nguồn ánh sáng khác nhau Hình 3.12. Hình thái tế bào của H. pluvialis dưới 2 nguồn ánh sáng LED đỏ (a) và huỳnh quang trắng (b) sau 10 ngày nuôi trên hệ thống hai lớp màng

#### 2. Kết quả thí nghiệm tối ưu cường độ ánh sáng để tăng sinh khối tảo xanh



Hình 3.13. Sinh khối sau cùng và tốc độ tăng sinh khối (trung bình tăng sinh khối mỗi ngày qua 10 ngày) của H. pluvialis theo các giá trị cường độ ánh sáng khác nhau

**Hình 3.14.** Tỷ lệ carotenoid/ chlorophyll trong H. pluvialis theo các giá trị cường độ ánh sáng khác nhau



Hình 3.15. Hình thái tế bào của H. pluvialis dưới các giá trị khác nhau của cường độ ánh sáng thấp 20 (a), 40 (b), 60 (c), 80 (d) và 100 (e) µmol photons m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> (mũi tên đỏ chỉ tế bào palmella tích lũy astaxanthin chuyển đỏ)

# 3. Kết quả thí nghiệm tối ưu mật độ giống vi tảo ban đầu để tăng sinh khối tảo xanh





**Hình 3.19.** Hình thái tế bào của H. pluvialis ở các mật độ sinh khối ban đầu khác nhau (3.5 (a), 5.0 (b), 6.5 (c) và 8.0 (d) g.m<sup>-2</sup>) sau 10 ngày nuôi trong hệ thống hai lớp màng với cường độ ánh sáng 80 µmol photons m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>

Năng suất sinh Môi Ánh sáng (µmol Thời gian nuôi CO<sub>2</sub> (%) khối (g m<sup>-2</sup> Hệ thống nuôi Dòng vi tảo Tham khảo trường photons  $m^{-2} s^{-1}$ ) (pha xanh) (ngày) ngày<sup>-1</sup>) (Choi et al., 2011) **1.37**<sup>a</sup> Flask 0.5L LB 16 OHM Không 25 (huỳnh quang) 36 (B. Y. Zhang, Geng, Li, 20-350 BG11 Duy trì pH 12 **2.2**<sup>a</sup> Bể hở trong nhà 26 Hu, & Li, 2009) 14/10 giờ (Luu et al., 2012) 85 HB Bồn kín trong nhà Duy trì pH M-RM 27 **1.88**<sup>a</sup> (10 I) (isolated) 16/8 giờ Ông 70 mL (Fabregas, Otero, 40 (huỳnh quang) Duy trì pH CCAP 37/4 10-13 1.0 (đường kính 30 OHM Maseda, & 12/12 giờ Dominguez, 2001) mm) (W. Zhang, Wang, 150 Màng sinh học cố **NIES-144** NIES-N 10 3.7 Không Wang, & Liu, 2014) đinh (0.08 m<sup>2</sup>) Liên tuc (W. Zhang et al., 20-100 Màng sinh học cố SAG 34-1b BG11 1.5 7 2.3-6.6 2014) định (0.08 m<sup>2</sup>) Liên tuc (Kiperstok, 2016) M-90 (Đèn Na cao áp Màng sinh học cố CCAC 0125 8 5.4 1 định (0.05 m<sup>2</sup>) BG11H 14/10 giờ 80 (huỳnh quang) M-Màng sinh học cố CCAC 0125 Duy trì pH 10 6.49 Nghiên cứu này đinh (0.05 m<sup>2</sup>) 14/10 giờ BG11H

#### Bảng 3.1. So sánh kết quả nuôi pha xanh của H. pluvialis trên hệ thống hai lớp màng (nghiên cứu này) với các hệ thống nuôi khác dựa trên diện tích bề mặt.

# Kết quả nuôi tảo Haematococcus pluvialis

- Pha sinh dưỡng
- Pha tích luỹ astaxanthin



Hình 2. 1. Sự biến đổi hình thái trong chu kì sống của tảo H. pluvialis. (A) Hình chụp dưới kính hiển vi huỳnh quang các giai đoạn 1-32 tế bào và giai đoạn có 2 roi; (B) Hình vẽ minh hoạ các giai đoạn trong chu trình sống của tảo (Shah et al., 2016).



Hình 7. Vi tảo *H. pluvialis* trên hệ thống nhỏ sau 10 ngày nuôi ở mật độ ban đầu 7,5 g sinh khối khô/m<sup>2</sup>.

# 5.1. Ảnh hưởng của ánh sáng đơn sắc đến sự phát triển và tích lũy astaxanthin của *H. pluvialis* trong TL-PSBR phương nghiêng



Hình 4. 1. Tổng lượng SKK (A) và tỉ lệ astaxanthin (B) trong H. pluvialis qua thời gian nuôi khi được chiếu sáng bằng các loại ánh sáng LED khác nhau



Hình 4. 2. Tổng lượng astaxanthin (mg m<sup>-2</sup>) trong sinh khối tảo H. pluvialis qua thời gian nuôi khi được chiếu sáng bằng các loại ánh sáng LED khác nhau

### 5.2. Ảnh hưởng của chu kì sáng/tối của đèn LED lam-đỏ đến sinh trưởng và tích lũy astaxanthin của *H. pluvialis* trong TL-PSBR phương nghiêng



Hình 4. 3. Tổng SKK (A) và tỉ lệ astaxanthin (B) của vi tảo H. pluvialis qua thời gian nuôi trong TL-PSBR ở các chu kì chiếu sáng khác nhau



Hình 4. 4. Tổng astaxanthin (mg m<sup>-2</sup>) tích luỹ trong sinh khối tảo qua thời gian nuôi trong TL-PSBR ở các chu kì chiếu sáng khác nhau

### 3. Ảnh hưởng của sự bổ sung nguồn carbon đến sinh trưởng và tích lũy astaxanthin của *H. pluvialis* trong TL-PSBR phương nghiêng

1. Ảnh hưởng của lượng  $CO_2$  được bổ sung trong dịch môi trường đến sinh trưởng và tích lũy astaxanthin của vi tảo H. pluvialis





Hình 4. 6. Sự thay đổi tổng lượng astaxanthin trong vi tảo H. pluvialis ở các mức bổ sung CO<sub>2</sub> khác nhau

2. Ảnh hưởng của nồng độ NaHCO<sub>3</sub> được hòa tan trong môi trường đến sinh trưởng và tích lũy astaxanthin của vi tảo H. pluvialis



Hình 4. 7. Sự thay đổi tổng SKK (A) và tỉ lệ astaxanthin (B) của H. pluvialis nuôi trong TL-PSBR với các lượng bổ sung NaHCO<sub>3</sub> khác nhau



Hình 4. 8. Sự thay đổi tổng lượng astaxanthin của H. pluvialis qua thời gian khi nuôi trong TL-PSBR với các lượng bổ sung NaHCO<sub>3</sub> khác nhau



Hình 8. Bề mặt lớp vi tảo *H. Pluvialis* (A) và sau 10 ngày nuôi cấy (B và C) trên hệ thống 2m<sup>2</sup>; D) Hình chụp dưới kính hiển vi của *H.* pluvialis sau 10 ngày nuôi (×40).

#### Bảng 4. 1. So sánh kết quả nuôi H. pluvialis trong TL-PSBR phương nghiêng với các hệ thống nuôi khác quy đổi trên diện tích bề mặt.

Hệ thống nuôi	Điều kiện ánh sáng (µmol photon.m <sup>-2</sup> .s <sup>-1</sup> )	Tác nhân gây stress	Thời gian nuôi (pha xanh +đỏ) (ngày)	Tỉ lệ % astaxanthin trong SKK	Năng suất astaxanthin (mg.L <sup>-1</sup> .ngày <sup>-1</sup> )	Năng suất astaxanthin (mg.m <sup>-2</sup> .ngày <sup>-1</sup> )	Năng suất SKK (g.m <sup>-</sup> <sup>2</sup> .ngày <sup>-1</sup> )	Nguồn tham khảo
ống ngoài trời (50 L)	Ánh sáng mặt trời 400- 1600	Ánh sáng mạnh	4 (pha đỏ)	3,6	7,2	136,8ª	<b>3,8</b> ª	(Torzillo et al., 2003)
Bể hở ngoài trời	Ánh sáng mặt trời ≤1000	Ánh sáng mạnh + N giới hạn	20 (pha xanh +đỏ)	1,7	-/-	40 <sup>a</sup>	<b>2,34</b> ª	(Wan, Zhang, et al., 2014b)
Bể hở trong nhà	20-350; 14/10 giờ	Ánh sáng mạnh	12 (pha xanh +đỏ)	2,79	4,3	61 <sup>a</sup>	<b>2,2</b> <sup>a</sup>	(B. Y. Zhang et al., 2009)
Cột sục khí trong nhà	250 Liên tục	Ánh sáng mạnh + N giới hạn	12 (pha xanh +đỏ)	3,6	-/-	<b>237,6</b> ª	<b>6,6</b> <sup>a</sup>	(Wan, Zhang, et al., 2014b)
Cột sục khí trong nhà (0,5 L)	350 Liên tục	Ánh sáng mạnh + N giới hạn	5 (pha đỏ)	4,0	11,5	<b>528</b> <sup>a</sup>	13,2ª	(Aflalo et al., 2007)
Bồn kín trong nhà (10 L)	85 - 16/8 giờ	Ánh sáng mạnh, N giới hạn, C/N cao, + bicarbonate	30 (pha xanh) + 3 (pha đỏ)	4,88	2,75	92ª	1,88ª	(Luu, 2017)
Cột sục khí trong nhà (5 L)	60 - 16/8 giờ	N giới hạn, C/N cao	22 (pha xanh +đỏ)	-/-	0,009	<b>0,264</b> ª	-/-	(Trịnh et al., 2017)
Biofilm phương thẳng đứng trong nhà (0,08 m²)	150 Liên tục	N giới hạn	12 (pha xanh +đỏ)	1,3	-/-	65,8	3,7	(Wan, Hou, et al., 2014)
Biofilm phương thẳng đứng trong nhà (0,08 m²)	100 - Liên tục	N giới hạn or cạn kiệt	7 (pha xanh +đỏ)	2,2	-/-	143	6,5	(W. Zhang et al., 2014b)
Biofilm phương thẳng đứng trong nhà (0,05 m²)	650 (đèn natri cao áp) 14/10 giờ	Ánh sáng mạnh + N, P giới hạn	7 (pha xanh +đỏ)	3,5	-/-	371	10,6	(Kiperstok et al., 2017)
Biofilm phương nghiêng trong nhà (2 m²)	600-700 (đèn natri cao áp) 14/10 giờ	Ánh sáng mạnh + N, P giới hạn	10 (pha xanh +đỏ)	2–3	-/-	180,8	5-7.5	(Do et al., 2019)
Biofilm phương nghiêng trong nhà (2 m²)	300–400 (LED) 22/10 giờ	Ánh sáng mạnh + N, P giới hạn	10 (pha xanh +đỏ)	2,0-2,2	-/-	169, <b>3</b>	7,6	Nghiên cứu này

# Kết quả nuôi tảo Nannochloropsis oculata



#### Figure 2. The *N.oculata* biofilms on different substrate materials:

The respiration filter (A) had poor water permeability, and the algal biofilm died after one day of culture; The cotton 25% paper (B) and the filter layer of surgical masks (C) had low attachment efficiencies, so algal cells had been drifted out of the biofilms; The Kraft 70 g m<sub>2</sub> (D); The Kraft 220 g m<sub>2</sub> (E); The Kraft 380 g m<sub>2</sub> (F); and the Roki paper (G).



1.22 m

 Figure 9. Threedimensional models of one module of the angled TL-PSBR used in this study: Iso view (A), front view (B), and top view (C).



### Figure 11. In-situ image of the angled TL-PSBRs used in this



Figure 6. N. oculata growth (A), Final dry biomass (g m<sup>2</sup>) and lipid content (% [w/w] of dry

weight) (B), changes in % chlorophyll a content (w/w) (C), and dry biomass (g m<sup>2</sup> d<sup>1</sup>) and lipid (mg m<sup>2</sup> d<sup>1</sup>) productivities after 14 days of cultivation on the angled TL-PSBRs under different light

intensities.

# Lợi ích và ý nghĩa của công nghệ nuôi vi tảo trong hệ thống TL-PSBR

- Tăng cường hiệu suất nuôi trồng vi tảo
- Thuận tiện trong việc thu hoạch
- Bảo vệ môi trường

# Kết luận

- Công nghệ nuôi cấy vi tảo cố định trên màng cơ chất xốp cố định phương nghiêng là một đột phá mang tính đổi mới và tiềm năng trong việc tăng cường hiệu suất nuôi trồng vi tảo và bảo vệ môi trường.
- Với sự sáng tạo và tính toàn diện, phương pháp này có thể định hình lại ngành công nghiệp vi tảo và góp phần vào việc giải quyết các thách thức toàn cầu về nguồn tài nguyên và môi trường.

# Tài liệu tham khảo

- Do, T.-T.; Quach-Van, T.-E.; Nguyen, T.-C.; Show, P.L.; Nguyen, T.M.-L.; Huynh, D.-H.; Tran, D.-L.; Melkonian, M.; Tran, H.-D. Effect of LED Illumination Cycle and Carbon Sources on Biofilms of *Haematococcus pluvialis* in Pilot-Scale Angled Twin-Layer Porous Substrate Photobioreactors. *Bioengineering* 2023, *10*, 596. <u>https://doi.org/10.3390/bioengineering10050596</u>
- S. Thanigaivel, Saravanan Rajendran, Lalitha Gnanasekaran, Kit Wayne Chew, Dang Thuan Tran, Hoang-Dung Tran, Nguyen Khoi Nghia & Pau Loke Show. Nanotechnology for improved production of algal biofuels: a review. *Environ Chem Lett* 21, 821–837 (2023). <u>https://doi.org/10.1007/s10311-022-01529-3</u>
- Tran, H. D., Ong, B. N., Ngo, V. T., Tran, D. L., Nguyen, T. C., Tran-Thi, B. H., Do, T. T., Nguyen, T. M., Nguyen, X. H., & Melkonian, M. (2022). New Angled Twin-layer Porous Substrate Photobioreactors for Cultivation of Nannochloropsis oculata. *Protist*, 173(6), 125914. https://doi.org/10.1016/j.protis.2022.125914
- 4. Do T-T., Tran-Thi B-H., Ong B-N., Le T-L., Nguyen T-C., Quan Q-D., Tran D-L., Melkonian M. & Tran H-D.\* (2021): Effects of red and blue light-emitting diodes on biomass and astaxanthin of *Haematococcus pluvialis* in pilot-scale angled Twin-Layer porous substrate photobioreactors. *Vietnam Journal of Science, Technology and Engineering*, 63(2):81-88. <u>http://doi.org/10.31276/VJSTE.63(2).81-88</u>
- Do T-T., Ong B-N., Le T-L., Nguyen T-C., Tran-Thi B-H., Thu Hien BT., Melkonian M. & Tran, H-D.\* (2021): Growth of *Haematococcus pluvialis* on a small-scale angled porous substrate photobioreactor for green stage biomass. *Applied Sciences*, 11(4), 1788. https://doi.org/10.3390/app11041788
- Do T.-T., Ong B.-N., Nguyen Tran M.-L., Nguyen D., Melkonian M. & Tran H.-D.\* (2019): Biomass and astaxanthin productivities of *Haematococcus pluvialis* in an angled twin-layer porous substrate photobioreactor: Effect of inoculum density and storage time. *Biology*, 8(3), 68. <u>https://doi.org/10.3390/biology8030068</u>
- Tran H-D\*, Do T., Le T., Nguyen M., Pham C. & Melkonian M. (2019). Cultivation of *Haematococcus pluvialis* for astaxanthin production on angled bench-scale and large-scale biofilm-based photobioreactors. *Vietnam Journal of Science*, *Technology And Engineering*, 61(3): 61-70. https://doi.org/10.31276/VJSTE.61(3):61-70