

**BỘ GIÁO DỤC & ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC NÔNG LÂM TP. HỒ CHÍ MINH**



**BÁO CÁO TỔNG KẾT
ĐỀ TÀI KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ CẤP BỘ**

**NGHIÊN CỨU QUI TRÌNH CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT BIODIESEL
TỪ VI TẢO CỦA VIỆT NAM**

Mã số : B2008 – 12 – 66

Chủ nhiệm đề tài: PGS.TS. TRƯƠNG VĨNH

TP. HCM 3/2011

Mục Lục

Chương 1 MỞ ĐẦU	1
1.1 Đặt vấn đề	1
1.2 Mục đích	1
Chương 2 VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP	2
2.1 Quy trình chung sản xuất biodiesel	2
2.2 Các nội dung thực hiện	2
Chương 3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN	3
3.1 Nội dung 1: Khảo sát nguồn nguyên liệu vi tảo trong nước, thí nghiệm thăm dò sinh khối và đo đặc cơ bản	3
3.2 Nội dung 2: Thiết kế, chế tạo các thiết bị phục vụ đề án	3
3.3 Nội dung 3: Nghiên cứu hàm lượng dầu nuôi qui mô phòng thí nghiệm và khảo sát thu hồi tảo, chiết tách dầu tảo.	5
3.4 Nội dung 4: Nghiên cứu tăng hàm lượng dầu trong tảo	9
3.5 Nội dung 5: Nghiên cứu hàm lượng dầu và sinh khối tảo nuôi qui mô pilot	12
3.6 Nội dung 6: Nghiên cứu tinh chế dầu và xác định các tính chất hoá lý của dầu tảo	12
3.7 Nội dung 7: Khảo sát phản ứng biodiesel và đánh giá chất lượng biodiesel từ tảo	17
3.8 Nội dung 8: Thử nghiệm trên động cơ diesel	17
Chương 4 KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ	18
4.1 Kết luận	18
4.2 Đề nghị	21
4.3 Các tồn tại	21

DANH MỤC CÁC BẢNG

	Trang
Bảng 3.1: Tóm tắt các thông số kỹ thuật thiết bị QHSH	4
Bảng 3.2: Thông số kỹ thuật	5
Bảng 3.3: Bảng kết quả phân tích thí nghiệm nuôi nước thải bình 500 ml. Bookmark not defined.	5 Error!
Bảng 3.4 : Khối lượng chất khô tảo (g/l) thu được ứng với phương pháp ly tâm và cô đặc màng ở các mật độ ban đầu khác nhau nuôi ở môi trường đậm thấp (ĐT) và Hannay (H).	6
Bảng 3.5: So sánh thời gian lọc của phương pháp màng lọc và ly tâm	6
Bảng 3.6. Kết quả khảo sát hàm lượng dầu theo độ ẩm	7
Bảng 3.7. Kết quả khảo sát hàm lượng dầu theo thời gian ly trích.	7
Bảng 3.8: Kết quả khảo sát ảnh hưởng của khối lượng tảo khô lên tỉ lệ ly trích dầu	7
Bảng 3.9. Kết quả ảnh hưởng của tỷ lệ nước/ethanol lên hiệu suất ly trích dầu.	8
Bảng 3.10. Kết quả ảnh hưởng của thời gian ngâm lên hiệu suất ly trích dầu khi có siêu âm.	8
Bảng 3.11. So sánh kết quả các phương pháp ly trích.	9
Bảng 3.12: Tỷ lệ dầu (%) của tảo <i>Chlorella</i> trong môi trường nitơ cải tiến có và không bổ sung axit citric.	9
Bảng 3.13: Môi trường tối ưu cho hàm lượng dầu cực đại.	11
Bảng 3.14: Bảng bố trí thí nghiệm xử lý Fe	11
Bảng 3.15: Kết quả tốt nhất của thí nghiệm xử lý Fe	12
Error! Bookmark not defined. Bảng 3.16: Kết quả tinh chế dầu bằng phương pháp sắc ký cột silicagel	
Bảng 3.17: Kết quả tinh chế dầu bằng phương pháp hấp phụ đất sét	13
Bảng 3.18: Kết quả tinh chế dầu bằng phương pháp acid	13
Bảng 3.19: Kết quả tinh chế dầu bằng phương pháp silicagel và acid	13
Bảng 3.20: Kết quả tinh chế dầu bằng phương pháp đất sét và acid.	14
Bảng 3.21: Kết quả tổng kết các phương pháp tinh chế dầu.	14
Bảng 3.22: Kết quả chỉ số acid của dầu tảo.	14
Bảng 3.23: Kết quả chỉ số savon hóa của dầu tảo.	15
Bảng 3.24a: Thành phần acid béo của dầu tảo <i>Chlorella vul.</i>	15
Bảng 3.24b: So sánh thành phần acid béo tảo <i>Chlorella vulgaris</i> từ nhiều tác giả	16
Bảng 3.25: Kết quả thành phần methyl ester của biodiesel từ tảo.	17

DANH MỤC CÁC HÌNH

Hình 3.1: Sơ đồ nguyên lý thiết bị quang hợp sinh học tuần hoàn (QHSH)	4
Hình 3.2: Cấu tạo cụm màng lọc. Lưới lọc vải dùng thay cho màng ceramic, bảng vẽ chi tiết Phụ lục 6.	4
Hình 4.1: Qui trình công nghệ nuôi tảo định hướng nhiều dầu	19
Hình 4.2: Qui trình công nghệ thu hoạch và chế biến biodiesel từ vi tảo	20

DANH MỤC CÁC CHỮ VIẾT TẮT

QHSH	: Quang hợp sinh học
HPLC	: High Performance Liquid Chromatography
FAME	: Fatty Acid Methyl Ester
GTGT	: Giá trị gia tăng
EERE	: Cục Năng lượng về hiệu quả và năng lượng tái tạo Hoa Kỳ
HHNL1	: Môi trường đậm thấp cải tiến
ĐT	: Môi trường đậm thấp
H	: Môi trường Hannay
DTU	: Môi trường đậm thấp tối ưu
OD	: Optical Density
MĐTĐB	: Mật độ tế bào
AV	: Chỉ số acid
SV	: Chỉ số savon hóa

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

Đơn vị: Bộ môn Công Nghệ Hoá Học

THÔNG TIN KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Thông tin chung:

Tên đề tài: Nghiên cứu qui trình công nghệ sản xuất Biodiesel từ vi tảo của Việt nam.

Mã số: B2008 – 12- 66

Chủ nhiệm đề tài: PGS.TS Trương Vĩnh

Cơ quan chủ trì: Trường Đại Học Nông Lâm TP HCM

Thời gian thực hiện: 24 tháng, kể từ 04-2008 đến 04-2010

2. Mục tiêu của đề tài:

1. Khảo sát các nguồn vi tảo trong nước thích hợp cho nguyên liệu sản xuất biodiesel.
2. Nghiên cứu qui trình công nghệ nuôi tảo sản xuất được dầu biodiesel ở điều kiện nước ngọt và nước mặn ở Việt nam.
3. Đánh giá sự phù hợp của dầu tảo để sản xuất biodiesel nuôi trong điều kiện Việt nam.
4. Đánh giá chất lượng biodiesel sản xuất trong điều kiện nguồn tảo ở Việt Nam.
5. Tìm qui trình tối ưu cho các công đoạn cô đặc, chiết dầu, chuyển đổi dầu thành biodiesel, thu hồi methanol và tận dụng phụ phẩm để bước đầu đánh giá hiệu quả sản xuất biodiesel trong điều kiện Việt nam.

3. Tính mới và sáng tạo:

1. Thiết kế chế tạo thiết bị quang hợp sinh học dạng ống mềm phẳng phù hợp mọi địa hình đất đai, giá rẻ, dễ lắp đặt, khác với các loại thiết bị trên thế giới thường là ống cứng hoặc ống mềm gọn sóng quang hợp kém.
2. Phương pháp xử lý stress sắt tăng dầu trong tảo từ 9% lên 24%, trên thế giới đã có nhưng khác hàm lượng và cách thức.
3. Phương pháp xử lý stress acid citric tăng dầu trong tảo từ 6% lên 17%, trên thế giới chưa có.
4. Xác định thành phần hóa học của dầu tảo *Chlorella vulgaris* gốc ở biển Nha Trang nuôi ở điều kiện phòng thí nghiệm.
5. Xác định thành phần hóa học của biodiesel từ dầu tảo *Chlorella vulgaris* gốc ở biển Nha Trang nuôi ở điều kiện phòng thí nghiệm.

4. Kết quả nghiên cứu:

1. Đã chế tạo hoàn chỉnh thiết bị quang hợp sinh học tuần hoàn nuôi tảo kín, làm việc ổn định cho sinh khối cao và sạch, không bị nhiễm, có thể nuôi được nhiều loại tảo.
2. Đã chế tạo hoàn chỉnh thiết bị ly tâm và lọc màng phục vụ thu hoạch tảo.
3. Chứng minh được tinh chế dầu tảo bằng phương pháp phối hợp hấp phụ và acid là tốt nhất.
4. Xác định tính chất hoá lý dầu tảo *Chlorella vulgaris* cho thấy dầu tảo này có trên 50% acid béo no phù hợp sản xuất biodiesel.
5. Tổng hợp bước đầu biodiesel từ dầu tảo *Chlorella vulgaris* dòng nước mặn nuôi trong môi trường đậm thấp. Bước đầu thử nghiệm trên động cơ diesel. Khó thực hiện phản ứng transesterification khi nuôi trong môi trường Hannay.

6. Chứng minh các xử lý sắt, acid citric và N có ảnh hưởng tăng hàm lượng dầu trong tảo.
 7. Xây dựng qui trình công nghệ nuôi tảo tăng dầu.
 8. Xây dựng qui trình thu hoạch và chế biến biodiesel từ vi tảo.
5. Các sản phẩm của đề tài:
1. Thiết bị quang hợp sinh học nuôi sinh khối vi tảo kiểu tuần hoàn.
 2. Qui trình công nghệ nuôi sinh khối tảo tăng hàm lượng dầu.
 3. Thành phần acid béo của dầu tảo *Chlorella vulgaris*.
 4. Thành phần methyl ester của biodiesel từ tảo *Chlorella vulgaris*.
 5. Dầu và biodiesel từ tảo *Chlorella vulgaris*.
6. Hiệu quả, phương thức chuyển giao kết quả nghiên cứu và khả năng áp dụng:
1. Các kết quả nghiên cứu có tính khoa học.
 2. Thiết bị quang hợp sinh học nuôi sinh khối tảo bảo đảm vệ sinh và không lây nhiễm. Thiết bị có thể áp dụng nuôi tảo sản xuất biodiesel hoặc làm thực phẩm.
 3. Dầu và biodiesel từ tảo *Chlorella vulgaris* hiện tại có giá thành còn cao, tuy nhiên tiềm năng ứng dụng là có khi hoàn thiện hơn công nghệ nuôi và chế biến vi tảo chiếm ít đất, chỉ 1/21 lần so với cây cọ dầu, để đáp ứng cùng mục tiêu năng lượng phục vụ vận chuyển.

MINISTRY OF EDUCATION AND TRAINING
Chemical Engineering Department

INFORMATION ON RESEARCH RESULTS

1. General information:

Project title: Study on the production process of Biodiesel from microalgae of Vietnam.

Code number: B2008 – 12- 66

Coordinator: Assoc. Prof. Dr. Truong Vinh

Implementing institution: Nong Lam University

Cooperative Institution(s):

Duration: 24 months from 04-2008 to 04-2010

2. Objectives:

1. Study of local microalgae sources that are suitable for biodiesel processing.
2. Research on procedure for algae growing to produce biodiesel in fresh and salted water.
3. Evaluation of suitability of microalgae oil in biodiesel production growing in Viet nam environmental condition.
4. Evaluation of biodiesel quality producing from Vietnamese algae sources.
5. Finding the optimum procedures for algae concentration, extraction, transesterification, methanol and by-products recovery in order to assess initially the effectivity of biodiesel production in Viet nam.

3. Creativeness and innovativeness:

1. Design and manufacturing of low cost tubular photobioreactor with soft smooth tubes which are flexible to land condition. The conventional model normally used hard tube or flexible ridged tube limited in sunlight transmitting.
2. Method of iron stress treatment is different from the world published methods in terms of amount and procedure. The oil content of algae increased from 9 to 24%.
3. Development of stress treatment using citric acid which is a new method through out the world. The oil content of algae increased from 7 to 17%.
4. Determination of chemical composition of fatty acids of *Chlorella vulgaris* isolated from Nha Trang sea.
5. Determination of chemical composition of methyl esters of biodiesel produced from *Chlorella vulgaris* oil isolated from Nha Trang sea.

4. Results obtained:

1. Successfully fabricated a photobioreactor for closed algae growing which has worked properly producing clean and high biomass without infection. The system can be used to grow different algae varieties.
2. Successfully fabricated centrifugal and membrane separators used for algae harvesting.
3. The best method for algae oil refining has been proved to be a combination of adsorptive agent before acid treatment.
4. Determination of physico-chemical properties of *chlorella vulgaris* oil showing that the composition of this oil has more than 50% free fatty acid which is suitable for biodiesel production.
5. Successfully carried out the transesterification of *chlorella vulgaris* oil for biodiesel. The preliminary application of biodiesel on diesel engine has also tested.

6. Demonstration of the effect of the treatments of feris, acid citric and nitrogen on oil content of microalgae during growing.
7. Building the technological procedure of growing of microalgae for higher oil content.
8. Building the technological procedure of algae harvesting and biodiesel processing.

5. Products:

1. Low cost turbular photobioreactor.
2. Procedure for algae growing to enhance oil content.
3. Composition of fatty acid of *Chlorella vulgaris* oil.
4. Composition of methyl esters of *Chlorella vulgaris* biodiesel.
5. Oil and biodiesel from *Chlorella vulgaris*.

6. Effects, transfer alternatives of research results and applicability:

1. The results of the projects are scientific.
2. The photobioreactor for mass production of algae is free from infection. It can be applied for biodiesel or food purposes.
3. The cost of oil and biodiesel from *Chlorella vulgaris* is still high currently, however, the potential of using algae for biodiesel is realistic once the growing and processing technology are improved as algae occupies less land- only 1/21 compared to palm oil- to satisfy the energy for transport demand.

Chương 1 MỞ ĐẦU

1.1 Đặt vấn đề

Nguồn nhiên liệu dầu mỏ đang cạn kiệt dần, ngoài ra đốt nhiên liệu dầu mỏ sinh ra khí CO₂ gây nên vấn đề môi trường. Do vậy, dùng nhiên liệu diesel sinh học để thay thế nhiên liệu dầu mỏ là vấn đề cấp thiết. Hiện tại biodiesel đã được sản xuất phổ biến trên thế giới từ các loại cây họ đậu như bắp, đậu nành, canola, dầu dừa và dầu cọ (Chisti Y 2007). Trong số đó, dầu cọ cho năng suất dầu cao nhất (5950 lít/ha). Theo tính toán của Hoa Kỳ, nếu dùng dầu cọ thì phải cần tới 24% diện tích đất trồng trọt mới thỏa mãn 50% nhu cầu dầu diesel. Nếu dùng vi tảo có hàm lượng dầu 70% chất khô cho năng suất 136900 lít/ha thì chỉ cần 1.1% diện tích đất trồng có thể thỏa mãn 50% nhu cầu dầu diesel. Như vậy rõ ràng dùng vi tảo lợi hơn dùng các loại cây họ đậu do năng suất dầu cao gấp 19-23 lần so với cây cọ dầu. Tuy nhiên, giá thành sản xuất dầu từ vi tảo vẫn còn cao. Theo Chisti (2007), giá thành petrodiesel là 0.5 USD/lít, dầu cọ là 0.66 USD/lít và vi tảo là 1.4 USD/lít (chứa 30% dầu). Vậy muốn giá dầu biodiesel từ vi tảo bằng với petrodiesel thì hàm lượng dầu trong tảo phải đạt 57%. Nuôi tảo dị dưỡng (heterotrophic) cho hàm lượng dầu cao (55%, theo Miao 2006) nhưng chiếm đất gấp 1,4 lần so với nuôi tự dưỡng (autotrophic). Các loại vi tảo bình thường sản xuất dầu có nhiệt trị từ 18-21 kJ/g. Trong lúc vi tảo *Chrorella* trong điều kiện tự dưỡng, sản xuất dầu có nhiệt trị tới 28 kJ/g (Scragg et al, 2002). Vì vậy, chế độ nuôi tảo để tăng năng suất sinh khối, có tỉ lệ dầu và nhiệt trị cao còn là vấn đề cần nghiên cứu.

Ý tưởng sản xuất biodiesel từ vi tảo đã có từ lâu (Chisti Y, 1980). Nghiên cứu sản xuất biodiesel từ vi tảo đã được thực hiện từ 1994 do Roessler và cộng tác viên, sau đó được tiếp tục bởi nhiều tác gia. Biodiesel là sản phẩm của phản ứng giữa dầu và rượu có xúc tác acid hoặc kiềm. Tuy nhiên xúc tác kiềm kinh tế hơn do phản ứng nhanh hơn xúc tác acid 4000 lần, hệ số chuyển đổi cao (98%), nhiệt độ và áp suất phản ứng thấp, không gây hao mòn vật liệu buồng phản ứng (Schuchardt và ctv, 1998; Fukuda và ctv., 2001). Với tảo nuôi dị dưỡng, tác giả Miao (2006) cho rằng xúc tác acid phù hợp hơn. Do vậy, việc tiếp tục nghiên cứu tối ưu phản ứng transesterification và chế độ trích ly dầu cũng như các quá trình tinh luyện, thu hồi, sử dụng phụ phẩm cũng phải cần nghiên cứu để giảm giá thành sản xuất.

1.2 Mục đích

1. Khảo sát các nguồn vi tảo trong nước thích hợp cho nguyên liệu sản xuất biodiesel.
2. Nghiên cứu qui trình công nghệ nuôi tảo sản xuất được dầu biodiesel ở điều kiện nước ngọt nhằm áp dụng ở các nhà máy hoặc nơi thải ra nhiều khí CO₂ góp phần cải thiện môi trường.
3. Nghiên cứu qui trình công nghệ nuôi tảo sản xuất được dầu biodiesel ở điều kiện tự dưỡng ở điều kiện nước mặn.
4. Đánh giá chất lượng biodiesel sản xuất trong điều kiện nguồn tảo ở Việt Nam.
5. Tìm qui trình tối ưu cho các công đoạn cô đặc, chiết dầu, chuyển đổi dầu thành biodiesel, thu hồi methanol và tận dụng phụ phẩm để bước đầu đánh giá hiệu quả sản xuất biodiesel trong điều kiện Việt nam.

Chương 2 VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1 Quy trình chung sản xuất biodiesel

Quy trình chung sản xuất biodiesel và các phụ phẩm từ tảo cho trên hình 3.2.

- Trích ly: bột tảo khô được trích ly bằng phương pháp Soxhlet dung môi hexan.
- Tách dầu: dùng cô đặc chân không để tách dầu và thu hồi hexan.
- Tách tạp chất: sử dụng acid khoáng và rửa bằng phương pháp Folch.
- Phản ứng biodiesel: Dùng methanol với lượng dư (tỉ lệ 15,68% theo khối lượng hỗn hợp dầu-methanol), xúc tác KOH tại nhiệt độ 56°C-60°C trong 2-4 giờ.
- Lắng: hỗn hợp sau phản ứng được lắng 12 giờ để tách lớp trên và dưới.
- Biodiesel thô được rửa nước và sấy để có biodiesel.

2.2 Các nội dung thực hiện

- Nội dung 1: Khảo sát nguồn nguyên liệu vi tảo trong nước, thí nghiệm thăm dò sinh khối và đo đặc cơ bản.....
- Nội dung 2: Thiết kế, chế tạo các thiết bị phục vụ đề án
- Nội dung 3: Nghiên cứu hàm lượng dầu nuôi qui mô phòng thí nghiệm và khảo sát chiết tách dầu tảo.
- Nội dung 4: Nghiên cứu tăng hàm lượng dầu trong tảo.....
- Nội dung 5: Nghiên cứu hàm lượng dầu và sinh khối tảo nuôi qui mô pilot.....
- Nội dung 6: Nghiên cứu tinh chế dầu và xác định các tính chất hoá lý của dầu tảo.....
- Nội dung 7: Khảo sát phản ứng biodiesel và đánh giá chất lượng biodiesel từ tảo so với các loại dầu khác
- Nội dung 8: Thử nghiệm trên động cơ diesel

Chương 3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Nội dung 1: Khảo sát nguồn nguyên liệu vi tảo trong nước, thí nghiệm thăm dò sinh khối và đo đặc cơ bản

3.1.1 Kết quả chọn lựa nguồn nguyên liệu

Tảo *Chlorella sp* (nước ngọt và mặn) xuất xứ ĐH Cần Thơ, Trung Tâm Quốc Gia giống Hải sản Nam bộ và Khoa Thủy sản Trường Đại học Nông Lâm, Tp. Hồ Chí Minh.. *Chlorella Vulgaris* (nước mặn) xuất xứ biển Nha Trang, *Nannochloropsis oculata* biển Quảng Ninh (nước mặn) do Viện CNSH Việt nam thuần chuẩn.

3.1.2 Thí nghiệm thăm dò sinh khối

Nuôi tảo *Chlorella sp* trong môi trường Hannay cải tiến ở hai nồng độ muối 1.5% và 2%, với cường độ chiếu sáng 2500 – 3500 lux, có sục khí liên tục, mật độ đầu 1.4 triệu tb/ml, dung tích bình 0.5 lít và 5 lít. Tảo phát triển đạt cực đại sau 7-8 ngày đạt 40-60 triệu tb/ml. Kết quả cho thấy tảo *Chlorella sp* là loài là loài rộng muối phát triển được ở các loại nước ngọt, lợ, mặn khác nhau.

Kết luận:

Kết quả cho thấy tảo *Chlorella sp* là loài là loài rộng muối phát triển được ở các loại nước ngọt, lợ, mặn khác nhau, có thể nuôi ở nhiều môi trường thức ăn khác nhau. Dung tích bình càng lớn cho sinh khối càng thấp do việc cung cấp ánh sáng và sục khí khó hơn, nên việc cung cấp ánh sáng và sục khí quan trọng.

3.1.3 Khảo sát phân bố ánh sáng của đèn huỳnh quang

Do tính quan trọng của ánh sáng nhận xét ở 4.1.2, mục này trình bày các khảo sát về sự phân bố ánh sáng của đèn huỳnh quang giúp bố trí hợp lý trong phòng thí nghiệm.

Với đèn 1.2m, đo độ Lux ánh sáng theo dọc bóng đèn (độ dọc x) và theo khoảng cách độ xa với bóng đèn (độ xa L). Kết quả cho thấy dọc theo bóng đèn (độ dọc x) ít thay đổi từ khoảng cách 100mm so với đầu bóng. Nhưng độ xa L ảnh hưởng rất lớn đến cường độ ánh sáng.

Phương trình hồi quy của cường độ sáng đèn huỳnh quang 1.2m:

$$Q = 4471,9057 + 3386,9457 * x^{0,034} - 1488,688 * \ln(L) + 5883,3238 * x^{0,317} * L^{-0,867} \quad (4.1a)$$

Q, W: cường độ sáng (lux), L: độ xa của điểm đo tới đèn (mm), x: độ dọc của điểm đo đến đầu đèn (mm).

3.1.4 Xác định mật độ tảo bằng quang phổ kế

4.1.4.1 Tìm bước sóng tối ưu

Thí nghiệm trên 3 mẫu tảo *Chlorella sp* khác nhau. Quét các mẫu trên từ bước sóng 406 đến 680 nm cho thấy độ hấp thu tốt nhất ở 412nm cho cả 3 mẫu. Vậy bước sóng 412nm được chọn để đo mật độ tảo.

4.1.4.2 Công thức đo mật độ tảo bằng OD

Dùng dịch môi trường nuôi tảo làm mẫu trắng và quét mẫu dịch tảo ở bước sóng 412nm, tìm được tương quan. Phương trình dự đoán mật độ tảo triệu tb/mL (Y) theo độ hấp thu (X) như sau:

$$\text{Chlorella sp} : Y = 30.77X \quad (4.2a) \quad \text{và} \quad \text{Chlorella Vulgaris} : Y = 20.09X \quad (4.2b)$$

Kết luận: Mật độ tảo có thể xác định nhanh bằng phương pháp đo OD.

3.2 Nội dung 2: Thiết kế, chế tạo các thiết bị phục vụ đề án

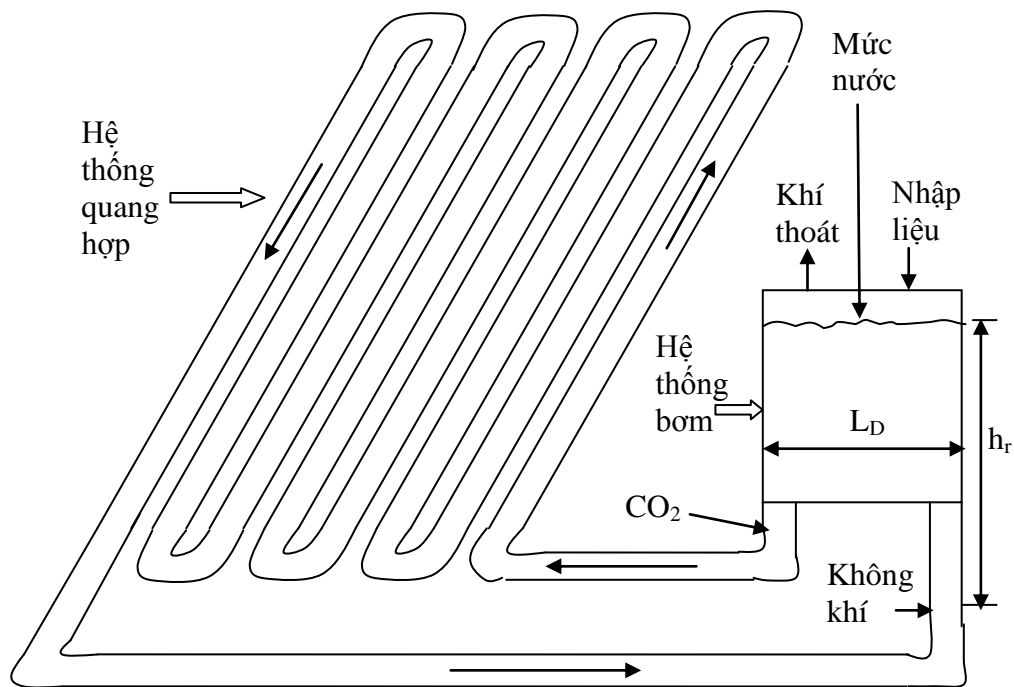
3.2.1 Thiết kế, chế tạo thiết bị quang hợp sinh học tuần hoàn

Thiết bị nuôi dạng ống plastic đường kính $\Phi = 70\text{mm}$ và 140mm được chọn để thiết kế. Sơ đồ nguyên lý cấu tạo thiết bị cho trên hình 3.1. Các thông số chọn: $V_0 = 138$ lít, thể tích chứa dịch trong ống

quang hợp, $V_t = 30$ lít, thể tích chứa dịch trong thùng bài khí, chiếm tỉ lệ $30/138 = 22\%$ thời gian không quang hợp trong một chu kỳ, $L = 44\text{m}$ là tổng chiều dài ống quang hợp, $L_o = 2\text{m}$ là chiều dài 1 ống

Bảng 3.1: Tóm tắt các thông số kỹ thuật thiết bị QHSH

Thông số	
Đường kính ống quang hợp (m)	0.07
Chiều dài ống quang hợp (m)	2
Tổng diện tích quang hợp (m^2)	4
Thể tích dịch (lít)	168
Chiều cao cột đẩy (m)	0.45
Vận tốc dịch trong ống (m/s)	0.01



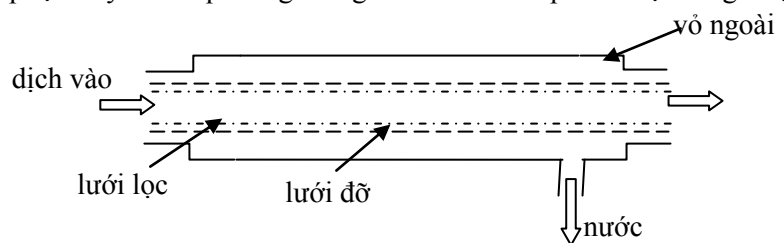
Hình 3.1: Sơ đồ nguyên lý thiết bị quang hợp sinh học tuần hoàn (QHSH)

3.2.2 Thiết bị ly tâm và màng lọc

4.2.2.1 Nguyên lý

Máy ly tâm quay ở tốc độ cao để tách nước ra khỏi tảo. Thiết bị bao gồm roto quay, thùng chứa, thùng nạp liệu. Dịch được cung cấp vào giữa roto quay, dưới tác dụng lực ly tâm dịch được ép vào thành roto. Do tảo nặng hơn nước nên tảo được ép vào vách thành roto, còn nước ở bên ngoài và tách khỏi lớp tảo.

Máy màng lọc hoạt động theo nguyên tắc áp lực. Dịch được bơm ly tâm đẩy dọc trong ống màng có kích thước lỗ nhỏ hơn đường kính tảo. Áp lực đẩy nước qua ống màng tách ra khỏi lớp tảo. Hệ thống được cải biên như Hình 2.2.



Hình 3.2: Cấu tạo cụm màng lọc. Lưới lọc vải dùng thay cho màng ceramic, bảng vẽ chi tiết Phụ lục 6.

4.2.2.2 Chế tạo

Bảng 3.2: Thông số kỹ thuật

Máy ly tâm		Máy màng lọc	
+ Đường kính roto	200 mm	+ Đường kính lỗ giấy lọc	1.5 μm
+ Chiều cao roto	200 mm	+ Đường kính lỗ lưới đỡ	2 mm
+ Tốc độ quay roto	3000 v/p	+ Đường kính ống đỡ	20 mm
+ Đường kính buồng chứa	350 mm	+ Đường kính ống ngoài	30 mm

3.3 Nội dung 3: Nghiên cứu hàm lượng dầu nuôi qui mô phòng thí nghiệm và khảo sát thu hồi tảo, chiết tách dầu tảo.

3.3.1 Nuôi ở điều kiện nước thải nhà máy sản xuất ethanol

4.3.1.1 Nuôi dung tích 500ml

Có sự khác biệt giữa hấp và không hấp nước thải lên hàm lượng dầu và sinh khối. Tuy nhiên nuôi trong nước thải tự nhiên hàm lượng dầu 16.37 mg/L khác ít so với nước thải đã xử lý triệt trùng ($P > 0.05$).

Bảng 3.3: Bảng kết quả phân tích thí nghiệm nuôi nước thải bình 500 ml.

Các giá trị áp dụng	Mật độ đỉnh (trtb/ml)	Khối lượng tảo khô K (mg/l)	Tỉ lệ trích ly dầu thô P (%)	Hàm lượng dầu thô M (mg/l)	BOD (mgO ₂ /L) trước/sau nuôi	COD (mgO ₂ /L) trước/sau nuôi
Hấp	38.08 ^a	170.38 ^a	11.1 ^a	18.87 ^a		
Không hấp	28.38 ^b	125.98 ^b	13 ^b	16.37 ^b	81/7.9	260/78

Ghi chú: Các số trung bình khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa ở độ tin cậy 93% ($p < 0,07$). Không khác biệt ở độ tin cậy 95%.

Điều này cho thấy khả năng nuôi tảo trong môi trường nước thải vẫn sinh ra dầu khá cao và kết hợp xử lý, cụ thể hạ BOD (COD) từ 81 (260) xuống 7.9 (78) mgO₂/L sau khi nuôi, mở ra một hướng sản xuất dầu kết hợp xử lý nước thải, tận dụng nguồn dinh dưỡng nước thải.

4.3.1.2 Nuôi dung tích 5000ml

Nuôi tảo *Chlorella vu.l* trong môi trường dinh dưỡng Nitơ thấp cải tiến. Mật độ đầu: 1 trtb/ml, nước thải nhà máy sản xuất ethanol không xử lý hấp. Kết quả tảo sống bình thường, cho sinh khối cao 22.6 triệu tb/mL sau 360 giờ.

Kết luận: Tảo có thể nuôi trong môi trường nước thải nhà máy sản xuất ethanol để cho ra dầu, vừa tận dụng dinh dưỡng trong nước thải và vừa xử lý nước.

3.3.2 Khảo sát sự thu hồi chất khô tảo bằng phương pháp ly tâm và cô đặc màng

Tảo nuôi ở các môi trường khác nhau như Hannay và đậm đặc ở các nồng độ tảo ban đầu khác nhau được thu hồi bằng hai phương pháp là ly tâm và cô đặc màng lọc. Qua bảng cho thấy lượng thu hồi giữa hai phương pháp tương đương, tuy nhiên thời gian thu hồi đối với màng lọc gồm đường kính lỗ 0.05 μm quá chậm so với màng lọc cải tiến dùng giấy lọc Whatman đường kính lỗ 1.5 μm và phương pháp ly tâm (Bảng 3.5). Như vậy, bảng 3.5 cho thấy dùng màng lọc ceramic 0.05 μm năng suất quá thấp, trong lúc đó màng lọc cải tiến đường kính lỗ 1.5 μm có thể tương đương ly tâm khi áp suất bơm tăng lên 47.85 kPa. Tuy nhiên, việc sử dụng màng lọc còn khuyết điểm là công suất tiêu thụ cao hơn (1 kW) so với ly tâm (0.5 kW) và tảo có thể tổn thương ở áp lực cao, cần nghiên cứu thêm. Hiện tại, phương pháp ly tâm được chọn do đơn giản và ít tiêu hao năng lượng.

Bảng 3.4 : Khối lượng chất khô tảo (g/l) thu được ứng với phương pháp ly tâm và cô đặc màng ở các mật độ ban đầu khác nhau nuôi ở môi trường đậm thấp (ĐT) và Hannay (H).

Phương pháp thu hồi	Khối lượng chất khô tảo (g/l)				
	ĐT-0.1	ĐT-0.25	ĐT-0.5	H-1	H-1.5
Ly tâm	0,08	0,08	0,52	0.31	0.25
Cô đặc màng 1.5 μ m	0,12	0,08	0,2	0.39	0.25

Trong đó ký hiệu ĐT-0.1 là môi trường đậm thấp mật độ ban đầu 0.1 triệu tb/L.

Bảng 3.5: So sánh thời gian lọc của phương pháp màng lọc và ly tâm

Lượng nước lọc (kg)	Áp suất lọc (kPa)	Thời gian lọc (giờ)		
		Màng lọc 0,05 μ m	Màng lọc 1.5 μ m	Ly tâm
15	26.68	122.97	9.30	0.75
15	31.13	27.99	2.12	
15	35.58	15.59	1.18	
15	40.03	14.08	1.07	
15	47.85	12.00	0.75	

3.3.3 Đánh giá ảnh hưởng của việc cấy chuyển và điều kiện nuôi lên thời gian và tốc độ sinh khối tảo *Chlorella sp.*

Trong việc nhân rộng nuôi tảo từ dung tích nhỏ sang dung tích lớn hơn, tảo được cấy chuyển liên tục. Thí nghiệm giúp đánh giá ảnh hưởng của việc sử dụng tảo đạt đỉnh vòng nuôi trước cho vòng nuôi kế tiếp và ảnh hưởng của việc tăng dung tích bình cũng như điều kiện sục khí, ánh sáng lên sinh khối và thời gian nuôi.

Kết quả cho thấy đỉnh sinh khối đạt 12 triệu tb/mL là như nhau khi chuyển từ vòng 1 sang vòng 2 cùng thể tích 500mL. Thời gian đạt đỉnh 96-120 giờ như nhau. Tuy nhiên, khi chuyển sang bình 5 lít dung tích lớn hơn như ở vòng 3, mật độ đỉnh tảo giảm đáng kể còn 6 triệu tb/mL, thời gian đạt đỉnh dài gấp đôi.

Rõ ràng tốc độ tăng trưởng tảo giảm khi tăng dung tích bình không bị ảnh hưởng bởi cấy chuyển mà do sục khí yếu hơn 5 lần, ánh sáng cung cấp yếu hơn (bán kính bình 0.5 lít là 3cm; bình 5 lít là 10cm).

Kết luận: Việc nuôi chuyển tảo đạt đỉnh vòng trước cho vòng sau bảo đảm tảo sinh trưởng bình thường. Tuy nhiên việc tăng thể tích nuôi làm giảm tốc độ sinh trưởng chủ yếu do điều kiện sục khí và cung cấp ánh sáng kém hơn. Kết luận này giúp chúng ta chú ý hơn về điều kiện sục khí và ánh sáng khi nuôi sản xuất.

3.3.4 Thí nghiệm chiết dầu tảo bằng phương pháp soxhlet dùng các dung môi khác nhau.

4.3.3.1 Khảo sát ảnh hưởng của các loại dung môi

Thời gian chiết cố định 4 giờ. Dung môi được thay đổi khác nhau ở mỗi lượt chiết là n-hexan, eter dầu hỏa (60-90°C), hỗn hợp chloroform: metanol (2:1), diclorometane.

Nhận xét: tỉ lệ ly trích dầu thô ở hỗn hợp chloroform:metanol (2:1) là cao nhất (14.33 %), tiếp đó là đến n-hexan (8.62 %) nhưng do hỗn hợp dung môi chloroform:metanol (2:1) có tính phân cực cao nên có thể đã chiết luôn cả các hợp chất khác và màu sắc của cao chiết thu được không đồng nhất, có màu đậm đen do đó dầu thu được có chất lượng không cao. Trong trường hợp dung môi eter dầu hỏa và diclorometane màu sắc cao chiết khá tương đồng với n-hexan, ít đậm, nhưng tỉ lệ ly trích dầu lại không bằng. Vì vậy n-hexan được chọn là dung môi thích hợp nhất để tiến hành những thí nghiệm ly trích sau bằng phương pháp soxhlet.

4.3.3.2 Khảo sát ảnh hưởng của ẩm độ

Trong quá trình sấy, nguyên liệu được lấy ra ở các thời gian khác nhau để có ẩm độ khác nhau và đem đi trích bằng soxhlet dung môi hexan trong 4 giờ. Kết quả cho trên Bảng 3.6.

Bảng 3.6. Kết quả khảo sát hàm lượng dầu theo độ ẩm.

Độ ẩm (%)	0	2.73	6.89	11.30
Tỉ lệ chiết (%)	8.62	8.45	7.87	7.03

Nhận xét: độ ẩm của tảo nguyên liệu đóng vai trò quan trọng trong hiệu suất ly trích dầu, độ ẩm nguyên liệu càng thấp thì hiệu suất ly trích dầu càng cao. Vì vậy nguyên liệu tảo đã được làm khô nước hoàn toàn (hàm lượng độ ẩm 0 %) là thích hợp nhất để ly trích dầu.

4.3.3.3 Khảo sát ảnh hưởng của thời gian ly trích

Tiến hành khảo sát ảnh hưởng của thời gian lên hiệu suất ly trích dầu, dung môi chiết là n-hexan, thời gian mỗi lần chiết được thay đổi từ 2, 4, 6, 12 giờ. Kết quả được trình bày trong bảng 3.7.

Bảng 3.7. Kết quả khảo sát hàm lượng dầu theo thời gian ly trích.

Thời gian (giờ)	2	4	6	12
Tỉ lệ chiết (%)	5.06	8.62	10.35	10.60

Nhận xét: bảng 3.7 cho thấy thời gian ly trích tảo càng tăng thì hiệu suất chiết dầu tăng dần nhưng không tuyến tính. Sau 6 giờ ly trích hiệu suất dầu thu được là 10.35 %, đến 12 giờ là 10.60 %, thời gian tăng gấp đôi nhưng hiệu suất ly trích dầu tăng lên không đáng kể. Vì vậy chọn khoảng thời gian chiết 6 giờ.

4.3.3.4 Khảo sát ảnh hưởng của khối lượng tảo khô

Nhằm đánh giá đúng lượng tảo cần thiết để chiết soxhlet ứng với một khối lượng dung môi nhất định, cố định lượng dung môi n-hexan mỗi lần chiết là 200 ml, thể tích ống chứa 100 ml và thay đổi lượng tảo khô ban đầu 0.8; 10; 20; 30; 40 g. Thời gian chiết là 4 giờ. Kết quả được trình bày trong bảng 3.8.

Bảng 3.8: Kết quả khảo sát ảnh hưởng của khối lượng tảo khô lên tỉ lệ ly trích dầu.

Khối lượng tảo khô (g)	0.8	10	20	30	40
Tỉ lệ tảo/hexan (g/mL)	0.0004	0.05	0.1	0.15	0.2
Tỉ lệ ly trích (%)	8.62	8.57	8.58	8.50	7.74

Nhận xét: đối với khối lượng tảo khô ≤ 30 g, hiệu suất ly trích dầu vẫn ở mức cao và khá ngang bằng nhau (từ 8.50 % - 8.62 %). Tuy nhiên nếu khối lượng tảo tăng lên nữa (40 g) thì hiệu suất ly trích dầu lại giảm xuống. Vì vậy chúng chọn khối lượng tảo khô 30 g là thích hợp nhất để ly trích dầu trong trường hợp chiết soxhlet bằng thiết bị đã sử dụng, tương ứng tỉ lệ tảo/hexan là 0.15 g/mL.

3.3.5 Khảo sát phương pháp ngâm dầm bằng ethanol và tách pha lỏng-lỏng

Việc sử dụng hexan là dung môi độc hại và đắt tiền. Do vậy, nếu giảm bớt dùng hexan sẽ có lợi về an toàn và kinh tế. Trong mục này, ethanol được dùng để trích ly dầu thay thế một phần lượng hexan. Quy trình chung gồm 2 bước:

Bước 1: Chiết dầu từ tảo bằng ngâm dầm tảo khô với ethanol 96%, được dịch ethanol-dầu

3.3.6 Thí nghiệm chiết dầu tảo bằng phương pháp chiết ứot

- *Mục đích:* Xác định được quy trình chiết tách ứot tối ưu. Nếu chiết tách ứot thì mẫu sẽ không qua giai đoạn sấy. Như vậy sẽ tiết kiệm được năng lượng dùng trong việc sấy mẫu. Đây cũng là một trong những biện pháp để giảm giá thành sản xuất biodiesel.
- *Cách tiến hành thí nghiệm:*

Tảo sau khi thu sinh khối bằng phương pháp ly tâm sẽ tiến hành đem trích ly theo phương pháp Folch, trong đó dung môi sử dụng là hỗn hợp chloroform/methanol (2/1) theo thể tích. Hỗn hợp này có tỉ trọng 1.25 nên không bị nước cản trở trong quá trình trích ly.

Kết quả cho tỉ lệ trích đạt 7.36-9.3% với tỉ lệ dung môi/tảo 25:1. Giá trị này tương đối khá cao so với các phương pháp trên, thời gian chỉ 40 phút mà không qua giai đoạn sấy. Đây là phương pháp có tiềm năng.

Kết luận: Phương pháp ngâm dầm ethanol cho hiệu suất trích (5-7%) thấp hơn soxhlet bằng hexan (10.35%). Tuy nhiên, xét về mặt giảm lượng sử dụng hexan, ta thấy để trích 30g tảo chỉ cần 84mL hexan (theo tỉ lệ 0.2 mL hexan/ 1mL dịch B), trong lúc phương pháp soxhlet cần 200 mL hexan. Ngâm dầm có siêu âm hỗ trợ làm giảm thời gian đáng kể, tương đương với phương pháp soxhlet dung môi hexan.

Bảng cho thấy phương pháp soxhlet dung môi hexan cho hiệu quả trích ly cao nhất đạt 10.35% trong 6 giờ. Trong lúc đó phương pháp chiết ứot cho hiệu suất khá cao 7.36-9.3% trong thời gian ngắn < 1 giờ. Rõ ràng đây là phương pháp có tiềm năng nhất vì không cần sấy mẫu nên tiết kiệm năng lượng góp phần giảm giá thành sản xuất biodiesel. Tuy nhiên việc sử dụng chloroform độc hại cũng là vấn đề cần quan tâm.

Bảng 3.11. So sánh kết quả các phương pháp ly trích.

Phương pháp	Hiệu suất ly trích dầu tối ưu (%)	Thời gian ly trích (giờ)
Chiết soxhlet	10.35	6
Ngâm dầm 2 giai đoạn	6.4-7.1	11.25
Ngâm dầm thông thường	5.68	24
Ngâm dầm siêu âm	7.01	4
Chiết ứot theo qui trình Folch	7.36-9.3	< 1 giờ

3.4 Nội dung 4: Nghiên cứu tăng hàm lượng dầu trong tảo

3.4.1 Thí nghiệm bổ sung acid citric

Axít citric và isocitric có tác dụng hoạt hóa acetyl-CoA-carboxylase dẫn đến làm thay đổi tốc độ tổng hợp axit béo. Thí nghiệm tiến hành trên tảo *Chlorella vulgaris*. Thời gian bổ sung axit citric vào thời điểm nuôi cấy được 72 giờ với nồng độ 0,87 mM. Trung bình 1 lít thu được 113 mg tảo khô với mật độ trung bình 6,76 triệu tb/ml. Hàm lượng dầu có trong tảo *Chlorella vulgaris* có bổ sung acid citric tăng lên 17,25% so với không có bổ sung là 6,35% (Bảng 3.12). Như vậy, bổ sung acid citric tăng đáng kể tỉ lệ dầu trong tảo.

Bảng 3.12: Tỉ lệ dầu (%) của tảo *Chlorella* trong môi trường nitơ cải tiến có và không bổ sung axit citric.

Nội dung	<i>Chlorella</i> sp. không bổ sung acid citric	<i>Chlorella vulgaris</i> không bổ sung	<i>Chlorella vulgaris</i> có bổ sung
KL tảo khô đem trích (g)	5,0	4,0	6,0
Hàm lượng lipid ly trích bằng n-Hexan (%)	9,2	6,35	17,25

3.4.2 Nghiên cứu thay đổi công thức nuôi: Ảnh hưởng của N, Fe, K và Mg lên sinh khối và hàm lượng chất khô tảo *Chlorella sp.* nuôi ở dung tích 500ml.

4.4.2.1 Thí nghiệm thăm dò:

Môi trường N thấp cải tiến HHNL1 (Trương Vĩnh, 2008) đã tăng dầu trong tảo từ 6% (môi trường Hannay) lên 10%. Môi trường HHNL1 gồm các thành phần $(NH_4)_2HPO_4$, $MgSO_4$, KCl , $FeSO_4$, và KH_2PO_4 . Điều này chứng tỏ rằng khi thay đổi công thức thức ăn có thể làm thay đổi hàm lượng dầu. Đó là cơ sở cho thí nghiệm sau.

4.4.2.2 Thí nghiệm bề mặt đáp ứng:

Trong thí nghiệm này, hàm lượng bốn thành phần dầu trong HHNL1 được chọn làm trung tâm và thiết kế bề mặt đáp ứng với biến mã hóa (xem chi tiết báo cáo). Biến đổi từ biến thực qua biến mã hóa cho trên phương trình (3.1).

$$x_1 = \frac{(NH_4)_2HPO_4 - 406}{50}; \quad x_2 = \frac{FeSO_4 - 10}{2}; \quad x_3 = \frac{KCl - 2236}{200}; \quad x_4 = \frac{MgSO_4 - 2465}{200} \quad (3.1)$$

Phân tích thống kê ta được phương trình mô tả sinh khối (M, triệu tế bào/mL) và khối lượng khô (Km, g/L) với độ tin cậy 90% như sau:

$$M = 16,561312 - 1,123639.x_1 + 0,661335.x_3 - 0,747143.x_1^2 + 0,946875.x_2.x_3 \quad (4.2a)$$

$$Km = 0,38871 - 0,01724.x_1 + 0,01555.x_2 + 0,01589.x_3 \quad (4.2b)$$

Mô hình cho thấy N, Fe và K có ảnh hưởng đến khối lượng chất khô tảo, Mg không ảnh hưởng. Xử lý số liệu tìm được các giá trị sau đây để vừa khối lượng khô và sinh khối đạt cực đại:

$$x_1 = -1,68179 \text{ (N)}, \quad x_2 = 1,68179 \text{ (Fe)}, \quad x_3 = 1,68179 \text{ (K)}, \quad x_4 = 0 \text{ (Mg)}$$

Khi đó, phương trình (4.2a) cho sinh khối cực đại $M = 20,58 \times 10^6$ tb/mL, khối lượng khô 0,47g/lít. Dùng công thức (3.1) tìm được giá trị thực các hóa chất trong môi trường nuôi. Tuy nhiên, do dung tích nuôi 500mL là nhỏ khó xác định được hàm lượng dầu nên khi sinh khối và khối lượng khô đạt cực đại theo mô hình ta vẫn chưa chắc hàm lượng dầu đã tối ưu tại nghiệm này. Do vậy, cần nuôi ở dung tích lớn hơn.

3.4.3 Nghiên cứu thay đổi công thức nuôi: Ảnh hưởng của N, Fe, K và Mg lên sinh khối và hàm lượng chất khô tảo *Chlorella sp.* nuôi ở dung tích 5000ml.

Thí nghiệm này giống thí nghiệm 3.3.6.2, chỉ khác là dung tích tăng lên 5000mL, lượng không khí sục cho mỗi bình là 4 lít/phút. Số liệu thô cho trong phụ lục 3.4. Thời gian đạt đỉnh không chênh lệch nhiều giữa các nghiệm thức, sớm nhất là 188,2 giờ và lâu nhất là 268 giờ, đa số tập trung khoảng 232.8 giờ (~ 10 ngày). Có sự khác biệt giữa các mật độ dinh, cao nhất ở nghiệm thức 10 là 15,5 trtb/ml.

Tỉ lệ dầu cao nhất là 16,4% ở nghiệm thức 12, còn trung bình là 10,5% cao hơn 2 nghiệm thức trung tâm là 1 và 18. điều này chứng tỏ bố trí thí nghiệm đúng hướng tăng dầu.

Mô hình hàm lượng dầu H (mg/L) như sau (phân tích thống kê ở Phụ lục 3.4):

$$H = 16,0229 + 2,5865x_1 - 5,3456x_2 + 2,5568x_4 + 4,4068x_1x_2 - 2,75x_2x_3 + 8,3865x_2x_4 + 5,2508x_1^2 + 5,9579x_2^2 + 4,526x_4^2 \quad (R^2 = 0,934) \quad (3.3)$$

Qua phân tích hồi quy các yếu tố Nitơ (x_1), Fe(x_2) và Mg(x_4) ảnh hưởng lớn đến chỉ tiêu hàm lượng dầu theo thể tích H. Trong đó có xu hướng giảm Fe, tăng N thì tổng hàm lượng dầu sẽ cao hơn. Kali (x_3) ảnh hưởng không đáng kể. Quan sát tổng thể thì tại giá trị trung tâm đạt giá trị nhỏ. Không phải là nơi cho hàm lượng cao nhất. Giá trị tối ưu cho trên bảng 3.13.

Với điều kiện của môi trường nuôi tối ưu của hàm lượng dầu trên thì giá trị đạt được theo lý thuyết là 104,5 mg dầu/lít, tương đương với thực nghiệm, mặc dầu hai nghiệm này là các điểm biên khác nhau.

Nghiệm tối ưu cho thấy để tăng hàm lượng dầu cần phối hợp đồng thời giảm Fe, giảm N (tăng tỉ lệ dầu) hoặc tăng Fe và N (tăng chất khô). Nhận xét này phù hợp với kết quả của tác giả Liu và ctv (2007) về xử lý thiếu sắt làm tăng tỉ lệ dầu trong tảo. Về hàm lượng N, tại nghiệm tối ưu cho hàm lượng N là 68mg/L ít hơn so với nhu cầu trong môi trường Hannay là 80mg/L. Rõ ràng vừa tăng tỉ lệ dầu vừa tăng sinh khối đồng thời là khó thực hiện. Hai quá trình này phải xử lý riêng biệt.

Bảng 3.13 Môi trường tối ưu cho hàm lượng dầu cực đại.

Thực nghiệm		Từ mô hình (4.3)
x1	-1,68179	1,68179
x2	-1,68179	1,68179
x3	1,68179	-1,68179
x4	-1,68179	1,68179
Giá trị cực đại hàm lượng dầu (mg/L)		104,5

Kết luận: thí nghiệm cho thấy bằng cách thay đổi công thức thức ăn có thể đạt tỉ lệ dầu 16.4% (cao hơn trước đây, khoảng 10-11%), hàm lượng dầu dự đoán đạt cực đại là 104.5 mg/L dịch tảo. So với trước đây, hàm lượng chất khô 0.28g/L, tỉ lệ dầu dưới 11% thì hàm lượng dầu dưới 30.8 mg/L dịch tảo, thấp hơn nhiều so với hàm lượng dầu tại nghiệm tối ưu.

3.4.4 Nghiên cứu xử lý thiếu Fe để tăng dầu trong tảo

Kết quả thí nghiệm 3.3.6.3 và của tác giả Liu và ctv (2008) cho thấy việc xử lý thiếu Fe sẽ tăng hàm lượng dầu trong tảo. Vì vậy, thí nghiệm này nghiên cứu xử lý thiếu sắt và hàm lượng sắt bổ sung đột ngột lên hàm lượng dầu. Điều kiện thí nghiệm: Môi trường đậm thấp cải tiến, tảo *Chlorella vulgaris*. Bố trí thí nghiệm: trên bảng 3.14. Mẫu đối chứng là tảo nuôi môi trường đậm thấp cải tiến, không xử lý Fe. Kết quả phân tích tổng hợp trên Bảng 3.15. Ta thấy nếu xử lý thiếu Fe ngay từ đầu đồng thời xử dụng nồng độ Fe⁺² bổ sung là 0,9*10⁻⁵ mol/l sau 7 ngày (NT2) thì sẽ cho khối lượng tảo khô K = 494,4 mg/l, tỉ lệ trích ly dầu thô P = 17,02 % và hàm lượng dầu thô M = 80,6 mg/L cao nhất, cao hơn nuôi đối chứng (K =311,3mg/L, tỉ lệ dầu P = 9,08%, hàm lượng dầu M = 28,28 mg/L dịch tảo). Tuy nhiên, xét về mặt tỉ lệ dầu và thời gian nuôi thí nghiệm thức NT5 và NT6 vượt trội hơn vì đạt tỉ lệ dầu 21-24% trong thời gian nuôi ngắn ½ so với NT2.

Kết luận: Xử lý thiếu Fe đột ngột hợp lý làm tăng hàm lượng dầu trong tảo từ 9% lên đến 17-24%.

Bảng 3.14: Bảng bố trí thí nghiệm xử lý Fe

Hàm lượng Fe bổ sung	0,45.10 ⁻⁴ mol/ml (2.52 mg/L)	0,9.10 ⁻⁵ mol/ml (0.504 mg/L)
Điều kiện xử lý thiếu sắt		
Không có Fe ngay từ đầu, bổ sung Fe ⁺² sau 7 ngày	NT ₁	NT ₂
Nuôi 3.7mg/L sắt 5 ngày, không có Fe ⁺² 2 ngày, bổ sung Fe	NT ₃	NT ₄
Nuôi 1.41mg/L sắt 6 ngày, bổ sung Fe ⁺³ lượng 2.29 mg/L (tổng bằng 3.7mg/L)	NT5	
Nuôi 2.83mg/L sắt 6 ngày, bổ sung Fe ⁺³ lượng 0.87 mg/L (tổng bằng 3.7mg/L)	NT6	

Bảng 3.15: Kết quả tốt nhất của thí nghiệm xử lý Fe

Nghiệm thức	Thời gian nuôi (giờ)	Mật độ đỉnh (trtb/ml)	Khối lượng tảo khô K(mg/l)	Tỉ lệ trích ly dầu thô P(%)	Hàm lượng dầu thô M(mg/l)
NT2	527	21,15	494,4	17,02	80,6
NT5	275	16,35	266	21,54	57,28
NT6	204	12,45	150,04	24,23	36,36
Đối chứng	527	17,25	311,3	9,08	28,28

3.5 Nội dung 5: Nghiên cứu hàm lượng dầu và sinh khối tảo nuôi qui mô pilot

3.5.1 Đo độ nhớt dịch tảo theo sinh khối

Độ nhớt tảo *Chlorella sp.* theo sinh khối đo được trung bình đạt 1044.65×10^{-6} Pas, không cao hơn nước bao nhiêu (995×10^{-6} Pas). Giá trị này có thể dùng để tính toán ma sát trên ống khi tảo chuyển động.

3.5.2 Khảo nghiệm nuôi tảo *Chlorella sp* và *Nannochloropsis Oculata* trên thiết bị quang hợp sinh học tuần hoàn (QHSH) 168 lít

Qui trình: nuôi 500mL => nuôi 5000 mL => nuôi thiết bị QHSH

Tảo *Chlorella sp* nuôi sau 8 ngày đạt đỉnh 7.4 triệu tb/mL, lượng chất khô là 292.5mg/L, tỉ lệ dầu đạt 10.2%. Mẽ nuôi này nhiệt độ không khí rất cao làm cho nhiệt độ dịch có lúc đạt 37.5°C. Tuy nhiên tảo vẫn phát triển mặc dầu sinh khối bị hạn chế. Tảo *Nannochloropsis Oculata* đạt đỉnh 11 triệu tb/mL sau 8 ngày nuôi. Kết quả cho thấy thiết bị hoạt động ổn định, dễ điều khiển, sinh khối bình thường, hệ thống kín bảo đảm sản phẩm sạch sẽ, không bị nhiễm bẩn phù hợp cho việc sản xuất đại trà.

Cụ thể, thiết bị được đề nghị cho áp dụng như sau: (1) Ứng dụng nuôi trung gian làm giống cho bước nuôi sản xuất dung tích lớn kế tiếp và cuối cùng: điều này có lợi hơn nuôi bể do bảo đảm sạch, thuần giống vì hệ thống kín. (2) Ứng dụng nuôi sản xuất dung tích lớn trong bước cuối lấy dầu do tiềm năng sinh khối lớn và dễ điều khiển nạp CO₂ chính xác hơn nuôi bể.

3.6 Nội dung 6: Nghiên cứu tinh chế dầu và xác định các tính chất hoá lý của dầu tảo

3.6.1 Tinh chế dầu thô bằng phương pháp sắc ký cột silicagel.

Cột sắc ký kích thước 15 × 30 cm, lượng silicagel mỗi lần nhồi là 8.0 g, kích thước hạt 230 - 400 mesh, dung môi giải ly là n-hexan. Trước khi giải ly, 0.5 g dầu được đem pha loãng 100 lần bằng dung môi n-hexan và được đem đo UV ở bước sóng 664 nm. Tính toán tương đối cho thấy hiệu suất xử lý màu khoảng 98.8% thông qua số liệu độ hấp thụ UV. Dầu tinh chế thu hồi được 50% so với cao thô.

Bảng 3.16 Kết quả tinh chế dầu bằng phương pháp sắc ký cột silicagel.

	UV dầu thô	UV dầu tinh	Hiệu suất xử lý màu (%)	Hiệu suất thu hồi dầu tinh (%)
Trung bình	3.946	0.047	98.82	50.31
SD	0.0125	0.0061	0.1563	0.8795

3.6.2 Tinh chế dầu bằng phương pháp hấp phụ đất sét

Cũng được tiến hành như theo phương pháp sắc ký cột silicagel, chỉ thay thế silicagel trong cột bằng đất sét benonite (kích thước hạt 200 – 500 mesh). Trong trường hợp tinh chế bằng đất sét, hiệu suất xử lý

màu loại bỏ chlorophyll trung bình đạt 85.45 % (Bảng 3.20), thấp hơn nhiều so với khi dùng silicagel (98.82 %). Hiệu suất quá trình thu hồi dầu là 56.77 %, cao hơn so với silicagel (50.31 %), điều này chứng tỏ vẫn còn một lượng chlorophyll chưa bị loại hết ra khỏi dầu sau khi tinh chế. Giá thành silicagel cao hơn đất sét.

Bảng 3.17 Kết quả tinh chế dầu bằng phương pháp hấp phụ đất sét

	UV dầu thô	UV dầu tinh	Hiệu suất xử lý màu (%)	Hiệu suất thu hồi dầu tinh (%)
Trung bình	3.864	0.562	85.45	56.77
SD	0.0563	0.0214	0.6322	1.1628

3.6.3 Tinh chế dầu bằng hỗn hợp acid H_3PO_4/H_2SO_4

Hỗn hợp acid H_3PO_4 (85 %)/ H_2SO_4 (98 %) (2:1, thể tích) pha với dầu tảo thô theo tỉ lệ acid:dầu bằng 1:10 theo khối lượng được trộn bằng máy khuấy từ ở tốc độ 250 rpm, tại 50°C trong khoảng thời gian 25 phút. Sau đó hỗn hợp được ly tâm 5000 rpm trong 10 phút. Dầu trước khi xử lý acid và sau khi sấy được đem pha loãng 100 lần bằng hexan và đo độ hấp UV thu ở bước sóng 664 nm để xác định hiệu suất tinh chế. Cân khối lượng dầu tinh thu được để xác định hiệu suất thu hồi dầu.

Bảng 3.18 Kết quả tinh chế dầu bằng phương pháp acid

	UV dầu thô	UV dầu tinh	Hiệu suất xử lý màu (%)	Hiệu suất thu hồi dầu tinh (%)
Trung bình	3.842	0.656	82.98	62.53
SD	0.0685	0.0592	1.7052	1.2850

Qua bảng 3.18 ta thấy dầu thô khi được tinh chế bằng hỗn hợp acid H_3PO_4/H_2SO_4 cho hiệu suất xử lý màu 82.98%, xấp xỉ phương pháp đất sét và thấp hơn nhiều phương pháp silica gel. Lượng chlorophyll còn nhiều nên hiệu suất thu hồi dầu của phương pháp này (62.53%) có cao hơn so với các phương pháp khác.

3.6.4 Tinh chế dầu bằng silicagel và hỗn hợp acid H_3PO_4/H_2SO_4

Dầu sau khi tinh chế bằng silicagel được tiếp tục tinh chế bằng acid. Các bước như mục 3.6.1 và 3.6.3, tuy nhiên ở bước xử lý acid tỉ lệ giảm xuống như sau, acid:dầu = 0.8:10 theo khối lượng.

Bảng 3.19 Kết quả tinh chế dầu bằng phương pháp silicagel và acid

	UV dầu thô	UV dầu tinh	Hiệu suất xử lý màu (%)	Hiệu suất thu hồi dầu tinh (%)
Trung bình	3.946	0.02	99.5	47.12
SD	0.0125	0.006	0.1457	1.0424

Nhận xét: khi kết hợp cả phương pháp sắc ký cột silicagel và hỗn hợp acid H_3PO_4/H_2SO_4 , hiệu suất quá trình loại bỏ chlorophyll rất cao (trung bình 99.50 %), hiệu suất tinh chế dầu cũng giảm xuống không đáng kể (47.12 %) so với 50.31 % nếu chỉ dùng phương pháp sắc ký cột. Dầu sau giai đoạn này có độ tinh khiết khá cao, đã có thể làm nguyên liệu cho phản ứng biodiesel.

3.6.5 Tinh chế dầu bằng đất sét và hỗn hợp acid H_3PO_4/H_2SO_4

Quy trình giống như mục 3.6.4 nhưng thay phương pháp sắc ký cột silicagel bằng đất sét như ở mục 3.6.2. Kết quả cho trên bảng 3.20.

Bảng 3.20 Kết quả tinh chế dầu bằng phương pháp đất sét và acid

	UV dầu thô	UV dầu tinh	Hiệu suất xử lý màu (%)	Hiệu suất thu hồi dầu tinh (%)
Trung bình	3.864	0.166	95.18	50.04
SD	0.0563	0.0176	1.1531	1.5292

Nhận xét: sự kết hợp của phương pháp hấp phụ đất sét và acid cho hiệu suất loại bỏ chlorophyll khá cao, trung bình đạt 95.18 %. Tuy không bằng phương pháp sắc ký cột silicagel hoặc sắc ký cột silicagel - acid nhưng nếu có thể tinh chế nhiều lần bằng acid thì chlorophyll cũng sẽ gần như bị loại bỏ hoàn toàn. Tuy vậy, dầu sau khi qua giai đoạn đất sét và acid cũng đã có thể sử dụng làm nguyên liệu cho phản ứng biodiesel.

3.6.6 Tổng kết các phương pháp tinh chế dầu

Từ kết quả của các phương pháp tinh chế dầu trên, ta tổng kết được bảng 3.21.

Bảng 3.21. Kết quả tổng kết các phương pháp tinh chế dầu.

Phương pháp	Hiệu suất xử lý màu (%)	Hiệu suất thu hồi dầu (%)
Sắc ký cột silicagel - acid	99.5	47.12
Sắc ký cột silicagel	98.82	50.31
Hấp phụ đất sét - acid	95.18	50.04
Hấp phụ đất sét bentonite	85.45	56.77
Hỗn hợp acid H_3PO_4/H_2SO_4	82.98	62.53

Từ bảng 3.21 chúng tôi nhận thấy sự kết hợp của phương pháp sắc ký cột silicagel và hỗn hợp acid H_3PO_4/H_2SO_4 cho hiệu suất xử lý chlorophyll và các dẫn xuất chlorophyll cao nhất (99.5 %), dầu đã tinh chế chỉ còn chứa một lượng chlorophyll rất nhỏ. Kế đó là các phương pháp: sắc ký cột silicagel (98.82 %), đất sét bentonite – acid (95.18 %), đất sét (85.45 %) và thấp nhất là phương pháp dùng hỗn hợp acid H_3PO_4/H_2SO_4 (82.98 %). Điều này cho thấy khả năng tinh chế và hấp phụ chlorophyll cùng các dẫn xuất của chlorophyll bằng sắc ký cột silicagel tốt hơn nhiều so với dùng đất sét hay acid. Tuy nhiên, về mặt giá thành thì silicagel khá cao hơn đất sét hoặc acid nên đây cũng là một vấn đề cần được tính toán đến trong sản xuất.

3.6.7 Khảo sát tính chất hoá lý của tảo

3.6.7.1 Chỉ số acid (AV)

Thí nghiệm được tiến hành 3 lần, kết quả trình bày trong bảng 3.22.

Bảng 3.22. Kết quả chỉ số acid của dầu tảo.

Thí nghiệm	Khối lượng dầu (g)	Nồng độ KOH (N)	Thể tích KOH chuẩn độ (ml)	Chỉ số acid (mg KOH)
Trung bình	0.2133	0.01	1.35	3.55
SD	0.0038	-	0.0500	0.1015

Chỉ số acid của dầu tảo là 3.55 mg KOH, trung bình so với chỉ số acid của các loại nguyên liệu làm biodiesel khác như mỡ cá: 0.52 mg KOH^[17] và dầu hạt jatropha: 10.35 mg KOH^[15]. Hàm lượng acid béo tự do trong dầu tảo cũng không quá cao (<4%), thuận lợi cho phản ứng biodiesel trực tiếp bằng xúc tác kiềm.

3.6.7.2 Chỉ số savon hóa (SV)

Thí nghiệm được tiến hành lặp lại 3 lần, lấy kết quả trung bình, kết quả trình bày trong bảng 3.23.

Bảng 3.23. Kết quả chỉ số savon hóa của dầu tảo.

Thí nghiệm	Khối lượng dầu (g)	Thể tích HCl 0.05N chuẩn mẫu trắng (ml)	Thể tích HCl 0.05N chuẩn mẫu dầu (ml)	Chỉ số savon hóa (mg KOH)
Trung bình	0.2001	25.0	10.60	202.56
SD	0.0014	-	0.1	0.7932

Chỉ số savon hóa của dầu tảo khá cao: 202.56 mg KOH, điều này chứng tỏ hàm lượng triglycerid trong dầu tảo cũng rất cao (>98%).

3.6.7.3 Tỷ trọng Tỷ trọng được thực hiện theo phương pháp ở phụ lục I, kết quả: 0.9261.

3.6.7.4 Độ nhớt Độ nhớt được thực hiện theo phương pháp ở phụ lục I, kết quả: 82.22 mm²/s (40°C).

Nhận xét: độ nhớt của dầu tảo ở 40°C tương đương với dầu hạt jatropha ở 30°C^[15] (87.60 mm²/s) và lớn hơn nhiều so với mỡ cá^[17] (39.67 mm²/s). Vì vậy phản ứng biodiesel nhằm làm giảm độ nhớt của dầu tảo là cần thiết.

3.6.7.5 Thành phần acid béo

Khảo sát thành phần acid béo của dầu tảo cho biết tính chất tốt, xấu của dầu có khả năng ứng dụng làm biodiesel được hay không. Dầu tảo sau khi tinh chế loại chlorophyll đồng thời bằng phương pháp sắc ký cột và acid được đem đi xác định thành phần và hàm lượng acid béo bằng phương pháp GC-MS theo mục 3.4.3. Kết quả thu được trình bày trong bảng 3.24a (xem phụ lục 4: phổ GC-MS).

Bảng 3.24a. Thành phần acid béo của dầu tảo *Chlorella vul.*

Tên acid	Công thức phân tử	Khối lượng phân tử	% khối lượng
Acid Myristic (C14:0)	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	228	0.7
Acid Palmitic (C16:0)	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256	46.08
Acid Palmitoleic (C16:1)	C ₁₆ H ₃₀ O ₂	254	2.62
Acid Stearic (C18:0)	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	284	0.79
Acid Oleic (C18:1)	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	282	11.33
Acid Linoleic (C18:2)	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	280	30.81
Acid Linolenic (C18:3)	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	278	4.33
Acid Arachidic (C20:0)	C ₂₀ H ₄₀ O ₂	312	3.35

Kết quả thành phần acid béo cho thấy thành phần acid dầu tảo gồm các acid béo dây dài (C₁₄ – C₂₀), trong đó Acid Palmitic, Oleic và Linoleic chiếm đa số tương tự các công bố thế giới nhưng khác nhau về tỉ lệ (Bảng 3.24b). Hàm lượng acid béo bão hòa là 50.92 % (chiếm hơn phân nửa, tương đương hàm lượng acid béo bão hòa của dầu cò^[11] (51.04 %) nên rất phù hợp cho phản ứng biodiesel. Điều này cũng cho thấy tính ổn định của biodiesel từ tảo hơn so với một số loại nguyên liệu làm phản ứng biodiesel khác. Tuy nhiên, hàm

lượng acid béo bất bão hòa trong dầu tảo cũng còn cao (49.08 %) nên cũng rất dễ bị oxy hóa. Vì vậy cũng cần hết sức thận trọng trong quá trình bảo quản dầu tảo. Điều đặc biệt của tảo *Chlorella vulgaris* được nuôi trồng trong điều kiện khí hậu Việt Nam so với ở một số nơi trên thế giới có sự xuất hiện thêm acid Arachidic (C₂₀H₄₀O₂) trong thành phần hóa học (Bảng 3.24a và b), chỉ giống tác giả Khasonova (1986).

Bảng 3.24b: So sánh thành phần acid béo tảo *Chlorella vulgaris* từ nhiều tác giả

Thành phần acid béo	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)
14:0	0.9		0.4	0.7	0.7
14:1	2		0.3		
14:2			0.3		
15:0	1.6				
16:0	20.4	26	12.6	12.6	46.08
16:1	5.8	8	6.3	0.9	2.62
16:2	1.7	7	1.7	9.9	
16:3		2	18.5	3.9	
17:0	2.5				
18:0	15.3			0.9	0.79
18:1	6.6	2	8.2	3.7	11.33
18:2	1.5	34	7.4	24.2	30.81
18:3		20	34.9	7.6	4.33
20:0			3.6		3.35
20:2	1.5				
20:3	20.8				
20:5				2.2	
22:0				1	
22:5				5.3	
22:6				19	
Khác	19.6				

(1): Becker (1994), (2): Georgi P. và Guillermo G. (2007), (3): Khasanova (1986), (4): www.algae.com, (5): số liệu trong đề tài này.

Khối lượng phân tử trung bình của acid béo:

$$\bar{M}_{\text{béo}} = \frac{(0.7 \times 228 + 46.08 \times 256 + 2.62 \times 254 + 0.79 \times 284 + 11.33 \times 282 + 30.81 \times 280 + 4.33 \times 278 + 3.35 \times 312)}{100} = 269.17(\text{g})$$

Thành phần % acid béo tự do có trong dầu tảo: $\% \text{béo} = \frac{3.55 \times 269.17}{56 \times 1000 \times 1} = 1.71\%$

Phân tử khối trung bình của dầu tảo:

Cách 1: dựa vào công thức phân tử của triglycerid, phân tử khối trung bình của dầu tảo được tính như sau:

$$\bar{M}_{\text{dầu}} = (269.17 \times 3) - 3 + (12 \times 3) + 5 = 845.50 (\text{g}).$$

Khối lượng trung bình của dầu tảo được dùng để tính toán lượng hóa chất khác cho phản ứng biodiesel.

Cách 2: Phân tử khối trung bình của dầu tảo có thể được tính dựa vào chỉ số acid và chỉ số savon của dầu:

$$\overline{M}_{\text{dầu}} = 56.1 \times 1000 \times 3 / (SV - AV) = 56.1 \times 1000 \times 3 / (202.56 - 3.55) = 845.67 \text{ (g)}.$$

Điều này cho thấy nếu tính bằng cách 1 hay cách 2 thì khối lượng phân tử trung bình của dầu tảo đều có sự chênh lệch không quá lớn (845.50 g so với 845.67 g).

3.7 Nội dung 7: Khảo sát phản ứng biodiesel và đánh giá chất lượng biodiesel từ tảo

Dầu tảo sau khi tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột silicagel - acid H₃PO₄/H₂SO₄ được tiến hành phản ứng điều chế biodiesel trong điều kiện xúc tác kiềm KOH. Sản phẩm sau khi được tách loại và làm sạch được phân tích phổ GC-MS để xác định hàm lượng và thành phần methyl ester thu được. Trong công nghiệp sử dụng 6-7 mole MeOH cho 1 mole Triglyceride. Trong thí nghiệm này, vì lượng dầu ít (2g) nên đã tăng lên 10 mole MeOH. Hiệu suất sơ bộ của phản ứng được tính dựa trên khối lượng biodiesel tinh sạch (m_{BDFtt}) thu được chia cho khối lượng biodiesel lý thuyết (m_{BDFlt}), dựa vào công thức:

$$H_{\text{BDF}} (\%) = \frac{m_{\text{BDF tt}}}{m_{\text{BDF lt}}} \times 100 = (1.5096 / 1.9751) \times 100 = 76.43 \text{ \%}.$$

Hiệu suất này khá thấp có lẽ do quá trình tách glycerine và thu hồi biodiesel trong thí nghiệm chưa triệt để. Kết quả thành phần methyl ester của biodiesel từ dầu tảo được trình bày trong bảng 3.25.

Bảng 3.25. Kết quả thành phần methyl ester của biodiesel từ tảo.

Methyl ester của acid	Công thức phân tử	Hàm lượng (%)
Tổng hàm lượng methyl ester	-	97.44
Acid Palmitic (C16:0)	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	46.72
Acid Palmitoleic (C16:1)	C ₁₇ H ₃₂ O ₂	2.51
Acid Stearic (C18:0)	C ₁₉ H ₃₈ O ₂	0.49
Acid Oleic (C18:1)	C ₁₉ H ₃₆ O ₂	10.22
Acid Linoleic (C18:2)	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	29.13
Acid Linolenic (C18:3)	C ₁₉ H ₃₂ O ₂	3.87
Acid Arachidic (C20:0)	C ₂₁ H ₄₂ O ₂	4.50

Kết quả phân tích GC-MS từ mẫu biodiesel tổng hợp được cho thấy tổng thành phần methyl ester chứa trong biodiesel là rất cao (97.44 %). Thành phần methyl ester của từng acid béo khá tương đồng với mẫu dầu tảo trước phản ứng (bảng 3.24a). Điều này cho thấy trong sản phẩm biodiesel, hầu hết triglycerid đã chuyển hoàn toàn thành methyl ester của acid béo và biodiesel thu được rất tinh khiết, đạt tiêu chuẩn Việt Nam về thành phần methyl ester dành cho nhiên liệu sinh học gốc B100 (≥ 96.5 %).

Do lượng dầu có được từ tảo chưa nhiều nên chỉ mới phân tích các thành phần hoá học của biodiesel, chưa đo được các tính chất hoá lý khác như điểm chớp cháy, cetane,...

3.8 Nội dung 8: Thử nghiệm trên động cơ diesel

Biodiesel B5 được pha chế theo tỉ lệ thể tích (5 biodiesel/95 diesel) và thử trên cụm động cơ 18hp kéo máy phát điện xoay chiều 1 pha công suất phát tối đa 12kW và các tải tiêu thụ bằng điện trở. Việc thử nghiệm được so sánh giữa sử dụng diesel dầu mỏ và biodiesel B5. Kết quả cho thấy sau 20 phút thử nghiệm, tính năng động cơ dùng 2 loại nhiên liệu không khác biệt đáng kể, chi phí nhiên liệu nằm trong khoảng 1.875-1.890 lit/h. Do lượng nhiên liệu ít, không có điều kiện để kiểm tra các chỉ tiêu khác như khí thải động

cơ, mài mòn động cơ, muội than,..., tuy nhiên bước đầu cho thấy biodiesel từ vi tảo có chất lượng đủ khả năng ứng dụng thực tế.

Chương 4 KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

4.1 Kết luận

Đề tài đã nghiên cứu những vấn đề cơ bản trong việc sản xuất biodiesel từ vi tảo ở Việt Nam. Tảo *Chlorella* được chọn lựa ưu tiên nghiên cứu do loài này đã được thế giới công bố là phù hợp. Các kết quả tóm tắt trong mục 4.8.1:

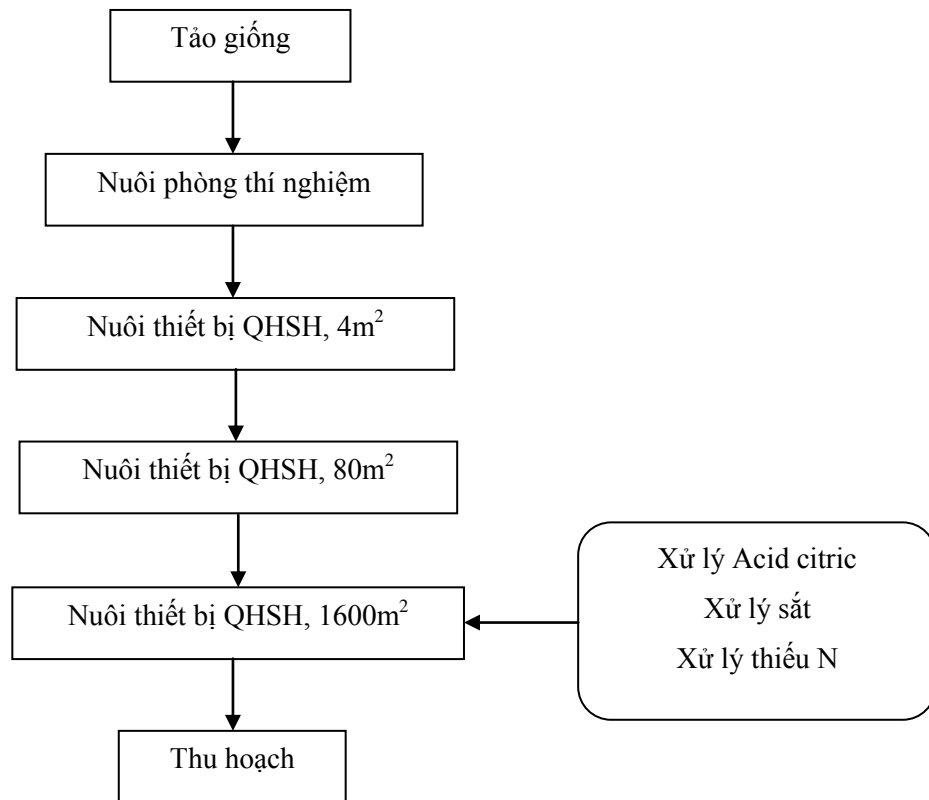
4.1.1 Đặc điểm công nghệ kỹ thuật của quá trình sản xuất biodiesel từ tảo

1. Tảo *Chlorella* có thể nuôi môi trường nước thải, nước ngọt, nước mặn, đây là loài rộng muối.
2. Việc cấy chuyển tảo từ qui mô nhỏ lên qui mô lớn hoàn toàn không ảnh hưởng đến sự sinh trưởng của tảo nếu cung cấp đủ ánh sáng và CO₂. Thông thường khi nhân rộng qui mô năng suất sinh khối giảm đáng kể do kỹ thuật cung cấp ánh sáng và CO₂ chưa đáp ứng đủ nhu cầu của tảo.
3. Thí nghiệm cho thấy hai nguồn dinh dưỡng N và Fe có ảnh hưởng ý nghĩa đến hàm lượng dầu trong tảo. Chọn môi trường nuôi thích hợp giảm N và Fe cho hàm lượng dầu cao, tại điều kiện đậm đặc tối ưu (DTU) có thể đạt 104.5 mg dầu/L dịch tảo so với đối chứng 28,28 mg/L.
4. Bổ sung acid citric với nồng độ 0.87 mM vào ngày nuôi thứ 3 (72 giờ) tăng hàm lượng dầu từ 6.35% lên 17.25%.
5. Xử lý thiếu Fe ngay từ đầu rồi sau 7 ngày bổ sung lại Fe⁺² nồng độ $0,9 \cdot 10^{-5}$ mol/l sẽ tăng dầu từ 28mg/L lên 80,6 mg/L. Nuôi nồng độ 2.83mg/L Fe⁺³ 6 ngày, bổ sung Fe⁺³ lượng 0.87 mg/L tăng tỉ lệ dầu từ 9% lên 24%.
6. Thu hồi tảo bằng phương pháp ly tâm năng suất cao và ít chi phí năng lượng. Thu hoạch bằng lọc màng có tiềm năng nhưng cần cải tiến giảm công suất tiêu thụ.
7. Thiết bị QHSH nuôi tảo phát triển ổn định, bảo đảm kín và sạch không lây nhiễm. Thiết bị có giá thành rẻ do sử dụng ống plastic mỏng chế tạo trong nước.
8. Chiết dầu bằng hexan 6 giờ cho dầu sạch và hiệu suất cao nhất. Chiết bằng ngâm dầm ethanol 4 giờ phối hợp siêu âm cho hiệu quả trích gần bằng hexan và giảm trên ½ lượng hexan sử dụng. Chiết ướn theo qui trình Folch cho hiệu quả trích xấp xỉ hexan, thời gian trích ngắn nhất (< 1 giờ), không cần sấy nên giảm đáng kể chi phí sản xuất. Tuy nhiên còn sử dụng hóa chất độc hại Chloroform.
9. Tinh chế dầu: có thể sử dụng phối hợp chất hấp phụ và hỗn hợp acid H₃PO₄/H₂SO₄ để tinh chế dầu đạt chất lượng cho việc tổng hợp biodiesel.
10. Dầu tảo *chlorella vulgaris* có hàm lượng acid béo tự do 1.7% có thể dùng phản ứng trực tiếp với methanol xúc tác kiềm để cho biodiesel, không cần thông qua giai đoạn phản ứng với acid sulfuric (acid esterification) để chuyển hóa acid béo tự do thành biodiesel. Thành phần acid béo chủ yếu Acid Palmitic, Oleic và Linoleic. Hàm lượng acid béo bão hòa là 50.92 % phù hợp cho phản ứng biodiesel. Đặc biệt, so với ở một số nơi trên thế giới dầu tảo ở Việt nam có sự xuất hiện thêm acid Arachidic (C₂₀H₄₀O₂) trong thành phần hóa học. Khối lượng phân tử trung bình của acid béo là 269.17 g/mol và của triglyceride dầu tảo là 845.5 g/mol.
11. Tổng hợp biodiesel: dầu tảo phản ứng với methanol xúc tác kiềm cho biodiesel có thành phần methyl ester của từng acid béo khá tương đồng với mẫu dầu tảo trước phản ứng và tổng hàm lượng methyl esters là 97.44% thỏa mãn tiêu chuẩn Việt Nam về thành phần methyl ester dành cho nhiên liệu sinh học B100 (≥ 96.5 %).
12. Thử nghiệm trên động cơ: đã pha chế B5 và thử nghiệm trên động cơ diesel cho thấy tính năng hoạt động khá giống với dầu diesel.

Qua quá trình thực hiện đề tài nhận thấy việc tăng hàm lượng dầu trong tảo là vấn đề không dễ dàng. Việc chọn môi trường nuôi ngoài công nghệ còn phải quan tâm đến giá cả. Quá trình thu hoạch chế biến qua nhiều khâu cần phải chọn lựa cẩn thận để giảm chi phí sản xuất. Đề tài tổng hợp các qui trình công nghệ nuôi tảo *Chlorella* và sản xuất biodiesel như sau:

4.1.2 Qui trình công nghệ nuôi tảo định hướng nhiều dầu

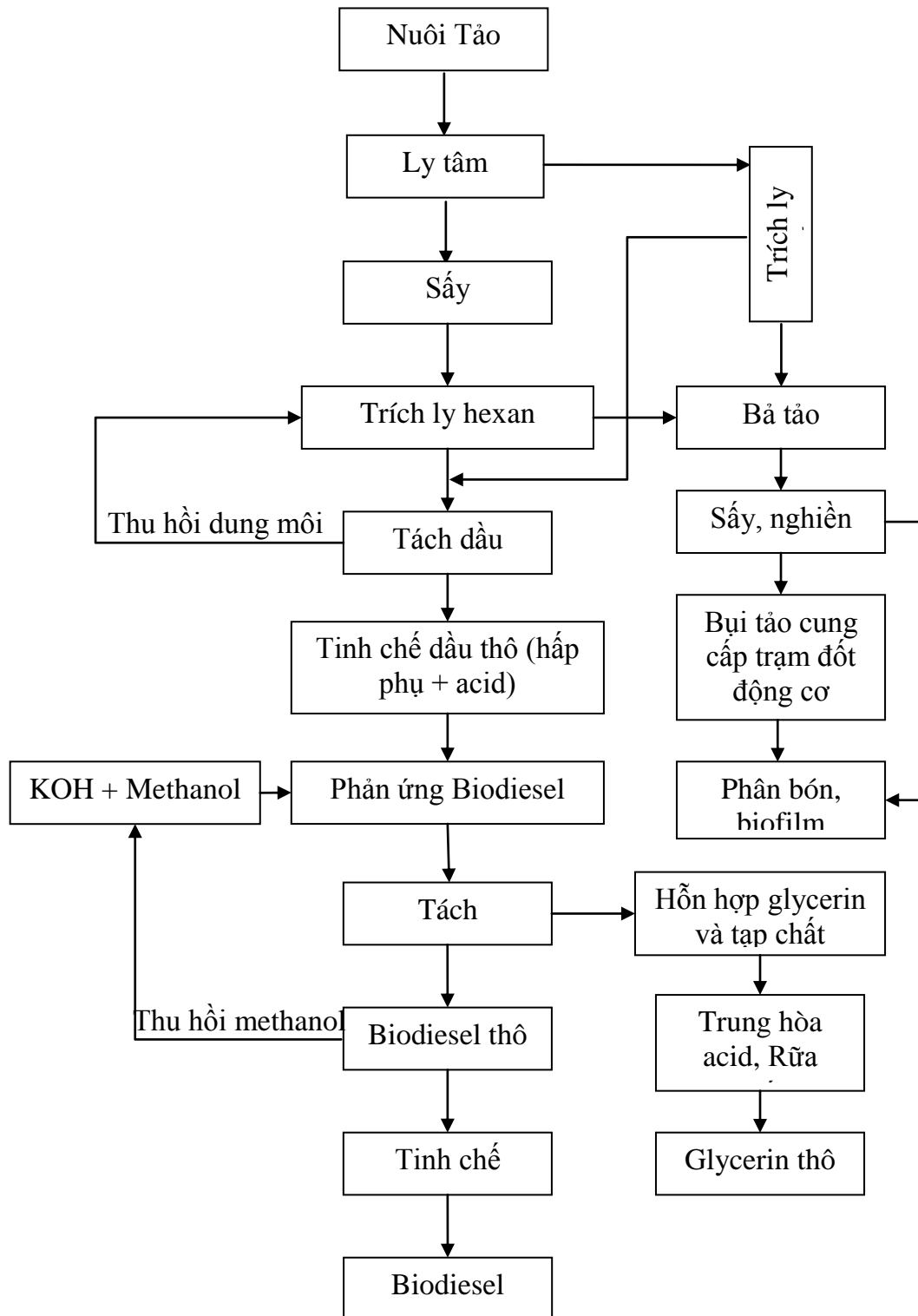
Qui trình dưới đây thiết kế cho 1 đơn vị nuôi 1600m² đất. Như vậy 1 ha đất cần 6 đơn vị và 400 m² đất cho nhà xưởng và đi lại.



Hình 4.1: Qui trình công nghệ nuôi tảo định hướng nhiều dầu

4.1.3 Qui trình công nghệ thu hoạch và chế biến biodiesel từ vi tảo

Trong qui trình này, có thể trích ly ướt (không sấy) và khô (có sấy). Nếu hàm lượng dầu trên 30% thì có thêm công đoạn ép cơ học trước khi trích.



Hình 4.2: Qui trình công nghệ thu hoạch và chế biến biodiesel từ vi tảo

4.2 Đề nghị

- Tăng cường trang thiết bị để có thể xác định được hàm lượng dầu trong tảo mà không cần nuôi ở dung tích lớn để chiết bằng soxhlet. Như vậy sẽ giảm được thời gian nghiên cứu xác định giống loài thích hợp.

- Tổ chức sản xuất thử nghiệm biodiesel qui mô pilot cho tảo *Chlorella sp*, *Chlorella Vulgaris* để hoàn thiện hơn qui trình công nghệ và đánh giá hiệu quả và giá thành sản xuất.

- Nghiên cứu bảo quản biodiesel.

- Thí nghiệm sản xuất trên nhiều loài, giống tảo khác.

4.3 Các tồn tại

Do thời gian có hạn và việc sản xuất dầu tảo với số lượng lớn còn khó khăn, các vấn đề sau đây chưa thực hiện được

- Chưa nghiên cứu bảo quản dầu

- Chưa đánh giá giá thành sản xuất của biodiesel từ tảo