

# PHƯƠNG PHÁP THU HOẠCH VI TẢO VÀ ỨNG DỤNG TRONG NUÔI TRỒNG THỦY SẢN

## THE METHODS OF HARVESTING MICROALGAE AND APPLICATIONS IN AQUACULTURE

**Phạm Thị Đan Phượng**

Khoa Công nghệ thực phẩm, Trường Đại học Nha Trang  
(Email: danphuong@ntu.edu.vn)

Ngày nhận bài: 07/06/2023; Ngày phản biện thông qua: 27/11/2023; Ngày duyệt đăng: 15/12/2023

### TÓM TẮT

Vi tảo là sinh vật đơn bào có cấu trúc đơn giản khả năng thích ứng và sinh trưởng mạnh trong nhiều điều kiện môi trường trường sống. Vi tảo giữ vai trò quan trọng trong nhiều hệ sinh thái các thủy vực, nhiều ngành kinh tế, và nguồn thức ăn cần thiết, không thay thế đối với ấu trùng động vật thủy sản. Vi tảo được xem là nguồn thức ăn giàu dinh dưỡng gồm proteins, lipids, carbohydrates, khoáng chất, vitamins, chlorophylls, carotenoids. Đến nay, đã có nhiều phương pháp thu vi tảo được nghiên cứu và thực hiện trong các ngành công nghiệp như sản xuất nhiên liệu sinh học, thực phẩm, dược phẩm, mỹ phẩm và nuôi trồng thủy sản. Tuy nhiên, trên thực tế quá trình loại nước trong thu hoạch vi tảo vẫn đang đối diện với nhiều thách thức, nhất là chi phí đầu tư lớn, tiêu tốn năng lượng, và nhân công. Bài viết này đề cập đến ưu nhược điểm của một số phương pháp thu vi tảo chính và phân tích tiềm năng áp dụng phương pháp thu vi tảo bằng polyme sinh học. Phương pháp này đảm bảo an toàn cho động vật khi sử dụng vi tảo làm thức ăn, có vai trò quan trọng đối với phát triển bền vững ngành nuôi trồng thủy sản. Khi có sự kết hợp với các phương pháp thu hoạch khác, hiệu quả thu hoạch sẽ cao, tiết kiệm năng lượng đáng kể, dễ vận hành và phát triển công nghệ thu hoạch vi tảo ở quy mô công nghiệp.

**Từ khóa:** Nuôi trồng thủy sản, chitosan, phương pháp thu hoạch, vi tảo,

### ABSTRACT

Microalgae are unicellular organisms with a simple structure, enabling them to well adapt and fast grow in various kind of environments. Microalgae play a crucial role in water ecosystems, economic sectors as well as a essential, non-replaceable feed source for aquatic larvae. Microalgae are considered a nutrient-rich food, containing proteins, lipids, carbohydrates, minerals, vitamins, chlorophylls, carotenoids, and more. To date, various methods of microalgae harvesting have been researched and implemented in industries such as biofuel production, food processing, pharmaceuticals, cosmetics, and aquaculture. However, in actual production, the water removal process during microalgae harvesting is facing to many challenges, especially in high investment, requires a significant amount of energy, and labor demand. This article discusses the advantages and disadvantages of several key microalgae harvesting methods and analyzes the potential application of biopolymer-based microalgae harvesting. This method ensures safety for animals when using microalgae as food and plays a crucial role in the sustainable development of aquaculture. When combined with other harvesting methods, it offers high harvesting efficiency, substantial energy savings, ease of operation, and the development of microalgae harvesting technology on an industrial scale.

**Keywords:** Aquaculture, chitosan, harvesting methods, microalgae,

### I. MỞ ĐẦU

Bài báo này trình bày tổng quan về vai trò của vi tảo trong nuôi trồng thủy sản và các phương pháp thu hoạch có tiềm năng phát triển công nghệ đầy hứa hẹn hiệu quả về chi phí, vận hành đơn giản, hiệu suất thu cao, an toàn sinh

học cho vật nuôi.

Vi tảo được biết là nhóm sinh vật đơn bào, kích thước hiển vi, phân bố trong hầu hết các loại hình môi trường đất, đá, nước, hay đôi khi là kí sinh trên cả các sinh vật khác. Hiệu quả đồng hóa carbon vô cơ của vi tảo được chứng

minh là cao hơn rất nhiều so với các nhóm thực vật lớn khác, dựa trên khả năng tối ưu hóa nguồn bức xạ mặt trời. Đặc điểm này giúp vi tảo nắm giữ những vai trò đặc biệt quan trọng trong các hệ sinh thái, giảm thiểu ô nhiễm môi trường. Chỉ tính riêng với vi tảo biển, hàng năm đã sản xuất ra hơn 1,8 tỷ tấn vật chất hữu cơ đưa vào vòng tuần hoàn vật chất của hành tinh trái đất [28]. Ở khía cạnh môi trường, vi tảo góp phần lớn vào việc giảm khí thải CO<sub>2</sub> nhất là trong bối cảnh biến đổi khí hậu và sự gia tăng nhanh chóng khí nhà kính bầu khí quyển. Theo ước tính, có đến hơn 50% lượng khí nhà kính được hấp thu bởi vi tảo biển. Thêm vào đó, vi tảo biển quang hợp sản sinh ra một lượng khí O<sub>2</sub> bổ sung vào sinh quyển [42, 52, 56]. Ngoài ra, nhân loại đang phải đối mặt với bài toán về nguồn nhiên liệu đặc biệt trong bối cảnh bùng nổ dân số toàn cầu và nhu cầu ngày càng cao về nhiên liệu cho các hoạt động sống cũng như phát triển kinh tế, xã hội. Nguồn nhiên liệu hóa thạch đang ngày càng cạn kiệt thì sử dụng nhiên liệu sinh học từ vi tảo là một hướng đi, giải pháp tốt nhất hiện nay. Vi tảo, với những đặc điểm như chứa hàm lượng dầu rất cao trong cơ thể, sinh khối tế bào tăng nhanh trong một đơn vị thời gian ngắn, năng suất sản xuất có thể đạt đến hàng triệu gallon/ha/năm – cao hơn rất nhiều so với cây đậu nành, và nhiều nhóm cây trồng thu dầu khác vi tảo trở thành một đối tượng tiềm năng trong lĩnh vực kinh tế này. Bên cạnh đó, vi tảo dễ dàng nuôi cấy trên nhiều điều kiện môi trường sống và mô hình sản xuất khác nhau. Ngoài ra, vi tảo không mang tính cạnh tranh với các đối tượng canh tác truyền thống. Bởi lẽ đó, những nghiên cứu và ứng dụng sản xuất nhiên liệu sinh học từ vi tảo đã và đang được triển khai rất mạnh mẽ, các sản phẩm có thể kể đến như biodiesel, bioetanol, biobutanol, biohydrogen và biogas [39, 47, 59].

Vi tảo, đặc biệt là vi tảo lục được biết đến là nguồn thức ăn truyền thống và bổ dưỡng cho con người nhất là ở các quốc gia Châu Á như Trung Quốc, Nhật Bản, Đài Loan và Hàn Quốc. Cho đến ngày nay, khi mà những giá trị dinh dưỡng của vi tảo được đánh giá một cách đầy

đủ thì nhu cầu sử dụng vi tảo làm thực phẩm cho con người đã phát triển trên qui mô toàn cầu. Nhu cầu sử dụng vi tảo làm thức ăn chăn nuôi và bổ sung cho cây trồng nông nghiệp sẽ tăng trong những thập kỷ tới. Có thể kể đến một số loài thuộc ngành tảo lục (Chlorophyceae) và tảo lam (Cyanobacteria) đã và đang được sử dụng rộng rãi cho đến thời điểm hiện nay là *Chlorella vulgaris*, *Haematococcus pluvialis*, *Dunaliella salina* và *Spirulina maxima*. Bên cạnh đó, loài tảo lam *Spirulina platensis*, đang nhận được xem như một nguồn thực phẩm chức năng quý giá cho con người bởi đặc điểm sinh trưởng nhanh, dễ thu hoạch và giá trị dinh dưỡng cao [25, 39, 59].

Tại Việt Nam, ngành nuôi vi tảo có lịch sử hình thành và phát triển tương đối lâu đời, ứng dụng chủ yếu trong lĩnh vực nuôi trồng thủy sản. Vai trò chính của vi tảo làm nguồn thức ăn trực tiếp cho ấu trùng giáp xác, động vật thân mềm, và thức ăn gián tiếp cũng như tạo môi trường nước xanh trong sản xuất giống và ương nuôi cá biển. Một số loài vi tảo đã và đang được nuôi cấy rộng rãi hiện nay bao gồm *Chlorella* sp., *Nannochloropsis* sp., *Thalassiosira* sp., *Skeletonema* sp., *Chaetoceros* sp. [49]. Mỗi loài vi tảo khác nhau có các đặc trưng khác nhau về giá trị dinh dưỡng tế bào, tùy thuộc vào đặc điểm của chủng/loài, điều kiện môi trường sống, và thời gian thu hoạch [24]. Ngoài các thành phần dinh dưỡng cơ bản như carbohydrate, protein, lipid, chất còn chứa rất nhiều hoạt chất sinh học như acid béo không no (EPA-eicosapentaenoic acid, C20:5n-3, DHA-docosapentaenoic acid, C22:6n-3, PUFA-polyunsaturated fatty acid, AA-arachidonic acid, C20:4n-6-, ALA-alpha-linolenic acid, C18:3n-3...), các chất chống oxy hóa (polyphenol, polysaccharide, tocopherol và các hợp chất phenolic, vitamin A, B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>, C...) và các sắc tố (carotenoid, chlorophyll, phycobilin...). Bên cạnh đó, vi tảo còn chứa một hàm lượng cao các muối khoáng (iodine, potassium, iron, magnesium, calcium...) cũng như đầy đủ hàm lượng các acid amin thiết yếu [2, 4, 5, 14, 16, 24, 50, 52, 56, 61].

Công nghệ, kỹ thuật nuôi cấy vi tảo đã và đang phát triển mạnh mẽ, đạt nhiều thành tựu

quan trọng, đáp ứng tương đối đầy đủ các nhu cầu sử dụng. Tuy nhiên, vẫn còn đó một số thách thức lớn nhất là ở khía cạnh công nghệ thu hoạch và sau thu hoạch vì tảo ứng dụng trong một số ngành kinh tế, đặc biệt là nuôi trồng thủy sản. Ở Việt Nam cũng như nhiều nước đang phát triển khác, vì tảo được nuôi thu sinh khối trong các hệ thống nuôi đơn giản. Sinh khối vi tảo sau đó thường được bơm trực tiếp vào các bể hay hệ thống nuôi trồng thủy sản. Cách thức ứng dụng này tồn tại nhiều hạn chế cần khắc phục như (1) sinh khối tế bào vi tảo trong dịch nuôi cấy chiếm tỉ lệ rất nhỏ (khoảng 1%/<sub>00</sub> trọng lượng tươi) trong khi nhu cầu sử dụng vi tảo của các đối tượng nuôi thường rất lớn, (2) thiếu tính chủ động trong sản xuất (nghĩa là phụ thuộc rất nhiều vào kết quả vụ nuôi cấy, đặc biệt là trong các hệ thống nuôi hờ), (3) khó khăn lớn trong vận chuyển và bảo quản. Để khắc phục những hạn chế này, hướng ứng dụng các sản phẩm tảo tươi cô đặc (microalgal concentrated products) được xem là tiềm năng và hiệu quả. Một số sản phẩm tảo tươi cô đặc có nguồn gốc từ Mỹ (Reed Marien), Nhật (Chlorella Industry), và Pháp (PAQ Nanno), đã và đang được ứng dụng trong nuôi trồng thủy sản ở nước ta trong khoảng vài năm trở lại đây.

Kinh phí cho việc thu hồi vi tảo hiện nay được ước lượng chiếm khoảng 20 – 30% vào tổng chi phí sản xuất sinh khối vi tảo, trong khi chưa thể khẳng định phương pháp thu hoạch duy nhất nào có thể phù hợp cho tất cả các trường hợp [26, 63]. Các kỹ thuật loại nước khác nhau có thể hữu ích cho từng loài vi tảo khác nhau. Việc nghiên cứu tìm ra giải pháp thu hoạch vi tảo để đáp ứng về hiệu quả thu cao, không gây độc hại cho thủy sản nuôi, cắt giảm chi phí đầu tư và dễ vận hành để cải thiện khả năng ứng dụng quy mô sản xuất sinh khối vi tảo là điều cần thiết. Trong đó, phương pháp thu hoạch vi tảo sử dụng chất polyme sinh học (chitosan) chiết từ phụ phẩm tôm trong quá trình nuôi và chế biến thực phẩm được nhận thấy là ít tiêu tốn năng lượng, đầu tư thiết bị thấp, hiệu quả thu sinh khối cao và an toàn sinh học. Một vấn đề cần quan tâm hiện nay là các

chất keo tụ sinh học thường đòi hỏi sử dụng với liều lượng cao để keo tụ sinh khối nên hạn chế trong việc ứng dụng chúng trong sản xuất ở quy mô lớn. Tuy nhiên, để thu hồi một lượng lớn sinh khối với chi phí đầu tư thấp thì phương pháp keo tụ vẫn được các nhà khoa học đề xuất lựa chọn [9, 26, 34, 59].

## II. NỘI DUNG

### 1. Nguồn lợi và vai trò của vi tảo trong nuôi trồng thủy sản

#### 1.1. Nguồn lợi vi tảo

Đến nay, các nhà nghiên cứu đã phát hiện được hơn một triệu loài tảo khác nhau có mặt ở đại dương, các sông, ao và hồ nước ngọt, trong đó hơn 40.000 loài vi tảo đã được xác định và phân loại thành nhiều nhóm: tảo lam (Cyanophyceae), tảo xanh (Chlorophyceae), tảo cát (Bacillariophyceae), tảo vàng lục (Xanthophyceae), tảo vàng (Chrysophyceae), tảo đỏ (Rhodophyceae), tảo nâu (Phaeophyceae), dinoflagellate (Dinophyceae) và ‘pico-plankton’ (Prasinophyceae và Eustigmatophyceae). Tảo là một dạng sinh vật sống đa bào hoặc đơn bào, được phân loại dựa trên kích thước của nó (tảo vĩ mô hoặc vi tảo). Sự đa dạng của vi tảo rất lớn nhưng chưa được nghiên cứu và mô tả đầy đủ. Hầu hết, các loài vi tảo chứa rất nhiều dưỡng chất và hoạt chất sinh học, có tiềm năng làm thực phẩm chức năng cho động vật nuôi và con người. Ngoài ra, vi tảo còn là nguồn năng lượng tái tạo để sản xuất nhiên liệu sinh học bền vững [27, 31, 53]. Tuy nhiên, công đoạn tách nước và thu hoạch sinh khối vi tảo đang gặp khó khăn khi có định hướng phát triển công nghệ và ứng dụng nguồn vi tảo. Hiện nay công đoạn thu hoạch vi tảo được xác định chiếm khoảng 1/3 tổng chi phí sản xuất sinh khối vi tảo trong các quy trình xử lý sinh học [26].

Trong số hàng nghìn loài vi tảo được phát hiện thì hiện nay chỉ có vài nghìn chủng được lưu giữ trong bộ sưu tập, vài trăm chủng được nghiên cứu về các hàm lượng hóa học và chỉ một số được nuôi trồng ở quy mô công nghiệp. Trong đó, các vi tảo đã được thương mại hóa phổ biến và chiếm lĩnh thị trường với sản lượng khoảng 7000 tấn/năm gồm *Spirulina*,

*Chlorella*, *Haematococcus* và *Dunaliella*. Tảo *Spirulina* là một loại tảo lam dạng sợi cực nhỏ thuộc lớp Oscillatoria, phát triển mạnh ở các hồ ở Mexico và Châu Phi. Đến nay, *Spirulina* đã được sản xuất ở quy mô lớn rộng rãi trên khắp thế giới bằng phương pháp nuôi ao mương mở và ước tính tổng sản lượng thu hoạch là 3000 tấn/năm. Đây là nguồn cung cấp phycocyanin tự nhiên chính ngoài các nguồn dinh dưỡng khác như protein, lonolenic acid và vitamin B<sub>12</sub>. Tảo *Chlorella* thuộc họ Chlorophyta chứa hàm lượng diệp lục (chlorophyll-a và b), carotenoids, vitamins và nhiều khoáng chất cao, đang được sử dụng làm thức ăn chăn nuôi và nuôi trồng thủy sản một cách rộng rãi với tổng sản lượng thu hoạch là 2000 tấn/năm. Một số loài vi tảo khác chứa hàm lượng carotenoids cao (đặc biệt là astaxanthin có khả năng chống oxy hóa vượt trội) như *Haematococcus pluvialis*, *Dunaliella salina*. Việc thương mại hóa các sản phẩm vi tảo ở quy mô lớn được phát triển đầu tiên ở Nhật Bản, sau đó mở rộng trên toàn thế giới như Mỹ, Ấn Độ, Israel, Úc, Đức, Pháp, Trung Quốc, Thái Lan... Tuy nhiên, việc khai thác nguồn lợi vi tảo với mục đích làm dinh dưỡng cho con người còn hạn chế ở một số loài do các quy định nghiêm ngặt về an toàn thực phẩm, các yếu tố thương mại và phương thức chế biến. Trên thực tế, 30% sản lượng tảo trên thế giới được sản xuất làm thức ăn chăn nuôi nhằm cải thiện hệ miễn dịch, thúc đẩy tăng trưởng, kháng bệnh, kháng virus, kháng khuẩn, cải thiện chức năng đường ruột, kích thích sự thâm nhập của probiotic, cải thiện chuyển đổi thức ăn, kiểm soát cân nặng... [39].

Ở Việt Nam, ngành nuôi vi tảo đang phát triển mạnh mẽ, mục đích sử dụng làm thức ăn cho các đối tượng nuôi trồng thủy sản như tôm, cá, nhuyễn thể... Một số loài vi tảo đã được nuôi ở quy mô lớn như *Chlorella* sp., *Nannochloropsis* sp., *Thalassiosira* sp., *Skeletonema* sp., *Chaetoceros* sp. bằng nhiều mô hình, kỹ thuật khác nhau ở trong nhà hoặc ngoài trời: trong túi nylon, bể composite, bể xi măng hoặc hệ thống dẫn trong suốt nước chảy liên tục [1, 3].

## 1.2. Vai trò và ứng dụng vi tảo trong nuôi

trồng thủy sản

Vi tảo đóng vai trò quan trọng trong nuôi trồng thủy sản vì chúng tạo thành nền tảng của chuỗi thức ăn tự nhiên (thành phần chính của thực vật phù du biển). Đây là nguồn thức ăn dinh dưỡng cho ấu trùng nhiều loài động vật thân mềm, luân trùng, giáp xác và cá [39]. Sinh khối vi tảo là nguồn cung cấp dinh dưỡng tiềm năng chứa thành phần chính gồm protein (12 – 35%), lipid (7 – 23%), carbohydrate (4 – 23%) và được đánh giá rất cao trong nuôi trồng thủy sản do chứa rất nhiều các hoạt chất (phenolic, vitamin A, C, B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>, acid amin, acid béo...) và các sắc tố (astaxanthin, carotenoid, chlorophyll, phycobilin...). Các hoạt chất này có đặc tính kháng khuẩn, kháng virus, kháng nấm, chống viêm, tăng cường hệ miễn dịch và chống khối u cho động vật thủy sản. Vi tảo chứa đầy đủ các acid béo không no và các acid amin cần thiết cho cơ thể với hàm lượng khá cao. Hàm lượng acid béo không bão hòa cao (HUFA), đặc biệt là eicosapentaenoic acid (20: 5n-3, EPA), arachidonic acid (20: 4n-6, ARA) và docosahexaenoic acid (22: 6n-3, DHA) là thành phần dinh dưỡng quan trọng khi làm thức ăn cho sinh vật biển. Ngoài ra, vi tảo còn chứa nhiều muối khoáng cần thiết cho cơ thể như Ca<sup>2+</sup>, K<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Fe<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Ni<sup>2+</sup>... và một số loài tồn tại kim loại nặng nhưng không đáng kể [4, 13, 14, 29, 38, 39, 52, 56]. Tuy nhiên, thành phần dinh dưỡng của các loài vi tảo tùy thuộc vào kích thước, khả năng tiêu hóa và tổng hợp các thành phần sinh hóa, chu kỳ sinh trưởng và phát triển, môi trường sống... của vi tảo [24]. Một số loài tảo nước ngọt (*Chlorella*, *Spirulina*...) đã được công nhận là tiềm năng chứa nguồn protein cao, nhưng hiện nay các nhà khoa học quan tâm đến các loài vi tảo biển (*Nannochloropsis*, *Tetraselmis*, *Isochrysis*...) hoặc loài tảo dị dưỡng (*Schizochytrium*) chứa rất nhiều hoạt chất như EPA (eicosapentaenoic acid, C20:5n-3), DHA (docosapentaenoic acid, C22:6n-3), PUFA (béo polyunsaturated acid), AA (arachidonic acid, C20:4n-6), ALA (alpha-linolenic acid, 18:3n-3)... [4, 14, 24, 50, 61]. Trong ngành dinh dưỡng động vật và nuôi trồng thủy sản, vi tảo ở dạng bột nhào dùng



để bổ sung nguồn dinh dưỡng protein, chủ yếu làm thức ăn cho ấu trùng cá, tôm, động vật hai mảnh vỏ... Vi tảo *Nannochloropsis* và *Tetraselmis* thường được thu hoạch ở dạng khối đông khô hoặc dạng bột nhão, sử dụng làm thức ăn nuôi trồng thủy sản. Đây là nguồn thức ăn giàu dinh dưỡng dễ hấp thu cho các ấu trùng nuôi thủy sản [2, 5, 16, 49] và được đánh giá cao trong nuôi trồng thủy sản khi vi tảo tươi sống (sinh khối giàu sắc tố tự nhiên) được thêm trực tiếp vào thức ăn cho động vật thủy sản có thể giảm tổng chi phí sản xuất (chiết xuất, tinh chế, chế biến và bảo quản) và ngăn chặn sự suy thoái của sắc tố [29, 39].

Ngoài việc vi tảo có thể tổng hợp các thành phần có giá trị gia tăng (protein, lipid và sắc tố tự nhiên), nhiều nghiên cứu gần đây đã khẳng định vai trò có lợi của vi tảo trong việc xử lý nước thải nuôi trồng thủy sản. Đây là phương pháp tốt để xử lý nước thải và có thể đồng hóa hiệu quả việc cho thủy sản sử dụng các chất dinh dưỡng trong vùng nước. Vi tảo còn có khả năng tạo ra oxy cao, điều chỉnh quần thể vi sinh vật trong vùng nước và được ví như một máy bơm sinh học để sục khí trong nuôi trồng thủy sản. Điều này giúp cho quá trình nuôi thủy sản được kiểm soát tốt về chất lượng nước (tránh hiện tượng nở hoa, hiện tượng phú dưỡng nguồn nước và thiếu oxy) tránh suy thoái nguồn nước nuôi gây tác động tiêu cực môi trường. Sự suy thoái nguồn nước không những gây thất bại trong nuôi trồng thủy sản mà còn đe dọa đến sức khỏe động vật nuôi mắc bệnh hoặc nhiễm độc tố ảnh hưởng nghiêm trọng đến vấn đề an toàn thực phẩm và tác động tiêu cực đến sức khỏe con người. Tuy nhiên, việc thu hồi sinh khối từ quá trình kết hợp xử lý nước thải làm thức ăn nuôi trồng thủy sản vẫn chưa được các nhà khoa học đánh giá cao vì trong quá trình sinh trưởng của sinh khối vi tảo đi đôi với sự phát triển của vi khuẩn và sinh độc tố [29].

Ở Việt Nam, ngành nuôi trồng thủy sản phát triển mạnh những năm gần đây theo hướng bền vững. Nhu cầu sử dụng vi tảo tươi sống để thay thế một phần thức ăn công nghiệp ngày một gia tăng nhằm tăng khả năng miễn dịch của động vật thủy sản, giảm thiểu ô nhiễm vùng nước

nuôi và ngăn ngừa lạm dụng kháng sinh. Tuy nhiên, không phải tất cả hệ thống nuôi vi tảo đều phù hợp mang lại hiệu quả cao, trong đó hệ thống canh tác được đánh giá cao có hiệu quả sử dụng đất cao, chi phí đầu tư thấp và tỷ lệ quang hợp cao có tiềm năng được sử dụng trong nuôi trồng thủy sản [29]. Các hệ thống nuôi vi tảo tại Việt Nam chủ yếu được sử dụng làm thức ăn trong sản xuất giống (các giai đoạn ấu trùng) các loài thủy sản có giá trị cao của hầu hết các loài thủy sản như tôm, cá, động vật nhuyễn thể hai mảnh vỏ và luân trùng, riêng nhuyễn thể hai mảnh vỏ còn được sử dụng ở các giai đoạn phát triển [1, 3, 12, 45, 56, 61]. Đến nay, công nghệ nuôi vi tảo đang trên đà phát triển mạnh nhưng kỹ thuật thu hoạch và lưu giữ vẫn còn hạn chế do nhu cầu sử dụng vi tảo tươi sống của động vật thủy sản. Do vậy, ngành nuôi thủy sản vẫn phụ thuộc nhiều vào nguồn vi tảo đậm đặc ngoại nhập hoặc gặp khó khăn khi sử dụng dịch vi tảo loãng do chi phí vận chuyển, bảo quản hoặc đầu tư ao nuôi vi tảo để bơm trực tiếp vào ao nuôi thủy sản.

## 2. Các phương pháp thu hoạch sinh khối vi tảo

### 2.1. Ưu nhược điểm của các phương pháp thu hoạch sinh khối

Việc thu hồi sinh khối vi tảo vẫn còn trở ngại nên ngành công nghiệp vi tảo chưa phát triển mạnh, đặc biệt phục vụ trong ngành nuôi trồng thủy sản. Những thách thức lớn có thể kể đến là kích thước vi tảo rất nhỏ (đường kính khoảng 3 – 30  $\mu\text{m}$ /tế bào), mật độ vi tảo khá loãng (<0,5 kg khô/ $\text{m}^3$ ), màng tế bào vi tảo dễ bị tác động bởi các yếu tố vật lý và môi trường. Việc cô đặc vi tảo còn ảnh hưởng bởi tính kỵ nước của tế bào, môi trường sống, thành phần dinh dưỡng... Ngoài ra, chi phí đầu tư cho máy móc, thiết bị, nguyên vật liệu trong sử dụng trong công nghệ thu hoạch vi tảo quá cao [6]. Do vậy, đến nay sản phẩm sinh khối vi tảo sau thu hoạch là nguồn để sản xuất nhiên liệu sinh học và làm thực phẩm chức năng. Việc tiếp tục nghiên cứu và phát triển các phương pháp thu hoạch phù hợp cho chất lượng sản phẩm yêu cầu, trong đó sản phẩm sinh khối vi tảo cô đặc để ứng dụng làm thức ăn nuôi ấu trùng động

vật thủy sản cần được quan tâm nghiên cứu. Giải pháp chính hiện nay ở những trại nuôi trồng thủy sản lớn là nuôi vi tảo tại chỗ nhằm đáp ứng điều kiện môi trường sống và giảm chi phí vận chuyển và bảo quản nhưng tăng chi phí đầu tư trang trại nuôi và hệ thống nuôi vi tảo. Tại các nước Bắc Mỹ và các nước trên thế giới, nếu hệ thống nuôi vi tảo tại trại nuôi thủy sản không đủ điều kiện thì việc ly tâm vi tảo thành dạng sệt hoặc kết hợp các phương pháp để cải thiện nhược điểm của từng phương pháp đang được áp dụng rộng rãi. Dịch vi tảo cô đặc sau thu hoạch được lưu giữ lạnh và cung cấp cho các trại nuôi thủy sản giống [26, 38]. Trong ứng dụng thực tế cho hoạt động nuôi trồng thủy sản cần đáp ứng ba yêu cầu: (1) chi phí thu hoạch thấp nhằm tăng khả năng cạnh tranh với thức ăn truyền thống, (2) không được sử dụng hóa chất độc hại hoặc không tốt cho sức khỏe vật nuôi trong quá trình thu hoạch, (3) quy trình thu hoạch phải hiệu quả và tiết kiệm thời gian nhằm tránh ảnh hưởng đến tần suất tuần hoàn nước của hệ thống nuôi trồng thủy sản [29].

Hiện nay, đã có nhiều phương pháp thu hoạch vi tảo được nghiên cứu và thực hiện như lắng trọng lực (gravity sedimentation), lọc (filtration), ly tâm (centrifugation), đông tụ/kết bông (coagulation/flocculation), tuyển nổi (flotation)... Tuy nhiên, hầu hết các phương pháp đang sử dụng phổ biến đều có hạn chế về kinh tế hoặc kỹ thuật như chi phí năng lượng cao hoặc tồn tại hóa chất keo tụ gây độc cho động vật nuôi hoặc không khả thi khi mở rộng quy mô sản xuất hoặc gây chết tế bào do tác động vật lý [26, 36, 64].

Bảng 1 trình bày ưu nhược điểm của các phương pháp thu hoạch vi tảo đã được nghiên

cứu và ứng dụng hiện nay, trong đó phổ biến nhất là phương pháp ly tâm. Tuy nhiên phương pháp ly tâm có thể phá vỡ cấu trúc tế bào vi tảo, chi phí đầu tư lớn khi thực hiện ở quy mô công nghiệp. Hattab và cộng sự (2015) [30] tổng hợp và đánh giá 16 phương pháp thu hoạch vi tảo trong công nghệ sản xuất dầu sinh học như lắng, lọc chân không, lọc áp lực, lọc dòng chảy chéo, ly tâm chồng đĩa, ly tâm gạn, tuyển nổi không khí phân tán, tuyển nổi không khí hòa tan, dao động chất lỏng, keo tụ vô cơ, keo tụ hữu cơ, keo tụ tự động, đông tụ điện tạo keo tụ sinh học, keo tụ điện phân và điện phân nổi. Trong đó, chỉ có 4 phương pháp đạt 80/100 điểm dựa trên các tiêu chí được coi là quan trọng nhất có thể loại nước để thu hoạch vi tảo hiệu quả ở quy mô công nghiệp. Phương pháp keo tụ bằng các chất hữu cơ được cho là phù hợp để ứng dụng ở quy mô lớn vì tính hiệu quả cao, chi phí vận hành thấp, phù hợp nhiều loài tảo, nhanh chóng, yêu cầu bảo trì tối thiểu và thân thiện với môi trường. Riêng ngành nuôi trồng thủy sản có nhu cầu sử dụng sinh khối vi tảo tươi sống làm thức ăn cho động vật nuôi, nên phương pháp keo tụ bằng polyme sinh học là phù hợp để nghiên cứu và ứng dụng hiện nay. Trong đó, chitosan là polyme sinh học được đánh giá cao nhờ đặc tính an toàn sinh học (có tính tương thích sinh học, tự phân hủy sinh học, không độc, khả năng tạo màng và kháng vi sinh vật) [19, 37, 56]. Tuy nhiên, phương pháp này nên kết hợp phương pháp khác như lắng, lọc, ly tâm như một bước khử nước thứ cấp sẽ làm giảm thời gian, tiết kiệm chi phí, tiêu hao năng lượng thấp nhờ vi tảo đã được kết bông lớn và tăng hiệu suất thu sinh khối đáng kể.

**Bảng 1. Các phương pháp thu hoạch vi tảo phổ biến**

Phương pháp	Ưu điểm	Nhược điểm	Tham khảo
Ly tâm	Có thể áp dụng ở quy mô công nghiệp, phù hợp cho nhiều loại vi tảo với số lượng sinh khối lớn và nhanh chóng. Sản phẩm không bị nhiễm bẩn do không cần đưa tác nhân hóa học vào.	Cấu trúc tế bào vi tảo dễ bị tác động do nhiệt độ nâng cao, lực ly tâm mạnh gây chết và ảnh hưởng đến chất lượng dinh dưỡng của vi tảo. Chi phí đầu tư máy móc, thiết bị đắt tiền, tiêu tốn năng lượng lớn và khó khăn trong công tác vận hành.	[18, 26, 38, 43, 48]

Phương pháp	Ưu điểm	Nhược điểm	Tham khảo
Lọc	Vận hành đơn giản và phổ biến, ít gây vỡ tế bào vi tảo, không tốn nhiều kinh phí máy móc thiết bị. Sử dụng màng siêu lọc sẽ tăng hiệu quả thu hoạch.	Thời gian thu hoạch kéo dài, chỉ phù hợp để thu nhận các loài tảo đơn bào có kích thước lớn, hiệu suất thu hồi thấp và dễ tắt nghẽn màng lọc. Màng siêu lọc có thể hạn chế các nhược điểm trên, tuy nhiên chi phí màng lọc cao và tiêu tốn nhiều năng lượng.	[8, 10, 26, 46, 51]
Lắng	Vận hành đơn giản và chi phí đầu tư thấp.	Tốc độ lắng chậm, thời gian lắng quá lâu nên hiệu suất thu thấp và chủ yếu thu các tế bào lão hóa.	[18, 26, 40, 54, 57, 58, 60, 62]
Tuyển nổi	Chi phí đầu tư thiết bị không cao.	Hiệu quả thu thấp và có khả năng tồn tại dư lượng kim loại nặng ảnh hưởng đến sức khỏe động vật nuôi.	[42, 57, 58, 64]
Keo tụ	Chi phí đầu tư thiết bị thấp, vận hành đơn giản, hiệu suất thu hồi sinh khối cao và có thể bảo quản thời gian dài sau thu hoạch. Một số chất hữu cơ và vô cơ rẻ tiền, thông dụng và hiệu quả thu cao ở nồng độ thấp. Polyme sinh học không gây độc hại, hiệu quả cao và có thể tiết kiệm kinh phí khi kết hợp với các phương pháp khác.	Tuy nhiên, tránh dùng các chất trợ lắng vô cơ và hữu cơ có khả năng tồn tại và gây hại cho động vật nuôi do dư lượng kim loại nặng.  Polyme sinh học đòi hỏi sử dụng liều lượng cao nên hạn chế ứng dụng ở quy mô sản xuất công nghiệp.	[9, 15, 26, 32, 34, 35, 41, 44, 63]

## 2.2. Tiềm năng phát triển phương pháp thu hoạch vi tảo bằng polyme sinh học

Hiện nay, các chất trợ lắng vô cơ (NaOH, KOH, PAC,  $FeCl_3$ ,  $Fe_2(SO_4)_3$ ,  $Al_2(SO_4)_3$ ...) được sử dụng phổ biến để thu hồi vi tảo đạt hiệu suất cao (>80%) và chi phí thấp. Tuy nhiên, các chất này có khả năng tồn tại trong sinh khối sau thu và môi trường nuôi cấy gây độc và mất cân bằng nồng độ thẩm thấu cho đối tượng thủy sản nuôi, gây đột biến và giảm tuổi thọ động vật thủy sản [15, 26, 33, 35, 41, 44]. Do vậy, chất lắng hữu cơ (polyacrylamide tổng hợp và polyme sinh học được quan tâm nghiên cứu ứng dụng trong các lĩnh vực liên quan đến thực phẩm, mỹ phẩm và y dược. Trong đó, polyme sinh học (carrageenans, alginate, chitosan, tinh bột...) được chiết xuất từ tự nhiên đang được khuyến khích sử dụng do chúng không gây độc hại cho sinh khối sau thu hoạch và môi trường,

ngược lại thì polyacrylamide tổng hợp cũng đã được khuyến cáo gây độc hại cho vật nuôi khi tồn tại trong sinh khối vi tảo [11, 48].

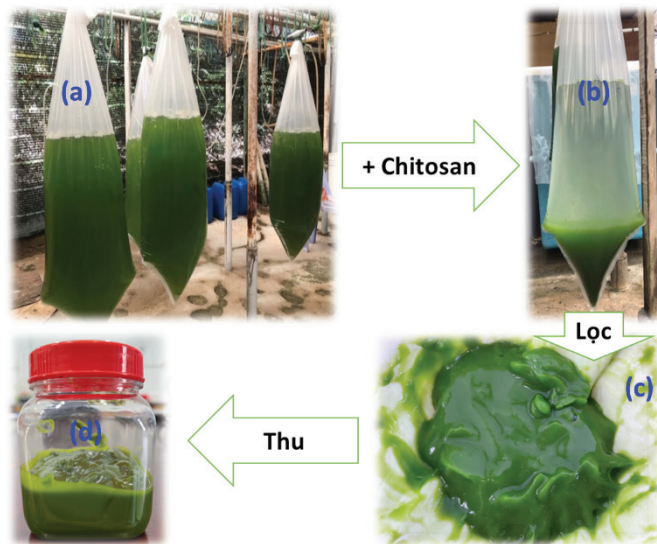
Chitosan là polyme sinh học được chiết rút tự nhiên từ phụ phẩm giáp xác trong quá trình chế biến thủy sản, được đánh giá là chất keo tụ an toàn để thay thế cho các chất keo tụ vô cơ và hữu cơ tổng hợp. Chitosan là một chất tạo màng sinh học tự nhiên, mang điện tích dương, có nhiều đặc tính độc đáo như có khả năng phân hủy sinh học, tương thích sinh học, có hoạt tính sinh học như kháng khuẩn, chống oxy hóa, có tính hấp thụ. Phương pháp keo tụ bằng chitosan được đánh giá tiêu thụ năng lượng ít nhất so với phương pháp thu sinh khối bằng ly tâm và vi lọc. Liều lượng sử dụng chitosan được xác định trong khoảng 5 – 200 ppm tùy thuộc vào bản chất của chitosan (độ deacetyl, trọng lượng phân tử, độ nhớt, mật độ

điện tích...) và bản chất của vi tảo (loài, mật độ tế bào, cường độ ion và pH môi trường nuôi cấy...) [7, 17, 23, 26].

Tiềm năng phát triển phương pháp thu hoạch sinh khối vi tảo đáp ứng nhu cầu thực phẩm dinh dưỡng và phù hợp với động vật thủy sản khi kết hợp với các phương pháp khác như lắng cặn, lọc làm giảm ưu nhược điểm của từng

phương pháp. Hình 1 biểu diễn phương pháp thu hoạch vi tảo *Nannochloropsis* sp. tại pha ổn định trong quá trình phát triển tế bào (a), đưa hệ thống ống nhỏ giọt chitosan vào túi dịch vi tảo (vẫn đang được sục khí) và để lắng (b), lọc sinh khối qua vải lanh (c) và thu hồi sản phẩm vi tảo cô đặc (d).

Giải pháp keo tụ tự nhiên đang được ưu tiên



Hình 1. Mô hình thu hoạch đơn giản tại trại nuôi vi tảo *Nannochloropsis* sp.

thay thế các phương pháp đang được áp dụng hiện nay, nhằm hạn chế sự hư hỏng tế bào vi tảo, không ô nhiễm sinh khối sau thu hoạch và có thể tái sinh tế bào vi tảo còn sót trong nước loại. Keo tụ tự nhiên gồm keo tụ tự động (quá trình keo tụ được kích hoạt bởi một phân tử hoặc kết tủa hình thành tự nhiên trong môi trường nuôi) và keo tụ sinh học (trong đó một phân tử được tạo ra bởi các tế bào có trong môi trường nuôi). Nhưng đối với cả quá trình keo tụ tự động hay keo tụ sinh học đều được mô tả gồm các cơ chế: (1) nén lớp điện tích kép, (2) trung hòa điện tích, (3) bắc cầu, (4) cơ chế vá lỗi và (5) cơ chế quét. Tùy thuộc vào loài vi tảo và điều kiện môi trường nuôi cấy thì cơ chế này hay cơ chế khác diễn ra. Do vậy, hầu hết các nghiên cứu thu hồi sinh khối vi tảo bằng phương pháp keo tụ sinh học được giải thích cơ chế vẫn là giả thuyết [21, 22].

1. Cơ chế nén của lớp kép điện tích diễn ra khi có sự thay đổi pH môi trường do các điện tích bề mặt tế bào vi tảo bị thay đổi

(các lực đẩy tĩnh điện giảm thông qua sự nén của lớp điện tích kép). Hệ thống hai lớp này được hình thành khi một số ion tích điện dương có sẵn trong dung dịch bị hấp thụ bề mặt vi tảo có điện tích âm thông qua tương tác tĩnh điện để tạo thành một lớp dày đặc và một lớp khuếch tán được hình thành bởi những ion khác vẫn ở trong dung dịch. Giá trị điện thế zeta của vi tảo phụ thuộc vào độ pH môi trường trong phạm vi từ 4 đến 10. Một lưu ý đề ra, cơ chế keo tụ này không xảy ra một cách tự nhiên nên không phải là trường hợp tự động tụ hoặc quá trình keo tụ sinh học.

2. Cơ chế trung hòa điện tích (Hình 2a) diễn ra khi các điện tích âm của vi tảo giảm do các phân tử tích điện dương (polyme) trong dịch hấp thụ trên bề mặt của chúng. Sự trung hòa điện tích này làm giảm lực đẩy tĩnh điện do lực hút Van Der Waals dẫn đến sự keo tụ của



vi tảo. Cơ chế này phụ thuộc vào nồng độ chất keo tụ vì nó tỷ lệ thuận với diện tích bề mặt cần trung hòa điện tích. Do vậy, khi nồng độ chất keo tụ quá cao thì điện tích bề mặt của tế bào vi tảo có thể trở nên dương, dẫn đến sự tăng lực đẩy tĩnh điện trong dịch và ổn định huyền phù.

3. Cơ chế bắc cầu điện tích (Hình 2b) diễn ra khi polyme sử dụng ở nồng độ thấp, có cấu trúc mạch dài được hấp thụ vào các tế bào này và tiếp tục hấp thụ các tế bào khác tạo nên cầu nối giữa các tế bào thông qua tương tác tĩnh điện và liên kết hydro hoặc liên kết ion trong một điều kiện nhất định. Cơ chế này phụ thuộc vào nồng độ, độ dài của mạch, khối lượng phân tử, điện tích của polyme và cường độ ion của môi trường dịch.
4. Cơ chế keo tụ và diễn ra khi polyme có cấu trúc mạch ngắn, tích điện dương hấp phụ ở bề mặt của một tế bào mang điện tích âm và tạo ra sự phân bố điện tích không đều trên bề mặt của nó. Tại các vùng không được phủ tế bào vi tảo trên bề mặt polyme mang điện tích dương có thể tiếp tục tương tác với các vùng mang điện tích âm trên bề mặt của vi tảo khác để kết nối chúng lại với nhau.
5. Cơ chế keo tụ quét diễn ra khi khuấy trộn NaOH làm tăng pH (tăng các ion hydroxide ( $\text{OH}^-$ ) trong dịch) dẫn đến kết tủa các ion  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  trong môi trường dịch vi tảo thành  $\text{Mg}(\text{OH})_2$  và  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ . Đây là sự bẫy cơ học của vi

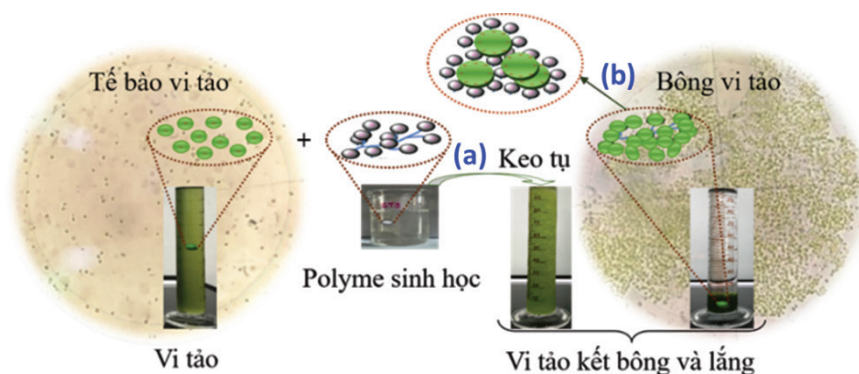
tảo trong cấu trúc không lỗ của chất kết tủa vô cơ dẫn đến sự keo tụ của chúng.

Vậy, quá trình keo tụ vi tảo (có kích thước nhỏ khoảng 3 - 25  $\mu\text{m}$ , mang điện tích âm) bằng polyme sinh học (mang điện tích dương) trong dịch tảo ở dạng huyền phù sẽ gây mất ổn định điện tích ở bề mặt vi tảo khi hấp thụ polyme. Lúc này, các lực đẩy tĩnh điện giữa các tế bào vi tảo suy yếu và xảy ra hiện tượng trung hòa điện tích rồi tạo thành các khối bông bằng liên kết bắc cầu [48]. Khi đó vi tảo kết thành khối bông lớn dần, điện thế zeta của các tế bào vi tảo tích điện âm giảm và tiến về 0 ở một nồng độ polyme nhất định (Hình 2). Tuy nhiên, nếu tiếp tục tăng nồng độ polyme quá mức cần thiết thì xu hướng cho thấy thế zeta của vi tảo dương làm ngăn cản quá trình keo tụ và hiệu suất thu hoạch vi tảo không tăng đáng kể [21, 22, 64].

Trong các loại polyme tự nhiên, chitosan được đánh giá cao vì được chiết rút từ phụ phẩm của giáp xác trong quá trình chế biến. Nhiều nghiên cứu đã minh chứng cho thấy sử dụng chitosan để thu vi tảo đạt hiệu quả cao, chi phí thấp và an toàn khi sử dụng trong ngành công nghệ thực phẩm [19, 20, 37]. Tuy nhiên, lưu ý rằng trong môi trường nước biển có độ mặn cao sẽ ảnh hưởng đến quá trình keo tụ vi tảo, các polyelectrolyte bị ức chế trong môi trường và hiệu quả ở độ mặn dưới 5g/L. Vậy nên, việc sử dụng chitosan keo tụ các loài vi tảo nước ngọt mang lại hiệu quả thu hoạch cao hơn các loài vi tảo biển [37, 55].

### III. KẾT LUẬN

Thức ăn vi tảo có lợi cho sức khỏe của động vật thủy sản về dinh dưỡng và tăng hệ miễn



Hình 2. Quá trình kết bông vi tảo và cơ chế keo tụ polyme sinh học.

dịch, giảm tác động sử dụng chất kháng sinh trong nuôi trồng thủy sản, làm sạch môi trường nước nuôi. Trong tổng quan này, khía cạnh về nguồn lợi, vai trò vi tảo trong nuôi trồng thủy sản, công nghệ thu hoạch và tiềm năng phát triển của phương pháp thu sinh khối bằng polyme sinh học được xem xét. Vậy, để khắc

phục các vấn đề được thảo luận ở trên, việc thu hồi sinh khối bằng polyme sinh học sẽ góp phần phát triển ngành nuôi trồng thủy sản bền vững trong tương lai. Phương pháp được đánh giá cao về mức độ an toàn sinh học cho vật nuôi, chi phí đầu tư thấp, đơn giản, hiệu quả cao và đảm bảo thành phần dinh dưỡng cao.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

### Tiếng Việt

1. Trần Suong Ngọc và Phạm Thị Tuyết Ngân (2014), “Khả năng nuôi sinh khối tảo *Nannochloropsis oculata* trong các hệ thống khác nhau”, *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, Chuyên đề: Thủy sản, 2, pp. 63 – 69.
2. Võ Thị Kiều Thanh, Nguyễn Duy Tân, Vũ Thị Lan Anh và Phùng Huy Huấn (2012), “Ứng dụng tảo *Chlorella* sp. và *Daphnia* sp. Loại chất thải hữu cơ trong nước thải từ quá trình chăn nuôi lợn sau xử lý bằng UASB”, *Tạp chí Sinh học*, 34 (3SE), pp. 145 – 153.
3. Bùi Bá Trung, Hoàng Thị Bích Mai, Nguyễn Hữu Dũng và Cái Ngọc Bảo Anh (2009), “Ảnh hưởng của mật độ ban đầu và tỷ lệ thu hoạch lên sinh trưởng vi tảo *Nannochloropsis oculata* nuôi trong hệ thống ống dẫn trong suốt nước chảy liên tục”, *Tạp chí Khoa học Công nghệ Thủy sản*, số 1, pp. 37 – 44.

### Tiếng Anh

4. Antia N., Bisalputra T., Cheng J. và Kalley J. (1975), “Pigment and cytological evidence for reclassification of *Nannochloris oculata* and *Monaliantus salina* in the eustigmatophyceae 1”, *Journal of Phycology*, 11(3), pp. 339-343.
5. Aziz M. và Ng W. (1992), “Feasibility of wastewater treatment using the activated-algae process”, *Bioresource Technology*, 40(3), pp. 205-208.
6. Barrut B., Blancheton J.-P., Muller-Feuga A., René F., Narváez C., Champagne J.-Y. và Grasmick A. (2013), “Separation efficiency of a vacuum gas lift for microalgae harvesting”, *Bioresource Technology*, 128, pp. 235-240.
7. Beach E.S., Eckelman M.J., Cui Z., Brentner L. và Zimmerman J.B. (2012), “Preferential technological and life cycle environmental performance of chitosan flocculation for harvesting of the green algae *Neochloris oleoabundans*”, *Bioresource Technology*, 121, pp. 445-449.
8. Ben-Amotz A. (1987), “Effect of irradiance and nutrient deficiency on the chemical composition of *Dunaliella bardawil* Ben-Amotz and Avron (Volvocales, Chlorophyta)”, *Journal of Plant Physiology*, 131(5), pp. 479-487.
9. Bleeke F., Milas M., Winckelmann D. và Klöck G. (2015), “Optimization of freshwater microalgal biomass harvest using polymeric flocculants”, *International Aquatic Research*, 7(3), pp. 235-244.
10. Borowitzka M.A. (1997), “Microalgae for aquaculture: opportunities and constraints”, *Journal of Applied Phycology*, 9(5), pp. 393-401.
11. Bratby J. (2016), *Coagulation and flocculation in water and wastewater treatment*, IWA publishing.

12. Brown M., Garland C., Jeffrey S., Jameson I. và Leroi J. (1993), “The gross and amino acid compositions of batch and semi-continuous cultures of *Isochrysis* sp.(clone T. ISO), *Pavlova lutheri* and *Nannochloropsis oculata*”, *Journal of Applied Phycology*, 5(3), pp. 285-296.
13. Brown M.R. (1991), “The amino-acid and sugar composition of 16 species of microalgae used in mariculture”, *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 145(1), pp. 79-99.
14. Brown M.R., McCausland M.A. và Kowalski K. (1998), “The nutritional value of four Australian microalgal strains fed to Pacific oyster *Crassostrea gigas* spat”, *Aquaculture*, 165(3-4), pp. 281-293.
15. Buelna G., Bhattarai K., De la Noue J. và Taiganides E. (1990), “Evaluation of various flocculants for the recovery of algal biomass grown on pig-waste”, *Biological Wastes*, 31(3), pp. 211-222.
16. Buike P. (2018), “Microalgae production technologies for hatcheries”, *Global Aquaculture*, <https://www.globalseafood.org/advocate/microalgae-production-technologies-for-hatcheries/>.
17. Chisti Y. (1999), Shear sensitivity, in: Mass transfer//MC Flickinger, SW Drew (eds). Encyclopedia of bioprocess technology: fermentation, biocatalysis and bioseparation. , John Wiley: New York: Wiley. pp. 2379 – 2406.
18. Choi S., Lee J., Kwon D. và Cho K. (2006), “Settling characteristics of problem algae in the water treatment process”, *Water Science and Technology*, 53(7), pp. 113-119.
19. Chua E.T., Eltanahy E., Jung H., Uy M., Thomas-Hall S.R. và Schenk P.M. (2019), “Efficient harvesting of *Nannochloropsis* microalgae via optimized chitosan-mediated flocculation”, *Global Challenges*, 3(1), pp. 1800038.
20. Chua E.T., Shekh A.Y., Eltanahy E., Thomas-Hall S.R. và Schenk P.M. (2020), “Effective harvesting of *Nannochloropsis* microalgae using mushroom chitosan: a pilot-scale study”, *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 8, pp. 771.
21. Demir I., Besson A., Guiraud P. và Formosa-Dague C. (2020), “Towards a better understanding of microalgae natural flocculation mechanisms to enhance flotation harvesting efficiency”, *Water Science and Technology*, 82(6), pp. 1009-1024.
22. Demir I., Blockx J., Dague E., Guiraud P., Thielemans W., Muylaert K. và Formosa-Dague C. (2020), “Nanoscale evidence unravels microalgae flocculation mechanism induced by chitosan”, *ACS Applied Bio Materials*, 3(12), pp. 8446-8459.
23. Divakaran R. và Sivasankara Pillai V. (2002), “Flocculation of algae using chitosan”, *Journal of Applied Phycology*, 14(5), pp. 419-422.
24. Enright C., Newkirk G., Craigie J. và Castell J. (1986), “Evaluation of phytoplankton as diets for juvenile *Ostrea edulis* L”, *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 96(1), pp. 1-13.
25. Generalić Mekinić I., Šimat V., Rathod N.B., Hamed I. và Čagalj M. (2023), “Algal Carotenoids: Chemistry, Sources, and Application”, *Foods*, 12(14), pp. 2768.
26. Grima E.M., Belarbi E.-H., Fernández F.A., Medina A.R. và Chisti Y. (2003), “Recovery of microalgal biomass and metabolites: process options and economics”, *Biotechnology Advances*, 20(7-8), pp. 491-515.
27. Guiry M.D. (2012), “How many species of algae are there?”, *Journal of phycology*, 48(5), pp. 1057-1063.
28. Hallegraeff G.M. (2010), “Ocean climate change, phytoplankton community responses, and harmful algal blooms: a formidable predictive challenge 1”, *Journal of phycology*, 46(2), pp. 220-235.

29. Han P., Lu Q., Fan L. và Zhou W. (2019), “A review on the use of microalgae for sustainable aquaculture”, *Applied Sciences*, 9(11), pp. 2377.
30. Hattab M., Ghaly A. và Hammouda A. (2015), “Microalgae harvesting methods for industrial production of biodiesel: critical review and comparative analysis”, *J Fundam Renew Energy Appl*, 5(2), pp. 1000154.
31. Hu Q., Sommerfeld M., Jarvis E., Ghirardi M., Posewitz M., Seibert M. và Darzins A. (2008), “Microalgal triacylglycerols as feedstocks for biofuel production: perspectives and advances”, *The plant journal*, 54(4), pp. 621-639.
32. Huang C., Chen S. và Pan J.R. (2000), “Optimal condition for modification of chitosan: a biopolymer for coagulation of colloidal particles”, *Water Research*, 34(3), pp. 1057-1062.
33. Huang R., Du Y., Zheng L., Liu H. và Fan L. (2004), “A new approach to chemically modified chitosan sulfates and study of their influences on the inhibition of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* growth”, *Reactive and Functional Polymers*, 59(1), pp. 41-51.
34. Japar A.S., Takriff M.S. và Yasin N.H.M. (2017), “Harvesting microalgal biomass and lipid extraction for potential biofuel production: A review”, *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 5(1), pp. 555-563.
35. Kim J., Yoo G., Lee H., Lim J., Kim K., Kim C.W., Park M.S. và Yang J.-W. (2013), “Methods of downstream processing for the production of biodiesel from microalgae”, *Biotechnology Advances*, 31(6), pp. 862-876.
36. Laamanen C.A., Ross G.M. và Scott J.A. (2016), “Flotation harvesting of microalgae”, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 58, pp. 75-86.
37. Lam G., Giraldo J., Vermuë M., Olivieri G., Eppink M. và Wijffels R. (2016), “Understanding the salinity effect on cationic polymers in inducing flocculation of the microalga *Neochloris oleoabundans*”, *Journal of Biotechnology*, 225, pp. 10-17.
38. Lavens P. và Sorgeloos P. (1996), *Manual on the production and use of live food for aquaculture*, Food and Agriculture Organization (FAO).
39. Marques A., Miranda J., Batista A. và Gouveia L. (2011), “Microalgae biotechnological applications: nutrition, health and environment”, *Microalgae: Biotechnology, Microbiology and Energy*, pp. 1-60.
40. Mata T.M., Martins A.A. và Caetano N.S. (2010), “Microalgae for biodiesel production and other applications: a review”, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14(1), pp. 217-232.
41. Mu R., Zhao Y., Bu Q., Wang M. và Liu D. (2018), “The effects of three different flocculants on the harvest of microalgae *Chlorella vulgaris*”, IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, IOP Publishing.
42. Ndikubwimana T., Chang J., Xiao Z., Shao W., Zeng X., Ng I.S. và Lu Y. (2016), “Flotation: A promising microalgae harvesting and dewatering technology for biofuels production”, *Biotechnology Journal*, 11(3), pp. 315-326.
43. Norsker N.-H., Barbosa M.J., Vermuë M.H. và Wijffels R.H. (2011), “Microalgal production: a close look at the economics”, *Biotechnology Advances*, 29(1), pp. 24-27.
44. Papazi A., Makridis P. và Divanach P. (2010), “Harvesting *Chlorella minutissima* using cell coagulants”, *Journal of Applied Phycology*, 22(3), pp. 349-355.



45. Pérez-Legaspi I.A., Valadez-Rocha V., Ortega-Clemente L.A. và Jiménez-García M.I. (2020), “Microalgal pigment induction and transfer in aquaculture”, *Reviews in Aquaculture*, 12(3), pp. 1323-1343.
46. Petrusevski B., Bolier G., Van Breemen A. và Alaerts G. (1995), “Tangential flow filtration: a method to concentrate freshwater algae”, *Water Research*, 29(5), pp. 1419-1424.
47. Pienkos P.T. và Darzins A. (2009), “The promise and challenges of microalgal-derived biofuels”, *Biofuels, Bioproducts and Biorefining: Innovation for a sustainable economy*, 3(4), pp. 431-440.
48. Pugazhendhi A., Shobana S., Bakonyi P., Nemesóthy N., Xia A. và Kumar G. (2019), “A review on chemical mechanism of microalgae flocculation via polymers”, *Biotechnology Reports*, 21, pp. e00302.
49. Raja R., Coelho A., Hemaishwarya S., Kumar P., Carvalho I.S. và Alagarsamy A. (2018), “Applications of microalgal paste and powder as food and feed: An update using text mining tool”, *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, 7(4), pp. 740-747.
50. Rebollosa-Fuentes M.M., Navarro-Pérez A., García-Camacho F., Ramos-Miras J. và Guil-Guerrero J. (2001), “Biomass nutrient profiles of the microalga *Nannochloropsis*”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(6), pp. 2966-2972.
51. Rossignol N., Vandanjon L., Jaouen P. và Quemeneur F. (1999), “Membrane technology for the continuous separation microalgae/culture medium: compared performances of cross-flow microfiltration and ultrafiltration”, *Aquacultural Engineering*, 20(3), pp. 191-208.
52. Ryckebosch E., Muylaert K., Eeckhout M., Ruyssen T. và Foubert I. (2011), “Influence of drying and storage on lipid and carotenoid stability of the microalga *Phaeodactylum tricornutum*”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(20), pp. 11063-11069.
53. Sathasivam R., Radhakrishnan R., Hashem A. và Abd\_Allah E.F. (2019), “Microalgae metabolites: A rich source for food and medicine”, *Saudi journal of biological sciences*, 26(4), pp. 709-722.
54. Smayda T.J. và Boleyn B.J. (1965), “Experimental observations on the flotation of marine diatoms. I. *Thalassiosira cf. nana*, *Thalassiosira rotula* and *Nitzschia seriata*”, *Limnology and Oceanography*, 10(4), pp. 499-509.
55. Sukenik A., Bilanovic D. và Shelef G. (1988), “Flocculation of microalgae in brackish and sea waters”, *Biomass*, 15(3), pp. 187-199.
56. Trung T., Huyen N., Minh N., Le Trang T. và Han N. (2016), “Optimization of harvesting of microalgal *Thalassiosira pseudonana* biomass using chitosan prepared from shrimp shell waste”, *Asian J. Agric. Res.*, 10(5), pp. 162-174.
57. Uduman N., Qi Y., Danquah M.K., Forde G.M. và Hoadley A. (2010), “Dewatering of microalgal cultures: a major bottleneck to algae-based fuels”, *Journal of Renewable and Sustainable Energy*, 2(1), pp. 012701.
58. Uduman N., Qi Y., Danquah M.K. và Hoadley A.F. (2010), “Marine microalgae flocculation and focused beam reflectance measurement”, *Chemical Engineering Journal*, 162(3), pp. 935-940.
59. Vandamme D., Foubert I., Fraeye I., Meesschaert B. và Muylaert K. (2012), “Flocculation of *Chlorella vulgaris* induced by high pH: role of magnesium and calcium and practical implications”, *Bioresource Technology*, 105, pp. 114-119.
60. Venkataraman L. (1978), “New possibility for microalgae production and utilisation in India”, *Arch Hydrobiol Beih*, 11, pp. 199-210.

61. Volkman J., Jeffrey S., Nichols P., Rogers G. và Garland C. (1989), “Fatty acid and lipid composition of 10 species of microalgae used in mariculture”, *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 128(3), pp. 219-240.
62. Waite A., Fisher A., Thompson P.A. và Harrison P.J. (1997), “Sinking rate versus cell volume relationships illuminate sinking rate control mechanisms in marine diatoms”, *Marine Ecology Progress Series*, 157, pp. 97-108.
63. Wan C., Alam M.A., Zhao X.-Q., Zhang X.-Y., Guo S.-L., Ho S.-H., Chang J.-S. và Bai F.-W. (2015), “Current progress and future prospect of microalgal biomass harvest using various flocculation technologies”, *Bioresource Technology*, 184, pp. 251-257.
64. Xia L., Li Y., Huang R. và Song S. (2017), “Effective harvesting of microalgae by coagulation–flotation”, *Royal Society Open Science*, 4(11), pp. 170867.