



Article info

Type of article:

Original research paper

DOI:

<https://doi.org/10.58845/jstt.utt.2026.vn.6.4.184-203>

***Corresponding author:**

Email address:

ngant80@utt.edu.vn

Received: 04/05/2026

Received in Revised Form:

10/06/2026

Accepted: 15/06/2026

Integrated municipal wastewater treatment and polyhydroxybutyrate (PHB) production by the cyanobacterium *Synechocystis salina* M8

Nguyen Thi Phuong Dung, Luu Thi Thu Ha, Vu Quoc Hung, Nguyen Thi Huyen Trang, Nguyen Thi Nga*

University of Transport Technology, 54 Trieu Khuc Street, Thanh Liet Ward, Hanoi, Vietnam

Abstract: The exploitation of cyanobacterial biological characteristics has attracted increasing attention as a promising approach in environmental biotechnology, owing to its ability to remove pollutants while generating valuable biomass. In this study, the growth performance and polyhydroxybutyrate (PHB) biosynthesis potential of the indigenous cyanobacterial strain *Synechocystis salina* M8 (*S. salina* M8) were evaluated under cultivation in municipal wastewater. The ability of *S. salina* M8 to grow in raw municipal wastewater without UV sterilization suggested a high level of adaptability to cultivation conditions containing indigenous microbial communities. Under the selected cultivation conditions, including pH 7, a nutrient ratio (C:N:P) of 100:10:1, a temperature of 25°C, an illumination intensity of 13,500 Lux, and aeration at 0.1 vvm supplemented with 2% CO₂, the biomass concentration reached 2.63 g/L after 7 days of cultivation. The PHB content attained 48% of cell dry weight, as determined by gas chromatography with flame ionization detection (GC-FID). In addition, the removal efficiencies of COD, N-NH₄⁺, total nitrogen (T-N), P-PO₄³⁻, and total phosphorus (T-P) all exceeded 83%, while all investigated effluent parameters complied with the requirements of QCVN 14:2025/BTNMT. The experimental results demonstrated that *S. salina* M8 is capable of simultaneously improving municipal wastewater quality and accumulating substantial amounts of intracellular PHB. These findings provide additional scientific evidence for the development of integrated bioprocesses that combine wastewater remediation with the production of PHB-rich biomass, thereby contributing to environmentally sustainable biotechnological solutions and supporting the principles of a green and circular economy.

Keywords: Domestic wastewater, PHB, biomass, *Synechocystis salina* M8.



Thông tin bài viết
Dạng bài viết:
Bài báo nghiên cứu

DOI:
<https://doi.org/10.58845/jstt.utt.2026.vn.6.4.184-203>

*Tác giả liên hệ:
Địa chỉ Email:
ngant80@utt.edu.vn

Ngày nộp bài: 04/05/2026
Ngày nộp bài sửa: 10/06/2026
Ngày chấp nhận: 15/06/2026

Tích hợp quá trình xử lý nước thải đô thị và sinh tổng hợp polyhydroxybutyrate (PHB) bằng chủng vi khuẩn lam *Synechocystis salina* M8

Nguyễn Thị Phương Dung, Lưu Thị Thu Hà, Vũ Quốc Hưng, Nguyễn Thị Huyền Trang, Nguyễn Thị Nga*
Trường Đại học Công nghệ Giao thông vận tải, 54 Triều Khúc, phường Thanh Liệt, thành phố Hà Nội, Việt Nam

Tóm tắt: Vi khuẩn lam được xem là một đối tượng triển vọng trong công nghệ môi trường nhờ khả năng kết hợp xử lý các thành phần ô nhiễm với tạo sinh khối có giá trị. Nghiên cứu này đánh giá đặc tính sinh trưởng và khả năng tạo polyhydroxybutyrate (PHB) của chủng *Synechocystis salina* M8 (*S. salina* M8) khi nuôi cấy trong nước thải đô thị. Khả năng phát triển của *S. salina* M8 trong nước thải đô thị ghi nhận chủng có mức độ thích nghi cao với môi trường chứa các quần thể vi sinh vật bản địa. Lượng sinh khối đạt được 2,63 g/L sau 7 ngày nuôi cấy, duy trì các thông số kỹ thuật bao gồm pH trung tính (7), tỷ lệ dinh dưỡng (C/N/P=100:10:1), nhiệt độ nuôi 25°C, mức chiếu sáng 13.500 Lux và sục khí 0,1 vvm với 2% CO₂. Hàm lượng PHB đạt 48% trọng lượng khô tế bào, được xác định bằng GC-FID. Đồng thời, hiệu quả xử lý COD, N-NH₄⁺, tổng nitrogen (T-N), P-PO₄³⁻ và tổng phosphorus (T-P) đều đạt trên 83%, nằm trong giới hạn cho phép theo QCVN 14:2025/BTNMT. Các dữ liệu thực nghiệm đã minh chứng rằng *S. salina* M8 có thể vận hành song song hai nhiệm vụ: cải thiện chất lượng nước thải đô thị và tích lũy hàm lượng polymer PHB trong tế bào. Những kết quả này góp phần bổ sung cơ sở khoa học cho việc phát triển các quy trình xử lý nước thải gắn với thu hồi sản phẩm sinh học có giá trị, qua đó nâng cao hiệu quả sử dụng tài nguyên và giảm thiểu phát thải ra môi trường.

Từ khóa: Nước thải, PHB, sinh khối, *Synechocystis salina* M8.

1. Giới thiệu

Lượng chất thải nhựa và nước thải đô thị không ngừng gia tăng đang tạo ra nhiều áp lực đối với môi trường, đồng thời thúc đẩy nhu cầu phát triển các công nghệ xử lý và tái sử dụng tài nguyên theo hướng bền vững, đặc biệt tại các quốc gia đang phát triển như Việt Nam. Các loại polymer có nguồn gốc từ nhiên liệu hóa thạch do khó phân hủy sinh học nên đang ngày càng tích tụ với khối lượng

lớn trong môi trường tự nhiên, gây tác động tiêu cực lâu dài đến hệ sinh thái. Trong đó, nước thải đô thị đóng vai trò là nguồn cung cấp dồi dào các thành phần hữu cơ cùng những dưỡng chất đa lượng như nitrogen và phosphorus.

Do đó, nếu nguồn nước thải không được xử lý thích hợp trước khi xả ra môi trường sẽ làm gia tăng nguy cơ ô nhiễm và phú dưỡng các thủy vực tiếp nhận. Trước thực trạng này, các công nghệ

sinh học tích hợp theo hướng thân thiện môi trường, đồng bộ hóa quá trình xử lý nước thải và thu nhận sinh khối, tài nguyên, đang nổi lên như một xu thế nghiên cứu chủ đạo, đóng vai trò then chốt trong việc phát triển các giải pháp bền vững.

Trong số các chủng vi khuẩn lam đã được nghiên cứu, *S. salina* M8 nổi bật nhờ khả năng duy trì sinh trưởng trong nhiều môi trường nuôi cấy khác nhau, bao gồm cả nước thải chứa thành phần dinh dưỡng phức tạp. Chủng nghiên cứu này có khả năng hấp thụ trực tiếp CO₂, đồng hóa các chất dinh dưỡng môi trường và tích lũy polymer sinh học nội bào thuộc nhóm polyhydroxyalkanoates (PHA), trong đó PHB là dạng phổ biến nhất. Nhờ khả năng được phân hủy thông qua các quá trình sinh học và sở hữu các đặc tính cơ học tương đối tương đồng với polypropylene, PHB được xem là một trong những polymer sinh học có triển vọng ứng dụng, góp phần giảm sự phụ thuộc vào các loại nhựa truyền thống có nguồn gốc từ dầu mỏ [1]. Về mặt sinh lý, sự hình thành PHB ở vi khuẩn lam thường liên quan đến điều kiện hạn chế các dưỡng chất thiết yếu, trong khi nguồn carbon vẫn được cung cấp đầy đủ [1]. Khi đó, dòng chuyển hóa trung gian acetyl-CoA có xu hướng được chuyển sang chu trình sinh tổng hợp PHB thay cho việc tham gia vào sự sinh trưởng của tế bào. Quá trình sinh tổng hợp này diễn ra dưới sự xúc tác của ba enzyme chủ chốt là β -ketothiolase (PhaA), acetoacetyl-CoA reductase (PhaB) và PHA synthase (PhaC), từ đó thúc đẩy sự hình thành PHB trong bào tương như nguồn dự trữ carbon và năng lượng của tế bào [2]. Tuy nhiên, giá thành sản xuất cao được xem là thách thức đáng kể trong việc đưa PHB vào ứng dụng thương mại và hiệu suất chưa ổn định [3].

Các công trình nghiên cứu đã cho thấy tảo lam thuộc nhóm vi sinh vật có tiềm năng tạo PHA, đặc biệt là PHB, với mức độ khác nhau tùy thuộc vào điều kiện nuôi cấy. Trong số đó, các chủng thuộc chi *Synechocystis* thường được lựa chọn làm đối tượng nghiên cứu nhằm đánh giá ảnh hưởng của các điều kiện nuôi cấy đến mức độ hình

thành và dự trữ polymer nội bào. Nhiều kết quả đã ghi nhận rằng độ mặn, cường độ ánh sáng và sự giới hạn dinh dưỡng là những yếu tố quan trọng chi phối sự hình thành và dự trữ PHB trong tế bào. Cụ thể, theo báo cáo của Meixner và cộng sự (2022), hàm lượng PHB ở các chủng *Synechocystis* tăng theo nồng độ muối đến một ngưỡng tối ưu, sau đó giảm khi độ mặn tiếp tục tăng. Trong đó, chủng CCALA192 đạt giá trị cao nhất $6,98 \pm 0,10\%$ sinh khối khô tại 4% NaCl sau 42 ngày nuôi cấy. Điều này chứng minh vai trò của stress thẩm thấu như một tín hiệu kích hoạt tích lũy PHB [4]. Cường độ ánh sáng là một trong những yếu tố ảnh hưởng đến khả năng tích lũy PHB. Nghiên cứu của Gracioso và cộng sự (2021) cho thấy cường độ ánh sáng cao có khả năng làm gia tăng hàm lượng PHB lên tới 31% khối lượng khô tế bào ở một chủng *Synechocystis* có nguồn gốc từ hệ sinh thái ngập mặn [5]. Ngoài cường độ ánh sáng, sự thiếu hụt nitrogen và phosphorus cũng có thể thúc đẩy tích lũy PHB. Kamravamanesh và cộng sự (2017) ghi nhận hàm lượng PHB đạt $16,4 \pm 2\%$ sinh khối khô ở chủng *Synechocystis* sp. PCC 6714 dưới điều kiện hạn chế các dưỡng chất này [6], cho thấy carbon nội bào có xu hướng được chuyển hướng vào quá trình hình thành PHB khi mức độ phát triển tế bào bị giới hạn. Tại Việt Nam, vi khuẩn lam hiện đang thu hút sự chú ý mạnh mẽ của các nhà khoa học nhờ tiềm năng lớn trong các hệ thống nước thải khác nhau, bao gồm nước thải từ hoạt động chăn nuôi, nuôi trồng thủy hải sản [7, 8]. Một số loài như *Chlorella* sp. và *Scenedesmus* sp. ghi nhận khả năng loại bỏ cao các chất hữu cơ và dinh dưỡng trong nước thải.

Bên cạnh đó, các nghiên cứu gần đây đã tập trung vào việc phân lập và sàng lọc các chủng có khả năng tích hợp chức năng xử lý môi trường với khai thác sinh khối giá trị gia tăng như PHA/PHB [9]. Ở Việt Nam, nghiên cứu về chiết tách PHB thông qua vi khuẩn lam hiện vẫn chưa nhận được sự quan tâm đúng mức, dẫn đến sự thiếu hụt các báo cáo đánh giá toàn diện về tiềm năng của chúng trong thực tiễn vẫn còn tương đối ít và chưa phản

ánh đầy đủ tiềm năng ứng dụng của nhóm vi sinh vật này trong sản xuất vật liệu sinh học [10].

Mặc dù đã có nhiều tiến bộ trong nghiên cứu ứng dụng vi khuẩn lam, các công trình về tối ưu hóa điều kiện nuôi cấy, thu hồi sinh khối và sản xuất PHB vẫn còn tương đối hạn chế, đặc biệt trong điều kiện nước thải thực tế. Việc thiết lập các điều kiện thực nghiệm trong môi trường nhân tạo hoặc nước thải đã qua xử lý sơ bộ là cách tiếp cận phổ biến của các nghiên cứu trước đây để thuận lợi theo dõi quá trình tăng trưởng của vi sinh vật. Do đó, việc làm sáng tỏ các cơ chế chi phối sự phát triển của vi khuẩn lam trong nước thải đô thị, bao gồm khả năng tạo PHB, sử dụng nguồn dinh dưỡng và loại bỏ các chất ô nhiễm, vẫn là một hướng nghiên cứu cần được quan tâm. Bên cạnh đó, các thách thức liên quan đến chi phí vận hành, công nghệ thu hồi sản phẩm và khả năng mở rộng quy mô vẫn là những vấn đề cần được nghiên cứu và tiếp tục hoàn thiện. Trong bối cảnh đó, chủng *S. salina* M8 mới phân lập tại Việt Nam có khả năng thích nghi và phát triển ổn định khi sử dụng nước thải đô thị để nuôi cấy, đồng thời góp phần nâng cao hiệu quả xử lý các hợp chất hữu cơ và dinh dưỡng kết hợp với tích lũy PHB trong cùng hệ nuôi cấy. Tảo lam hiện đang được đánh giá là công nghệ sinh học đầy triển vọng trong việc xử lý nước thải kết hợp tái sử dụng tài nguyên. Khả năng đặc biệt của nhóm sinh vật này là chuyển hóa trực tiếp các dưỡng chất dư thừa từ dòng thải thành nguồn sinh khối hữu ích cùng các vật liệu sinh học có giá trị gia tăng.

Xuất phát từ những cơ sở trên, nghiên cứu này nhằm khảo sát ảnh hưởng của điều kiện môi trường, bao gồm mức chiếu sáng, phương thức

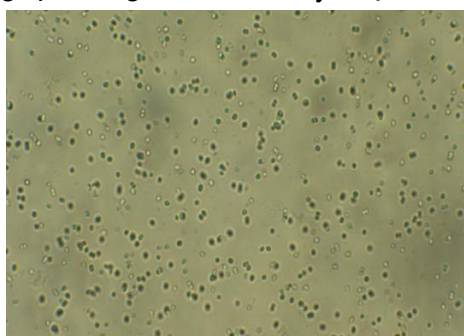
khuấy trộn - sục khí, điều kiện nước thải (xử lý UV và không xử lý UV) đối với quá trình tạo sinh khối, tích lũy PHB và khả năng hấp thu các chất dinh dưỡng trong nước thải đô thị của *S. salina* M8. Kết quả nghiên cứu góp phần cung cấp cơ sở khoa học cho việc phát triển mô hình biorefinery sử dụng nước thải làm nguồn dinh dưỡng cho quá trình tạo sinh khối giàu PHB và thu hồi sản phẩm sinh học có giá trị.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Chủng *S. salina* M8 (Hình 1) được nuôi cấy tại Viện Hóa học. *S. salina* M8 được duy trì trong điều kiện nuôi cấy gồm năng lượng ánh sáng 4.500 Lux, nhiệt độ nuôi 25°C và sục khí 0,1 vvm. Mẫu được nuôi trong bình Duran 1 L chứa 0,5 L môi trường chuẩn BG-11 (Hình 2) với thành phần hóa học như sau: K_2HPO_4 (0,04 g/L); $NaNO_3$ (1,5 g/L); vi lượng A5 (1 mL/L) (dung dịch vi lượng A5 gồm H_3BO_3 (2,86 g/L); $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ (1,81 g/L); $ZnSO_4 \cdot 4H_2O$ (0,222 g/L); axit citric (6 mg/L), $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (75 mg/L), $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ (36 mg/L), sắt amoni citrat (6 mg/L) và EDTA (1 mg/L); $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ (0,079 g/L), $Co(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ (0,0494 g/L); Na_2MoO_4 (0,39 g/L).

Các hóa chất phục vụ cho quá trình phân tích và đánh giá các thuộc tính cơ bản của nhựa sinh học PHB: Chloroform, $NaClO$, methanol và sử dụng PHB chuẩn phân tích do Sigma-Aldrich (St. Louis, Missouri, Hoa Kỳ) cung cấp. Toàn bộ hóa chất và thuốc thử được sử dụng trong nghiên cứu đều đạt cấp độ phân tích (analytical grade), có độ tinh khiết tối thiểu 95% và được sử dụng trực tiếp theo hướng dẫn của nhà sản xuất mà không cần xử lý hoặc tinh chế thêm.



Hình 1. Hình thái vi khuẩn lam *S. salina* M8



Hình 2. *S. salina* M8 giống nuôi trong môi trường chuẩn BG-11

Mẫu nước thải đô thị được lấy từ điểm xả thải của hệ thống thoát nước tại khu vực đường Quan Hoa, phường Nghĩa Đô, thành phố Hà Nội để phục vụ nghiên cứu. Tọa độ vị trí lấy mẫu: 21,0408621° N, 105,8059721° E

Thiết bị sử dụng trong nghiên cứu: Máy quang phổ UV-Vis; phân tích định lượng PHB được tiến hành bằng hệ thống sắc ký khí ghép đầu dò ion hóa ngọn lửa (GC-FID) trên thiết bị Agilent 8890, sử dụng cột HP-5; các đặc trưng hóa học của PHB được khảo sát bằng phương pháp phổ hồng ngoại biến đổi Fourier (FT-IR) sử dụng máy Spectrum Two (PerkinElmer, Anh); máy ly tâm lạnh (Z206A, Hermle, Đức), cùng tủ ấm, hệ thống chiếu sáng và thiết bị nuôi cấy quang sinh; máy siêu âm (Ultrasonic Cleaner, Anh); các điều kiện thí nghiệm được kiểm soát bằng thiết bị đo pH, nhiệt độ, năng lượng chiếu sáng và máy sục khí có xuất xứ từ Hàn Quốc.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp nghiên cứu thực nghiệm

2.2.1.1. Quy trình nuôi *S. salina* M8

Chủng *S. salina* M8 được nuôi giống trong bình Duran 1.000 mL theo các điều kiện mô tả ở Mục 2.1. Khi quần thể đạt pha sinh trưởng ổn định sau 6–8 ngày nuôi, dịch nuôi cấy được thu nhận để làm nguồn giống khi các chỉ số sinh trưởng đạt ngưỡng: số lượng tế bào đạt trên $2,5 \times 10^5$ tế bào/mL (OD_{750} xấp xỉ 2,5) và hàm lượng sinh khối khoảng 1,0 g/L. Nguồn giống bổ sung vào các bình Duran chứa nước thải đã xử lý bằng tia UV hoặc nước thải không xử lý UV, với tỷ lệ cấy giống

ban đầu tương ứng 20% (v/v), tính theo thể tích môi trường nuôi cấy. Quá trình nuôi cấy được tiến hành với sục khí 0,1 vvm và khuấy từ 150 vòng/phút; pH ban đầu duy trì ở giá trị 7, điều kiện ánh sáng: 4.500, 9.000, 13.500, 19.600 và 25.000 Lux. Cấu hình bình phản ứng bao gồm ba đầu nối bằng thép không gỉ inox 304 ($\Phi 6$ mm), được bố trí cho các chức năng cấp khí, thu mẫu và thoát khí. Dòng khí được đưa vào hệ thống thông qua ống silicone kết nối với máy sục khí Fujimac và đồng hồ kiểm soát lưu lượng, cho phép duy trì điều kiện vận hành ổn định trong quá trình nuôi cấy [7].

2.2.1.2. Đánh giá ảnh hưởng của các điều kiện nuôi cấy đến sinh trưởng và tổng hợp PHB của *S. salina* M8

Nghiên cứu được thực hiện nhằm đánh giá ảnh hưởng của các yếu tố đến quá trình tăng trưởng tế bào, sự hình thành PHB nội bào, khả năng loại bỏ chất ô nhiễm trong nước thải đô thị của chủng *S. salina* M8. Các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình nuôi cấy, bao gồm trạng thái nước thải (xử lý UV và không xử lý UV), phương thức khuấy trộn – sục khí và mức chiếu sáng, được khảo sát riêng lẻ nhằm làm rõ ảnh hưởng của từng yếu tố đến đặc tính sinh trưởng của vi khuẩn lam.

Điều kiện nước thải xử lý UV được sử dụng nhằm giảm tải vi sinh vật hiện diện trong nước thải, tạo môi trường ổn định để xác định khả năng phát triển tế bào, loại bỏ các chất dinh dưỡng và khả năng sản sinh PHB. Đối với nước thải chưa xử lý UV (nước thải thô) nhằm mô phỏng điều kiện vận

hành thực tế, đánh giá khả năng thích nghi, cạnh tranh và duy trì hoạt động sinh học trong hệ vi sinh vật hỗn hợp.

Phương thức khuấy trộn và sục khí được khảo sát nhằm duy trì sự phân tán đồng đều của tế bào trong môi trường nuôi, hạn chế hiện tượng lắng sinh khối, tăng khả năng tiếp xúc của tế bào với ánh sáng, nguồn dinh dưỡng và CO₂ trong toàn bộ thể tích môi trường nuôi cấy.

Sự thay đổi cường độ ánh sáng có thể tác động đến khả năng thu nhận và chuyển hóa năng lượng của tế bào, khả năng tăng trưởng của tế bào và sự phân bố carbon giữa quá trình tăng trưởng và hình thành PHB ở vi khuẩn lam. Các nghiệm thức bố trí với nhiều mức năng lượng chiếu sáng nhằm khảo sát phản ứng sinh lý của *S. salina* M8 đối với ánh sáng, đồng thời đánh giá ảnh hưởng

của yếu tố này đến sự hình thành sinh khối và quá trình tạo thành PHB.

Ảnh hưởng của trạng thái môi trường và phương thức khuấy trộn đối với sự phát triển của S. salina M8

Thí nghiệm được tiến hành để khảo sát ảnh hưởng của trạng thái nước thải (xử lý UV và không xử lý UV) cùng các phương thức khuấy trộn khác nhau đến đặc tính tăng trưởng và mức độ thích nghi của *S. salina* M8 khi nuôi cấy trên nền nước thải đô thị (Hình 3).

Các điều kiện thực nghiệm: nhiệt độ 25°C, nồng độ giống 0,5 g/L, mức độ chiếu sáng 4.500 Lux, pH = 7, tỷ lệ dinh dưỡng C/N/P = 100:10:1 và chế độ chiếu sáng 24 giờ/ngày. Thời gian nuôi cấy là 7 ngày và các thí nghiệm được tiến hành với ba lần lặp cho mỗi nghiệm thức.



Hình 3. Khảo sát nuôi *S. salina* M8 trong nước thải đô thị



Hình 4. Sự tăng trưởng của *S. salina* M8 nuôi trong nước thải đô thị dưới các mức độ ánh sáng

Khảo sát đáp ứng sinh trưởng, tích lũy PHB và loại bỏ chất ô nhiễm của S. salina M8 dưới các mức chiếu sáng

Nghiên cứu được thực hiện nhằm đánh giá đáp ứng của *S. salina* M8 về đặc tính sinh trưởng, khả năng tích lũy PHB và loại bỏ chất ô nhiễm dưới các mức chiếu sáng khác nhau (4.500, 9.000, 13.500, 19.600 và 25.000 Lux). Thiết lập thí nghiệm: tỷ lệ C/N/P = 100:10:1, nồng độ sinh khối giống 0,5 g/L, nhiệt độ 25°C, pH = 7, duy trì sục khí ở lưu lượng 0,1 vvm đồng thời khuấy trộn bằng từ trường với tốc độ 150 vòng/phút và chế độ chiếu sáng 24 giờ/ngày (Hình 4).

Các thông số phản ánh tăng trưởng tế bào, mức độ hình thành PHB và hiệu quả xử lý nước của *S. salina* M8 được đánh giá thông qua sự biến động các thông số ô nhiễm trong 7 ngày nuôi cấy.

2.2.2. Phương pháp phân tích

2.2.2.1. Phương pháp thu thập mẫu và phân tích đặc tính nước thải

Việc lấy mẫu nước thải tuân thủ TCVN 5999:1995 và bảo quản mẫu được thực hiện theo TCVN 6663-3:2016. Mẫu nước thải được thu gom vào các can chứa có dung tích 20 L, sau đó vận chuyển đến Phòng phân tích thuộc Viện Hóa học để thực hiện các phân tích ban đầu và sử dụng cho các thí nghiệm nghiên cứu. Trước khi sử dụng, nước thải được xử lý sơ bộ bằng phương pháp lọc qua màng/vải PTFE với kích thước 10 µm trong 30 phút nhằm loại bỏ tạp chất và các hạt lơ lửng. Mẫu được điều chỉnh pH trong khoảng 7–9 bằng dung dịch NaOH 5 M hoặc H₂SO₄ 5 M đảm bảo điều kiện thích hợp cho sự sinh trưởng của vi khuẩn lam. Để đạt được tỷ lệ dinh dưỡng C/N/P = 100:10:1, thành phần carbon và nitrogen của nước thải được điều chỉnh bằng CH₃COOH và NaNO₃ trước khi tiến hành nuôi cấy. Nước thải được xử lý bằng đèn UV-C (254 nm, 15 W) trong 30 phút ở khoảng cách 20 cm, nhằm giảm mật độ vi sinh vật trong môi trường và hạn chế các tác động không mong muốn đến quá trình nuôi cấy chủng nghiên cứu.

Các thông số chất lượng nước đầu vào (COD, N-NH₄⁺, T-N, T-P và P-PO₄³⁻) được phân tích ngay sau khi lấy mẫu; các chỉ tiêu đầu ra được

xác định sau 7 ngày nuôi cấy. Phương pháp phân tích được thực hiện theo các tiêu chuẩn: N-NH₄⁺ được xác định theo TCVN 6179-1:1996; N-NO₃⁻ được xác định theo TCVN 6180:1996; phosphorus theo TCVN 6202:2008; COD theo TCVN 6491:1996; tổng nitrogen theo TCVN 9319:2012.

Nước thải đô thị được lọc sơ bộ qua màng PTFE có kích thước lỗ 10 µm trước khi sử dụng trong thí nghiệm. Các thông số chất lượng nước thải sau lọc được xác định như sau: pH = 7,5 ± 0,2; COD = 395 ± 2,6 mg/L; N-NO₃⁻ = 3,6 ± 0,5 mg/L; N-NH₄⁺ = 38,3 ± 0,24 mg/L; T-N = 41,9 ± 0,41 mg/L; P-PO₄³⁻ = 5,26 ± 0,13 mg/L; T-P = 6,18 ± 0,32 mg/L; TSS = 1,8 ± 0,2 mg/L.

Thí nghiệm được sắp xếp theo mô hình ngẫu nhiên hoàn toàn, với các yếu tố độc lập bao gồm điều kiện môi trường nước thải (xử lý UV và không xử lý UV), phương thức khuấy trộn và mức chiếu sáng, trong khi biến đáp ứng được biểu thị bằng giá trị OD₇₅₀.

Hiệu quả loại bỏ COD, N-NH₄⁺, T-N, T-P và P-PO₄³⁻ được tính toán theo công thức (1) sau:

$$H_i = \left(1 - \frac{C_i}{C_{0i}}\right) \times 100 \quad (1)$$

Trong đó: H_i là hiệu suất xử lý; C_{0i} là nồng độ ban đầu (mg/L), và C_i là nồng độ sau xử lý (mg/L)

2.2.2.2. Phương pháp xác định sự sinh trưởng của S. salina M8

Diễn biến sinh trưởng của chủng nghiên cứu được theo dõi định kỳ thông qua giá trị mật độ quang tại bước sóng 750 nm (OD₇₅₀). Giá trị sinh khối khô (g/L) được tính toán từ số liệu OD₇₅₀ theo đường chuẩn hồi quy (2) [7].

$$X = 0,45 \times OD_{750} + 0,006; \quad R^2 = 0,998 \quad (2)$$

Giá trị tốc độ tăng trưởng riêng (µ, ngày⁻¹) được xác định từ sự thay đổi sinh khối theo thời gian theo công thức (3).

$$\mu = \frac{\ln \frac{X_2}{X_1}}{t_2 - t_1} \quad (3)$$

Trong đó, X₁ và X₂: nồng độ sinh khối khô (g/L) của vi khuẩn lam được ghi nhận tại hai thời điểm t₁ và t₂ của giai đoạn theo dõi; t₁ và t₂ được tính theo đơn vị ngày.

2.2.2.3. Phương pháp thu hồi sinh khối sau

nuôi cấy

Phương pháp keo tụ – lắng sử dụng chitosan (0,05 g/L) ở pH = 6 được áp dụng để thu nhận sinh khối sau nuôi cấy. Sau giai đoạn keo tụ, huyền phù được để yên trong điều kiện tự nhiên nhằm tạo điều kiện cho các bông sinh khối lắng xuống đáy. Phần sinh khối lắng được tách và tiếp tục cô đặc bằng ly tâm ở tốc độ 5.000 vòng/phút trong 5 phút để được sinh khối dạng nhão.

Sau thu hồi, sinh khối được dàn đều trên giấy thực phẩm trong khay thép không gỉ 304 và tiến hành sấy ở 40°C đến khi khối lượng không còn biến động. Mẫu sau khi làm khô được nghiền thành dạng bột mịn bằng máy nghiền, bảo đảm tính đồng nhất của vật liệu. Cuối cùng, bột S. salina M8 được đóng gói trong bao bì kín và bảo quản ở nhiệt độ dưới 4°C cho các thí nghiệm phân tích và thu hồi PHB tiếp theo.

2.2.2.4. Phương pháp phân tích hàm lượng PHB trong sinh khối

Sinh khối khô sau thu hoạch được nghiền mịn và phân tán trong methanol, sau đó bảo quản ở 4°C qua đêm nhằm loại bỏ các sắc tố nội bào. Hỗn hợp được ly tâm ở tốc độ 4.000 vòng/phút để tách phần dịch nổi, phần cặn tiếp tục được sấy ở 60°C đến khi khối lượng ổn định. Quá trình chiết PHB được thực hiện bằng chloroform nóng, tiếp theo là kết tủa polymer bằng dietyl ete lạnh. Huyền phù sau xử lý được ly tâm ở tốc độ 11.000 vòng/phút trong 10 phút, phần cặn thu được sau ly tâm được sử dụng làm nguồn vật liệu chứa PHB cho các bước tinh sạch tiếp theo. PHB thô được tinh sạch bằng cách rửa với acetone, hòa tan trong chloroform nóng và tái kết tủa bằng dietyl ete lạnh nhằm nâng cao độ tinh khiết của sản phẩm. Quy trình này được lặp lại 2-3 lần kết hợp với ly tâm ở 11.000 vòng/phút nhằm loại bỏ tối đa tạp chất còn lại. Sản phẩm PHB tinh sạch cuối cùng được sấy chân không ở 60°C đến khối lượng không đổi và bảo quản trong lọ thủy tinh kín ở nhiệt độ dưới 4°C cho các phân tích tiếp theo. Hàm lượng PHB được xác định bằng kỹ thuật sắc ký khí ghép đầu dò ion hóa ngọn lửa (GC-FID). Một lượng mẫu xác định được cho vào lọ thủy tinh 12 mL, sau đó mẫu được

xử lý với 2 mL chloroform và 2 mL methanol chứa 3% H₂SO₄ (v/v); axit benzoic ở nồng độ 0,25 mg/mL được sử dụng như chất chuẩn nội để hiệu chỉnh quá trình định lượng. Sau khi được đóng kín bằng nắp lót Teflon, các mẫu phản ứng được đồng nhất và xử lý methanol hóa ở 100°C trong thời gian 3,5 giờ. Khi phản ứng hoàn tất, mẫu được làm nguội đến nhiệt độ môi trường và bổ sung 1 mL nước khử ion để hỗ trợ quá trình tách pha. Tiếp theo, hỗn hợp được khuấy trộn bằng vortex trong 30 giây rồi để lắng đến khi xuất hiện hai lớp pha rõ rệt. Phần pha hữu cơ được thu nhận và sử dụng cho phân tích GC-FID trên thiết bị Agilent 8890 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, Hoa Kỳ) được lắp đặt cột HP-5 nhằm xác định hàm lượng PHB trong mẫu. Chương trình nhiệt của cột sắc ký được thiết lập như sau: giữ ở 160°C trong 4 phút, tăng đến 200°C và duy trì trong 4 phút, sau đó tiếp tục tăng đến 275°C và giữ trong 6 phút. Muối natri của axit DL-3-hydroxybutyric được sử dụng làm chất chuẩn để thiết lập mối quan hệ giữa tín hiệu sắc ký và lượng PHB. Kết quả được biểu diễn dưới dạng tỷ lệ phần trăm PHB trên sinh khối khô, xác định từ lượng polymer thu hồi so với khối lượng sinh khối ban đầu của mẫu [7, 11].

Hàm lượng PHB được tính toán dựa trên phương trình (4)

$$A_{\text{PHB}} = \frac{C_{\text{PHB}} \times V}{m} \quad (4)$$

Trong đó: A_{PHB} đại diện cho hàm lượng PHB trên đơn vị sinh khối khô (mg/g hoặc %); C_{PHB} là nồng độ PHB trong dịch chiết (mg/mL); V tương ứng với thể tích dịch chiết thu được (mL); còn m là khối lượng khô của mẫu sinh khối (g).

Cấu trúc hóa học của PHB được khảo sát bằng phương pháp FT-IR trên hệ thống quang phổ hồng ngoại biến đổi Fourier (Anh) [12].

2.2.3. Phương pháp xử lý và đánh giá số liệu thực nghiệm

Các thí nghiệm được thực hiện với ba lần lặp lại độc lập (n = 3). Kết quả được trình bày dưới dạng giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn (Mean ± SD) và được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel 2016.

Các chỉ tiêu phản ánh hiệu quả của quá trình phát triển tế bào, mức độ tích lũy polymer sinh học và khả năng cải thiện chất lượng nước thải của *S. salina* M8 được theo dõi dưới các chế độ nuôi khác nhau nhằm nhận diện những yếu tố có ảnh hưởng đáng kể đến hoạt động sinh học của chủng, các số liệu thực nghiệm được phân tích bằng phương pháp phân tích phương sai một nhân tố (One-way ANOVA). Trong nghiên cứu này, các yếu tố môi trường gồm trạng thái nước thải (xử lý UV và nước thải thô), phương thức sục khí/khuấy trộn và mức chiếu sáng được khảo sát riêng rẽ theo phương pháp thay đổi từng yếu tố độc lập, các điều kiện vận hành không được lựa chọn làm biến khảo sát được duy trì ổn định trong toàn bộ thời gian thực nghiệm. Do các thí nghiệm được thiết kế theo từng biến khảo sát riêng biệt, việc phân tích thống kê được tiến hành độc lập cho từng bộ dữ liệu. Phân tích ANOVA được sử dụng nhằm đánh giá sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức, từ đó xác định mức độ chi phối của từng thông số đối với sự gia tăng sinh khối, khả năng hình thành PHB và hiệu suất cải thiện chất lượng nước. Sự khác biệt được xem là có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

3. Kết quả nghiên cứu và thảo luận

3.1. Đánh giá sinh trưởng của *S.salina* M8 dưới các điều kiện nuôi cấy khác nhau

Dữ liệu tại Hình 5 cho thấy chủng nghiên cứu thích nghi tốt với cả hai môi trường nước thải được sử dụng trong nghiên cứu, bao gồm mẫu đã qua xử lý bằng tia UV và mẫu nước thải thô. Tuy nhiên, sự gia tăng sinh khối diễn ra mạnh hơn ở nghiệm thức sử dụng nước thải thô. Từ ngày nuôi thứ hai, sự khác biệt về mức độ tăng trưởng giữa hai nghiệm thức đã bắt đầu được ghi nhận và tiếp tục gia tăng trong các ngày tiếp theo. Đến cuối chu kỳ nuôi cấy, mật độ quang của chủng trong nước thải thô đạt 4,35, sinh khối đạt 1,97 g/L, trong khi các giá trị này ở nghiệm thức xử lý UV lần lượt là 3,82 và 1,79 g/L (Hình 6). Kết quả chỉ ra rằng sự hiện diện của quần xã vi sinh vật bản địa không ảnh hưởng bất lợi đến sự phát triển của *S. salina* M8, mà có thể góp phần hỗ trợ quá trình sinh trưởng của chủng.

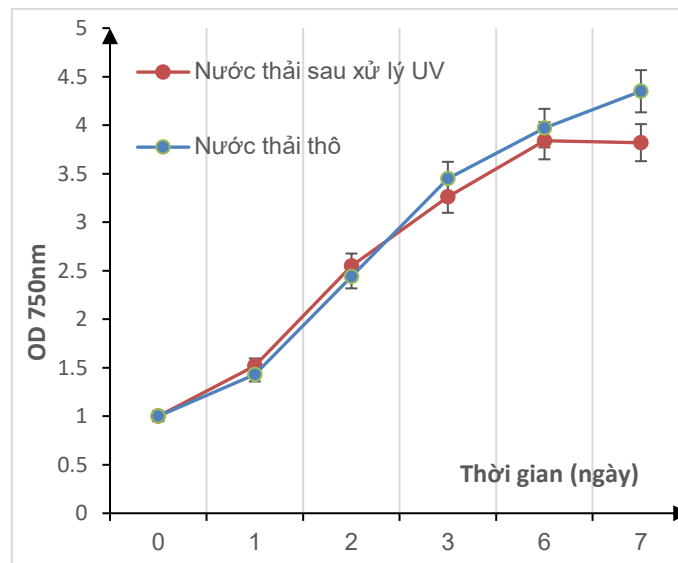
Sự khác biệt về mức độ tích lũy sinh khối giữa các nghiệm thức có thể liên quan đến các quá trình diễn ra giữa chủng nghiên cứu và quần xã vi sinh vật bản địa trong môi trường nước thải. Hoạt động của cộng đồng vi sinh vật sẵn có có khả năng thúc đẩy quá trình chuyển hóa vật chất và tái tạo nguồn dinh dưỡng dễ hấp thu, qua đó tạo điều kiện thích nghi cho sự phát triển của *S. salina* M8 trong suốt thời gian nuôi cấy. Tuy nhiên, sự cộng hưởng sinh học cụ thể giữa *S. salina* M8 và các nhóm vi sinh vật khác chưa được đánh giá trong nghiên cứu này và cần được làm rõ trong các nghiên cứu tiếp theo.

Kết quả nghiên cứu có sự tương đồng với một số công bố trước đây về vai trò của quần xã vi sinh vật trong hệ nuôi cấy vi khuẩn lam. Rueda và cộng sự (2022) chỉ ra rằng sự khác biệt về mức độ tích lũy PHB ở vi khuẩn lam có thể bắt nguồn từ đặc điểm của hệ vi sinh vật đi kèm cùng với tính chất và khả năng chuyển hóa nguồn dinh dưỡng trong môi trường nuôi, với năng suất PHB cao nhất đạt 15,7 mg/L/ngày trong điều kiện bán vô trùng [13]. Trong khi đó, sinh khối thu được trong nghiên cứu này đạt 1,97 g/L, vượt mức đã được ghi nhận đối với *Synechocystis* sp. trong hệ quang sinh học thực tế ở quy mô 200 L của Troschl và cộng sự (2018) chỉ ghi nhận khoảng 1,0 g/L cùng mức tích lũy PHB 12,5% khối lượng khô tế bào [14]. Kết quả nghiên cứu gợi ý rằng *S. salina* M8 có khả năng phát triển ổn định khi sử dụng nước thải đô thị làm cơ chất nuôi cấy, đồng thời thích ứng tốt với các điều kiện thực tế.

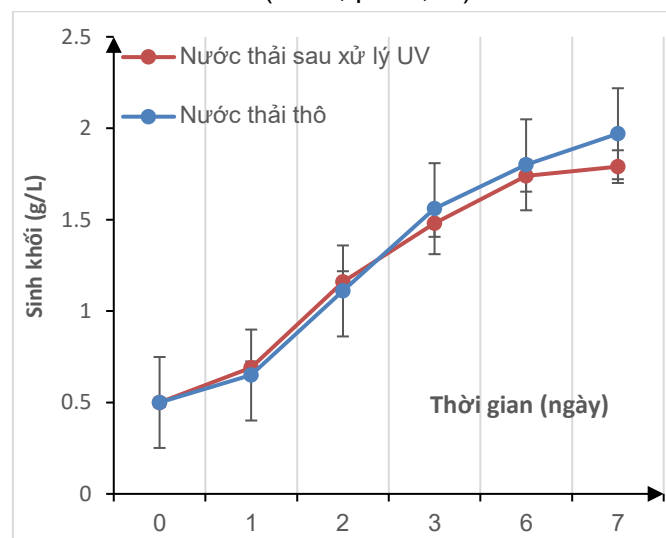
Dữ liệu thực nghiệm phản ánh khả năng phát triển thuận lợi của chủng nghiên cứu trong điều kiện nước thải thô. Việc chủng phát triển thuận lợi dưới điều kiện tồn tại đồng thời nhiều nhóm vi sinh vật tự nhiên khẳng định tiềm năng thích nghi với môi trường nước thải thực tế và khả năng vận hành trong các hệ nuôi không vô trùng. Việc duy trì tăng trưởng tốt trong điều kiện này gợi ý rằng triển vọng giảm hoặc loại bỏ công đoạn xử lý UV nước thải trước nuôi cấy, góp phần giảm chi phí vận hành. Đồng thời, khả năng đồng thời tham gia loại bỏ các thành phần ô nhiễm và tạo ra nguồn nguyên

liệu sinh học từ *S. salina* M8 gợi ý triển vọng phát triển các quy trình sinh học tích hợp, trong đó mục tiêu xử lý môi trường được kết hợp với việc khai thác các hợp chất có giá trị từ sinh khối thu được.

Tuy nhiên, các kết quả này mới được đánh giá ở quy mô phòng thí nghiệm và cần được tiếp tục kiểm chứng ở quy pilot cũng như trong điều kiện vận hành thực tế.



Hình 5. Biến động giá trị OD₇₅₀ của chủng nghiên cứu trong hai điều kiện nước thải có và không xử lý UV (n = 3, p < 0,05).



Hình 6. Biến động nồng độ sinh khối của chủng nghiên cứu trong hai điều kiện nước thải có và không xử lý UV (n = 3, p < 0,05)

3.2. Sinh trưởng của *S. salina* M8 trong các phương thức khuấy trộn khác nhau

Sự khác biệt giữa các nghiệm thức về phương thức khuấy và trạng thái nước thải đã dẫn đến những biến động đáng kể trong khả năng phát triển của *S. salina* M8 (Bảng 1 và Hình 7). Việc thay đổi các điều kiện vận hành này có thể ảnh hưởng đến sự đồng nhất của môi trường nuôi, mức độ tiếp xúc của tế bào với ánh sáng, khả năng khai thác

nguồn dinh dưỡng cũng như hiệu quả trao đổi khí, qua đó quyết định mức độ tích lũy sinh khối của chủng.

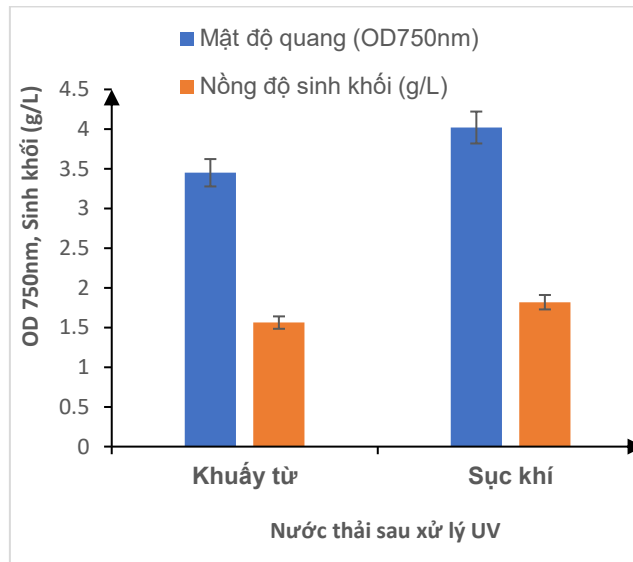
Trong các điều kiện khảo sát, phương thức sục khí cưỡng bức (0,1 vvm) cho hiệu quả sinh trưởng cao hơn so với khuấy từ (150 vòng/phút) ở cả hai trạng thái nước thải (Hình 8). Sau 7 ngày nuôi cấy, giá trị OD₇₅₀ của các nghiệm thức sục khí đạt lần lượt 4,02 và 4,53 trong nước thải xử lý UV

và nước thải thô, tương ứng với sinh khối 1,82 g/L và 2,05 g/L. Trong khi đó, ở các nghiệm thức khuấy từ, OD₇₅₀ chỉ đạt 3,45–3,75 và sinh khối đạt 1,56–1,69 g/L. Mức tăng trưởng vượt trội ghi nhận ở nghiệm thức sục khí cho thấy phương thức này đã cải thiện môi trường nuôi theo hướng thuận lợi hơn cho hoạt động sinh lý của *S. salina* M8, qua đó góp phần gia tăng khả năng tích lũy sinh khối thông qua việc tăng cường trao đổi khí, cung cấp nguồn carbon vô cơ cho quang hợp và duy trì sự phân bố đồng đều của tế bào và dinh dưỡng trong môi trường nuôi cấy.

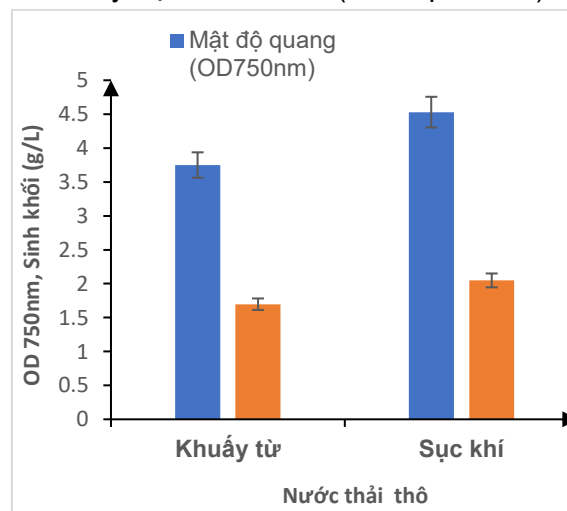
Bên cạnh đó, các nghiệm thức sử dụng nước thải không xử lý UV (nước thải thô) ghi nhận sinh

trưởng cao hơn so với nước thải xử lý UV. Sự khác biệt này có thể liên quan đến đặc tính sinh học của môi trường nước thải và cộng đồng vi sinh vật tự nhiên trong môi trường. Tuy nhiên, do nghiên cứu chưa đánh giá thành phần quần xã vi sinh vật và các cơ chế tương tác liên quan, nguyên nhân cụ thể cần được làm rõ trong các nghiên cứu tiếp theo.

Nhìn chung, mức sinh khối cao ghi nhận ở nghiệm thức sử dụng nước thải thô kết hợp sục khí chứng tỏ đây là điều kiện giúp *S. salina* M8 khai thác hiệu quả nguồn tài nguyên sẵn có trong môi trường, từ đó duy trì quá trình phát triển tế bào ở mức thuận lợi [15].



Hình 7. Biến động sinh khối của chủng nghiên cứu trong nước thải sau xử lý UV ở các phương thức khuấy trộn khác nhau (n = 3, p < 0,05)



Hình 8. Biến động sinh khối của chủng nghiên cứu trong nước thải thô ở các phương thức khuấy trộn khác nhau (n = 3, p < 0,05)

Bảng 1. Ảnh hưởng của môi trường nuôi và phương thức khuấy trộn đến tăng trưởng của *S. salina* M8 (n = 3, p < 0,05).

Điều kiện môi trường Chế độ khuấy trộn	Nước thải sau xử lý UV		Nước thải thô	
	Mật độ quang (OD ₇₅₀)	Nồng độ sinh khối (g/L)	Mật độ quang (OD ₇₅₀)	Nồng độ sinh khối (g/L)
Khuấy từ	3,45 ± 0,13	1,56 ± 0,14	3,75 ± 0,16	1,69 ± 0,21
Sục khí	4,02 ± 0,41	1,83 ± 0,11	4,53 ± 0,06	2,05 ± 0,15

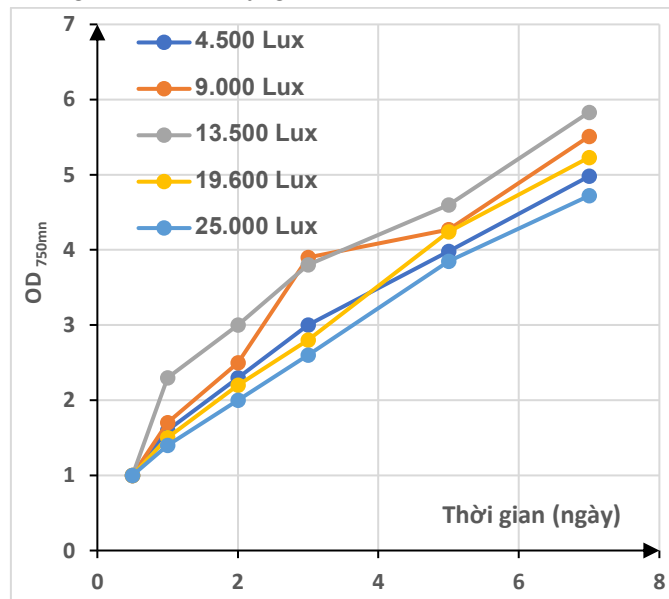
3.3. Sự thay đổi các đặc trưng tăng trưởng, hình thành sinh khối và xử lý nước thải của *S. salina* M8 theo mức độ chiếu sáng

3.3.1. Sự thay đổi về tăng trưởng của *S. salina* M8 theo mức độ chiếu sáng

Sự thay đổi về mức độ chiếu sáng có thể chi phối đáng kể hiệu quả hoạt động của chủng nghiên cứu khi nuôi cấy trên nền nước thải đô thị. Khi được cung cấp điều kiện quang học phù hợp, chủng có khả năng khai thác năng lượng hiệu quả hơn cho quá trình phát triển tế bào, đồng thời tăng cường thu nhận các dạng dinh dưỡng hòa tan như nitrogen và phosphorus. Những biến đổi này góp

phần cải thiện các chỉ tiêu chất lượng nước và thúc đẩy sự tích lũy oxy trong môi trường nuôi cấy.

Tuy nhiên, khi mức ánh sáng lớn hơn ngưỡng thích hợp, quá trình quang hợp có thể bị ức chế, dẫn đến suy giảm hiệu quả xử lý các chất ô nhiễm. Trên cơ sở đó, nghiên cứu được triển khai với 5 mức chiếu sáng khác nhau nhằm đánh giá ảnh hưởng của ánh sáng đến quá trình sinh trưởng và khả năng loại bỏ chất ô nhiễm của chủng nghiên cứu dưới các mức chiếu sáng khác nhau. Các điều kiện vận hành gồm pH = 7, nhiệt độ 25°C, tỷ lệ C/N/P = 100:10:1, nồng độ giống 0,5 g/L, sục khí 0,1 vvm.



Hình 9. Biến động giá trị OD₇₅₀ của chủng nghiên cứu dưới các mức chiếu sáng khác nhau (n = 3, p < 0,05).

Cường độ ánh sáng là một trong những yếu tố chi phối đáng kể sinh trưởng của *S. salina* M8 trong môi trường nước thải, được phản ánh qua sự biến đổi OD₇₅₀ trong quá trình nuôi cấy. Trong giai đoạn đầu nuôi cấy (0–2 ngày), tốc độ sinh trưởng của *S. salina* M8 còn tương đối thấp và sự khác biệt giữa các nghiệm thức chưa thể hiện rõ.

Tuy nhiên, tại các mức chiếu sáng trung bình (9.000–13.500 Lux), giá trị OD₇₅₀ có xu hướng cao hơn so với các nghiệm thức còn lại, cho thấy điều kiện ánh sáng này có thể tạo thuận lợi cho sự thích nghi và phát triển ban đầu của chủng.

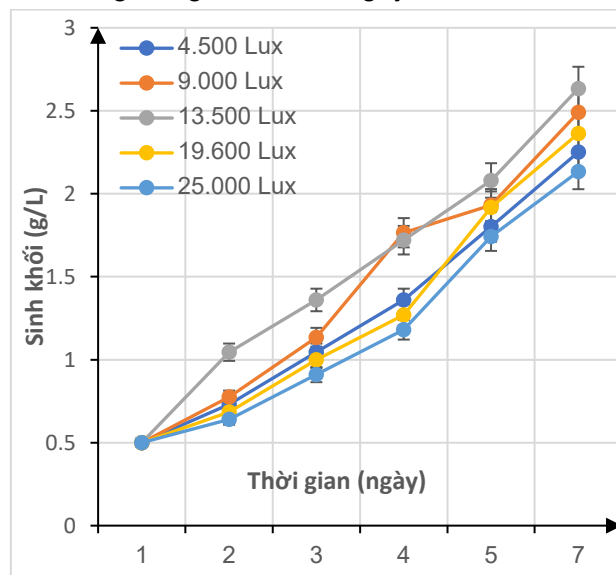
Từ ngày thứ 3 trở đi, sự phân hóa giữa các nghiệm thức trở nên rõ rệt khi tế bào bước vào pha

sinh trưởng lũy thừa. Ở giai đoạn này, hai mức ánh sáng 9.000 và 13.500 Lux tiếp tục phản ánh mức tăng trưởng cao hơn so với các nghiệm thức còn lại, trong khi cường độ ánh sáng thấp (4.500 Lux) và cao (≥ 19.600 Lux) cho sinh trưởng kém hơn. Sau 7 ngày nuôi cấy, OD₇₅₀ đạt giá trị cao nhất tại 13.500 Lux (5,83), tiếp theo là 9000 Lux (5,51), trong khi các nghiệm thức 19.600, 4.500 và 25.000 Lux lần lượt đạt 5,23; 4,98 và 4,72. Kết quả ghi nhận khoảng cường độ chiếu sáng thích hợp cho sinh trưởng của chủng nghiên cứu là 9.000–13.500 Lux, trong đó 13.500 Lux cho hiệu quả cao nhất.

Về mặt sinh lý, ánh sáng là nguồn năng lượng trực tiếp cho quá trình quang hợp, tham gia hình thành ATP và NADPH phục vụ cố định CO₂ và tổng hợp sinh khối. Ở cường độ thấp, hiệu suất quang hợp bị hạn chế do thiếu năng lượng; trong khi ở mức thích hợp, quá trình hấp thụ và chuyển hóa năng lượng diễn ra hiệu quả hơn, thúc đẩy sinh trưởng của tế bào. Việc tiếp xúc với điều kiện chiếu sáng quá mạnh có thể gây áp lực lên hệ thống quang hợp của *S. salina* M8, làm giảm hiệu quả sử dụng năng lượng ánh sáng và kéo theo sự suy giảm về khả năng tăng trưởng của chủng.

Những thay đổi về sinh trưởng và tích lũy vật chất nội bào của *S. salina* M8 tương đồng với xu

hướng đã được công bố trên nhiều chủng vi khuẩn lam khác nhau, khi chế độ chiếu sáng đóng vai trò quyết định đến hiệu quả chuyển hóa và phân bổ nguồn carbon trong tế bào. Theo kết quả được công bố bởi Gracioso và cộng sự (2021), cường độ ánh sáng cao sẽ làm thay đổi dòng chuyển hóa carbon theo hướng ưu tiên hình thành sinh khối tế bào thay vì tích lũy nhựa sinh học ở chủng *Synechocystis* có nguồn gốc từ hệ sinh thái rừng ngập mặn. Tuy nhiên, dưới điều kiện ánh sáng quá mạnh, hiệu quả phát triển tế bào và khả năng tạo sản phẩm dự trữ có thể bị hạn chế [5, 16]. Theo Rueda và cộng sự (2022), sự gia tăng nguồn năng lượng ánh sáng đã làm tăng sản lượng PHB tính trên đơn vị thể tích môi trường ở *Synechocystis* sp. Tuy nhiên, mức độ phân bổ carbon vào polymer dự trữ này trong sinh khối tế bào không có sự khác biệt đáng kể giữa các điều kiện chiếu sáng khảo sát [17]. Các số liệu thu được phản ánh mức độ chiếu sáng là một trong những yếu tố chi phối đáng kể đến khả năng phát triển của *S. salina* M8. Những kết quả này đồng thời cung cấp thông tin tham khảo quan trọng cho quá trình thiết kế và tối ưu hóa điều kiện vận hành của các hệ nuôi vi khuẩn lam ứng dụng trong cải thiện chất lượng nước và tạo nguồn nguyên liệu sinh học từ sinh khối.



Hình 10. Biến thiên nồng độ sinh khối của chủng nghiên cứu dưới các mức chiếu sáng khác nhau (n = 3, p < 0,05)

Xu hướng tích lũy sinh khối được thể hiện ở Hình 10 phản ánh sự phụ thuộc của quá trình phát

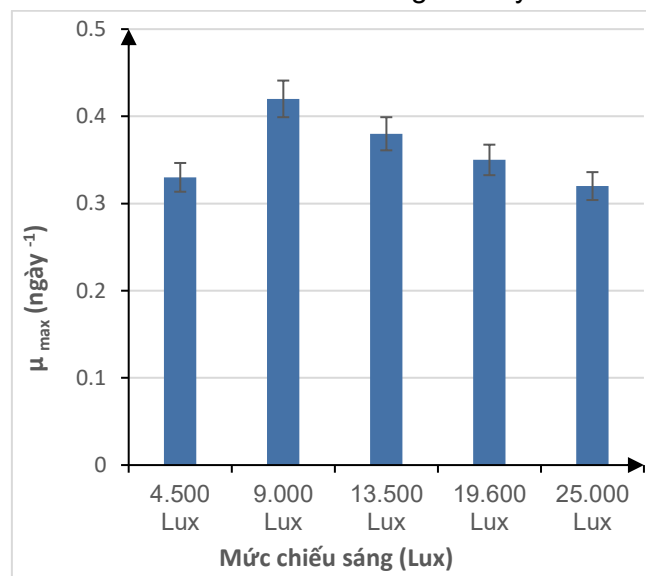
triển tế bào vào điều kiện quang học và thời gian nuôi. Sự khác biệt giữa các nghiệm thức chỉ ra

ràng khả năng tạo sinh khối của chủng chịu tác động đáng kể từ nguồn năng lượng ánh sáng cung cấp trong suốt thời gian thí nghiệm. Trong hai ngày đầu nuôi cấy, sinh khối tăng ở mức thấp (0,64–1,36 g/L), bên cạnh đó chưa xuất hiện sự khác biệt có ý nghĩa giữa các nghiệm thức, phản ánh giai đoạn thích nghi của tế bào với môi trường nước thải. Tuy nhiên, từ giai đoạn này, nghiệm thức 13.500 Lux đã cho xu hướng sinh trưởng cao hơn so với các nghiệm thức còn lại, cho thấy khả năng khởi động sinh trưởng tốt hơn so với các mức ánh sáng khác.

Từ ngày thứ 3 trở đi, sự phân hóa trở nên rõ rệt khi quần thể bước vào pha sinh trưởng lũy thừa. Dưới điều kiện chiếu sáng 13.500 Lux, sinh khối tiếp tục tăng và đạt giá trị cao nhất sau 7 ngày nuôi cấy (2,63 g/L), tiếp theo là 9.000 Lux (2,49 g/L) và 4.500 Lux (2,26 g/L).

Ngược lại, ở các mức ánh sáng cao hơn (19.600–25.000 Lux), sinh khối giảm xuống còn 2,36 và 2,13 g/L, hiệu quả sinh trưởng không tăng tuyến tính theo cường độ chiếu sáng. Khi mức chiếu sáng được nâng lên, giá trị μ_{max} của chủng nghiên cứu cũng tăng tương ứng và đạt cực đại 0,42 ngày⁻¹ tại 13.500 Lux.

Sự khác biệt về giá trị μ_{max} giữa các nghiệm thức chiếu sáng được xác nhận bằng phân tích ANOVA với mức ý nghĩa thống kê $p < 0,05$. Sau khi đạt mức chiếu sáng phù hợp, tốc độ tăng trưởng của *S. salina* M8 giảm dần khi mức độ chiếu sáng được tăng lên, chỉ còn khoảng 0,32 ngày⁻¹ ở dải 19.600–25.000 Lux. Kết quả này cho thấy mức chiếu sáng quá cao có thể gây tác động bất lợi đến các quá trình sinh lý tế bào, dẫn đến suy giảm khả năng tích lũy sinh khối (Hình 11).



Hình 11. Biến động tốc độ sinh trưởng riêng cực đại trong môi trường nước thải dưới các mức ánh sáng khác nhau ($n = 3$)

Kết quả nghiên cứu chỉ ra rằng mức chiếu sáng có ảnh hưởng rõ rệt đến quá trình phát triển của chủng nghiên cứu, trong đó 13.500 Lux là điều kiện thích hợp cho phát triển sinh khối. Ngược lại, ở các mức ánh sáng thấp hơn hoặc cao hơn, sinh trưởng của *S. salina* M8 có xu hướng giảm. Kết quả này cho thấy ánh sáng là yếu tố giữ vai trò chủ đạo đến hoạt động sinh trưởng của vi khuẩn lam và mỗi chủng có một khoảng cường độ ánh sáng phù hợp để phát triển hiệu quả. Ở các mức ánh sáng cao (≥ 19.600 Lux), sự suy giảm sinh trưởng

có thể liên quan đến ảnh hưởng bất lợi của cường độ ánh sáng cao đối với hoạt động quang hợp của tế bào, từ đó làm giảm khả năng hình thành sinh khối. Kết quả nghiên cứu phù hợp với các tài liệu đã công bố về vi khuẩn lam và vi tảo, cho thấy hiệu quả sinh trưởng thường đạt giá trị cao ở mức ánh sáng trung bình và giảm khi cường độ chiếu sáng vượt ngưỡng thích nghi của tế bào [5, 17].

Các kết quả ghi nhận mức chiếu sáng 13.500 Lux là mức chiếu sáng cho hiệu quả sinh trưởng cao nhất của chủng nghiên cứu. Dữ liệu này là cơ

sở cho các nghiên cứu tiếp theo về tận dụng khả năng sinh trưởng của vi khuẩn lam để xử lý các thành phần ô nhiễm và tạo sản phẩm sinh học.

3.3.2. Hiệu quả loại bỏ chất ô nhiễm trong nước thải của *S. salina* M8

Trong các nghiệm thức được khảo sát, mức ánh sáng 13.500 Lux thích hợp nhất đối với sự phát triển của *S. salina* M8 trong điều kiện nuôi cấy với tỷ lệ C/N/P = 100:10:1, pH trung tính (7) và nhiệt độ 25°C. Tại nghiệm thức này, chủng không chỉ đạt tốc độ phát triển và lượng sinh khối cao mà còn thể hiện hiệu quả loại bỏ các chất ô nhiễm đặc trưng của nước thải đô thị, phản ánh mối liên hệ giữa khả năng tăng trưởng và hiệu suất xử lý môi trường, với hiệu suất loại bỏ N-NH₄⁺, tổng nitrogen

(T-N), P-PO₄³⁻, tổng phosphorus (T-P) và COD lần lượt đạt 87,4%; 87,1%; 83,8%; 85,1% và 83,5%. Sự suy giảm các hợp chất nitrogen và phosphorus cho thấy sự hấp thu và đồng hóa các chất dinh dưỡng của *S. salina* M8 trong quá trình sinh trưởng. Sự giảm COD cho thấy các hợp chất hữu cơ trong nước thải đã được loại bỏ hoặc chuyển hóa trong quá trình nuôi cấy, có thể liên quan đến hoạt động của tảo lam và các vi sinh vật bản địa trong nước thải.

Khả năng đồng thời xử lý nước thải đồng thời thu nhận các sản phẩm sinh học mang giá trị gia tăng, cho thấy triển vọng ứng dụng của *S. salina* M8 trong các mô hình công nghệ tuần hoàn (Bảng 2).

Bảng 2. Hiệu quả loại bỏ chất ô nhiễm trong nước thải của *S. salina* M8 (n = 3, p < 0,05)

Mức chiếu sáng 13.500 Lux	N-NH ₄ ⁺	T-N	P-PO ₄ ³⁻	T-P	COD
Nước thải đầu vào	38,3 ± 0,24	41,9 ± 0,41	5,26 ± 0,13	6,18 ± 0,32	395 ± 2,6
Nước thải đầu ra	4,83 ± 0,19	5,42 ± 0,21	0,85 ± 0,21	0,92 ± 0,35	65 ± 0,6
QCVN 14:2025/BTNMT (Bảng 1, 2.000 ≤ F ≤ 20.000, Cột B)	≤ 8,0	≤ 30	-	≤ 5	≤ 80
Hiệu suất (%)	87,4	87,1	83,8	85,1	83,5

Hiệu suất xử lý đạt được cho thấy các điều kiện nuôi cấy được áp dụng trong nghiên cứu đáp ứng tốt nhu cầu sinh trưởng và chuyển hóa của *S. salina* M8. Mức chiếu sáng 13.500 Lux cung cấp năng lượng cần thiết cho quang hợp, tỷ lệ dinh dưỡng C/N/P = 100:10:1 góp phần duy trì hoạt động trao đổi chất và phát triển quần thể tế bào, trong khi sục khí 0,1 vvm giúp tăng cường trao đổi khí trong hệ thống.

Đồng thời, pH = 7 và nhiệt độ 25°C được duy trì ổn định trong suốt quá trình nuôi cấy, góp phần tạo điều kiện thuận lợi cho sự sinh trưởng và chuyển hóa của tế bào, từ đó góp phần nâng cao hiệu quả loại bỏ các chất ô nhiễm trong nước thải. So sánh với các công bố trước đây cho thấy kết quả nghiên cứu có sự tương đồng với các báo cáo trước đây, theo Krasaesueb và cộng sự (2019), *Synechocystis* sp. thể hiện khả năng hấp thu và tăng hiệu quả sử dụng các nguồn nitrogen và

phosphorus vô cơ trong quá trình chuyển hóa sinh học. Trong khi đó, kết quả thu được ở nghiên cứu hiện tại cho thấy *S. salina* M8 vẫn đạt hiệu suất cải thiện chất lượng nước ở mức cao đối với COD cùng các hợp chất dinh dưỡng chứa nitrogen và phosphorus, mặc dù được nuôi cấy trực tiếp trong nước thải chưa qua xử lý, cho thấy khả năng phát triển trong môi trường vi sinh vật hỗn hợp và là cơ sở cho các nghiên cứu tiếp tục đánh giá ở quy mô pilot và điều kiện vận hành thực tế [18].

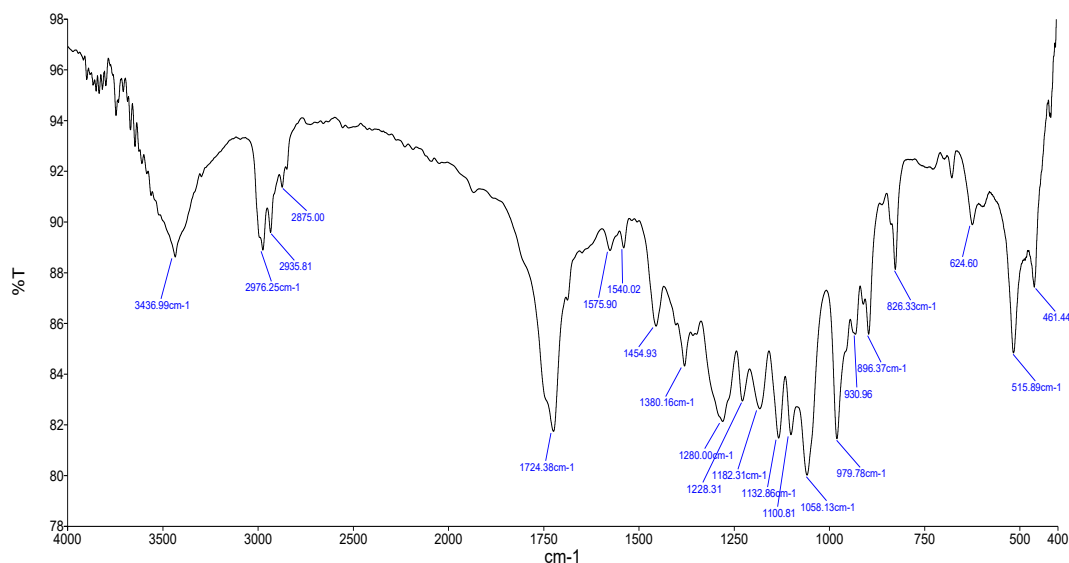
Các thông số khảo sát về chất lượng nước đầu ra đều bảo đảm yêu cầu theo QCVN 14:2025/BTNMT (Bảng 1, 2.000 ≤ F ≤ 20.000, Cột B), chứng tỏ *S. salina* M8 góp phần cải thiện chất lượng nước trong phạm vi các chỉ tiêu đánh giá. Việc đồng thời thu được hiệu quả loại bỏ các thành phần ô nhiễm và nguồn sinh khối chứa polymer sinh học cho thấy tiềm năng phát triển các mô hình công nghệ sinh học tuần hoàn, trong đó chất ô

nhiệm được chuyển hóa thành các sản phẩm có giá trị sử dụng.

3.4. Đánh giá hàm lượng và đặc tính của PHB trong sinh khối *S. salina* M8

Sau khi kết thúc quá trình nuôi cấy, sinh khối *S. salina* M8 được tách khỏi môi trường bằng phương pháp ly tâm, làm khô và nghiền thành bột mịn trước khi tiến hành chiết tách và tinh sạch PHB. Phân tích phổ hồng ngoại biến đổi Fourier (FT-IR) của mẫu thu hồi (Hình 12) cho thấy nhiều dải hấp thụ đặc trưng tương ứng với các nhóm chức điển hình của PHB, cho thấy sản phẩm thu được có các đặc trưng phù hợp với PHB. Hai tín hiệu có cường độ nổi bật tại 1.724 cm^{-1} và 1.280 cm^{-1} được ghi nhận trên phổ hồng ngoại, phản ánh sự tồn tại của nhóm C=O và cầu nối este trong cấu trúc phân tử.

Các đặc điểm phổ này phù hợp với những



Hình 12. Đặc trưng Phổ FT-IR của PHB thu nhận từ *S. salina* M8

Hình 13 thể hiện kết quả định lượng polymer dự trữ PHB được hình thành trong tế bào *S. salina* M8 sau quá trình nuôi cấy và xác định bằng phương pháp sắc ký khí đầu dò ion hóa ngọn lửa (GC-FID). Thí nghiệm được tiến hành trong điều kiện nuôi cấy gồm nồng độ sinh khối giống $0,5\text{ g/L}$, pH trung tính (7), tỷ lệ dinh dưỡng C/N/P = 100:10:1, nhiệt độ 25°C và sục khí $0,1\text{ vvm}$ với 2% CO_2 trong thời gian 7 ngày. Sự thay đổi cường độ ánh sáng ảnh hưởng rõ rệt đến hàm lượng PHB của *S. salina* M8, ghi nhận rằng ánh sáng là yếu

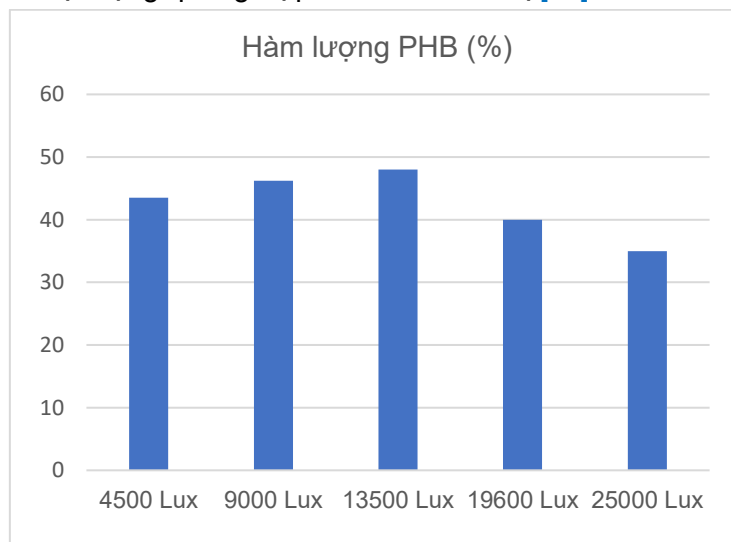
đặc trưng đã được báo cáo đối với poly(3-hydroxybutyrate). Ngoài ra, các dải hấp thụ tại 1.380 , 1.454 , $2.976\text{--}2.875$ và 3.436 cm^{-1} lần lượt đặc trưng cho các nhóm chức $-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2$, $-\text{CH}$ và $-\text{OH}$. Dải hấp thụ trong khoảng $1.132\text{--}826\text{ cm}^{-1}$ được xác định là dao động kéo dãn của các liên kết C–O và C–C trong cấu trúc PHB. Mô hình tín hiệu hồng ngoại của mẫu phân tích có nhiều điểm tương đồng với các dữ liệu tham khảo về PHB được công bố trên một số loài vi khuẩn lam, trong đó có *Spirulina subsalsa* và *Nostoc muscorum* NCCU-442, qua đó củng cố thêm cơ sở nhận diện polymer thu được [12], hỗ trợ việc xác nhận sự hiện diện của PHB trong mẫu. Đồng thời, sự xuất hiện rõ ràng của các nhóm chức đặc trưng cho thấy sản phẩm PHB thu hồi có độ tinh sạch tương đối tốt và phù hợp với đặc trưng cấu trúc của PHB đã được công bố.

tố quan trọng chi phối quá trình tích lũy vật chất dự trữ trong tế bào. Sự thay đổi mức chiếu sáng dẫn đến những khác biệt rõ rệt về khả năng hình thành PHB của *S. salina* M8. Trong số các điều kiện được khảo sát, mức chiếu sáng 13.500 Lux cho kết quả cao nhất, với hàm lượng PHB đạt $48,0 \pm 0,7\%$ sinh khối khô. Kết quả thống kê chỉ ra rằng điều kiện chiếu sáng ảnh hưởng rõ rệt đến mức độ hình thành PHB ở *S. salina* M8 (ANOVA, $p < 0,05$). Trong phạm vi khảo sát, hàm lượng PHB gia tăng theo cường độ ánh sáng và đạt mức cao nhất tại

13.500 Lux. Ở các mức ánh sáng lớn hơn 13.500 Lux, lượng PHB sản sinh trong tế bào có xu hướng giảm. Cụ thể, tại các mức ánh sáng từ 4.500–9.000 Lux, hàm lượng PHB dao động trong khoảng 43,5–46,2% khối lượng khô tế bào, trong khi ở các mức 19.600–25.000 Lux giá trị này giảm xuống còn khoảng 35,0–40,0% [7].

Như vậy, cường độ ánh sáng 13.500 Lux tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình tổng hợp và tích lũy PHB ở *S. salina* M8, với hiệu quả cao hơn so với các mức chiếu sáng còn lại trong nghiên cứu. Ngược lại, ở các mức ánh sáng cao hơn (19.600–25.000 Lux), hàm lượng PHB có xu hướng giảm, có thể liên quan đến ảnh hưởng bất lợi của cường độ ánh sáng cao đối với hoạt động quang hợp và

khả năng chuyển hóa carbon của tế bào [5, 17]. Hàm lượng PHB thu được phản ánh tiềm năng dự trữ polymer sinh học của *S. salina* M8 trong điều kiện thí nghiệm và có sự tương đồng với một số nghiên cứu đã công bố trên các chủng vi khuẩn lam khác. Chẳng hạn, hàm lượng PHB ở *Oscillatoria* sp. và *Anabaena* sp. thường chỉ đạt khoảng 8–10% khối lượng khô tế bào theo các báo cáo đã công bố [1, 12], hoặc 10–15% theo báo cáo của Panda và cộng sự (2006), chủng *S. salina* M8 cho hàm lượng PHB cao hơn so với các giá trị đã được báo cáo đối với một số chủng vi khuẩn lam khác, kết quả này phản ánh tiềm năng sản sinh PHB từ vi khuẩn lam khi được nuôi trên nền nước thải đô thị [19].



Hình 13. Ảnh hưởng của mức chiếu sáng đến hàm lượng PHB

Chủng nghiên cứu không chỉ cho hàm lượng PHB tương đối cao mà còn đạt giá trị sinh khối 2,63 g/L sau 7 ngày nuôi cấy trong nước thải đô thị. Hàm lượng PHB đạt $48,0 \pm 0,7\%$ khối lượng khô tế bào, tương ứng với năng suất khoảng 180 mg/L/ngày. Những kết quả này gợi ý rằng chủng nghiên cứu có thể tạo ra lượng PHB tương đương với các hệ nuôi trên môi trường tổng hợp, mặc dù sử dụng nguồn cơ chất có nguồn gốc từ nước thải [1, 12].

Kết quả ghi nhận nước thải đô thị không chỉ là đối tượng xử lý mà còn là nguồn cung cấp dinh dưỡng và carbon tăng trưởng tế bào và tạo PHB của chủng nghiên cứu. Đồng thời, hệ thống thể hiện khả năng tích hợp giữa loại bỏ COD, nitrogen, phosphorus và thu hồi sinh khối giàu PHB trong

cùng một quá trình nuôi cấy. Một điểm đáng chú ý là chủng nghiên cứu này vẫn đạt hiệu quả sinh trưởng và tổng hợp PHB khi nuôi cấy trực tiếp trong nước thải thô. Điều này chỉ ra rằng chủng có mức độ thích nghi cao với môi trường nuôi cấy phức tạp và có tiềm năng ứng dụng trong các công nghệ sinh học tích hợp giữa cải thiện chất lượng nước và tạo polymer sinh học. Các dải hấp thụ quan sát được trên phổ FT-IR tương đồng với các đặc trưng phổ của PHB đã được công bố, cho thấy sản phẩm thu hồi từ *S. salina* M8 mang cấu trúc hóa học đặc trưng của polymer này. Phát hiện này không chỉ xác nhận sự tạo thành polymer dự trữ trong tế bào mà còn góp phần làm rõ tiềm năng khai thác nguồn sinh học thu được trong phát triển

các vật liệu có nguồn gốc sinh học. Việc sử dụng nước thải đô thị làm nguồn dinh dưỡng cho sự phát triển của *S. salina* M8 góp phần chuyển đổi dòng thải thành nguồn tài nguyên có giá trị. Cách tiếp cận này vừa giảm sự phụ thuộc vào môi trường nuôi tổng hợp, vừa nâng cao hiệu quả khai thác các chất dinh dưỡng sẵn có, qua đó cải thiện tính kinh tế và tính bền vững của quy trình. Việc khai thác tiềm năng của vi khuẩn lam cho phép triển khai các hệ thống tích hợp giữa hấp thụ carbon vô cơ (CO₂) và tổng hợp nguồn sinh khối mang giá trị kinh tế cao, hoàn toàn tương thích với các chiến lược kinh tế tuần hoàn và phát triển xanh. Nhằm hiện thực hóa mục tiêu sản xuất bền vững, các nỗ lực nghiên cứu trong giai đoạn tới cần ưu tiên vào việc chuẩn hóa và tối ưu hóa quy trình sản xuất PHB nội bào theo hướng tiết giảm năng lượng vận hành và sử dụng các giải pháp kỹ thuật có tác động tiêu cực thấp nhất đến các hệ sinh thái tự nhiên.

4. Kết luận

Các phát hiện thực nghiệm đã chứng minh năng lực của *S. salina* M8 khi triển khai mô hình vận hành tích hợp: vừa làm sạch hiệu quả nguồn nước thải đô thị, vừa tổng hợp nguồn sinh khối chứa hàm lượng lớn polymer sinh học PHB ngay trong một hệ thống nuôi cấy duy nhất. Các điều kiện vận hành, bao gồm trạng thái nước thải, mức chiếu sáng và phương thức sục khí, ảnh hưởng rõ rệt đến sự phát triển sinh khối cùng mức độ hình thành polymer sinh học PHB và năng lực cải thiện các thông số chất lượng nước thải đô thị. Đặc biệt, chủng nghiên cứu duy trì hoạt động hiệu quả trong nước thải đô thị, khẳng định triển vọng triển khai các hệ thống biorefinery tích hợp, nơi nước thải đóng vai trò là nền tảng dinh dưỡng để đồng thời làm sạch môi trường và thu nhận nhựa sinh học PHB có giá trị gia tăng. Tuy nhiên, kết quả hiện mới được xác lập ở quy mô phòng thí nghiệm; do đó, cần tiếp tục đánh giá ở quy mô thí điểm và điều kiện thực tế, đồng thời tối ưu hóa các công đoạn thu hồi và tinh sạch PHB nhằm nâng cao hiệu quả kinh tế và tính bền vững của quy trình.

Tài liệu tham khảo

- [1] R. Afreen, S. Tyagi, G.P. Singh, M. Singh. (2021). Challenges and perspectives of polyhydroxyalkanoate production from microalgae/cyanobacteria and bacteria as microbial factories: An assessment of hybrid biological system. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9, 624885. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.624885>
- [2] S. Samantaray, N. Mallick. (2014). Production of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) co-polymer by the diazotrophic cyanobacterium *Aulosira fertilissima* CCC 444. *Journal of Applied Phycology*, 26(1), 237–245. <https://doi.org/10.1007/s10811-013-0073-9>
- [3] V. Senatore, E. Rueda, M. Bellver, R. Díez-Montero, I. Ferrer, T. Zarra, V. Naddeo, J. Garcia. (2023). Production of phycobiliproteins, bioplastics and lipids by the cyanobacteria *Synechocystis* sp. treating secondary effluent in a biorefinery approach. *Science of the Total Environment*, 857(1), 159343. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.159343>
- [4] K. Meixner, C. Daffert, D. Dalnodar, K. Mrázová, K. Hrubanová, V. Krzyzaneck, J. Nebesarova, O. Samek, Z. Šedrllová, E. Slaninová, P. Sedláček, S. Obruča, I. Fritz. (2022). Glycogen, poly(3-hydroxybutyrate) and pigment accumulation in three *Synechocystis* strains when exposed to a stepwise increasing salt stress. *Journal of Applied Phycology*, 34(3), 1227–1241. <https://doi.org/10.1007/s10811-022-02693-3>
- [5] L.H. Gracioso, A. Bellan, B. Karolski, L.O.B. Cardoso, E.A. Perpetuo, C.A.O. do Nascimento, R. Giudici, V. Pizzocchero, M. Basaglia, T. Morosinotto. (2021). Light excess stimulates poly-beta-hydroxybutyrate yield in a mangrove-isolated strain of *Synechocystis* sp. *Bioresource Technology*, 320, 124379. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.124379>
- [6] D. Kamravamanesh, S. Pflügl, W. Nischkauer, A. Limbeck, M. Lackner, C. Herwig. (2017). Photosynthetic poly-β-hydroxybutyrate accumulation in unicellular cyanobacterium

- Synechocystis sp. PCC 6714. *AMB Express*, 7(1), 143. <https://doi.org/10.1186/s13568-017-0443-9>
- [7] D.T.C. Van, N.T.P. Dung, B.T.T. Uyen, T.D. Thuan, L.T. Giang. (2026). Integrated valorization of domestic wastewater for phycoremediation and polyhydroxybutyrate (PHB) production by *Synechocystis salina* M8. *Bioresource Technology Reports*, 33, 102521. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2025.102521>
- [8] D.T. Tran, H.Y. Nguyen, T.C.V. Do, P.L. Show, T.G. Le, V.T. Nguyen. (2020). Factors affecting pollutants removal and biomass production capability of *Chlorella variabilis* TH03 in domestic wastewater. *Materials Science for Energy Technologies*, 3, 545–558. <https://doi.org/10.1016/j.mset.2020.05.003>
- [9] M.D.T. Pham, X.T. Bui, T.K.Q. Vo, T.S. Dao, L.T. Le, T.D.H. Vo, K.P.H. Huynh, T.B. Nguyen, C. Lin, C. Visvanathan. (2025). Microalgae-bacteria based wastewater treatment systems: Granulation, influence factors and pollutants removal. *Bioresource Technology*, 418, 131973. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2024.131973>
- [10] N.T.T. Thu. (2023). Nghiên cứu đặc điểm của chủng vi khuẩn chịu mặn *Salinicola* sp. TSLT21 phân lập từ Trùng Sa có khả năng sinh tổng hợp polyhydroxyalkanoate (PHA). *TNU Journal of Science and Technology*, 228(09), 292–300. <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.7468>
- [11] W. Penkhrue, D. Jendrossek, C. Khanongnuch, W. Pathom-Aree, T. Aizawa, R.L. Behrens, S. Lumyong. (2020). Response surface method for polyhydroxybutyrate (PHB) bioplastic accumulation in *Bacillus drentensis* BP17 using pineapple peel. *PLOS ONE*, 15(3), e0230443. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0230443>
- [12] S. Ansari, T. Fatma. (2016). Cyanobacterial polyhydroxybutyrate (PHB): Screening, optimization and characterization. *PLOS ONE*, 11(6), e0158168. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0158168>
- [13] E. Rueda, A. Álvarez-González, J. Vila, R. Díez-Montero, M. Grifoll, J. García. (2022). Inorganic carbon stimulates the metabolic routes related to the polyhydroxybutyrate production in a *Synechocystis* sp. strain (cyanobacteria) isolated from wastewater. *Science of the Total Environment*, 829, 154691. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.154691>
- [14] C. Troschl, K. Meixner, I. Fritz, K. Leitner, A.P. Romero, A. Kovalcik, P. Sedlacek, B. Drosig. (2018). Pilot-scale production of poly- β -hydroxybutyrate with the cyanobacterium *Synechocystis* sp. CCALA192 in a non-sterile tubular photobioreactor. *Algal Research*, 34, 116–125. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2018.07.011>
- [15] C.V.T. Do, N.T.T. Nguyen, T.D. Tran, M.H.T. Pham, T.Y.T. Pham. (2021). Capability of carbon fixation in bicarbonate-based and carbon dioxide-based systems by *Scenedesmus acuminatus* TH04. *Biochemical Engineering Journal*, 166, 107858. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2020.107858>
- [16] M. Koch, J. Bruckmoser, J. Scholl, W. Hauf, B. Rieger, K. Forchhammer. (2020). Maximizing PHB content in *Synechocystis* sp. PCC 6803: A new metabolic engineering strategy based on the regulator PirC. *Microbial Cell Factories*, 19(1), 231. <https://doi.org/10.1186/s12934-020-01491-1>
- [17] E. Rueda, J. García. (2021). Optimization of the phototrophic cyanobacteria polyhydroxybutyrate (PHB) production by kinetic model simulation. *Science of the Total Environment*, 800, 149561. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149561>
- [18] N. Krasaesueb, A. Incharoensakdi, W. Khetkorn. (2019). Utilization of shrimp wastewater for poly- β -hydroxybutyrate production by *Synechocystis* sp. PCC 6803 strain Δ SphU cultivated in photobioreactor. *Biotechnology Reports*, 23, e00345. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2019.e00345>

- [19] B. Panda, P. Jain, L. Sharma, N. Mallick. (2006). Optimization of cultural and nutritional conditions for accumulation of poly- β -hydroxybutyrate in *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Bioresource Technology*, 97(11), 1296–1301.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2005.05.013>