

TRƯƠNG VĂN LUNG

CÔNG NGHỆ SINH HỌC MỘT SỐ LOÀI TẢO KINH TẾ



NHÀ XUẤT BẢN KHOA HỌC VÀ KỸ THUẬT



PGS. TS. Trương Văn Lung

CÔNG NGHỆ SINH HỌC MỘT SỐ LOÀI TẠO KINH TẾ



NHÀ XUẤT BẢN KHOA HỌC VÀ KỸ THUẬT
HÀ NỘI, 2004

LỜI NÓI ĐẦU

Thực hiện đề tài nghiên cứu cơ bản trong khoa học sự sống, trong nhiều năm qua chúng tôi đã thu được những kết quả trong nghiên cứu điều tra cơ bản và thực nghiệm nuôi trồng một số loài tảo. Trong cuốn chuyên khảo này, chúng tôi giới thiệu một số loài tảo tiêu biểu có giá trị kinh tế và giá trị sử dụng công nghiệp, góp phần với các nhà khoa học nghiên cứu và áp dụng công nghệ nuôi trồng chế biến các loài tảo này ở khu vực miền Trung Việt Nam.

Cuốn sách cũng giới thiệu với các cán bộ nghiên cứu khoa học, cán bộ giảng dạy sinh học, học viên cao học và sinh viên các trường Đại học liên quan tiếp cận một số vấn đề về tảo. Cuốn sách chuyên khảo này đã được viết vào năm 1996 và được Hội đồng Đào tạo Trường Đại học Khoa học Huế xét duyệt và được in để in lưu hành nội bộ. Từ các kết quả nghiên cứu tảo trong mấy năm gần đây, chúng tôi đã viết lại và bổ sung thêm nhiều dẫn liệu mới so với năm 1996.

Tuy nhiên, tài liệu tham khảo chưa thật dồi dào, cuốn sách không tránh khỏi những thiếu sót. Rất mong được sự góp ý chân thành của các đồng nghiệp và bạn đọc.

Sách được xuất bản với sự tài trợ của Hội đồng Khoa học Tự nhiên.

Chúng tôi xin chân thành cảm ơn Hội đồng Khoa học Tự nhiên, ngành Khoa học Sự sống, Bộ Khoa học - Công nghệ, đã giúp đỡ và tạo điều kiện thuận lợi cho việc xuất bản cuốn sách này.

Huế, tháng 03 năm 2003

Tác giả

NỘI DUNG

MỞ ĐẦU	1
Sơ lược lịch sử phát triển	2
Mục tiêu của việc nghiên cứu và sản xuất tảo	4
1. CHLORELLA, SCENEDESMUS VÀ DUNALIELLA	7
1.1. Những nghiên cứu sơ bộ của tảo Chlorella, Scenedesmus và Dunaliella.	7
1.2. Nghiên cứu quá trình sinh lý sinh hóa của Chlorella, Scenedesmus và Dunaliella.	7
1.3. Các môi trường dinh dưỡng để nuôi tảo Chlorella và Scenedesmus	13
2. SPIRULINA	15
2.1. Hình thái phân loại tảo Spirulina	16
2.2. Đặc tính sinh lý của Spirulina	16
2.3. Đặc tính sinh hóa của tảo Spirulina	18
2.4. Trồng tảo Spirulina ở quy mô rộng	21
2.5. Môi trường dinh dưỡng nuôi tảo Spirulina	24
3. VI KHUẨN LAM ANABAENA AZOLLAE CỘNG SINH VỚI BÈO DÂU	25
3.1. Một số đặc điểm thực vật học của Bèo Dâu	25
3.2. Sinh trưởng phát triển của Bèo Dâu	26
3.3. Đặc điểm sinh lý của Bèo Dâu	27
3.4. Sự cố định N của Bèo Dâu với việc nâng cao sản lượng cây trồng.	28
3.5. Thành phần hóa học của Bèo Dâu và khả năng sử dụng trong chăn nuôi	29
3.6. Hệ cộng sinh "Bèo Dâu - Tảo Lam" (Azolla - Anabaena)	30
3.7. Nuôi trồng Bèo Dâu.	32
4. TẢO SILIC	33
4.1. Sơ lược nghiên cứu	33
4.2. Đặc tính sinh lý, sinh hóa của tảo Silic.	33
4.3. Quy trình nuôi trồng tảo Silic.	34
5. RONG MỎ (SARGASSUM)	38
5.1 Một số đặc điểm thực vật học của Rong Mỏ.	38
5.2 Đặc điểm sinh lý, sinh hóa Rong Mỏ	40
5.3. Đặc điểm sinh trưởng và thành phần sinh hóa của một số loài Rong Mỏ ở Thừa Thiên - Huế	43
5.3.1. Khả năng sinh trưởng của <i>Sargassum polycystum</i>	43
5.3.2. Sinh khối trung bình của Rong Mỏ ở vùng sóng mạnh và sóng yếu	46

5.3.3. Hàm lượng chất khô, hàm lượng acid alginic và độ nhớt của alginate chiết rút từ <i>Sargassum polycystum</i> ở các vùng khác nhau	46
5.3.4. Thành phần hóa học của ba loài rong <i>Sargassum polycystum</i> , <i>Sargassum oligocystum</i> và <i>Sargassum swartzii</i> ở Thừa Thiên-Huế.	48
5.4 Một số phương pháp chiết xuất sodium alginate của các nước trên thế giới và Việt Nam (Trương Văn Lung, 1999)	52
5.4.1. Phương pháp chiết xuất của Pháp	52
5.4.2. Phương pháp chiết xuất của Mỹ	53
5.4.3. Phương pháp chiết xuất của Trung Quốc	53
5.4.4. Phương pháp chiết xuất của Việt Nam	54
5.4.5. Quy trình chiết xuất alginate từ Rong Mơ Bình Trị Thiên (<i>Sargassum meclurei</i> Setchell)	54
5.5. Công dụng của alginate	68
5.5.1. Trong công nghiệp	68
5.5.2. Trong thực phẩm	68
5.5.3. Trong mỹ phẩm	68
5.5.4. Trong y dược	69
5.5.5. Trong nông nghiệp	69
6. CÁC LOÀI AGAROPHYTE	71
6.1. Sự phân bố các loài agarophyte trên thế giới và Việt Nam	71
6.2. Đặc điểm sinh lý sinh hóa của các loài agarophyte	76
6.3. Tách protoplast và phân chia tế bào từ <i>Gracilaria</i> .	93
6.4. Nuôi trồng agarophyte (chủ yếu là <i>Gracilaria</i>).	95
6.5. Công dụng của các loài agarophyte	105
6.6. Chế biến các loài agarophyte	107
7. RONG SỤN (KAPPAPHYCUS ALVAREZII DOLY)	117
7.1. Vùng phân bố	117
7.2. Đặc điểm sinh lý sinh hóa của Rong Sụn.	117
7.2.1. Nhu cầu dinh dưỡng của Rong Sụn	117
7.2.2. Khả năng phát triển của Rong Sụn trong điều kiện độ mặn thấp.	118
7.2.3. Hàm lượng và chất lượng của kapp - carrageenan trong Rong Sụn.	118
7.3. Thời vụ trồng Rong Sụn ở khu vực miền Trung Việt Nam.	119
7.3.1. Trồng Rong Sụn bằng dàn bè nổi ở vùng biển hở, độ sâu lớn (> 3m), vùng vịnh, ven bờ, các đảo.	119
7.3.2. Trồng Rong Sụn trong ao đĩa.	120
7.3.3. Trồng Rong Sụn ở các bãi ngang vùng triều ven biển và các vũng vịnh, đầm phá kín, nửa kín có độ sâu thấp	121
TRIỂN VỌNG CỦA CÔNG NGHỆ SINH HỌC TẢO	123
TÀI LIỆU THAM KHẢO	124
MỘT SỐ CÔNG TRÌNH NGHIÊN CỨU CÁC LOÀI TẢO CỦA TÁC GIẢ	128

MỞ ĐẦU

Công nghệ sinh học hiện nay là một then chốt của các nước đang phát triển mà vốn các nước này bị khác biệt so với các nước có nền công nghiệp phát triển.

Thời gian qua một số nước đang phát triển đã vươn lên, đạt trình độ khoa học công nghệ cao, có nền tảng công nghiệp vững và một thị trường đủ rộng để đảm bảo làm chủ một số mũi nhọn công nghệ sinh học và hướng chúng vào việc phục vụ các nhu cầu của mình.

Tuy nhiên, còn một số nước đang phát triển bị thiếu nguồn vốn để khai thác các công nghệ, do thiếu hạ tầng cơ sở cho nghiên cứu cơ bản, ứng dụng và thiếu người có trình độ cần thiết cho các công nghệ sinh học. Vì vậy, các nước này phải kết hợp hài hoà hững tiến bộ của khoa học công nghệ sinh học với tình trạng thiếu vốn, lao động dư thừa những bí quyết công nghệ học, quá trình công nghệ sinh học truyền thống (Sasson A., 1984; Bhalla A., James D. Stevens V., 1984; Johnston A., Sasson A., Sasson A., 1986; Albert and Wood, 1988...)

Không thể có một chiến lược chung nhằm sử dụng và ứng dụng công nghệ sinh học cho tất cả các nước một cách có hiệu quả. Thí dụ, một nước có ngân sách lớn dành cho khoa học, đông đảo cho các nhà khoa học và kỹ thuật viên không thể sử dụng chung một chiến lược với một nước châu Phi nhỏ và vùng Sahara - Sudan.

Mặc dù vậy, ngay các nước nghèo nhất và kém phát triển nhất về mặt công nghệ và khoa học cũng có thể thu được một số lợi ích do tiến bộ công nghệ sinh học và tham gia vào cuộc "Cách mạng công nghệ sinh học" nhờ các mạng lưới hợp tác quốc tế và khu vực. Sự tham gia này không nhất thiết phải bao trùm các lĩnh vực nghiên cứu cơ bản mà trước hết nhằm vào việc thích ứng các bí quyết công nghệ địa phương và khoa học, khả năng nghiên cứu trong nước, vào việc giải quyết các vấn đề cấp thiết của địa phương mình.

Giá trị công nghệ sinh học là ở chỗ, nó là một công cụ có thể áp dụng cho nhiều ngành kinh tế như sản xuất lương thực, chăn nuôi thú y, công nghiệp dược và công nghiệp hoá học, chuyển hoá sinh khối thành năng lượng, xử lý phế liệu và phụ liệu công nông nghiệp, phòng chống ô nhiễm và vệ sinh môi trường (Bull A. T. et. Al. 1982, Goma G. và Monsan P. 1983, Zimmerman B.K. 1984, Yanchinski S. 1985, Dasişva E.J. et al. 1987, Hacking A. J. 1987,..., Albert and Wood, 1988; Smith and Wood, 1991...)

Công nghệ sinh học được ứng dụng trong nhiều lĩnh vực khác nhau như nông lâm, ngư nghiệp, sản xuất, chế biến thực phẩm, chăn nuôi thú y, y tế, sức khoẻ cộng đồng, sản xuất các dược chất, sản xuất năng lượng, chuyển hoá hoá chất.

Công nghệ sinh học tảo là một lĩnh vực nhỏ trong các công nghệ sinh học rộng lớn. Cùng với các công nghệ lên men trên môi trường xốp, sản xuất protein đơn bào, công nghệ sinh học tảo cũng đang góp phần nghiên cứu và ứng dụng của mình vào lĩnh vực nuôi trồng, chế biến thực phẩm dinh dưỡng nhằm cung

cấp cho con người, gia súc, gia cầm, các động vật nhỏ khác và cả phân bón cho cây trồng. Ngoài ra, chúng còn cung cấp nguồn sinh khối trong việc chế biến các sản phẩm khác nữa.

Chính vì lợi ích đó mà ở Việt Nam cũng còn có nhiều cơ sở nghiên cứu và ứng dụng các loài tảo như *Chlorella*, *Scenedesmus*, *Spirulina*, các loài Tảo Lam cổ định N, tảo Silic, các loài tảo Agarophyte, các loài có chứa keo polymer v.v. (Bezborodov A. M và cs. 1994)

Sơ lược lịch sử phát triển

Sau khi sử dụng các dịch huyền phù loài Tảo Lục đơn bào *Chlorella* trong thực nghiệm với các mục đích nghiên cứu quang hợp (Emerson R., Lewis C. M., 1941; Dulton H. J., Manning W.M., 1941) và tìm hiệu suất quang hợp của chúng, các nhà khoa học đã phát hiện thấy có một số vi tảo có thể tăng sinh khối của mình trong môi trường với số lượng 1 - 2 triệu tế bào/ml chất lỏng, sau vài giây mặt độ huyền phù đạt tới 50 - 100 triệu tế bào/ml huyền phù, sinh khối này chứa tới trên 50% protein thô. Đầu thập kỷ 40 của thế kỷ XX nhiều thực nghiệm nuôi cấy vi tảo ở quy mô lớn đã được triển khai ở Đức (theo tài liệu Richmond A. F., 1986); (Albert and Wood, 1988).

Kỹ thuật nuôi cấy liên tục đã được triển khai và người ta đã nuôi trồng tảo phục vụ cho các mục tiêu thương mại. Đầu thập kỷ 50 của thế kỷ XX các nhà nghiên cứu của viện Carnegie ở Washington đã có những đóng góp lớn vào lĩnh vực này khi chứng minh rằng điều kiện môi trường thay đổi có thể tác động đến lượng chứa protein và lipid của *Chlorella*. Nhiều cơ sở nuôi cấy thử *Chlorella* đã xây dựng ở viện Carnegie. Năm 1957, Tamiya H. và các cộng sự của mình tại viện Tokugawa ở Tokyo đã công bố các kết quả nuôi trồng *Chlorella* ở quy mô lớn ngoài trời - một phần của dự án quốc tế về nuôi trồng tảo và cũng được sự tài trợ của viện Carnegie. Thực tế Nhật Bản là nước đầu tiên sản xuất *Chlorella* và bán sinh khối làm thức ăn bồi dưỡng sức khỏe hoặc làm ra một loại hóa chất chiết xuất tan được trong nước gọi là "nhân tố sinh trưởng *Chlorella*" (theo Richmond A. F. 1986); (Albert and Wood, 1988).

Năm 1953, các nhà nghiên cứu Đức ở trạm Kohlensffbiologische Forschungstation (vùng Essen CHLB Đức) đã nghiên cứu khả năng dùng CO₂ phụ phẩm của các nhà máy vùng Rubir để nuôi trồng tảo *Chlorella* và một loài Tảo Lục đơn bào khác là *Scenedesmus acutus*. Công việc nghiên cứu được tiếp tục ở Dormunt, nơi Soeder C. J. và nhóm của ông phát triển một sáng kiến công nghệ để nuôi trồng tảo ở quy mô lớn, bao gồm một dòng chảy theo một mương nước dài và môi trường được khuấy động nhờ một cái guồng. Đầu năm 1970, chính phủ Đức mở rộng việc hỗ trợ nuôi trồng tảo và nhờ có nhiều dự án được triển khai ở nhiều nước đang phát triển như Ấn Độ Peru và Thái lan - nơi phát triển công nghệ ở Dormunt để nuôi trồng *Scenedesmus*. (Bezborodov và cs. 1994)

Năm 1960, việc sản xuất *Scenedesmus* cũng được triển khai ở tại viện Thực vật thủy sinh Trebon, Tiệp Khắc, người ta đã xây dựng thiết bị nuôi trồng tảo ở đây trông như thác nước. Tại Bungarie một hệ thống tương tự cũng được sử dụng để nuôi trồng tảo *Chlorella*.

Đầu thập kỷ 60 của thế kỷ XX, việc nuôi trồng tảo *Spirulina* một loài Tảo Lam cố định N, đã lôi cuốn sự quan tâm của các nhà khoa học với công trình nghiên cứu tiên phong của Clement G. và cộng sự của bà ở viện Nghiên cứu Dầu mỏ Pháp. Họ nghĩ rằng những dân cư sống quanh hồ Chad ở vùng Camen đã thu thập *Spirulina maxima* trong nhiều thập kỷ để dùng làm thực phẩm (theo Richmond A. F. 1986).

Năm 1975, Oswald W. J. & các cộng sự của mình ở trường Đại học California (Berkeley) đã công bố các kết quả nuôi trồng tảo quy mô lớn vừa để thu nhận sinh khối vừa để xử lý nước thải. Họ cũng đã chứng minh rằng có thể dùng vi tảo trên các con tàu vũ trụ như một hệ thống nuôi sống con người. Oswald W. J., Golaas H. B. cũng đã chứng minh rằng sinh khối tảo có thể lên men kỵ khí để tạo methane với hệ số chuyển hóa từ 50 - 70%. Nhờ đó năng lượng mặt trời có thể chuyển đổi sang năng lượng hóa học (methane) nhờ việc nuôi trồng tảo.

Gần đây vào đầu năm 1970, Ryther J. H. và cộng sự thuộc viện Nghiên cứu Hải dương học Woods Hole đã phát triển một hệ thống khép kín nuôi trồng thực vật nổi ở biển trên nước thải trộn với nước biển và thu tảo để dùng vào việc nuôi tôm, nuôi cá một cách trực tiếp. Hệ thống này có thể coi như tương đương với các hệ thống nuôi trồng tảo nước ngọt của Oswald và các cộng sự của ông.

Ở Mexico, người ta đã tiến hành nuôi trồng tảo ở dạng tự nhiên nhờ các hệ thống nước suối có độ pH khá cao, phù hợp cho việc nuôi trồng tảo *Spirulina*. Nhờ vậy, khả năng thu hoạch ở đây khá lớn.

Ở Việt Nam, ngay từ năm 1959 Lê Văn Căn và sau đó nhiều người khác đã tiến hành nuôi Bèo Dâu - một dạng bèo cộng sinh với Tảo Lam *Anabaena* có khả năng cố định N. Các hợp tác xã miền Bắc đã nuôi trồng qui mô lớn và rộng khắp để thu sinh khối bón phân cho ruộng lúa, dùng làm thức ăn cho gia súc, gia cầm và cá. (Trương Văn Lung, 1999).

Về *Spirulina*, từ năm 1974 - 1975, viện Sinh vật thuộc viện Khoa học Việt Nam (nay là viện Công nghệ Sinh học thuộc Trung tâm Khoa học Tự nhiên và Công nghệ Quốc gia) cũng đã tiến hành nghiên cứu quá trình sinh lý sinh hóa của chúng và nghiên cứu sử dụng chúng làm thức ăn cho gia súc, gia cầm, cho cá bột. Từ năm 1983, một trạm thực nghiệm sản xuất thâm canh và liên tục *Spirulina platensis* đã được xây dựng ở Bình Thuận. Sản xuất bán công nghiệp loài Tảo Lam này (1980 - 1987) đã thu được 5 tấn bột tảo *Spirulina* khô trong 9 tháng, tương đương với 7 - 10g chất khô/m².ngày, hoặc khoảng 20 tấn/ha.năm (Nguyễn Hữu Thuộc, 1987).

Về các loài tảo khác như *Chlorella* cũng đã có nhiều cơ sở nuôi trồng với qui mô nhỏ dùng làm thức ăn cho gia súc, gia cầm và tằm.

Riêng các loài tảo nước mặn như tảo Silic cũng đã được nhiều người nghiên cứu và nuôi trồng dùng làm thức ăn cho tôm ở giai đoạn zoea. Đặc biệt các loài Agarophyte - một loài tảo lớn, được nhiều người quan tâm nghiên cứu, nuôi trồng, chế biến để dùng làm mặt hàng xuất khẩu có giá trị cũng như để tiêu dùng trong nước, sản phẩm chính của nó là agar-agar (có lúc chúng tôi gọi tắt là agar). Trong các phòng thí nghiệm nghiên cứu ở Đại học Tổng hợp Huế, ở Hà Nội cũng đã bước đầu nghiên cứu chiết xuất agarose, một sản phẩm cao cấp trong agar - agar dùng trong nhiều ngành công nghiệp khác nhau.

Mục tiêu của việc nghiên cứu và sản xuất tảo

Ngày nay, việc nuôi trồng tảo ở quy mô lớn có nhiều mục tiêu. Có thể dùng để sản xuất thức ăn nuôi động vật (trâu, bò, ngựa, dê, gà, vịt, tôm, cá...) và làm sạch nước thải. Về làm sạch nước thải thì rõ ràng các loài vi tảo đã đóng góp đáng kể để ngăn cản tình trạng ô nhiễm, mặc dù về mặt kinh tế của một số đối tượng ở một chủng mục nào đó chưa thật là hoàn hảo trong thương mại (Shelef E. & Soeder C. J. 1980; Richmond A. F. 1986).

Vi tảo có thể được sử dụng như một nguồn nguyên liệu hóa học và sinh hóa học, chẳng hạn như các acid béo chưa no loại poly, những chất này trừ acid linoleic ra, chúng rất ít gặp ở cây xanh và động vật. Các lớp sáp, sterol, glucid (tảo *Botryococcus braunu* chứa khoảng 20% glucid khi ở giai đoạn sinh trưởng nhanh) cũng là những thành phần có ích, có thể chiết xuất từ tảo. Trong công nghiệp thực phẩm người ta ngày càng cần nhiều các loại sắc tố thiên nhiên có thể chiết xuất từ tảo: trong tảo *Dunaliella bardawil* có tới 10% trọng lượng khô là β carotene, xanthophyll, và đặc biệt hữu ích khi nhuộm màu gà, lòng đỏ trứng và thực phẩm. Nhiều loại chlorophyll có thể tìm thấy các công dụng khác nhau trong công nghiệp. Phycocyanine, phycoerythrine có rất nhiều trong các loài Tảo Đỏ Rhodophyta có thể dùng làm sắc tố thiên nhiên trong công nghiệp thực phẩm, dược phẩm và mỹ phẩm thay cho các sắc tố hóa học. Phycocyanine lấy từ *Spirulina* đã được công ty Dainippon Ink & Chemicals (DIC Tokyo) của Nhật Bản đưa ra thị trường làm chất nhuộm màu thực phẩm với tên gọi là "Lina blue A". Công ty này còn sử dụng một loại sắc tố khác màu lam lấy từ *Spirulina* để làm bút kẻ lông mày và làm son môi vì nó không bị tan trong nước hay mồ hôi (theo Richmond, 1986; Shelef và Soeder, 1980).

Về các hợp chất cao phân tử thì nhiều heteropolysaccharide như agar-agar đã sử dụng rộng rãi trong các ngành công nghiệp, nông nghiệp, y học và trong thí nghiệm nuôi cấy mô và tế bào v.v...

Các acid alginic, carrageenan cũng được chiết xuất ở quy mô công nghiệp từ các loài Tảo Đỏ, Tảo Nâu. Loài Tảo Đỏ *Porphyridium acrugineum* đã tiết ra một polysaccharide loại sulfonate với mức độ 50% so với sinh khối. Loại polysaccharide này giống với carrageenan về độ nhớt và khả năng tạo huyền phù. Chúng được dùng để thu hồi lại dầu sinh ra từ các lớp cát ngầm. Lượng dầu thu được là ngang hoặc lớn hơn so với việc thu dầu nhờn nhờ kelzan - một loại cao phân tử thương mại, ngay cả khi nồng độ kelzan cao hơn cả trong pha dịch chuyển động (Richmond, 1986). Một chất cao phân tử khác có khả năng sử dụng được là acid poly β hydroxybutyric (PHB). Chất này có ở một số lớn các vi khuẩn quang hợp và không quang hợp, cũng như ở *Spirulina platensis*. Ở *Spirulina* này PHB được tích lũy tới 6% trọng lượng khô trong phase sinh trưởng. Chỉ số logarit PHB được dùng như một chất dẻo chịu nhiệt (thermoplastic), có thể bị phân giải trong đất nhờ vi sinh vật và có những đặc điểm rất giống với polypropylene. (Đặng Hoàng Phước Hiền và cs, 1994; Đặng Đình Kim, 1994a, 1994b)

Vi khuẩn (Tảo) Lam (Cyanobacteria) cố định N đóng vai trò quan trọng trong việc làm tăng độ phì cho đất một cách tự nhiên, nhất là ở ruộng lúa. Trên 125 chủng (strains) hoặc types Tảo Lam được biết là có khả năng cố định N. Hệ

sinh thái ruộng lúa tạo điều kiện cho rất nhiều Tảo Lam sống tự do hay cộng sinh có khả năng cố định N. N cố định được và được khử sẽ được cung cấp cho lúa do quá trình hấp thụ của rễ hoặc do vi sinh vật tự phân hay phân giải. Trong điều kiện đồng ruộng, chỉ có một phần N được cố định và được khử cung cấp cho cây trồng, phần còn lại cung cấp cho khu hệ vi sinh vật đất hoặc N lại bị bay hơi. Nếu bổ sung Vi khuẩn Lam (còn gọi là Tảo Xanh Lục) cho ruộng lúa thì có thể giảm bớt 25% lượng phân bón thương mại cần sử dụng.

Khi sử dụng Tảo Lam làm phân bón sinh học (biofertilizer) rất cần hiểu rõ sự chuyển hóa của các hợp chất N sinh ra sau quá trình cố định N trong ruộng lúa. Đây là một lĩnh vực nghiên cứu rộng lớn trong chương trình nghiên cứu sa mạc của phòng thí nghiệm Công nghệ sinh học tảo của viện Nghiên cứu Jacob Blaustein (Đại học Ben - Gurion của Negev, ở Séde - Boqer, Israel). Hiểu được các quá trình chuyển vị amin ở Tảo Lam và xác định các hạn chế ảnh hưởng tới nhịp độ giải phóng N đã khử đưa vào đất hoặc vào vùng rễ sẽ làm cho việc kiểm tra dòng vận chuyển của N đã được khử dễ dàng hơn nhiều (Boussiba S. 1987).

Sản xuất tảo ở quy mô lớn đang thực hiện ở Ấn Độ và đã được bắt đầu ở Myama, Trung Quốc, Philippin, Thái lan, Việt Nam. Ở khoa Công nghệ Sinh học của viện Nghiên cứu Khoa học Kỹ thuật Thái lan (Bộ Khoa học Kỹ thuật và Năng lượng Bangkok) nhiều loài Tảo Lam đã được nuôi trồng ở qui mô lớn như *Anabaena siamensis*, *Calothrix spp.*, *Tolypothrix spp.*, *Hapalosiphon spp.*. Chúng được giữ giống và bảo quản trong bộ sưu tập giống. Ở Việt Nam, Tảo Lam cũng được nuôi trồng trên đồng ruộng (Nguyễn Hữu Ninh và cs, 1988). Nguyễn Hữu Thuộc & cộng sự (1986) ở viện Sinh vật học (Hà Nội) đã chứng minh rằng *Spirulina platensis* có thể làm kích thích sinh trưởng của lúa. Sau khi cho nảy mầm ở nhiệt độ bình thường hoặc ở nhiệt độ lạnh (6°C trong 5 ngày) đã có hiệu quả hơn về sự sinh trưởng của lúa so với một số loài Tảo Xanh Lục khác như *Nostoc muscorum* hay *Chlorella vulgaris*.

Các nhà khoa học Israel ở phòng thí nghiệm Công nghệ sinh học tảo đã đặt ra một chương trình nghiên cứu nhằm phân lập các loài Tảo Lam đã lựa chọn sống tự do hay cộng sinh thả trong ruộng lúa, nghiên cứu các điều kiện sinh trưởng tối ưu của chúng. Những chủng có nhịp độ sinh trưởng cao trong phòng thí nghiệm sẽ được nuôi trồng ngoài trời (qui mô thí nghiệm cho tới 100m²) và nghiên cứu các nhân tố hạn chế nhịp độ sinh trưởng của chúng. Phân bón sinh học có thể sản xuất trong những điều kiện được khống chế và được đưa vào những môi trường thích ứng ở các vùng nào đó. Tảo Lam với nồng độ 10 - 20% trong than bùn được bón vào ruộng lúa đúng thời vụ (Boussiba S. 1987).

Trong việc nuôi trồng tảo ở qui mô lớn để thu nhập protein ít tốn kém nhưng vẫn chưa được chứng minh về mặt kinh tế. Sở dĩ như vậy vì sinh khối thu được sản lượng còn thấp, giá thành lại cao. song người ta vẫn nuôi trồng các vi tảo để cung cấp thức ăn cho ấu trùng tôm, trai, sò và một số loài cá. Sinh khối vi tảo được trực tiếp dùng làm thức ăn cho động vật nổi (zooplankton) sau đó lại dùng động vật nổi để nuôi cá. Tảo cũng có thể dùng làm nguồn thức ăn protein bổ sung cho bò, lợn, gà (Richmond 1980). Về việc dùng làm thức ăn cho người thì tiềm năng của tảo đã được khảo sát từ nhiều nước.

Các thí nghiệm phân tích về dinh dưỡng học cho thấy trẻ em khỏe mạnh và trẻ em suy dinh dưỡng có thể hấp thụ tốt các vi tảo dùng trong thực nghiệm và nhờ đó có thể cải thiện được điều kiện nuôi dưỡng cho các em. Dân cư các làng người Kankem sống quanh hồ Chad và hồ Aztecs ở thành phố Mexico nhiều đời nay đã ăn Spirulina khô được coi là một thứ gia vị tốt cho nước sốt thịt và được dùng để duy trì giá trị dinh dưỡng protein của thức ăn khi thiếu thịt.

Sinh khối tảo hiện nay chủ yếu được dùng làm thực phẩm bổ dưỡng song giá thành trong sản xuất vẫn còn cao. Tổng sản lượng hàng năm đối với vi tảo khoảng 1500 tấn vào giữa năm 1980 và bán được khoảng 300 triệu USD. Việc sản xuất chủ yếu được tiến hành ở California, Israel, Mexico, Nhật Bản, Đài Loan và Thái lan.

Tuy nhiên nhiều chuyên gia nuôi trồng tảo nhận định rằng nếu giảm được chi phí sản xuất và nhờ kết quả áp dụng các tiến bộ và đổi mới công nghệ loại thức ăn đang được coi là thức ăn bổ dưỡng này sẽ trở thành loại thức ăn bổ sung rẻ tiền cho người, gia súc, gia cầm cũng như trở thành nguồn nguyên liệu sinh học và được học có tính kinh tế. Đó là lý do vì sao nhiều loại vi tảo vẫn đang được coi là những đối tượng nghiên cứu và thực nghiệm (Pirt S. J., 1984).

Về tảo lớn thì nhiều nước trên thế giới hiện nay đang nuôi trồng và sản xuất tảo qui mô lớn. (Amir Neori et al., 2000). Sản phẩm của chúng được dùng trong nhiều lĩnh vực công nghiệp khác nhau (hồ vải, làm giấy không thấm nước, kỹ nghệ làm phim, làm bóng giấy da, làm khuôn răng, kỹ nghệ làm điện cực, chế biến rượu, chế biến hàng loạt dầu bôi máy, in hoa, chế biến cao su, làm keo dán kết dính...), trong thực phẩm (thực phẩm bổ sung, làm chất chống khô, bánh ngọt, sử dụng trong đóng cá hộp, thịt hộp, các món ăn giải khát, nước chấm, bảo quản thịt không mất hương vị...), trong mỹ phẩm (nước gội đầu, kem bôi mặt, thuốc đánh móng tay, xít tóc, nhuộm tóc, làm son bôi môi, sáp kẻ lông mày...), trong y dược (làm khuôn răng, thuốc nhuận tràng, lớp áo ngoài viên thuốc đắng, làm chỉ khâu tự tiêu, làm giải độc muối kim loại nặng, phòng chống xơ cứng mạch máu, chữa đau dạ dày...), trong phòng thí nghiệm (làm môi giới cho các thí nghiệm và kích thích tố, chất cố định trong phẫu thuật cắt mỏng, nuôi cấy vi sinh vật, nuôi cấy mô tế bào thực vật).

1

CHLORELLA, SCENEDESMUS VÀ DUNALIELLA

1.1. Những nghiên cứu sơ bộ của tảo Chlorella, Scenedesmus và Dunaliella.

Trong những năm 1940 khi nghiên cứu hiệu suất quang tử được sử dụng trong quang hợp, người ta thấy rằng, đối với thực vật bậc cao có tổ chức phức tạp trong hoạt động sống của mình, chúng liên kết chặt chẽ với môi trường không khí và đất. Trong quá trình dinh dưỡng được thực hiện nhờ rễ và lá. Điều đó tạo sự vận chuyển phức tạp chất dinh dưỡng từ cơ quan này đến cơ quan khác, sử dụng phức tạp chất dinh dưỡng vào các mục đích khác nhau và tiêu phí nhiều chất tổng hợp được cũng như năng lượng liên kết ban đầu. Chính vì vậy mà việc nghiên cứu hệ số lý thuyết có thể có về sử dụng năng lượng bức xạ mặt trời vào việc hình thành năng suất nhờ quang hợp của thực vật bậc cao gặp rất nhiều khó khăn (Begborodov et al., 1994).

Để giảm bớt khó khăn trên, người ta đã nghiên cứu trên đối tượng tảo đơn bào, đặc biệt là tảo Chlorella, Scenedesmus và Dunaliella. Mỗi cá thể tảo này là một tế bào hiển vi sống trong môi trường nước và thực hiện quá trình dinh dưỡng CO_2 cũng như các muối khoáng qua toàn bộ bề mặt tế bào. Trong tế bào ấy có sự hình thành chất dinh dưỡng mới cũng như việc sử dụng ngay những chất ấy cho sinh trưởng và sinh sản. Sinh sản tiến hành theo con đường tạo thành trong tế bào lớn những tự bào tử. Sau đây là vòng đời toàn phần của Chlorella (hình 1).

1.2. Nghiên cứu quá trình sinh lý sinh hóa của Chlorella, Scenedesmus và Dunaliella.

Trong điều kiện dinh dưỡng tốt (trong huyền phù mật độ cao, khi các tế bào không cạnh tranh nhau về ánh sáng và thức ăn) mỗi tế bào có thể cho từ 4 - 10

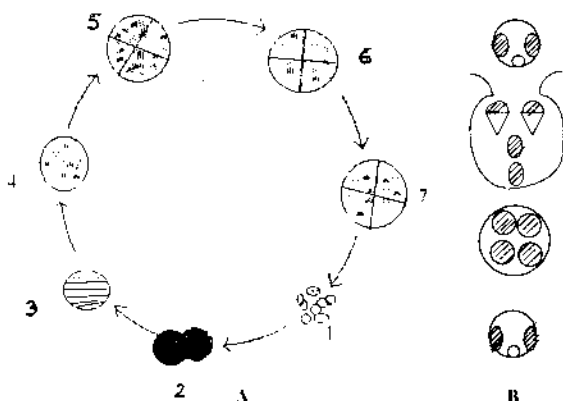
tự bào tử, đôi khi nhiều hơn nữa. Những bào tử này sau khi phá rách tế bào mẹ, hoặc ra môi trường dinh dưỡng trở thành những tế bào con có khả năng hấp thụ chất dinh dưỡng mạnh, quang hợp và sinh trưởng tăng. Ở dạng tảo có hoạt tính cao, những tế bào con mới hình thành sẽ hoàn thành vòng phát triển sau 6-8h. Do đó về mặt lý thuyết một tế bào ban đầu sau một ngày đêm nuôi trong huyền phù rất loãng có thể cho 64 - 4.096 tế bào con.

Trong điều kiện thuận lợi

về cung cấp ánh sáng và khí CO_2 , khi trong môi trường nuôi có một lượng khá nhiều muối khoáng thì tế bào *Chlorella* sống trong môi trường nuôi với số lượng 1 - 2 triệu tế bào/ml chất lỏng, bắt đầu sinh trưởng nhanh, sau vài ngày mật độ huyền phù đạt tới 50 - 500 triệu tế bào/ml huyền phù (trong điều kiện tốt còn cao hơn nữa). Huyền phù đặc dần thì hệ số sinh sản hàng ngày của tế bào sẽ giảm. Độ đặc tiếp tục tăng cho đến khi đạt trị số ổn định, tại đó, các tế bào cạnh tranh nhau về ánh sáng, chất dinh dưỡng. Ánh sáng chiếu trong huyền phù kém sẽ làm quang hợp giảm mạnh, cân bằng với quá trình hô hấp. Tùy thuộc vào điều kiện chiếu sáng và dinh dưỡng cũng như vào hoạt tính của giống gốc mà tốc độ sinh trưởng, độ đặc của huyền phù và một số giới hạn có thể rất khác nhau, trong điều kiện tốt có thể rất cao.

Vào thời kỳ đó, hàng ngày có thể vớt từ bể nuôi ra một lượng huyền phù trong đó chứa một lượng tương ứng với mức tăng trọng lượng hàng ngày. Sinh khối đã có thể rút ra khỏi huyền phù bằng cách quay ly tâm. Dịch loãng dinh dưỡng có thể đổ trở lại để nuôi. Ngoài ra còn đổ thêm vào bể dung dịch dinh dưỡng mới pha, sao cho mật độ huyền phù giữ được ở mức cực thuận. Sang ngày hôm sau lại có thể tiếp tục vớt ra khỏi bể sinh khối mới tăng nhờ quang hợp. Môi trường nước nuôi tảo không bị thay đổi đột ngột về chế độ nhiệt như môi trường không khí, nơi thực vật bậc cao sinh sống. Ngoài ra, trong trường hợp cần thiết vào mùa lạnh, nhất là ở những nơi có nhiệt thải của nhà máy có thể sưởi nóng huyền phù.

Ở tảo, tính mùa vụ hoạt động không thể hiện rõ rệt như ở thực vật bậc cao. Ở nơi nuôi tảo, mật độ huyền phù có thể giữ trong suốt thời gian nuôi ở mức cực thuận và lớp huyền phù có thể sâu (thường 5 - 10cm) đến mức nó có thể hút được toàn bộ năng lượng bức xạ mặt trời tới đó (loại trừ ánh sáng bị phản chiếu). Thực ra, huyền phù *Chlorella* còn có những thiếu sót, nhất là diện tiếp



Hình 1. Vòng đời toàn phần của *Chlorella*

A. 1-3. tế bào non và đang lớn lên- quang hợp mạnh. 4-7. tế bào trưởng thành và chuẩn bị tạo thành tứ bào tử. B. Tế bào trong các giai đoạn 3, 6, 7, 1 (từ dưới lên).

vậy mà ở Nhật Bản nuôi cấy giồng *Chlorella* vào tháng hè cũng chỉ cho sinh khối hàng ngày là 200kg/ha (thực vật bậc cao: 250 - 550 kg/ha), còn vào các tháng thu - đông nhất là những tháng mùa đông sản lượng thấp hơn nhiều. Tuy nhiên do việc nuôi cấy tảo đơn bào có thể lâu hơn, ổn định hơn về thời gian, nhất là khi luân phiên giống trung sinh và giống ưa nóng nên sinh khối hàng năm ở miền á nhiệt đới có thể đạt tới 20 - 30 tấn/ha, còn hệ số trung bình về sử dụng năng lượng ánh sáng mặt trời có thể đạt 5 - 6%.

Trong năm 1950 việc nuôi cấy lớn *Chlorella* bị ngừng lại ở Mỹ và châu Âu thì người ta lại thấy vẫn được triển khai ở Nhật Bản, Đài Loan, Trung Quốc. Ở Đài Loan công ty *Chlorella* đầu tiên được thành lập vào năm 1964. Hai năm sau công ty này bắt đầu sản xuất tảo ở

Bảng 1. Thành phần hóa học của *Chlorella* (% trọng lượng khô)

Thành phần	Hàm lượng
Protein tổng số	40-60%
Glucid	25-35%
Lipid	10-15%
Sterol	0,1-0,2%
Stearine	0,1-0,5%
β -carotene	0,16%
Xanthophyll	3,6-6,6%
Chlorophyll a	2,2 %
Chlorophyll b	0,58%
Acid nucleic	6,0%
Tro	10-34%
Vitamin B ₁	18,0mg/g
Vitamin C	0,3-0,6mg/g
Vitamin K	6,0 mg/g
Vitamin B ₆	2,3mg/100g
Vitamin B ₂	3,5mg/g
Vitamin B ₁₂	7-9mg/g
Choline	302mg/g
Acid nicotinic	145 mg/g

qui mô thương mại. Đến năm 1977 Đài Loan có đến 30 cơ sở sản xuất tạo ra tới trên 1000 tấn *Chlorella*, phần lớn được dùng làm thực phẩm bổ dưỡng. Bốn kiểu nuôi trồng đã được sử dụng là: ao lộ thiên có khuấy đảo, ao lộ thiên có dòng chảy, nuôi cấy chìm trong bể lên men kín và kết hợp giữa một ao lộ thiên với một bể lên men kín. *Chlorella* được sản xuất theo hai con đường: trao đổi chất tự dưỡng và dị dưỡng bên cạnh việc cung cấp CO₂ hàng ngày bổ sung thêm acid acetic hay glucose, để sản xuất ra 1kg *Chlorella* cần 2kg glucose hay 3,5kg acid acetic và nồng độ *Chlorella* được duy trì trong ao nuôi lộ thiên đạt rất cao, tới 1-5 g/lít. Khi nuôi cấy tảo trong bể lên men kín và dùng glucose làm nguồn carbon thì mật độ *Chlorella* có thể cao hơn tới 10 lần. Vì ánh sáng là một nhân tố hạn chế liên quan đến việc hình thành chất diệp lục cho nên việc nuôi tảo trong các nồi phản ứng (reactor) có nhiều bộ phận là các ống trong suốt được mặt trời chiếu sáng (Albert and Wood, 1988; Smith and Wood, 1991...)

Thành phần hóa học của tế bào tảo *Chlorella* tùy thuộc theo tốc độ sử dụng môi trường dinh dưỡng trong quá trình phát triển (bảng 1). (Bezborodov et al., 1994...)

Tế bào *Chlorella* chứa 23 amino acid trong đó có các amino acid không thay thế như lysine, methionine, tryptophan, arginine, leucine v. v..

Các loài *Scenedesmus* cũng là những tảo đơn bào màu lục phân bố rộng rãi trong nước ngọt và trong đất. Ở Peru cũng đã có dự án hoạt động từ năm 1973 với sự tài trợ của CHLB Đức tại Casa Grande gần Trujillo phía bắc của Péru.

Loại tảo được nuôi cấy ở đây là *Scenedesmus acutus* var. *altmans* (theo Richmond, A.F. 1986).

Scenedesmus là chi tảo gồm một số loài rất ít khác nhau về các đặc trưng sinh lý và sự khác nhau đó không đặc trưng cho loài. Kessler khi nghiên cứu các chi tảo này thấy một số đặc điểm sinh lý sinh hóa của *Scenedesmus* như sau:

- Do có hoạt tính hydrogenase, các loài *Scenedesmus* spp. khi được chiếu sáng sẽ giải phóng H_2 ở áp suất O_2 và H_2 cực bộ thấp và khử CO_2 bằng H_2 , H_2S hoặc chất cho H^+ khác. Trong tối, chúng tạo ra H_2O và CO_2 nhờ sử dụng các

Bảng 2. Năng suất *Scenedesmus* nuôi cấy tự dưỡng lâu dài ngoài trời

Dòng	Địa phương	Năng suất tế bào (g/m^2 .ngày)	Chất khô (tấn/ha.năm)	Số ngày có hiệu lực trong năm
276-3a	Dortmunt.(Đức)	11	25	240
276-3a	Bangkok(Thái Lan)	15	55	365
276-3a	Myrose (Ấn Độ)	20	70	260
276-3a	Sausal (Peru)	30	98	325
276-3a	Cairo-Dokki(Ai Cập)	15	48	330
Tom 8M	Rupite (Bungari)	19	40	200

Bảng 3. Thành phần hóa học của *Scenedesmus*

Thành phần (%P khô)	<i>Scenedesmus acutus</i>	<i>Scenedesmus obliquus</i>
Protein	50-55	50-56
Lipid	12-19	12-14
Glucid	10-15	10-17
Chất xơ	10-12	3-7
Tro	6-8	6-10
Độ ẩm	5-7	5-6
Acid nucleic	4-7	-

Bảng 4. Thành phần amino acid của *Scenedesmus acutus* (%) so với trứng và tiêu chuẩn do FAO qui định

Amino acid	Tiêu chuẩn FAO	Protein trứng	<i>Scenedesmus acutus</i>
Valine	5,0	6,6	4,7
Leucine	7,0	8,6	7,0
Isoleucine	4,0	5,4	3,1
Phenylalanine	6,0	9,3	6,0
Tyrosine	6,0	9,3	6,0
Lysine	5,5	7,0	4,6
Methionine	3,5	5,7	3,2
Cysteine	3,5	5,7	3,2
Tryptophan	1,0	1,7	1,7
Threonine	4,0	4,7	4,9

chất hữu cơ, oxy hóa H_2 bằng O_2 hoặc dùng H_2 để khử NO_2 hoặc NO_3 .

- Thiếu N, P, Fe sẽ gây ra sự hình thành carotenoid thứ cấp.

- Sự hóa lỏng gelatin và thủy phân tinh bột chứng tỏ tảo có thải ra protease và amylase ngoại bào.

- *Scenedesmus* có tính chống chịu muối thấp.

Cũng giống như nhiều loại vi tảo khác, *Scenedesmus* là cơ thể dị dưỡng, có khả năng sử dụng các chất hữu cơ (một số đường đơn và acetate) làm nguồn carbon.

Scenedesmus có năng suất khá cao khoảng 54g trọng lượng khô/m². ngày, tương đương với 50 tấn/ha/năm (bảng 2).

Thành phần hóa học của một số dòng *Scenedesmus* ở bảng 3.

Giống như *Chlorella*, các chủng *Scenedesmus* nuôi trồng ở diện tích rộng có năng suất cao với hàm lượng protein khoảng 50 - 56% trọng lượng khô và được coi là nguồn protein đơn bào đáng chú ý. *Scenedesmus* có thành phần amino acid cần thiết khá đầy đủ (bảng 4).

Scenedesmus khá giàu vitamin, đặc biệt là các vitamin tan trong nước.

Chi *Dunaliella* thuộc bộ Volvocales, gồm nhiều loài tảo lục đơn bào thích nghi với nước mặn. Các tảo này gặp ở biển, hồ nước mặn, đầm lầy nước mặn và cống nước mặn ven biển. Đây là chi tảo duy nhất tìm thấy ở Dead Sea - Biển chết (Israel) hay ở phần bão hòa muối của hồ Great salt ở Utah (theo Richmond A.F., 1986).

Các tế bào *Dunaliella* chứa glycerine và β -carotene. Ben-Amotz A. et al. (1982) đã phân tích tiềm năng sản xuất glycerine và nhận thấy tảo này chứa tới 40% glycerine theo trọng lượng khô. Cá thể thu được 16g glycerine/m²/ngày. Sản lượng thực tế ở ao lộ thiên thấp hơn nhiều (3 - 4g/m²/ngày). Một sản phẩm sinh hóa học quan trọng khác là β carotene. Ben - Amotz A. và Avron M. đã nghiên cứu khả năng tích lũy chất này ở tảo *Dunaliella bardawil*. Có lẽ việc sản xuất lớn *Dunaliella* để chiết xuất β carotene dùng làm sắc tố thiên nhiên trong

Bảng 5. Hàm lượng vitamin của *Scenedesmus* so với trứng (mg/g P khô)

Vitamin	<i>Scenedesmus</i>	Trứng
Thiamine B ₁	3,19	0,77
Riboflavine B ₂	7,34	2,35
Niaciamide	13,10	0,63
Acid folic	0,15	0,04
Acid pantothenic	2,20	12,20
Cobalamine B ₁₂	0,07	0,02
Tocopherol	26,30	7,90
Biotine	0,04	0,79
Acid ascorbic	38,00	
β -carotene	45,58	
Carotenoid tổng số	394,65	

Bảng 6. Thành phần isomer lập thể của β -carotene của tảo *Dunaliella bardawil*

Isomer	% β -carotene tổng số
15-cis- β -carotene	10
9-cis- β -carotene	41
Toàn bộ trans- β -carotene	42
2 isomer chưa xác định	6

công nghiệp thực phẩm và dùng làm provitamin A là thuận lợi về sinh tố hơn là sản xuất glycerine.

Những năm gần đây (1988) Y. K. Lee và I. M. Tan (Singapore) C. Gudín (Pháp), Sang Hao Li (Vũ Hán, Trung Quốc), M. A. Borowitzka và L. J. Borowitzka (Australia) tập

Bảng 7. Hàm lượng amino acid của *Dunaliella* (g/100g protein)

Amino acid	<i>D. tertiolecta</i>	<i>D. bardawil</i>	<i>D. salina</i>
Alanine	13,0	7,3	6,3-12,9
Arginine	4,3	7,3	0,9-5,2
Acid aspartic	10,4	10,4	2,5-10,7
Cysteine	vết	1,2	Vết
Acid glutamic	12,0	12,7	7,9-11,9
Glycine	15,6	5,5	9,5-13,3
Histidine	1,6	1,8	1,2-8,8
Isoleucine	5,2	4,2	2,3-4,2
Leucine	11,3	11,0	5,0-17,6
Lysine	6,7	7,0	4,8-6,4
Methionine	vết	2,3	vết-1,4
Phenylalanine	vết	5,8	1,4-5,4
Proline	6,9	3,3	4,2-8,8
Serine	3,1	4,6	6,3-8,6
Threonine	1,5	5,4	2,5-6,0
Tryptophan	vết	0,7	-
Tyrosine	-	3,7	vết-1,9
Valine	8,5	5,8	3,6-5,8

trung nghiên cứu những đặc điểm sinh lý sinh hóa và ứng dụng các loại tảo nước mặn đặc biệt là *Dunaliella* (*D. bardawil*, *D. parva*, *D. salina*, *D. viridis*) cũng như nghiên cứu của Sang Hao Li (Vũ Hán, Trung Quốc), S. Agala, T. Vargas và A. Cardenas (Chilê) về *Phaeodactylum tricornutum*.

Các loài thuộc chi *Dunaliella* phân bố khá rộng và được tìm thấy trong nước ngọt (*Dunaliella flagellata*, *Dunaliella chordata*, *Dunaliella lateralis*, *Dunaliella paupera*), trong nước lợ và nước hơi mặn (*Dunaliella tertiolecta*, *Dunaliella bioculata*, *Dunaliella primolecta*), trong nước rất mặn (*Dunaliella terriocola*).

Dunaliella có tính chống chịu pH rất cao: pH từ 1 (*Dunaliella acidophilla*) đến pH 11 (*Dunaliella salina*).

Điểm đặc trưng của tảo *Dunaliella* là lập thể của chúng có khả năng tích lũy một lượng lớn β -carotene. Tùy theo lượng carotene được tích lũy trong lập thể, tế bào có màu lục, vàng hoặc đỏ sẫm. β -carotene tồn tại ở nhiều dạng đồng phân khác nhau (bảng 6).

Ở chi *Dunaliella*, hai loài *Dunaliella sativa* và *Dunaliella tertiolecta* được nghiên cứu kỹ hơn cả. Thành phần hóa học của *Dunaliella tertiolecta* như sau (% P khô): protein 50; glucid 20; lipid 8. Thành phần này thay đổi tùy theo điều kiện nuôi trồng. Trong điều kiện thiếu N, hàm lượng protein có thể giảm từ 60% xuống 25%, glucid tăng từ 12% đến 50% trong khi đó lượng lipid thay đổi không đáng kể. Hàm lượng protein trong tế bào *Dunaliella* vào khoảng 50 - 60%

trọng lượng khô đối với những tế bào màu lục và 30% đối với những tế bào màu đỏ, giàu carotenoid sống trong môi trường có độ mặn cao (bảng 7).

Glucid chiếm 30 - 40% P khô tế bào. Ở *Dunaliella bardawill* các tế bào đã sống trong môi trường có độ mặn cao chứa khoảng 11% glucid.

Hàm lượng lipid của các tế bào *Dunaliella* có thể thay đổi từ 6% P khô ở các tế bào phát triển trên môi trường ít mặn đến 18% P khô ở các tế bào phát triển trong môi trường có độ mặn cao. Lipid trung tính chủ yếu là β -carotene. *Dunaliella salina* là loài chứa β -carotene cao nhất trong các loài được biết đến; hàm lượng carotenoid tổng số có thể đạt tới 14% P khô. *Dunaliella salina* là vi tảo đầu tiên được khai thác làm nguồn β -carotene và glycerol thương mại. Tuy nhiên cần lưu ý rằng sinh khối và hàm lượng β -carotene của *D. salina* phụ thuộc rất nhiều vào điều kiện bên ngoài. Các tế bào vi tảo *Dunaliella* chứa hàm lượng β -carotene và glycerol cực đại là những tế bào phát triển trong điều kiện stress nghĩa là trong môi trường có hàm lượng muối cao trong khi đó sản lượng tối ưu của sinh khối đạt được ở môi trường có độ muối thấp hơn nhiều.

Bên cạnh đó lượng β -carotene khá cao cũng được tìm thấy trong *Dunaliella salina* và *Dunaliella parva*, các loài *Dunaliella* còn chứa các vitamin khác như thiamine, pyridoxin, riboflavin, acid nicotinic, biotin, tocopherol.

Mặc dù đã có những bước tiến bộ trong việc đưa *Dunaliella salina* làm nguồn β -carotene thương mại, vẫn còn nhiều việc phải làm để tối ưu hóa và cải tiến quá trình nuôi trồng tảo, tìm những phương pháp thu hoạch có hiệu quả, rẻ tiền hơn và cải tiến các phương pháp chiết rút, làm sạch và ổn định sản phẩm. Trong tương lai, các phương pháp công nghệ gen sẽ được ứng dụng để nâng cao năng suất β -carotene

Phần nghiên cứu nuôi trồng tảo *Chlorella*, *Scenedesmus* và *Dunaliella* đã giới thiệu một phần ở mục II (Sơ lược lịch sử phát triển).

1.3. Các môi trường dinh dưỡng để nuôi tảo *Chlorella* và *Scenedesmus*

Sau đây là một số môi trường dinh dưỡng phổ biến để nuôi tảo *Chlorella* và *Scenedesmus*.

Môi trường Arnon

Ca ⁺⁺	1,0	mg đương lượng/l	Fe ⁺⁺	4	mg/l (dưới dạng Fe-EDTA)
Mg ⁺⁺	2,0	-	Mn ⁺⁺	0,5	mg/l.
K ⁺	22,8	-	Cu ⁺⁺	0,02	mg/l.
NO ₃ ⁻	20,0	-	Zn ⁺⁺	0,05	-
PO ₄ ³⁻	6,0	-	B	0,5	-
SO ₄ ²⁻	2,0	-	Mo	0,001	-
Cl ⁻	1,0	-	V	0,005	-

Chỉ định sử dụng để nuôi *Scenedesmus*, pH = 6,7

Môi trường Benece

Ca(NO ₃) ₂	0,5	g/l	K ₂ HPO ₄	0,2g/l
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,1	-	FeCl ₃	vết

Môi trường Vinocur - Paizner - Thomson

Mg ⁺⁺	40	mg đương lượng/l	Fe ⁺³	0,4	mg/l (dưới dạng citrate)
K ⁺	37	-	Mn ⁺⁺	0,44	-
NO ₃ ⁻	25	-	Cu ⁺⁺	0,002	-
PO ₄ ⁻³	54	-	Zn ⁺⁺	0,08	-
SO ₄ ⁻	20	-	Mo	0,02	-

Chỉ định dùng để nuôi đại trà Chlorella pH = 5,6

Môi trường Craus - Thomas

Ca ⁺⁺	0,05	mg đương lượng/l	Fe ⁺³	1,0	mg/l (dưới dạng citrate)
Mg ⁺⁺	2,0	-	Mn ⁺⁺	0,05	-
K ⁺	11,8	-	Cu ⁺⁺	0,002	-
NO ₃ ⁻	9,9	-	Zn ⁺⁺	0,005	-
PO ₄ ⁻³	5,5	-	B	0,05	-
SO ₂ ⁻	2,0	-	Mo	0,001	-
Cl ⁻	0,002	-			

Chỉ định dùng để nuôi đại trà Scenedesmus pH : 7,0

Môi trường Moiza.

Ca ⁺⁺	0,5-1,0	mg đương lượng/l	FeCl ₃ +EDTA	37	mg/l
Mg ⁺⁺	20	-	Mn ⁺⁺	1-2	-
K ⁺	5,9	-	Cu ⁺⁺	1-2	-
NO ₃ ⁻	50	-	Zn ⁺⁺	5-10	-
PO ₄ ⁻³	27	-	B	5-10	-
SO ₄ ⁻	20	-	Mo	1-2	-
Cl ⁻	0,04-0,07	-	Co	0,25-0,5	-

Dùng để nuôi đại trà Chlorella, Scenedesmus và Ankistrodesmus pH : 5,3

Dung dịch nguyên tố vi lượng và vitamin dùng cho tảo.**Dung dịch Arnon A₄**

H ₃ BO ₃	2,86	g/l	ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,222	g/l
MnCl ₂ .4H ₂ O	1,81	-	CuSO ₄ .5H ₂ O	79,0	-

Dùng 1ml/l môi trường dinh dưỡng thường.

Dung dịch Arnon A₇

MoO ₄ .85%	17,6	mg/l	TiO(COO.COOK) ₂ .2H ₂ O	73,7	mg/l
NH ₄ NO ₃	20,0	-	(kết tủa bởi NH ₄ OH, lọc và hòa tan trong H ₂ SO ₄ 0,1N)	H ₂ SO ₄ 0,1N:1,01	
KCr(SO ₄) ₂ .12H ₂ O	96,0	-	Cu(NO ₃) ₂ .6H ₂ O	49,4	-
NiSO ₄ .6H ₂ O	44,8	-	Na ₂ WO ₄ .2H ₂ O	17,9	-

Dùng 1ml/l môi trường dinh dưỡng thường.

Dung dịch vitamin của Provason

Thiamin	200	mg/l	Thimin	800	mg/l
Biotin	0,4	-	Cholin-H ₂ -citrate	500	-
Vit. B ₁₂	0,65	-	Inositen	1000	-
Acid folic	2,5	-	Putrexin	40	-
Acid α aminobenzoic	100	-	Riboflavin	5	-
Acid nicotinic	100	-	Piridosamin 2HCl	20	-
Acid orotic	260	-	Pantotenat Ca	100	-

Dùng 1ml/l môi trường dinh dưỡng thường.

2

SPIRULINA

Spirulina là một loại tảo dùng làm thực phẩm chủ yếu lâu đời với con người.

Năm 1921, Bernal Diaz del Castillo ghi lại rằng bích qui có tên là tecuilatl dày đã được bán ở chợ Mexico. Các bích qui này đã được làm ra từ các loại tảo Spirulina, được thu từ vùng nước cạnh hồ Texcoco. Fra Toribo de Benavenic đã đến thung lũng Mexico vào năm 1524, ba năm sau khi những người Aztecs bị thất bại, đã mô tả thổ dân thu lượm các sợi tảo Spirulina bằng vải có lỗ mịn và phơi khô sinh khối màu lục ở trên cát. Sau khi khô thành miếng dày như đồng tiền thì tecuilatl được cắt ra thành từng phần đều đặn. Toribo de Benavenic ghi lại rằng thổ dân ăn nhiều tecuilatl và trông có vẻ trang nhã, hơn nữa sản phẩm thu được thương mại hóa do "các thương nhân của nước đã coi như fromage của chúng ta".

Năm 1963 các nhà nghiên cứu viện Dầu mỏ Pháp đã quan tâm đến các báo cáo về bánh tảo khô gọi là dihé được các thổ dân của miền Kanem (Kanembu) xung quanh hồ Chad ở Trung Phi dùng để ăn. Năm 1964 nhà thực vật học người Bỉ J. Leonard tham gia trong những người Bỉ thám hiểm Sahara đã thấy có dihé trong các chợ của một số làng vùng Kanem. Dihé hồ nước kiếm được xung quanh hồ Chad. Khi quan sát dưới kính hiển vi, dihé gồm các sợi tảo *Spirulina platensis*.

Theo Furst năm 1978, Richmond A.F. 1986, người Kanembu thường thu các sợi tảo sau khi bị gió đẩy vào bờ hồ. Khối tảo này được phụ nữ vớt bằng quả bầu sau đã rải đều trên cát, ở những chỗ lõm tròn, tảo bị khô vì nắng. Bề mặt tảo leo lại và được tách ra thành các hình vuông. Người Kanembu thường ăn dihé với nước sốt đặc, nóng bằng cà chua, ở Chilê người ta ăn cùng với các gia vị khác cùng với thực phẩm ngũ cốc chính (kê). Khi người Kanembu có thịt hoặc cá thì họ dùng dihé ít hơn. Trong các thời kỳ khan hiếm thực phẩm họ sử dụng phần lớn protein từ dihé. Vì vậy dihé có thể xem như dạng "cấp cứu" của thực phẩm giàu protein (Richmond 1966).

Như vậy hai nhóm dân tộc bản địa đã ở cách nhau khoảng 10.000km đã phát hiện ra các đặc tính dinh dưỡng của Spirulina. Trở về Bỉ Leonard J. và Comperé đã phân tích dihé và thấy rằng nó có hàm lượng protein cao rõ rệt, tới

70% trọng lượng khô. Điều đó đã làm cho Clement G. và các cộng sự viện Dầu mỏ Pháp (1967) cũng như Durand Chastel (1980) nêu bật tầm quan trọng về sự sinh trưởng *Spirulina* lúc trồng đại trà để sản xuất bổ sung thực phẩm giàu protein cho người. Fox R. (1986) cũng thấy như vậy.

2.1. Hình thái phân loại tảo *Spirulina*

Spirulina là Tảo Lam hay còn gọi là Vi khuẩn Lam, dạng sợi, đa bào (Trần Văn Nhị et al. 1982). Dạng xoắn ốc của sợi hoặc các tảo bào đoạn là đặc trưng của chi và được duy trì trong môi trường lỏng hoặc môi trường nuôi trồng. Sự có mặt của không bào đầy khí trong tế bào cùng với dạng xoắn ốc của các sợi làm thành những tấm trầm nổi.

Sợi tảo có độ dài từ 50 - 500µm và chiều rộng từ 3 - 5µm. Sợi tảo không được bao phủ bằng bao nhầy như thấy ở Tảo Lam nói chung. Điều này giải thích sự không bám chặt của vi khuẩn hoặc các vi sinh vật khác với tế bào *Spirulina*.

Sự thay đổi về hình thái của chi tảo này đã làm cho việc phân loại khó khăn. Tuy nhiên hai loài chủ yếu đã được mô tả:

Spirulina platensis đồng nghĩa với nó là *Spirulina jenneri* và *Anhosphira platensis*.

Spirulina geitleri và một số đồng nghĩa là *Spirulina maxima* và *Oscillatoria platensis* (Richmond A.F. 1986).

2.2. Đặc tính sinh lý của *Spirulina*

Spirulina được tìm thấy trong đất, đầm lầy, nước sạch, nước mặn, nước biển và suối nước nóng. *Spirulina platensis* và *Spirulina maxima* phát triển mạnh mẽ trong các hồ nuôi có độ kiềm cao ở châu Phi và Mexico. Thực tế thì quần thể Tảo Lam là một loài và gồm có *Spirulina* trong các hồ nước kiềm, ở đó nồng độ muối lên đến 30g/l. pH và tính dẫn điện của nước càng cao thì ưu thế của *Spirulina* càng lớn. Đó là trường hợp trong các hồ của thung lũng nứt rạn của Đông Phi, ở đó pH có thể đạt tới giá trị gần 11 và sodium carbonate là phong phú. *Spirulina platensis* đã được vớt ra từ nước chứa 85 - 270g muối/l và sinh trưởng tối thích của tảo ở giữa 20g và 70g muối/l (Richmond, 1986).

Vi vậy tính kiềm là cần thiết đối với sinh trưởng tối thích của *Spirulina*. pH tối thích là từ 8,3 - 10,3 và Tảo Lam có thể chịu đựng sự tăng pH. Nồng độ muối cao trong môi trường thể hiện biện pháp bảo vệ chống lại sự xâm nhiễm của các loài tảo khác. Sodium bicarbonate (NaHCO_3) là thành phần muối chủ yếu trong môi trường sinh trưởng của tảo *Spirulina* ở nồng độ 0.2M. Sodium và potassium đều cần thiết, sự sinh trưởng tối thích đạt được khi tỷ lệ K/Na là thấp hơn 5.

Spirulina, cũng như đa số các Tảo Lam khác, là loài quang tự dưỡng bắt buộc, nghĩa là nó không thể sinh trưởng trong tối trên môi trường chứa các hợp chất carbon hữu cơ. Sản phẩm quang hợp đồng hóa chủ yếu của *Spirulina* là glycogen. *Spirulina* cố định và khử N khí quyển thông qua phản ứng do enzyme nitrogenase xúc tác.

Spirulina sinh trưởng tối ưu giữa 35 và 37°C dưới điều kiện phòng thí nghiệm. Ở ngoài trời có lẽ nhiệt độ tăng tới 39°C trong vài giờ không làm tổn

hại đến tảo và khả năng quang hợp của nó. Những giòong tảo *Spirulina* ưa nhiệt và chịu nhiệt có thể nuôi trồng ở nhiệt độ 35 - 40°C.

Đặc điểm đó có lợi là thải loại vi khuẩn ưa nhiệt trung bình tạp nhiễm. Nhiệt độ tối thấp đối với sinh trưởng của *Spirulina* là khoảng 15°C vào ban ngày. Ban đêm *Spirulina* có thể chịu nhiệt độ tương đối thấp (Richmond 1986).

Tính chịu đựng của *Spirulina* đối với tử ngoại có vẻ khá cao.

Các nhà khoa học Việt Nam (Nguyễn Hữu Thuộc, Nguyễn Tiến Cư, Đặng Đình Kim, 1994; Đặng Hoàng Phước Hiền, 1978) cũng đã tiến hành nghiên cứu tảo *Spirulina* trong điều kiện ánh sáng nhân tạo ở các chậu thủy tinh nuôi trong môi trường Zarouk có mật độ ban đầu 0,09, 0,12, 0,26 và 0,38g/l (tính bằng tảo khô/l) nguồn sáng là đèn có độ chiếu sáng 20.000 lux, nhiệt độ là 31°C. Ở mật độ cao (0,38g/l) tảo vẫn sinh trưởng nhanh và lượng chứa protein trong tảo cũng cao (67,1% so với mật độ 0,09 là 53,17%). Thực nghiệm tảo *Spirulina* ngoài ánh sáng tự nhiên có cường độ cao của mùa hè ở mật độ khác nhau từ 0,64 đến 3,48g/l thì thấy ở mật độ 0,81-1,85g/l tảo sinh trưởng nhanh nhất. Ở mật độ 3,48g/l tảo bị chết nhiều. Ở mật độ 1,85g/l protein là 66,19% trong khi đó tảo ở mật độ 3,48g/l protein là 56,44%. Kết quả này phù hợp điều kiện nuôi tảo không khuấy sục ở một số tác giả nước ngoài. Các tác giả trên (Nguyễn Hữu Thuộc...) cũng đã tiến hành nghiên cứu môi trường nuôi cấy. *Spirulina* có thể phát triển trên môi trường Zarouk và Na_2CO_3 . Đây là các môi trường dùng hóa chất tinh khiết. Các tác giả đã cải tiến thay các hóa chất bằng phân hóa học (NaHCO_3 công nghiệp, các loại phân NaNO_3 , super phosphate, termophosphate, potassium chloride, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ công nghiệp. Tuy kết quả về sản lượng có thấp hơn trong môi trường Zarouk (90%) nhưng hàm lượng protein thì tốt hơn (57,4% so với 52,2%) (Đặng Hoàng Phước Hiền et al., 1994).

Năm 1982, Đặng Hoàng Phước Hiền và Nguyễn Hữu Thuộc lại tiến hành nghiên cứu nhu cầu dinh dưỡng sắt của tảo *Spirulina*. Thông thường khi sử dụng chất tạo chelat, điển hình là EDTA vào nuôi tảo, hàm lượng sắt trong môi trường dinh dưỡng cũng như khả năng tảo sử dụng những nguyên tố vi lượng khác tăng lên một cách đáng kể. Tuy nhiên tác dụng của EDTA phụ thuộc vào lượng sắt có trong môi trường dinh dưỡng. Khi thiếu Fe thì việc thêm EDTA (40-100mg/l) vào môi trường nuôi cũng kìm hãm tốc độ phát triển của tảo. Khi hàm lượng sắt trong môi trường bình thường (3 - 5mg/l) việc bổ sung vào môi trường 30-40mg/l EDTA sẽ nâng cao hiệu quả sử dụng của sắt. Cùng với việc cải tiến và hoàn thiện môi trường nuôi trồng tảo *Spirulina* trên diện tích lớn các tác giả đã xem xét tác động của Fe đến tốc độ phát triển và phẩm chất của tảo, tìm những dạng Fe thích hợp rẻ tiền. Xác định vùng nồng độ tối ưu trong nuôi trồng và vấn đề kỹ thuật bổ sung Fe trong nuôi trồng liên tục. Các tác giả cũng đã đi đến kết luận rằng Fe là nguyên tố cần thiết và không thể thay thế được trong nuôi trồng tảo *Spirulina* mà còn ảnh hưởng đáng kể đến phẩm chất của chúng. Fe chelat đang là dạng Fe thích hợp để nuôi tảo *Spirulina*. Tuy nhiên, có thể thay thế nó bằng Fe ở các dạng FeSO_4 hoặc $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ mà vẫn đảm bảo tốc độ phát triển và phẩm chất của tảo cũng không thay đổi. Tảo *Spirulina* có thể phát triển bình thường ở giới hạn nồng độ Fe khá rộng từ 0,56 - 56mg/l. Kỹ thuật bổ sung Fe dần dần từng ngày một, đã cho kết quả tốt hơn cách cho toàn

bộ lượng Fe cần thiết khi bắt đầu nuôi trồng cũng như trong suốt đợt nuôi trồng.

Những nghiên cứu này là cơ sở sinh lý cho việc nuôi trồng qui mô rộng sau này.

2.3. Đặc tính sinh hóa của tảo *Spirulina*

Nhiều phân tích được tiến hành ở viện Dầu mỏ Pháp cũng như ở Italia, Nhật Bản, Mexico trên các mẫu *Spirulina* sinh trưởng trong điều kiện phòng thí nghiệm hoặc thu thập trong môi trường tự nhiên đã khẳng định những tài liệu của những nhà khảo cứu người Bỉ: 65% là protein (hơn nhiều so với Đậu nành), 19% là glucid, 6% là sắc tố, 4% là lipid, 3% là sợi, 3% là tro. Thành phần dưới đây của bột tảo *Spirulina* sản xuất ở Thái lan do công ty Tảo Xiêm công bố năm 1985 là: độ ẩm 4-6%, protein thô 55-70%, lipid thô 5-7%, sợi thô 5-7%, tro 3-6%, dịch chiết N tự do 15-20%, phycocyanin 16-20%, chlorophyll 800-2000 μ g%, carotenoid 200-400mg%, provitamin A 110-200mg%, vit. B_1 3-4mg%, vit. B_2 2,5-3,5mg%, vit. B_6 0,5-0,7mg%, vit. B_{12} 0,15-0,25mg%, vit.E 2,5-3,8mg%, acid pantothenic 0,5-0,8mg%, acid nicotinic 9-12mg%, isositol 80-100mg%, acid folic 4-5 μ g%, K 1000-1400mg%, Na 450-500mg%, Ca 100-400mg%, P 300-700mg%, Mg 100-200mg%, Fe 30-50mg%.

Sinh khối *Spirulina* chứa lượng thiamine nhiều hơn gấp 3 lần và lượng caroten nhiều gấp 2 lần so với *Scenedesmus* (Olguin F. J. 1986).

Bột *Spirulina* làm mất nước chứa 55-70% protein thô. Để so sánh hàm lượng protein của trứng khô toàn phần là 47%, của nấm men bánh mỳ là 45%, bột Đậu nành khô 37%, sữa bột 36%, lạc khô 27%, thịt gà 20-24%, thịt bò 18-21%, cá 15-22%, trứng tươi toàn phần 14,8% và sữa bò tươi 39%.

Các protein có thành phần acid amin cân bằng: lượng chứa của methionine, tryptophan, và acid amin khác là tương tự nếu như không phải là cao hơn các acid amin đã có ở trong casein. Thành phần acid amin sau đây (g/100g) của bột *Spirulina* được sản xuất do công ty Tảo Xiêm ở Thailand công bố năm 1985 là: lysine 2,6 - 3,3; phenylalanine 2,5 - 3,3; tyrosine 2,6 - 3,3; leucine 5,9 - 6,5; methionine 1,3 - 2,0; acid glutamic 7,3 - 9,5; acid aspartic 5,2 - 6,0; tryptophan 1,0 - 1,6; cystine 0,5 - 0,7. Acid linoleic và acid linolenic cũng có mặt tới 1g/100g chất khô. Hàm lượng cholesterol là 32,5mg/100g. 10g bột *Spirulina* nghĩa là 1 thìa xúp chỉ chứa 1,3mg cholesterol và 36kcal trong khi 1 lượng như vậy của protein từ trứng chứa 300mg cholesterol và 80kcal. Điều này giải thích tại sao bột *Spirulina* được dùng bổ sung thức ăn cùng với protein và đồng thời nó kiểm chế trọng lượng quá mức. Theo nguồn tài liệu của Nhật Bản liều lượng trung bình được chỉ định từ 2 - 5,8g trong 24h và dùng sau 1 ngày.

Spirulina chứa 4% là acid nucleic, cao hơn hàm lượng trung bình ở thực vật bậc cao (1 - 2%), nhưng thấp hơn so với tảo có nhân (5 - 6%) và thấp hơn nhiều so với nấm men (10%) mà thường dùng trong sản xuất protein đơn bào.

Thành tế bào *Spirulina* ít cellulose so với Tảo Lục có nhân (*Chlorella*, *Scenedesmus*) vì vậy *Spirulina* dễ tiêu hóa. Cường độ đồng hóa của protein của *Spirulina* rất cao: sau 18h hơn 58% protein tiêu hóa và đồng hóa.

Thức ăn trong đó *Spirulina* cung cấp tới 100% protein cho một số loài động vật đã tạo ra tốc độ sinh trưởng giống như dùng thức ăn tiêu chuẩn. Ở trung tâm bò sữa Nhật Bản, các thí nghiệm đã được tiến hành trên 80 con chuột mang thai. Những con chuột này cung cấp thức ăn chứa 5,8 - 23% là bột *Spirulina* cho thấy không có hiệu quả xấu đến bào thai, không làm biến dạng thai và hoạt tính sinh học không bị ảnh hưởng (trong sách "Linavina tảo *Spirulina* của Việt Nam" do xí nghiệp được phẩm số 24 thành phố Hồ Chí Minh xuất bản). Những nghiên cứu nhiều thế hệ chuột đã chứng tỏ rằng không có hiệu quả dị thường và tình bệnh lý ở động vật ăn các thức ăn này (Olguin F. J. 1986). Năm 1978, Nguyễn Hữu Thuộc, Nguyễn Tiến Cui, Đặng Đình Kim, Đặng Hoàng Phước Hiền cũng đã công bố kết quả của mình về giá trị dinh dưỡng của *Spirulina platensis*: hàm lượng protein của tảo *Spirulina* thu được từ 50 - 70% chứa đủ các loại acid amin cần thiết, các vitamin như C, B₁, B₂, B₃, B₁₂, amylase, protease, chất kích thích sinh trưởng và nhiều nguyên tố vi lượng. Các tác giả đã thí nghiệm bổ sung tảo *Spirulina* với lượng 1 - 2% vào khẩu phần thức ăn của gà Sexsakin (trại gà Cầu Diễn Hà Nội). Kết quả cho thấy sau 2 ngày ăn tảo bổ sung màu sắc lông đỏ trứng tăng rõ rệt, lông đỏ quánh đặc, mùi vị thơm hơn, phân tích hàm lượng carotene từ 1,4 - 2,6 lần, vit. A tăng từ 1,5 - 2,6 lần. Các tác giả cũng đã cho vịt Bắc Kinh (36 - 60 ngày tuổi) ăn bổ sung tảo với lượng 0,6% trong khẩu phần ăn. Sau 24 ngày thí nghiệm trọng lượng vịt thí nghiệm hơn đối chứng 241g, lông mượt hơn và tốc độ mọc lông nhiều hơn. Đối với cá thì các loài cá kinh tế như cá Trôi, Mè trắng, Trắm cỏ đều thích ăn tảo. Cá bột được ăn bổ sung tảo thì đạt tỷ lệ sống cao. Cụ thể nuôi cá bột hương với mật độ dày gấp 6 - 8 lần ngoài ao trong nền thức ăn của cá được bổ sung tảo *Spirulina*. Cá hương ngoài ao được bổ sung tảo lớn rất nhanh. Tảo là nguồn bổ sung cho cá vì lượng chứa chất dinh dưỡng cao, có tác động kích thích sinh trưởng cao, không làm đục nước, mở ra khả năng ương cá trong diện tích hẹp, mật độ cao để giảm diện tích ao ương. Dùng *Spirulina* làm nguồn thức ăn cho *Artemia* cũng có kết quả. Đối với chuột và người, *Spirulina* bổ sung vào khẩu phần thức ăn của chuột (khoảng 10%), chuột tăng trọng nhanh, tỷ lệ tiêu hóa N trong tảo đạt từ 80 - 90% (với tảo *Chlorella* tỷ lệ này chỉ đạt 50 - 70%). Thí nghiệm trên người cho thấy: thay thế 15% protein bằng protein của tảo *Spirulina* thì cân bằng N vẫn giữ được bình thường không gây rối loạn tiêu hóa mặc dù mỗi người ăn 30g tảo khô/ngày.

Kết quả nghiên cứu này năm 1980, Nguyễn Hữu Thuộc và ctv cũng đã công bố kết quả của mình trong báo cáo ở viện Hàn lâm Khoa học Bulagarie.

Những năm gần đây người ta đã đi sâu vào việc nghiên cứu một số chất có hoạt tính sinh học ở tảo *Spirulina* và ứng dụng của chúng. Đặng Đình Kim (1993) cho biết rằng, gần đây việc phát hiện và đưa vào sử dụng một số chất có hoạt tính sinh học ở *Spirulina* đã góp phần không nhỏ thúc đẩy quá trình nghiên cứu, sản xuất cũng như ứng dụng có hiệu quả sinh khối tảo này. Một trong những chất có hoạt tính sinh học ở tảo *Spirulina* là phycobiliprotein. Đó là loại sắc tố màu lam có vai trò quan trọng trong quang hợp của Tảo Lam. Ở *Spirulina*, phycobiliprotein chiếm tới 20 - 25% tổng lượng protein tế bào gồm hai sắc tố là C-phycocyanin và allophycocyanin (Bousiha S. et al. 1980; Đặng Đình Kim, 1991). Phycobiliprotein tập trung trong cơ quan tử gọi là

phycobilisome. Hãng Dainippon Chemical and Ink Co. (Nhật Bản) đầu tư một số cơ sở sản xuất đại trà *Spirulina* lớn (18 000 m²) tại Thái lan, chủ yếu để khai thác nguyên liệu cho chế phẩm "Linablue A". Chế phẩm này chứa 30% phycocyanin và được dùng như một chất màu thực phẩm quý có nguồn gốc tự nhiên. Thị trường hiện tại trên thế giới là 10 tấn chế phẩm/năm với giá bán 170 USD/ kg, trong khi đó nhu cầu là 200 tấn/ năm (Gudin C. et al., 1989). Theo các chuyên gia của hãng Cyanotech (Mỹ) thì hãng này đã sản xuất phycobiliprotein từ *Spirulina* nhiều năm nay và đã bán được 40000 USD chế phẩm (Report of Cyanotech Inc, 1985).

Ứng dụng quan trọng của sắc tố lam này là ở chỗ người ta sử dụng tính chất huỳnh quang của nó để đánh dấu các kháng thể đơn dòng trong việc chẩn đoán và phát hiện một số bệnh (Callegari J.F., 1989).

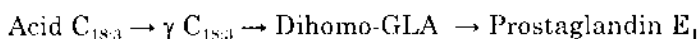
Nhằm mục đích trên, hãng Sigma (Mỹ) bán phycocyanin và allophycocyanin tinh khiết tách từ *Spirulina* với giá gần 130 USD/ mg (Sigma chemic S.A.R.I. 1990).

Điều cần nêu thêm là người ta đã phát hiện phycobiliprotein như một tác nhân chống ung thư ở chuột (Igima, 1982). Vấn đề này hiện đang được các nhà khoa học quan tâm thí nghiệm ở các đối tượng khác.

Một nhóm các chất có hoạt tính sinh học khác quan trọng ở tảo *Spirulina* là các carotenoid. Tổng lượng các chất này ở *Spirulina* là 0,3-0,5% trọng lượng khô (Tornabene T.S. et al., 1985). người ta cũng đã tiến hành đánh giá chất lượng các carotenoid ở tảo khô (Miki N.K. et al., 1986) và ở tảo tươi (Paoletti C. et al., 1971). Tảo *Spirulina platensis* đang được nuôi trồng đại trà ở Việt Nam có tới 10 carotenoid khác nhau: oscillaxanthin, epoxy- β -caroten, myxoxanthophyll, zeaxantin, β -caroten, cismyxoxanthophyll, β -cryptoxantin, echinenone và hydroxy- echinenone. Trong đó đáng lưu ý là myxoxanthophyll, zeaxantin, β -caroten, echinenone là nhóm carotenoid đặc trưng cho cả ngành Tảo Lam (Đặng Đình Kim, 1991).

Một nhóm các nhà khoa học ở trường Đại học Haward (Mỹ) nhận thấy chế phẩm "phycoten" về bản chất là tập hợp các carotenoid và chlorophyll a chiết từ tảo *Spirulina* có tác dụng rất tốt đối với hệ thống miễn dịch cơ thể người trong chống bệnh ung thư (tài liệu Growth, inhibition and destruction of oral cancer cells by extracts of *Spirulina*, 1989).

Ở tảo *Spirulina* có 4 nhóm acylipid chính là MGDG, DGDG, PG và SQDG (Nichols B., 1973; Dubacq J.P., 1986) trong đó, 2 nhóm MGDG và DGDG chứa phần lớn acid γ -linolenic (acid 6,9,12 - octadecatrienic). Acid béo này chiếm tới 20 - 25% tổng lượng acid béo trong tảo và có vai trò rất quan trọng trong trao đổi chất theo sơ đồ sau đây:



Prostaglandin E_1 giúp quá trình điều hòa huyết áp, điều hòa các quá trình tổng hợp cholesterol, quá trình viêm nhiễm và phân chia tế bào (Richmond A.F., 1988).

Mới đây một nhóm các nhà khoa học Mỹ (Gustafson K. et al., 1989) đã chứng minh nhóm acylipid SQDG chiết từ tảo *Lyngbya lagerheimii* và *Phormidium*

tenue có tác dụng làm kìm hãm mạnh mô sự phát triển của HIV.1 ở bệnh AIDS. Vai trò của nhóm này trong tảo *Spirulina* hiện nay đang được nghiên cứu (Nguyễn Thị Đề, 1994). Những phát hiện mới về vai trò của một số chất có hoạt tính sinh học trong *Spirulina* đã làm phong phú thêm vai trò của loài vi tảo này trong y học và dinh dưỡng học mà trước đây đã có một số công trình đã đề cập đến ở một số nhà khoa học Nhật Bản và Mỹ (Hills Ch., 1980).

2.4. Trồng tảo *Spirulina* ở quy mô rộng

Trồng tảo thường tiến hành ở mức nước cạn được khuấy đảo thường xuyên. Nhờ khuấy đảo mà tế bào ở lớp dưới được thay đổi vị trí của tế bào tảo ở lớp trên, làm cho sự phân phối năng lượng mặt trời được đều đặn hơn.

Ciferri Q. T.(1983) đã trồng *Spirulina platensis* và *Spirulina maxima* trong ống nhựa để thuận lợi cho việc thu nhận ánh sáng. Biện pháp này giúp việc tăng về trồng và sản xuất tảo mùa đông ở Italia. Tuy vậy nuôi trong ống nhựa thì quá nóng trong mùa hè, vì vậy mà phải chọn giống chịu nhiệt để trồng vào mùa hè (Stadler T. et al., 1988).

Voushak A. et al.(1982) đã nghiên cứu hiệu quả của việc sử dụng ánh sáng mặt trời, nhiệt độ và mật độ quần thể đến năng suất sinh khối *Spirulina* lúc trồng ngoài trời (sâu 15cm và chứa 30m³ môi trường). Trong sản xuất *Spirulina* mật độ quần thể là nhân tố chủ yếu có tác động sâu xa đến hiệu quả chung của nuôi trồng. Cường độ quang hợp và hô hấp đều giảm khi mật độ tăng lên. Trong khi đó cường độ sinh trưởng đạt cao nhất ở mật độ quần thể thấp hơn (do giới hạn của ánh sáng lúc nuôi trồng ở mật độ đậm đặc). Về mùa hè cường độ ánh sáng là nhân tố hạn chế, trong lúc đó mùa đông, nhiệt độ thấp, ban ngày là nhân tố hạn chế chủ yếu. Trong tất cả mọi mùa duy trì mật độ tảo khoảng 400 - 500mg trọng lượng khô/lít ở độ sâu 12 - 15cm làm tăng sản lượng thu hoạch của chúng.

Ở mật độ thích hợp bức xạ mặt trời xuyên qua tới đáy chỉ 15%, để cho đa số tế bào có thể thu hút ánh sáng mặt trời, khuấy sục là điều cần thiết.

pH nơi nuôi trồng tảo thường cao thì thuận lợi cho sự phát triển của *Spirulina* và thải loại các sinh vật tạp nhiễm. Richmond (1988), nhận thấy rằng pH trên 10,5 thì sản lượng giảm rõ rệt, hình như giới hạn trên của tảo thay đổi theo mùa, theo mật độ quần thể và theo giống. Makagiansar I. T. (1987) cũng nhận thấy như vậy.

Nhiệt độ tối thích là 35 - 37°C. Khi nhiệt độ và pH cao đã tiến hành phân giải các acid hữu cơ. Khi tảo thu hoạch bị gãy trong môi trường trở thành nguồn dinh dưỡng cho tảo.

Richmond A. F. và các cộng sự của phòng thí nghiệm khảo cứu Công nghệ sinh học tảo của viện Nghiên cứu sa mạc Jacob Blaustein (trường Đại học Ben -

nước thải từ các hầm khí sinh vật, bột xương và muối biển thô, với mục đích là thiết kế công nghệ đơn giản có thể giúp cho nhân dân các làng xã tiến hành nuôi trồng tảo *Spirulina*.

Sự khuấy sục môi trường nhiều nơi đã dùng sức gió, người hoặc động vật. Thu hoạch tiến hành nhờ lọc qua vải và phơi khô phần lọc được ở ngoài nắng.

Theo Fox R. D. (1985 - 1986), ở làng Kamia Ấn Độ đã dùng *Spirulina* để ăn và dùng làm nguồn thực phẩm bổ sung hàng ngày cho 150 trẻ em ở làng đó.

Ở Mexico có 2 cách đã được sử dụng để nuôi trồng thu hoạch và sấy khô *Spirulina* với giá thành thấp, có thể áp dụng được cho nhiều làng xã. Đó là dùng nước cống chưa được làm sạch và nước mặn tự nhiên. Một cơ sở có 200m² đã được tiến hành do phối hợp giữa viện Các công nghệ thích ứng của Mexico và ủy ban về hồ Texcoco, sản lượng thu được trong thời gian nuôi trồng bán liên tục 23 ngày không có thêm hóa chất trừ 9000mg CaCO₃/l (Olguin E. J., 1986).

Cách thứ 2 là trồng *Spirulina* trong nước mặn tự nhiên được bổ sung phân bón phân giải yếm khí và bicarbonate thiên nhiên đập vụn ra từ đất. Thu hoạch và phơi khô lần đầu, không thu hoạch lần 2 vì tảo được đổ vào ao cá.

Người ta dùng 3% nước thải từ hầm yếm khí phân giải phân bón (thêm vào 3% trên thể tích) sau 30 ngày phân giải để nuôi trồng tảo là tốt nhất.

Tiếp theo, nghiên cứu được tiến hành năm 1967 khi hợp tác với viện Dầu mỏ Pháp, công ty Sosa - Texcoco của Mexico đã thu hoạch *Spirulina maxima* từ diện tích khoảng 900ha của hồ Texcoco ở độ cao 2200m (so với mặt nước biển) trong thung lũng có nhiệt độ trung bình hằng năm là 18°C (chính nơi đây công ty này vẫn thường tách soda từ khoáng sản của hồ suối này từ năm 1936). Đó là cơ sở sản xuất sinh khối *Spirulina* lớn nhất. Quá trình nuôi trồng gọi là "bán tự nhiên" bao gồm thu hoạch ban ngày và ban đêm. Sinh khối tảo ở đây tăng lên gấp đôi sau 3 - 4 ngày. Sinh khối được thu về, đánh nát cho đồng đều và thanh trùng rồi đem sấy khô.

Cơ sở pilote đầu tiên sản xuất 150 tấn bột *Spirulina*/năm đã đi vào hoạt động từ năm 1973, sau đó đưa lên 500 tấn/năm. Từ năm 1977, Sosa Texcoco đã đầu tư thêm tiền để giải quyết vấn đề công nghệ phát sinh ra do tăng năng suất và cải tiến các thí nghiệm độc học cần thiết trước khi thương mại hóa sản phẩm. Năm 1986, sản lượng hằng ngày của cơ sở này khoảng 2 tấn sinh khối khô (Olguin E. J., 1986). Giá trị sản lượng hằng năm bằng 1/3 thu nhập của công ty nhờ sản xuất bột soda từ khoáng sản của hồ.

Nhật Bản, Mỹ và các nước châu Âu là những nơi nhập khẩu chủ yếu bột *Spirulina* của Mexico. Năm 1982, Mỹ nhập 300 tấn bột *Spirulina*. Tháng 8/1977, công ty Mực và Hóa chất Nhật Bản Dainippon (DIC, Tokyo) đã thiết lập ở Thái lan công ty Tảo Xiêm (SAC) và bắt đầu sản xuất thương mại bột *Spirulina* vào tháng 6/1978 (Soong P., 1980). Công ty DIC ngoài sản xuất mực in còn sản xuất các hóa chất và hóa chất sinh học tinh khiết, các nhựa tổng hợp, chất dẻo, hóa chất dầu mỏ và xi nghiệp máy, vật liệu xây dựng và vật liệu tự ghi, đã có nhiều kinh nghiệm về sinh hóa và lên men, đã thành công trong việc nuôi trồng thuần tảo *Spirulina* và đã tiến hành nghiên cứu *Spirulina* từ năm 1975.

Ở cơ sở Samul - Prakara, gần Bangkok, *Spirulina platensis* được nuôi trồng trong 9 bể với diện tích tổng cộng là 18 000m². Các chất dinh dưỡng N.P.K cũng như CO₂ được đưa vào môi trường, pH khoảng 9. Tảo được thu hoạch bằng lọc, sấy phun khô và tạo thành bột. Năm 1987 đã sản xuất được 70 tấn loại thực phẩm và 37 tấn loại thức ăn động vật (để nuôi cấy tôm) từ bột *Spirulina* và 90% được xuất sang Nhật Bản, số còn lại 10% để sử dụng ở Thailand, chủ yếu là để nuôi cá, tôm và các thí nghiệm làm thức ăn cho gà và gà tây. Ở Nhật Bản DIC bán các viên *Spirulina* làm thực phẩm dinh dưỡng với nhiều tên "Lina green"- thức ăn cho cá "Lina red" và phycocyanin rút ra từ bột *Spirulina* dưới tên "Lina blue A" dùng làm chất màu thực phẩm và trong xi nghiệp các mỹ phẩm.

Ở Việt Nam, một trạm thực nghiệm sản xuất thâm canh và liên tục tảo *Spirulina platensis* đã được xây dựng ở Bình Thuận về phía bắc thành phố Hồ Chí Minh 300km. Sản xuất bán công nghiệp loài Tảo Lam này được bắt đầu từ năm 1983. Tại trại này có 60 bể hình máng ngoài trời bằng bê tông được dùng để nuôi *Spirulina platensis* trong môi trường chứa nước ngầm, các chất khoáng và cát sỏi (nước khoáng giàu sodium carbonate acid theo mao dẫn của đất thấm lên bề mặt đất, gặp gió nóng khô nhanh đóng lại thành lớp muối mỏng màu trắng có lẫn với đất cát, gọi là cát sỏi), một nguồn sodium bicarbonate (có pH của môi trường là 10 - 11) môi trường được khuấy sục bằng hệ thống sục khí nhờ gió. Diện tích tổng cộng của các bể khoảng 5000m². Trong năm 1986 - 1987 sản xuất được khoảng 5 tấn bột *Spirulina* khô trong 9 tháng (tương đương 7-10g chất khô/m²/ngày hoặc quăng 20 tấn/ha/năm (Nguyễn Hữu Thuộc, 1987).

Ở Mỹ, nông trại Earthrise được sự hỗ trợ của công ty Mực in và Hóa chất (DIC) Dainippon Nhật Bản đã xây dựng vào năm 1983 ở Calipatria thung lũng hoàng gia California. Đó là liên đoàn đầu tiên bắt đầu tiến hành sản xuất *Spirulina* trên 130 tấn bột/năm, chủ yếu dùng trên thị trường thực phẩm, nhờ vào sự cố gắng tuyên truyền phổ biến của Hills, 1980 và Switzer 1982. Richmond A. F., 1986. Năm 1987 hãng Công nghệ sinh học Mỹ Cyanotech đã được phụ giúp của hãng Cyanamid của Mỹ (1.6 triệu USD) để phát triển các sản phẩm tảo (trong Biofutur số 58, trang 133, 1987).

Ở Israel công tác nghiên cứu khá mạnh mẽ và trồng đại trà tảo *Spirulina* ở điều kiện phòng thí nghiệm và ngoài trời, đã tiến hành ở phòng thí nghiệm Công nghệ sinh học tảo của viện Nghiên cứu Sa mạc Jacob Blaustein trường Đại học Ben - Gurion của Negev ở Sede Boquer. Viện này nghiên cứu các mặt khác nhau của sự định cư ở sa mạc (con người và nơi ở, môi trường sa mạc, nước và năng lượng, thực vật và động vật, kinh tế và giáo dục). Từ khi xây dựng để tài nghiên cứu tảo vào năm 1974, Richmond A. F. và các cộng sự đã nghiên cứu các hạn chế sinh trưởng lúc nuôi trồng tảo có quần thể đặc để sinh trưởng mạnh mẽ ở ngoài trời để đạt sản lượng cao, làm điều kiện tiên quyết cơ bản để sản xuất thương mại. Dãy rộng của các thiết bị ngoài đồng gồm 4 bể 100m² sắp thành hàng và 12 bể nhỏ hơn, những dàn lác, các ly tâm và thiết bị sấy lạnh để thu hoạch và làm khô tảo. Nhóm nghiên cứu cũng đang xây dựng các hoạt động của cơ sở sản xuất *Spirulina* thương mại. Ein - Yahav Algae được xây dựng nên do công ty Thực phẩm công nghiệp và Hóa chất Roor - Hills ở thung lũng Arava và bắt đầu sản xuất từ năm 1985.

Một cơ sở 2ha để trồng *Spirulina* trong hệ thống kín làm bằng các ống chất dẻo đã được xây dựng ở miền nam nước Italia (hình 2). Chức năng của các ống là các colecteur mặt trời và làm tăng mùa sinh trưởng. Thêm vào đó hệ thống kín ngăn trở các vật nhiễm từ ngoài vào.

Các thực nghiệm ở Florence chứng tỏ rằng khi nhập *Spirulina* trong bể và trong hồ kéo dài từ tháng VII đến tháng IX thì trong các ống bắt đầu từ tháng IV và kết thúc vào giữa tháng XI (Ciferri O., 1981). Dưới các điều kiện tối thích sản lượng đạt đến 20g trọng lượng khô/m²/ngày. Sản lượng hàng năm cao hơn 10 lần so với lúa mì và sản lượng protein hàng năm/ha có thể cao hơn 15 lần so với Đậu nành (Ciferri O., 1981).

Sự cải tiến về di truyền các chủng *Spirulina* có thể làm tăng năng suất một cách rõ rệt. Ví dụ Ciferri O. (1981) đã chia các đột biến *Spirulina platensis* có những vốn gen về một số acid amin trong tế bào của chúng ở các chủng hoang dại, còn về sinh trưởng thì có cùng một tốc độ như nhau. Sosa - Texcoco ở Mexico đã tiến hành nghiên cứu nhằm mục đích tách các chủng do công nghệ di truyền làm cho tảo có thể sinh trưởng lúc thay đổi độ pH môi trường và các điều kiện nhân tạo khác.

Các nhà nghiên cứu của viện Dầu mỏ Pháp đã tiếp tục ứng dụng trồng đại trà tảo *Spirulina*. Loài Tảo lam này được trồng của trạm thực nghiệm viện Nghiên cứu Nông nghiệp Quốc gia Martinio. Ở đây các điều kiện khí hậu rất thuận lợi đối với sinh trưởng của tảo *Spirulina*.

2.5. Môi trường dinh dưỡng nuôi tảo *Spirulina*

Sau đây là môi trường nuôi cấy tảo *Spirulina*:

Môi trường Zarouk

NaHCO ₃	16,8	g/l
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,2	-
K ₂ HPO ₄	0,5	-
CaCl ₂	0,4	-
NaNO ₃	2,5	-
FeSO ₄ .7H ₂ O	0,01	-
K ₂ SO ₄	1,0	-
EDTA	0,08	-
NaCl	1,0	-

Vi lượng 1ml của A₅ và A₆/lit môi trường Zarouk.

Môi trường A ₅ (mg/l)	Môi trường A ₆ (mg/l)
H ₃ BO ₃ 2,86	NH ₄ VO ₃ 229,6.10 ⁻¹
MnCl ₂ .4H ₂ O 1,81	K ₂ Cr(SO ₄).24H ₂ O 966,0.10 ⁻¹
ZnSO ₄ .7H ₂ O 0,222	NiSO ₄ .7H ₂ O 487,5.10 ⁻¹
CuSO ₄ .5H ₂ O 0,079	Na ₂ WO ₄ .2H ₂ O 179,0.10 ⁻¹
MoO ₃ 0,015	Ti ₂ (SO ₄) ₃ 400,0.10 ⁻¹
	Co(NO ₃) ₂ .6H ₂ O 439,8.10 ⁻¹

Bảng 8. So sánh sản lượng của một số cây trồng với *Spirulina*

Đối tượng	Sản lượng(tấn/ha/năm)	
	Trọng lượng khô	protein thô
Lúa mì	4	0,5
Ngô	7	1,0
Đậu nành	6	2,4
<i>Spirulina</i>	50	35,5

VI KHUẨN LAM

ANABAENA AZOLLAE

CỘNG SINH VỚI BÈO DÂU

Bèo hoa dâu (Bèo Dâu) *Azolla* là một loại Bèo nhỏ khu trú ở những vùng nước ngọt, nhất là những vùng có khí hậu nhiệt đới ẩm.

Trước đây Bèo Dâu được xếp vào họ Bèo ong *Salvinaceae*, song gần đây Bèo Dâu được xếp lại thành một họ riêng biệt gọi là Bèo Dâu *Azollaceae*. Theo thống kê của Hills Ch. thì trong Bèo Dâu, đã phát hiện được 25 loài ở dạng hóa thạch và ít nhất có 6 loài hiện đang sống và tồn tại trên thế giới.

Để phân loại Bèo Dâu người ta dựa vào đặc điểm của các cơ quan sinh sản. Trên cơ sở những tài liệu đã công bố thì hiện nay có 8 loài: *Azolla pinnata* R. Br., *Azolla microphylla* Kulfus., *Azolla filiculoides* Lan, *Azolla caroliniana* Wild., *Azolla imbricata*, *Azolla mexicana* Pres., *Azolla macrophylla* và *Azolla nilotica*. Hai loài *Azolla pinnata* và *A. microphylla* phân bố rộng rãi ở các vùng nhiệt đới và á nhiệt đới.

Để phân loại các bèo hiện nay người ta đã dựa vào nguồn gốc, độ lớn của khuôn bèo, hình dạng kích thước của lá bèo, màu sắc của yếm bèo (thùy bụng), màu sắc của lá bèo khi thời tiết và khí hậu thích hợp đối với sinh trưởng và phát triển của bèo (Trần Văn Nhị et al., 1982).

Ngoài ra người ta còn thu được một số bèo tự nhiên quen sống với khí hậu thời tiết từng vùng như Bèo tía (Thái Bình), Bèo xanh (Nam Định), Bèo Tịnh Tâm (Huế), Bèo Ngọc Hiến (Bạc Liêu), Bèo Tân Thuận (Nhà Bè). Các loài này có khả năng chống chịu giỏi trong điều kiện bất lợi của từng vùng và là nguồn gene cho việc lai tạo các giống Bèo Dâu thích nghi, phục vụ cho việc thâm canh nông nghiệp ở địa phương.

3.1. Một số đặc điểm thực vật học của Bèo Dâu

Trong tự nhiên cây Bèo Dâu tồn tại ở thể bào tử sống trôi nổi trên mặt nước và biệt hóa thành các cơ quan một tách rõ rệt: thân, cành, lá, rễ, khi già có

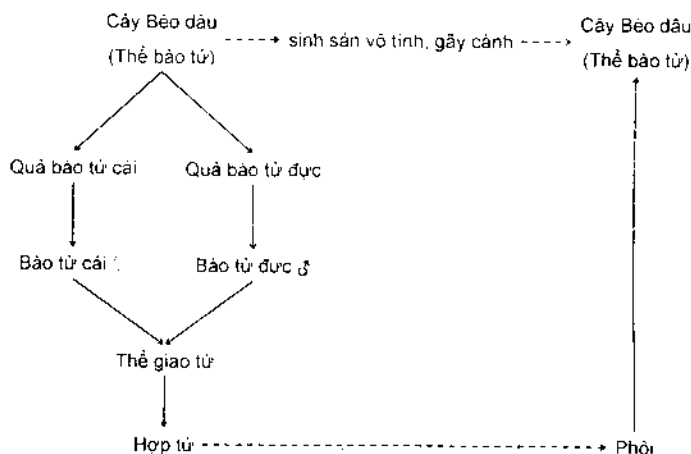
thêm quả bào tử. Từ hai phía của thân chính có nhiều cành mọc xen kẽ, trên mỗi cành lại có nhiều lá nhỏ mọc xen kẽ về 2 phía, trên ngọn có búp bèo. Cành, lá và búp phân bố đều đặn trên cùng một mặt phẳng và hướng về mọi phía tạo khuôn bèo. Khi bèo đầy khuôn thì chiều dài từ gốc tới ngọn theo thân chính có thể đạt tới 1,5 - 1,8cm, chiều ngang khoảng 0,8 - 1,5cm. Lá bèo màu xanh chia thành thùy lưng, thùy bụng. Thùy lưng màu xanh chứa nhiều diệp lục, phía trong có các khoang chứa Tảo Lam sống cộng sinh. Phía trên mặt thùy lưng chứa nhiều lông tơ nhỏ. Thùy bụng tiếp xúc với mặt nước, màu trắng hoặc phớt hồng, không chứa diệp lục. Tuy nhiên, tùy theo giống mà thùy bụng có màu sắc khác nhau. Ở giống Bèo xanh, yếm bèo thường trắng bạc. Bèo tía thì yếm bèo có màu phớt hồng. Khi già yếm lá chuyển thành màu nâu Rễ bèo sinh ra từ điểm phân nhánh của thân nổi, có đốt và từ đó rễ có thể phân nhánh rễ treo lơ lửng trong nước, đẩy lông hút bao quanh. Lật ngửa thân bèo có thể thấy 5 loại rễ khác nhau: rễ kim là rễ non, màu nhạt có bao rễ, có nhiều lông hút. Khi trưởng thành rễ kim rụng bao rễ thì biến thành rễ non, mềm, trắng gọi là rễ bún. Rễ bún trưởng thành lông hút rụng gần hết, chuyển sang màu nâu hoặc nâu sẫm. Nhiễm sắc thể của *A. pinnata* là $2n : 44$ và của *A. caroliniana* là $2n : 48$.

3.2. Sinh trưởng phát triển của Bèo Dầu

Bèo Dầu sinh trưởng phát triển chủ yếu bằng con đường vô tính. Khi phát triển thành khuôn, cánh bèo nhỏ với rễ non tách rời khỏi mẹ (trong điều kiện thuận lợi, trung bình 2 - 3 ngày bèo mẹ sinh thêm 1 cánh mới và một cánh cũ tách khỏi mẹ). Sau 3 - 5 ngày, Bèo Dầu cơ thể lại nhân đôi một lần. Vì vậy sản lượng hàng năm đạt 300 - 400 tấn/ha.

Khi đã trưởng thành từ nách lá già xuất hiện các chùm quả gọi là quả bào tử. Thường từ một nách có một quả bào tử đực hoặc một quả bào tử cái. Mỗi cánh bèo có từ 5 - 6 cặp quả bào tử. Mỗi quả bào tử có 7 - 10 tiểu bào tử nang và trong mỗi bào tử nang có từ 4 - 10 khối bào tử đực. Quả bào tử cái thường nhỏ hơn quả bào tử đực nhiều lần và chỉ có một túi bào tử cái với một đại bào tử duy nhất xung quanh bao phủ nhiều lông. Trong nang bào tử cái cũng có những khối đại bào tử nhưng không có bào tử. Người ta cho đó là những túi khí dùng để duy trì sự cân bằng nước trong đại bào tử nang hoặc để tách nhiệt.

Khi phóng thích khỏi bào tử nang, khối tiểu bào tử với vô số bào tử đực dùng lông móc bám



Hình 3. Chu kỳ sinh sản vô tính và hữu tính của cây Bèo Dầu

vào lòng của dị bào tử và tạo thành thể giao tử. Thể bào tử sẽ phân chia thành nguyên tản và biến thành tản noãn khi chỉ chứa một bào trứng duy nhất.

Sau khi thụ tinh hợp tử phân chia nhiều lần để biến thành dị bào tử. Đó là cây Bèo Dâu.

3.3. Đặc điểm sinh lý của Bèo Dâu

Bèo Dâu có khả năng to lớn trong việc cung cấp N cho cây trồng. Yếu tố cố định N ở đây chủ yếu là Tảo Lam *Anabaena azollae* sống cộng sinh với Bèo Dâu. Trong điều kiện sinh trưởng phát triển tốt lượng N do tảo cố định được không những đã đáp ứng cho nhu cầu thức ăn N của cây Bèo Dâu mà còn có khả năng xuất một phần N đã cố định ra ngoài môi trường xung quanh. Chính vì thế mà những nghiên cứu về sinh lý của Bèo Dâu thường được tập trung chủ yếu vào việc quan sát mối quan hệ cộng sinh giữa Bèo Dâu và Tảo Lam. Cũng như nhiều thực vật khác Bèo Dâu khi tiến hành quang hợp, thải oxygene vào môi trường. Chúng có khả năng cố định N phân tử và cũng thải hydrogene vào môi trường. Theo một số tác giả (Peters G. A. et al. 1974, 1977; Ray T. B. et al. 1978) cố định N và thải H chỉ xảy ra ở tảo cộng sinh với bèo. Tách tảo khỏi bèo thì bèo không có khả năng trên, trái lại Tảo Lam có khả năng thải H và cố định N với tốc độ cao (Trần Văn Nhị, Hoàng Thị Hoa, Lê Văn Quý, Nguyễn Thị Hồng, 1982). Các tác giả này còn thấy rằng ở Bèo Dâu quá trình thải H và cố định N đặc trưng cho tảo cộng sinh còn thải oxygene chủ yếu do quá trình quang hợp của Bèo Dâu.

Nhiệt độ có ảnh hưởng quan trọng và trực tiếp đến sinh trưởng và do đó ảnh hưởng đến khả năng cố định N của Bèo Dâu. Tùy thuộc loài, Bèo Dâu có nhu cầu nhiệt độ tối thích khác nhau. *Azolla pinnata* và *Azolla microphylla* có nhiệt độ tối thích vào khoảng 25 - 35°C, còn *A. mexicana* và *A. filiculoides* là 20 - 30°C. Nếu nhiệt độ cao (35 - 38°C) kết hợp ánh sáng cao (50000 lux) thì cường độ quang hợp ở trị số âm và sau 9 - 10 ngày thì bèo chết hết. Ánh sáng vào khoảng 12 - 18000 lux thì quang hợp bão hòa, chứng tỏ rằng Bèo Dâu là cây ưa bóng (mùa hè ánh sáng nhiều ngày trên 5000 lux (Nguyễn Hữu Thuộc & etv, 1978). Khi bèo ở nhiệt độ và ánh sáng cao thì từ màu xanh chuyển sang màu đỏ (sau 5 - 7 ngày), hàm lượng anthocyanin thay đổi nhiều còn hàm lượng các sắc tố quang hợp chưa biến đổi đáng kể (Trần Văn Nhị và một số người khác, 1982). Các tác giả này cũng thấy rằng Tảo Lam cộng sinh với Bèo Dâu tỷ lệ hàm lượng diệp lục bước sóng dài và bước sóng ngắn rất thấp so với các loài Tảo Lam khác. Trong điều kiện ánh sáng cao, cố định N và thải H (do Tảo Lam trực tiếp tiến hành) bị ức chế sớm nhất.

Đối với độ pH Bèo Dâu phát triển bình thường trong phạm vi khá rộng (4-8), nhưng tốt nhất pH: 5.5 - 7.5. Trong thực tế, độ chua của đất có ảnh hưởng đến Bèo Dâu, bởi vì độ chua ảnh hưởng đến sự hòa tan các nguyên tố dinh dưỡng nhất là P. Độ pH càng cao P càng dễ bị kết tủa và nhanh chóng biến dạng khỏi dung dịch.

Về nhu cầu dinh dưỡng khoáng của Bèo Dâu: thiếu phân N không ảnh hưởng trực tiếp đến sinh trưởng phát triển của Bèo Dâu, nhưng thiếu P và K chẳng những ảnh hưởng đến quá trình sống của Bèo Dâu mà còn ảnh hưởng

đến quá trình cố định N của chúng. Theo Võ Minh Kha và Trần Quang Thuyết (1972) thì hàm lượng các chất khoáng hòa tan ảnh hưởng mạnh đến sinh trưởng của Bèo Dâu và không vượt qua khỏi giới hạn 90 - 150mg/l. Trong điều kiện đồng ruộng nồng độ khoáng thường là 40 - 270mg/l. Vì vậy, phải chọn giống Bèo Dâu chịu đựng được nồng độ muối cao. P và K rất cần cho Bèo Dâu và hầu như các giống Bèo Dâu khác nhau cần P gần như nhau và bằng 0,8mgP/lít môi trường dinh dưỡng (Lê Văn Căn, 1959).

3.4. Sự cố định N của Bèo Dâu với việc nâng cao sản lượng cây trồng.

Hệ cộng sinh "Bèo Dâu - Tảo Lam" là một hệ quang cố định N hoạt động rất có hiệu quả. Có thể quan sát khả năng cố định N bằng tách theo dõi sự sinh trưởng phát triển của Bèo Dâu nuôi trong môi trường không có N, xác định N từng số của phần sinh khối Bèo Dâu gia tăng sau một quãng thời gian nhất định hoặc theo dõi bước đi của $^{15}\text{N}_2$ khi nuôi Bèo Dâu trong môi trường mà N_2 không khí được thay bằng $^{15}\text{N}_2$. Có thể phát hiện được ammonium có N đánh dấu trong cơ thể Bèo Dâu. Phương pháp đánh dấu này nhanh, chính xác nhưng đòi hỏi thiết bị đắt tiền.

Trong những năm gần đây, phương pháp khử acetylene (C_2H_2) thành etylene (C_2H_4) được áp dụng rộng rãi trong nghiên cứu cố định N. Xúc tác cho quá trình khử N_2 không khí thành ammonium là nitrogenase. Ngoài N không khí còn khử được nhiều cơ chất khác như acetylene, H_2 , v.v..., mà acetylene thì không gây độc cho cơ thể sinh vật và dễ kiểm trong phòng thí nghiệm. Phản ứng theo phương trình: $\text{HC}\equiv\text{CH} + \text{H}_2 \xrightarrow{\text{Nitrogenase}} \text{H}_2\text{C}=\text{CH}_2$

Nitrogenase

Lượng etylene hình thành được xác định bằng sắc ký khí với détecteur ion hóa ngọn lửa có độ nhạy cao và chỉ dùng để phân tích các chất khí chứa được. Khử acetylene là phương pháp gián tiếp đánh giá khả năng cố định N của sinh vật, không những ở phòng thí nghiệm mà cả ở hiện trường ngoại vi (in-situ).

Nghiên cứu của các nhà khoa học Việt Nam cho thấy khả năng cố định N cao và cho sản lượng sinh học lớn của Bèo Dâu. Từ 1 ha nuôi trồng quanh năm Bèo Dâu cho thu hoạch 300 - 400 tấn sinh khối tươi với lượng N chứa trong đó tương đương với 900 - 1200kg N nguyên chất (hoặc tương đương với 2 tấn phân urea). Sở dĩ có khối lượng sinh học cao như vậy vì Bèo Dâu tăng trưởng rất nhanh. Trong điều kiện đồng ruộng được chăm sóc tốt, Bèo Dâu tự phân đôi cơ thể sau 5 - 7 ngày, cá biệt có trường hợp chỉ sau 3 - 5 ngày Bèo Dâu *A. filiculoides* nuôi trồng ở 25°C giảm thời gian nhân đôi sinh khối còn 2,5 ngày (60h) với N tổng số là 4% chất khô. Kết quả nuôi trồng sau 46 ngày thu hoạch được 2270kg bèo khô/ha với 93kg N nguyên chất. Dùng toàn bộ số bèo thu được đó bón cho 1ha lúa cho sản lượng 3,6 tấn/ha so với đối chứng không bón là 1,2 tấn (Mỹ). ở ta cũng thu được kết quả tương tự đối với *A. pinnata*. ở nhiều giống Bèo Dâu hệ cộng sinh Bèo Dâu-Tảo Lam hoạt động mạnh đến mức mà Bèo Dâu không tiêu thụ hết lượng N cố định được, buộc phải xuất ra môi trường xung quanh dưới dạng NH_4^+ , acid amin tự do, peptid hoặc có thể có cả chất kích thích sinh trưởng. Thí nghiệm cho thấy rằng hầu hết các giống Bèo Dâu thuộc *A. pinnata* hiện có đều có thể xuất N ra môi trường xung quanh, tùy mức độ có khác nhau.

Trong điều kiện nuôi trồng tự nhiên có tới 20 - 30% tổng số N cố định xuất ra môi trường xung quanh trong đó dạng ammonium chiếm khoảng 40% còn lại là các dạng N liên kết chủ yếu là acid amin tự do và peptid.

Kết quả phân tích nhiều ruộng lúa ở Mỹ cho thấy lượng ammonium trong nước ruộng có nuôi Bèo Dâu luôn cao hơn ở ruộng không có Bèo Dâu ít nhất là 7 - 8 lần. Nếu trong quá trình sinh trưởng và phát triển, cây lúa luôn được bảo đảm cung cấp N đầy đủ như vậy thì sản lượng thu được chắc chắn sẽ cao. Kết quả nghiên cứu này đã mở ra phương hướng mới trong việc nghiên cứu tìm phương thức sử dụng thích hợp Bèo Dâu trong sản xuất, đồng thời càng làm rõ thêm khả năng tiềm tàng cũng như triển vọng to lớn của Bèo Dâu trong việc cung cấp N cho cây trồng.

3.5. Thành phần hóa học của Bèo Dâu và khả năng sử dụng trong chăn nuôi

Kết quả phân tích ở Bèo Dâu cho thấy hàm lượng N tổng số rất cao, dao động từ 3 - 5% chất khô, trung bình 4%. Nếu như đem giá trị đó nhân với 6,25 thì sẽ được kết quả về hàm lượng protein trong Bèo Dâu khoảng 25% chất khô. Ngoài ra trong bèo có khá nhiều glucid, lipid tương ứng là 6,4 và 4,4%. Đáng chú ý là Bèo Dâu chứa một lượng đáng kể tiền vitamin A và vitamin B₁₂. Trong 1 tấn Bèo Dâu có 70mg vit.B₁₂. Trong Bèo Dâu cũng có đủ 10 loại acid amin không thay thế với hàm lượng khá cao. Như vậy rõ ràng là Bèo Dâu là một nguồn thức ăn chăn nuôi có giá trị. Một kg Bèo Dâu khô có giá trị bằng 0,75 đơn vị thức ăn, trong khi đó 1kg cỏ Mực Túc chỉ bằng 0,48 đơn vị thức ăn. Song không thể dùng Bèo Dâu làm thức ăn tinh thay các loại thức ăn truyền thống cho vật nuôi. Sở dĩ như vậy vì trong Bèo Dâu có quá nhiều nước (90%). Vì vậy việc vận chuyển Bèo Dâu từ nơi sản xuất chuyên canh đến nơi tiêu thụ gặp khó khăn.

Gần đây đã tiến hành những thí nghiệm nghiền ép và sơ chế, từ một tấn bèo tươi thu được 300kg bã tươi (hoặc 50kg xác bèo đã sấy khô với hàm lượng protein 23,1%) và 700kg dịch bèo giàu protein hòa tan. Tảo Lam và các chất hòa tan khác như đường tan, lipid, vitamin và khoáng chất. Phần bã tươi có thể sử dụng để ủ chua làm thức ăn cho gia súc. Dịch ép được sử dụng hoặc dùng acid chlorhydric để kết tủa protein và tảo đem sấy khô làm thức ăn bổ sung cho gia súc; từ 700kg dịch này có thể thu được 78kg chế phẩm khô với hàm lượng 48% protein. Hoặc là, dùng dịch ép đó nuôi nấm men để thu sinh khối. 700kg dịch thu 7-8kg chế phẩm men khô với hàm lượng protein là 60%.

Kết quả phân tích trên bảng 9 cho ta thấy thành phần acid amin của chế phẩm thu được từ Bèo Dâu khá cân đối.

So sánh kết quả phân tích thành phần acid amin ở dịch Bèo Dâu trước và sau khi thủy phân bằng acid cho thấy sự chênh lệch khá lớn về hàm lượng mỗi loại acid amin. Sau khi thủy phân, tất cả các acid amin đều cao hơn. Điều đó chứng tỏ trong dịch này còn chứa nhiều hợp chất peptid.

Với thành phần hóa học này có thể khẳng định khả năng sử dụng Bèo Dâu làm thức ăn xanh cho gia súc, gia cầm bằng tách trộn với thức ăn tinh, cho ăn

Bảng 9. Thành phần acid amin của các phân đoạn Bèo Dâu.

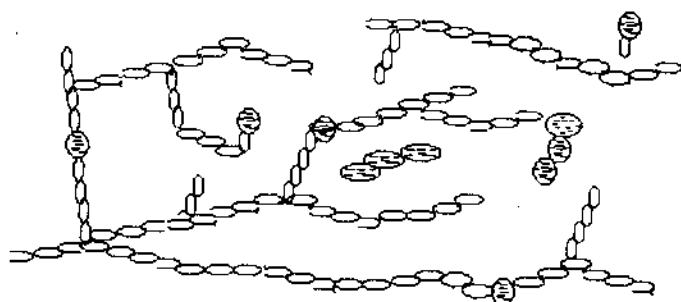
Acid amin	Từ bã bèo		Từ dịch bèo		Acid amin tự do trong dịch bèo sau kết tủa protein mg/ 100ml	
					Trước thủy phân	Sau thủy phân
	% chất khô	% protein	% chất khô	% protein		
A. aspartic	1,2	5,2	3,4	7,2	0,70	1,7
Threonine	1,2	5,2	3,0	6,3	0,40	0,9
Serine	1,5	6,4	3,5	7,3	-	-
A. glutamic	3,0	12,9	6,0	12,6	-	4,0
Proline	1,5	6,4	2,5	5,3	0,28	0,8
Glycine	3,6	15,5	7,3	15,3	0,48	2,7
Alanine	1,8	7,7	3,5	7,3	2,30	2,7
Valine	0,6	2,6	1,1	2,3	0,18	0,6
Isoleucine	1,2	5,2	1,2	2,5	0,30	0,5
Leucine	2,4	10,4	4,0	8,7	0,15	0,5
Tyrosine	1,4	6,0	3,0	6,3	0,08	0,2
Phenylalanin	1,5	6,4	3,0	6,3	0,55	0,7
Lysine	0,9	3,9	2,6	5,5	0,50	1,7
Histidine	0,4	1,7	0,46	0,9	0,20	1,2
Arginine	1,1	1,7	3,0	6,3	0,60	1,7

trực tiếp hoặc sơ chế rồi sấy khô làm nguyên liệu cho thức ăn bổ sung giàu vitamin cho chăn nuôi.

3.6. Hệ cộng sinh "Bèo Dâu - Tảo Lam" (*Azolla* - *Anabaena*)

Trong suốt quá trình sống của Bèo Dâu, Tảo Lam *Anabaena azollae* luôn luôn có mặt trong các khoang lá (túi bèo) ở phía thùy lưng. miệng túi mở về thùy bụng của lá Bèo Dâu. Vì toàn bộ phần trên của lá Bèo Dâu nằm trong không khí (khi Bèo Dâu phát triển tốt, lá bèo dựng đứng lên) nên túi bèo cũng nằm trong không khí. Bèo tốt, lá to và rộng thì túi bèo càng lớn. Bên trong túi bèo chứa đầy Tảo Lam. Đó là những chuỗi tế bào dinh dưỡng hình trứng màu xanh nhạt, thỉnh thoảng lại có một tế bào phình to hơn, bóng, có 2 vỏ và không chứa diệp lục gọi là dị bào (tế bào dị hình). Bên cạnh đám tế bào dị hình và tế bào dinh dưỡng còn có những đám tế bào to hình tròn nằm riêng ra - đó là những bào tử của tảo *Anabaena azollae*.

Hiện nay chưa ai tìm ra một loại Bèo Dâu nào không có Tảo Lam cộng sinh, cho nên cơ chế xâm nhiễm của Tảo Lam vào lá Bèo Dâu như thế



Hình 4. *Anabaena azollae* tách từ bèo dâu

nào vẫn chưa rõ. Chỉ biết rằng lúc đầu sợi Tảo Lam kết chặt với các tế bào biểu bì có lông bên trong mầm lá vừa mới biệt hóa từ mô phân sinh. Do ngọn bèo luôn luôn cong lên, không tiếp xúc với mặt nước, lại được các lá già bảo vệ nên Tảo Lam không bao giờ tiếp xúc với môi trường bên ngoài. Trong quá trình phát triển của lá Bèo Dâu, sợi Tảo Lam dần dần được bao lại thành cái khoang chứa Tảo Lam bên trong thùy lưng bèo và Tảo Lam luôn luôn sinh trưởng đồng bộ. Khi lá đã trưởng thành thì sự phân chia của các tế bào cộng sinh cũng bắt đầu giảm. Nhiều tế bào sinh dưỡng tự phồng lên biệt hóa thành tế bào dị hình. Chính các tế bào này là nơi xảy ra quá trình khử N khí trời thành dạng ammonium (NH_3). Tảo Lam không bao giờ sinh trưởng quá mức để có thể lấn ra ngoài giới hạn khoang lá. Mặc dầu đã mất nhiều công tìm kiếm nhưng cho đến nay vẫn chưa ai tìm được một loài Tảo Lam nào khác ngoài *Anabaena azollae* sống cộng sinh với Bèo Dâu. Cũng đã phát hiện được các vi khuẩn sống kèm với Bèo Dâu như *Azotobacter*, song thành phần loài và số lượng của chúng không đáng kể khi Bèo Dâu sinh trưởng và phát triển tốt. Có lẽ vì thế mà khu hệ vi khuẩn này không giữ vai trò quan trọng nào đối với khả năng cố định N của Bèo Dâu. Khi khảo sát sự liên quan giữa cấu tạo tế bào và sự vận chuyển chất hòa tan ở cơ thể Bèo Dâu, người ta không phát hiện được sự liên quan nào giữa khoang bèo với hệ thống bó mạch ở thân hoặc ở cánh Bèo Dâu. Tuy nhiên, thấy có một số tế bào biểu bì với lông tơ bọc lót màng trong của khoang lá, cấu trúc này giống như loại cấu trúc của các tế bào tham gia vận chuyển các chất hòa tan ở cự ly không xa.

Gần đây bằng việc sử dụng enzyme phân hủy cellulase, người ta đã bóc đến hết thịt lá, tách được các túi đựng Tảo Lam nguyên vẹn. Quan sát dưới kính hiển vi có thể nhận biết một cách dễ dàng các sợi Tảo Lam với 3 loại tế bào đặc trưng là tế bào sinh dưỡng, tế bào dị hình và bào tử.

Khi sống cộng sinh với Bèo Dâu, tỷ lệ giữa tế bào dị hình với tế bào sinh dưỡng rất cao. Số lượng tế bào dị hình chiếm khoảng 18 - 25% tổng số tế bào Tảo Lam. Theo Hills Ch, tỷ lệ này thay đổi từ 15% ở lá thứ 5 tính từ ngọn đến lá thứ 15, từ lá thứ 16 trở đi tỷ lệ này được giữ nguyên.

Trong tổ hợp *Azolla* - *Anabaena* cả Bèo Dâu lẫn Tảo Lam đều quang hợp. Hàm lượng diệp lục của tảo cộng sinh chiếm từ 15 - 20% tổng số diệp lục của hệ sắc tố quang hợp của cả sinh vật sống kết hợp này pha trộn hài hòa cho nên khi cộng sinh chúng sử dụng quang năng tốt hơn khi sống riêng lẻ.

Trong điều kiện cộng sinh như thế, Bèo Dâu vừa bảo vệ Tảo Lam tránh được những tác động cơ học, vật lý học và hóa học, vừa hỗ trợ thêm chất dinh dưỡng và năng lượng cho Tảo Lam. Về phần mình, nhờ có khả năng biến N không khí thành ammonium, Tảo Lam trả lại cho Bèo Dâu thức ăn N dễ tiêu hoặc các yếu tố dinh dưỡng khác để Bèo Dâu sinh trưởng và phát triển.

Về mối quan hệ giữa Tảo Lam với môi trường khi thiếu phosphore, qua kết quả nghiên cứu của một số tác giả (Nguyễn Hữu Ninh, Nguyễn Văn Mùi, G. Borbely, 1986) thấy rằng Tảo Lam có khả năng cố định N không khí khi môi trường có phân N có tốc độ sinh trưởng gấp đôi sau 16 - 18h, còn trong môi trường không có phân N sinh khối tăng gấp đôi sau 30 - 32h, chúng tỏ rằng mặc

dầu chúng có khả năng cố định N không khí, song môi trường có phân N thì khả năng đó tăng lên và tạo điều kiện cho việc tăng sinh khối của Bèo Dầu.

Khi chuyển Tảo Lam từ môi trường có phosphore sang môi trường không có chất này thì chúng phát triển rất chậm và có một số đặc điểm sinh lý, sinh hóa thay đổi quan trọng như xuất hiện một loạt enzyme phosphatase kiềm mới giúp cho chúng thích nghi với điều kiện thiếu phosphore, có ảnh hưởng rõ rệt đến hoạt tính 5'-nucleotidase; quá trình sinh tổng hợp polyamin có nhiều thay đổi. Hàm lượng một số polyamin tăng và giảm xuất hiện một số vết polyamin mới (trên sắc ký đồ), còn hoạt tính nitratreductase và nitrogenase không bị ảnh hưởng nhiều. Qua đó thấy rằng phosphore có vai trò quan trọng trong quá trình trao đổi chất của Tảo Lam *Anabaena azollae*. Chính vì vậy mà nhiều nơi nuôi Bèo Dầu đã dùng phân "lân dễ溶解 lấy đạm" trong Bèo Dầu.

3.7. Nuôi trồng Bèo Dầu.

Để có thể nhân giống và nuôi trồng Bèo Dầu có kết quả thì trước hết phải đảm bảo các yêu cầu sau:

- Chủ động được nước để tưới tiêu khi cần thiết.
- Luôn có dự trữ phân phosphore (tốt nhất là supper phosphate), phân kalium và các loại thuốc trừ sâu như Vofatoc 666, bình phun và một số dụng cụ khác.

- Có cán bộ kỹ thuật có trình độ.

- + Ô nuôi Bèo Dầu: diện tích nhân giống thường chiếm từ 10 - 15% diện tích ruộng cấy Bèo Dầu. Ruộng bèo giống cần được cày bừa làm đất kỹ, chia ô nhỏ (20 - 40m²), trồng cây bộ Đậu để chắn gió.

Bón phân. Mực nước trong ô sâu 5 - 10 hoặc 15cm.

- + Chọn bèo giống và mật độ thả

Khuôn bèo đầy đặn, cỡ lớn 1cm, có khoảng 10 - 12 cành con. Lá bèo xanh, to, mập, rễ bèo trắng. Bèo Dầu không sâu bệnh. Mật độ khoảng 0,7 - 0,8kg bèo tươi/m². Sau 3 - 5 ngày san bèo dần.

- + Năm qui trình kỹ thuật chăm sóc bèo, chú ý đến việc chống sâu phá hại bèo.

- + Chăm sóc thả bèo trong ruộng lúa.

Trước khi thả ra ruộng cần được trừ sâu, đảm bảo chế độ nước và dinh dưỡng cho Bèo Dầu sinh trưởng tốt.

4

TẢO SILIC

4.1. Sơ lược nghiên cứu

Nghiên cứu nuôi cấy tảo Silic làm thức ăn cho ấu trùng tôm ở giai đoạn zoea đã được nhiều người chú ý.

Năm 1942, Motosaku Fujinaga (Nhật Bản) đã phát hiện một loài tảo Silic là *Skeletonema costatum* có thể sử dụng làm thức ăn tốt cho tôm ở giai đoạn zoea.

Sau này, đã có nhiều công trình nghiên cứu tìm ra thêm nhiều loài tảo khác dùng làm thức ăn cho ấu trùng tôm giai đoạn zoea như *Chaetoceros* (*Chaetoceros gracilis*, *Chaetoceros calcitrans*, *Chaetoceros simplex*...), *Phaeodactylum* (*Ph. tricornutum*), *Nitzschia* (*N. closterum*).

Vào đầu thập kỷ 70, Rasther J. và cộng sự thuộc viện Nghiên cứu Hải dương học Woods Holes đã phát triển một hệ thống khép kín nuôi trồng thực vật nổi ở biển (Marine phytoplankton) trên nước thải trộn với nước biển và thu tảo để dùng vào việc nuôi tôm cá một cách trực tiếp. Hệ thống này có thể coi như tương đương với hệ thống nuôi trồng tảo nước ngọt của Oswald W. I. và các cộng sự.

4.2. Đặc tính sinh lý, sinh hóa của tảo Silic.

Phaeodactylum tricornutum là một loài tảo Silic (Khuê Tảo) có chứa nhiều lipid, tới 34% trọng lượng khô khi hạn chế thức ăn N. Các loại lipid chủ yếu được tích lũy là acid palmitic, acid hexadecanoic, acid polyenoic C - 20. Nhịp độ sản xuất sinh khối của *Phaeodactylum* có thể đạt trên 40g/m²/ngày. Có thể coi đó là một trong những loài tảo giàu lipid nhất (Richmond A. F., 1986).

Các nhà nghiên cứu ở phòng thí nghiệm Công nghệ sinh học tảo của Viện Nghiên cứu sa mạc Jacob Blaustein (Đại học Ben - Gurion của Negev ở Sede Boquer, Israel) đã tìm cách phát triển kỹ thuật nuôi cấy lớn của các tảo chịu mặn chứa nhiều lipid.

Chẳng hạn, Boussiba S. và cộng sự (1986) đã nuôi trồng thành công tảo *Isochrysis galbana* chịu mặn trong một ao lộ thiên rộng 100m² vào mùa hè. Tảo này thuộc loại phytoflagellate (thực vật có lông roi) sống tự do ở biển, di động được khi thiếu N có thể tích lũy nhiều lipid trong tế bào (tới 40% trọng lượng

khô của sinh khối), đồng thời cũng tích lũy nhiều glucid. Tảo *Isochrysis* cũng tích lũy được các alkenol và acid béo chưa bão hòa loại poly (polyinsaturat) (acid gras polyinsaturat: acid béo nhiều gốc không no). Các nhà nghiên cứu Israel đã nuôi cấy tảo hỗn hợp theo kiểu gián đoạn hay bán liên tục trong thời gian 45 ngày. Sinh khối tảo được thu nhận sau khi kết tủa bằng chloride sắt và được làm nổi lên nhờ không khí hòa tan. Sản lượng trung bình của sinh khối là $23,5 \pm 1,5 \text{ g/m}^2/\text{ngày}$ và sản lượng lipid đạt $5,6 \pm 0,5 \text{ g/m}^2/\text{ngày}$.

Tương tự như vậy, Boussiba S. và cộng sự (1986) đã nghiên cứu hiệu quả của các nhân tố môi trường đối với nhịp độ sinh trưởng, lượng chứa lipid trong tế bào và đối với sản lượng của một loài tảo khác - *Nannochloropsis salina* trong điều kiện nuôi cấy bằng nước biển nhân tạo hoặc nước biển có bổ sung dinh dưỡng. Trong điều kiện tối ưu của phòng thí nghiệm nhịp độ sinh trưởng tính theo thời gian tăng gấp đôi sinh khối là 23h, sản lượng sinh khối tối đa khi nuôi trồng trong ao lộ thiên là $24,5 \text{ g/m}^2/\text{ngày}$. Theo các nghiên cứu ở Israel thì thành công của việc nuôi cấy một vi tảo thuần khiết (monoalgal) ngoài trời là một khích lệ tốt để tạo ra một mô hình vi sinh vật nhằm nghiên cứu sản xuất lipid bằng tách nuôi trồng tảo ở qui mô lớn.

4.3. Quy trình nuôi trồng tảo Silic.

Việc nuôi trồng tảo Silic trước hết phải tiến hành giữ giống bằng tách nuôi cấy trong ống nghiệm. Ngoài các bước tương tự như nuôi cấy vi sinh vật thì riêng môi trường để giữ giống là một khâu rất quan trọng.

Thường thường nước biển là môi trường tốt nhất để nuôi cấy tảo biển. Thông thường người ta lọc nó qua selit, sau đó qua than hoạt tính và qua phễu lọc lỗ nhỏ bằng sứ (phễu số 2) sau đó giữ cát trong tủ lạnh. Để bảo đảm sinh trưởng tốt thường thêm vào đệm tris - (oxymethyl), aminomethan với liều lượng 1g/l hay glycol - glycine ở nồng độ 150mg/l cho thêm sodium bicarbonate (50 - 100mg/l) để làm giàu môi trường bởi nguồn carbon dễ tiêu dễ quang hợp.

Người ta có thể dùng nước biển nhân tạo như:

Dung dịch I

0,54 M NaCl	7396 ml	0,54 M KCl	18,05ml
0,36 M MgCl ₂	145,7ml	0,36 M CaCl ₂	28,00 -
0,44 M Na ₂ SO ₄	63,0 -	0,54 M NaHCO ₃	4,60 -
0,54 M NaBr	1,05 -	(phần lớn trường hợp có thể thay bằng NaCl)	

Dung dịch II

NaCl	24,7 g/l	KCl	0,7 g/l
MgCl ₂ .6H ₂ O	4,6 -	MgSO ₄ .7H ₂ O	6,3 -
NaHCO ₃	0,2 -	CaCl ₂ (không ngâm nước)	1,0 -

Cũng có thể dùng nước biển nhân tạo bổ sung chất dinh dưỡng:

NaCl	27,0 g/l	MgSO ₄ .7H ₂ O	6,6 g/l
MgCl ₂ .6H ₂ O	5,6 g/l	CaCl ₂ .2H ₂ O	1,5 -
KNO ₃	1,0 -	K ₂ HPO ₄	0,07 -

NaHCO_3 0,04 -

Dung dịch các nguyên tố vi lượng A - Z (*) 1,0 ml/l

Glycol- glycine 0,150 g/l

Fe : EDTA (trộn 240 mg $\text{FeCl}_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ với 100 ml $\text{Na}_2\text{-EDTA}$ (0,05 M) và lọc;
pH = 7,2)

*** Dung dịch Hoglen A-Z (g/l)**

Litichloride	0,0278	Manganchloride	0,3889
Đồng sulfate	0,0556	Kẽm sulfate	0,0556
Kẽm sulfate	0,0556	Cobalt nitrate	0,0556
Acid boric	0,6110	Oxydtitan	0,0556
Nhôm sulfate	0,0556	Sodium iodide	0,0278
Thiếc chloride	0,0278	Sodium bromoide	0,0278

Thường người ta cũng có thể dùng môi trường Provason ASP₆ để nuôi tảo biển:

NaCl	24 g/l	$\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$	70 g/l
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	8 -	Tris- đệm	1 -
$\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,8 -	Dịch Provason P8 *	10 ml/l
KCl	0,7 -	Dịch vitamin của	1 ml/l
NaNO_3	0,3 -	Provason **	
K_2 - Glycero P	0,1 -		

*** Dung dịch Provason P8**

Na - Versenon	3 g/l	CoCl_2	1 g/l
(Na ₃ hydroxy ethylethylen diamino niacelate)			
FeCl_3	200 -	CuCl_2	2mg/l
ZnCl_2	50 -	H_3BO_3	200 -
MnCl_2	100 -	MoO_4	80 -

**** Dung dịch vitamin của Provason**

Thiamine	200 mg/l	Inositone	1000 mg/l
Biothine	0,4 -	Putressine	40 -
Vitamin B ₁₂	0,05 -	Riboflavine	5 -
Acid folic	2,5 -	Pyridosamine 2HCl	20 -
A. α aminobenzoic	100 -	Acid orotic	260 -
A. nicotinoic	100 -	Pentotenat Ca	100 -
Thimine	800 -	Cholin -H ₂ - citrate	500 -

Dùng 1 ml/l môi trường dinh dưỡng thường.

Ngoài ra người ta còn dùng nhiều môi trường khác như môi trường Guillard, môi trường Walne I. Các môi trường này thích hợp như nhau và chứa một số

chất dinh dưỡng chủ yếu là phosphate, nitrate, silicate, vitamin, khoáng, vi lượng, Fe - EDTA.

Ở Nhật Bản và Đài Loan người ta còn dùng một số môi trường đơn giản khác như môi trường Liao - Hoang (Đài Loan) với thành phần gồm: KNO_3 , Na_2HPO_4 , K_2SiO_3 và FeCl_3 . Môi trường đơn giản của Nhật Bản gồm: Na_2HPO_4 và K_2SiO_3 .

Sự sinh trưởng phát triển của tảo phụ thuộc vào nhiều yếu tố như nhiệt độ, độ pH, nồng độ oxygen hòa tan, khí CO_2 ... trong môi trường.

Nhìn chung hiện nay để thu hoạch tảo phục vụ cho việc nuôi tôm, cá người ta cần đảm bảo một số điều kiện khái quát như sau: sức khí liên tục trong quá trình nuôi, đặt bể dưới ánh sáng mặt trời và khống chế một phần ánh sáng nhờ che bóng để cường độ đạt khoảng 6500 lux, nhiệt độ cần giữ trong khoảng 25 - 30°C và pH thích hợp là 7 - 7,5.

Mật khác do tảo có vòng đời ngắn, đạt cực đỉnh nhanh do đó chóng tàn. Vì vậy cần theo dõi sự gia tăng của mật độ để thu sinh khối vào thời điểm thích hợp. Hơn nữa dịch nuôi tảo dài ngày dễ bị nhiễm các vi sinh vật lạ và chất lượng tảo giảm sút do tích tụ các chất biến dưỡng. Có nhiều phương pháp xác định mật độ tảo như đo độ đục, đo kích thước tế bào, cân trọng lượng nước, dùng quang phổ kế để đo lượng protein, glucid..., nhưng kỹ thuật thông thường là dùng buồng đếm hồng cầu (hemocytometer).

Có nhiều nghiên cứu cho rằng nhiệt độ trên 30°C không thích hợp cho sự sinh trưởng của tảo, ở 35°C tảo đã bị chết. Vì vậy nhiều nơi người ta nuôi tảo ở nhiệt độ 22 - 26°C.

Về cường độ ánh sáng, có tác giả đã sử dụng đèn huỳnh quang (4 bóng 1,2m treo cách mặt dịch nuôi 20 - 30cm) chu kỳ quang là 10h sáng 14h tối. Nếu chiếu sáng liên tục tế bào bị biến dạng, kích thước nhỏ đi.

Trong các thí nghiệm và cả khi nuôi trồng chất dinh dưỡng được bổ sung hàng ngày. Tảo khá nhạy cảm với ánh sáng nên khi để cho tảo phát triển chậm lại người ta giảm bớt cường độ chiếu sáng.

Ở Việt Nam cũng đã tiến hành việc nuôi tảo Silic để dùng làm nguồn thức ăn cho tôm. Nguyễn Cơ Thạch và cộng tác viên (viện Nghiên cứu Hải sản Hải Phòng) đã tiến hành thí nghiệm nuôi tảo Silic với môi trường có thành phần: KNO_3 100g, KH_2PO_4 10g, Na_2SiO_3 5g, FeCl_3 5g trên thể tích 1m^3 nước biển. Mật độ nuôi ban đầu là $1 \cdot 10^4$ - $3 \cdot 10^4$ tế bào trong 1ml ở điều kiện nhiệt độ 30 - 34°C. Qua 48h nuôi cấy mật độ tảo đạt cực đại là $35 \cdot 10^4$ - $46 \cdot 10^4$ tế bào/ml.

Vũ Văn Toàn và cộng tác viên nghiên cứu môi trường có KNO_3 10 - 20ppm thì mật độ tảo đạt cực đại $20 \cdot 10^4$ - $30 \cdot 10^4$ tế bào/ml sau 3 - 5 ngày với đối tượng *Chaetoceros sp.*. Một nghiên cứu khác với hàm lượng KNO_3 là 50ppm, mật độ ban đầu là $2 \cdot 10^4$ tế bào/ml và độ mặn là 30‰. Kết quả cho thấy mật độ tảo phụ thuộc vào thể tích nuôi. Với thể tích nuôi 1lít mật độ tảo đạt cực đại $8,6 \cdot 10^4$ tế bào/ml sau 6h nuôi, còn thể tích bể nuôi 700 lít mật độ tảo đạt $136 \cdot 10^4$ tế bào/ml sau 30h nuôi.

Trong thực tế sản xuất đã cho thấy cần phải bảo đảm một số yêu cầu sau: nước phải lọc kỹ để không có các dạng bào tử thủy sinh vật lạ. Độ pH nuôi phải

lớn hơn 7. Môi trường, nhiệt độ, cường độ ánh sáng thích hợp. Đặc biệt là nguồn giống gây nuôi phải tốt và phải được sục khí liên tục trong quá trình nuôi.

Ở Thừa Thiên – Huế cũng có tiến hành nuôi tạo Silic (Đặng Đình Dũng trại Sản xuất tôm giống, công ty Thủy sản). Thường thường ở Thừa Thiên – Huế nuôi với môi trường đơn giản bao gồm KNO_3 , KH_2PO_4 , EDTA, Na_2SiO_3 (không sử dụng FeCl_3 vì chúng làm tăng quá trình lắng đọng của tảo, ảnh hưởng đến sinh trưởng, đặc biệt là trong trường hợp không có sục khí).

Với thành phần môi trường bao gồm KNO_3 nồng độ 1g/l, mật độ nuôi ban đầu 5000 - 7000 tế bào/ml, sau 24 - 48h thì mật độ tảo đạt từ 10.10^4 - 14.10^4 tế bào/ml.

5

RONG MƠ (SARGASSUM)

Rong Mơ là một trong những loài rong quý sẵn có ở bờ biển của nhiều nước.

Từ Rong Mơ chiết được alginate, một polymer có trên 300 công dụng khác nhau. Rong Mơ còn là nguồn thực phẩm có giá trị dinh dưỡng do hàm lượng protein cao, có hầu hết các acid amin không thay thế, có nhiều vitamin (A, B, C, D, E, K), mannitol, iode và nhiều nguyên tố khoáng (N, P, K, Ca, Mn, Ni, Co, Mo, Zn...) (Andreas Leuses et al., 1995).

Rong Mơ cũng là nguồn phân bón, có tính năng cải tạo đất, nguồn cellulose và nguồn nguyên liệu tạo biogaz (methane) có nhiệt lượng cao.

Đã từ lâu nhiều nước trên thế giới, nhất là các nước đang phát triển khai thác Rong Mơ để sản xuất alginate, thu nguồn lợi kinh tế cao.

Khu vực Bình Trị Thiên có trên 340km bờ biển có rất nhiều Rong Mơ tập trung trên các bãi đá ngầm kéo dài từ đèo Ngang, đèo Lý Hòa, đến Lăng Cô, nổi tiếng nhất là các vùng Vinh Thạch, Vinh Mốc, Mũi Lài, Mũi Si ở Cửa Tùng, Quảng Trị (Trương Văn Lung, 1999; Huỳnh Quang Năng, Nguyễn Hữu Đại, 1978; Lâm Ngọc Trâm và cs., 1999).

5.1. Một số đặc điểm thực vật học của Rong Mơ.

Hiện nay trên thế giới người ta đã phát hiện nhiều loài Rong Mơ. Agardh J. (1889) đã mô tả 288 loài.

Ở nước ta, các tác giả nước ngoài đã đề cập đến từ năm 1990 và gần đây các tác giả trong nước sơ bộ phát hiện được 49 loài (species) 5 thứ (varietas) và 3 dạng (forma).

Rong Mơ ở vùng biển nước ta rất phong phú về thành phần loài cũng như về trữ lượng. Chúng thường tập trung nhiều ở các đảo và ven biển các tỉnh Quảng Ninh, Hải Phòng, Thanh Hóa, Nghệ An, Hà Tĩnh, Quảng Bình, Quảng Trị, Thừa Thiên – Huế, Quảng Nam, Đà Nẵng, Quảng Ngãi, Bình Định, Phú Yên, Khánh Hòa, Ninh Thuận, Đồng Nai, Kiên Giang (Trương Văn Lung, 1999).

Theo Huỳnh Quang Năng, Nguyễn Hữu Đại (1978) chỉ ở Hòn Chồng Nha Trang cũng đã có 6 loài: *Sargassum meclurei* S., *S. kjellmanianum* Y. S. polycystum C.Ag., *S. congkinhii* P.H., *S. crassifolium* J.Ag., *S. microcystum*

J.Ag., trong đó 3 loài đều có trữ lượng cao nhất. Các loài rong trên thuộc bộ Dictyosiphonales, họ Sargassaceae, giống Sargassum.

Sargassum mọc thành bãi lớn, mọc trên nền đá san hô chết hay trên đá tảng, có khi mọc phía dưới mức giữa triều.

Các cá thể khi trưởng thành dài 120 - 150cm, dài nhất có khi đạt tới 250cm. Thường phát triển thành bụi rậm hơn là phát triển theo chiều dài, chúng làm thành bãi thuận chững trên nền san hô chết. Mặc dù có đĩa bám nhỏ, *Sargassum kjellmanianum* bám rất chắc và thường bị đứt hơn là bị nhổ luôn đĩa bám.

Chu kỳ sinh trưởng của Rong Mỏ là một năm, bắt đầu từ tháng VIII, tháng IX năm trước đến tháng VI tháng VII năm sau. Do đặc điểm sinh trưởng và chịu ảnh hưởng của sóng đập mà thời về thu hoạch chỉ 2 - 3 tháng. Loài *S. meclurei* mọc ở vùng sâu hơn và phát triển ở nơi sóng mạnh. Chúng mọc thành từng đám lớn, phao và "lá" nhiều khiến cho các loài phát triển sau như *S. conginhii*, *S. polycystum* phải chen chúc chật vật và chỉ phát triển được những nơi còn trống. Mặc dù đã có đĩa bám to *S. meclurei* dễ bị nhổ nhiều hơn so với *S. kjellmanianum*. *S. meclurei* đều mọc vào tháng IX trưởng thành vào cuối tháng III và đến đầu tháng IV chúng bị nhổ tấp vào bờ nhiều nhất. Như vậy rong trưởng thành có thể thu dễ dàng với sản lượng cao vào tháng III, tháng IV và tháng V.

Bảng 10. Trữ lượng Rong Nâu của các nước trên thế giới (nghìn tấn)

Khu vực	Sản lượng thu hoạch	Nguồn lợi
Bắc cực	-	-
Tây bắc Đại Tây Dương	6	500
Đông bắc Đại Tây Dương	223	2.000
Trung tâm tây Đại Tây Dương	1	1.000
Trung tâm đông Đại Tây Dương	1	150
Địa Trung Hải và Biển Đen	1	50
Tây nam Đại Tây Dương	175	2.000
Đông nam Đại Tây Dương	13	100
Tây ấn Độ Dương	5	150
Đông ấn Độ Dương	10	500
Tây bắc Thái Bình Dương	822	1.500
Đông bắc Thái Bình Dương	-	1.500
Trung tâm tây Thái Bình Dương	1	50
Trung tâm Thái Bình Dương	153	3.500
Tây nam Thái Bình Dương	1	100
Đông nam Thái Bình Dương	1	1.500
Nam cực	-	-
Tổng cộng	1315	14.600

Vào tháng VI, VII, hiện tượng mọc nhánh xảy ra ở một vài loài như *S. microcystum*, *S. kjellmanianum*. Trên thực sở cấp hay thứ cấp của Rong Mơ đã bị đứt hay già cỗi, mọc ra nhiều nhánh ngắn trên đó chủ yếu dễ phát triển cơ quan sinh sản, phao và "lá" chỉ có ít. Sự tăng trưởng này không đáng kể về mặt trữ lượng.

Sinh khối đạt đến 7kg tươi/m². Riêng vùng Hòn Chồng Nha Trang tổng sản lượng vào tháng cao nhất

đạt trên 950 tấn tươi ứng với khoảng 100 tấn khô (tháng III). Về tháng IV và tháng V trữ lượng rong là 550 - 600 tấn tươi ứng với 65 - 70 tấn khô.

Ngoài ra rong tấp cũng là nguồn khai thác đáng kể và có thể khai thác liên tục trong nhiều tháng, trong khi rong tại chỗ chỉ khai thác được một lần và phải có biện pháp khai thác đúng lúc để khỏi bị ảnh hưởng đến năm sau. (rong tấp ở Hòn Chồng trong tháng III, IV, V, VI thu được khoảng 8 tấn tươi).

Rong Mơ sinh sản hữu tính và sinh sản sinh dưỡng. Loài *S. kjellmanianum* sinh sản hữu tính vào đầu tháng VIII chung quanh cây mẹ đã tàn, sau đó là *S. meclurei*, *S. polycystum*. Rong sinh sản sinh dưỡng bằng tách này chồi từ phần bở (ở *S. polycystum*) để tạo ra cây con hay mọc thêm nhánh từ phần gốc sau khi phần trên đã bị sóng đánh đứt.

Sau đây là trữ lượng Rong Nâu ở các nước trên thế giới, tổng sản lượng thu hoạch và tiềm năng sản xuất (nghìn tấn) theo tài liệu của Wang et al., 1990.

Trữ lượng Rong Mơ ven biển Việt Nam (tấn tươi) theo tài liệu của Nguyễn Văn Tiến, 1994

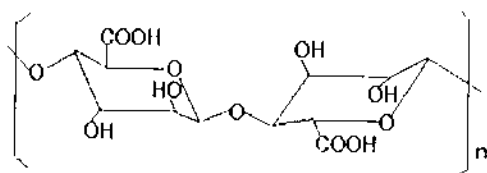
5.2 Đặc điểm sinh lý, sinh hóa Rong Mơ

Cách đây hơn 100 năm Stanford (1883) đã chiết được acid alginic, một loại polysaccharide đặc biệt chỉ có ở ngành Tảo Nâu Phaeophyta. Đến năm 1896 Krefting tách được hợp chất này ở dạng tinh khiết hơn. Tiếp sau đó Cretcher và Velson (1944) nghiên cứu cấu trúc hóa học của acid alginic và xác nhận hợp chất này là polymer của acid D-manuronic (C₆H₈O₆)_n trong đó n: 176 - 194.

Phân tử này hình sợi, có nhánh dài hay ngắn tùy loài, tùy cách chiết rút, phân tử lượng từ 3500 - 1,5 triệu

Bảng 11. Trữ lượng Rong Nâu ở Việt Nam (tấn tươi)

Vùng	Trữ lượng
Quảng Ninh	12.200
Hải Phòng	270
Thanh Hóa	100
Nghệ An - Hà Tĩnh	370
Quảng Bình	480
Vĩnh Linh (Quảng Trị)	80
Quảng Nam - Đà Nẵng	2.000
Quảng Ngãi - Bình Định	4.500
Phú Yên - Khánh Hòa - Cà Mau	15.000
Tổng cộng	35.000



Acid alginic

Năm 1945 Astbury đã xác nhận công thức này bằng phương pháp phân tích tia X và đến năm 1955 công thức trên được công nhận hoàn toàn. Acid alginic được coi là acid D - manuronic với các liên kết bằng cầu nối 1 - 4 (Hirst, Jenness (1939 và Steward F. C., 1940).

Cũng trong năm 1955, Fischer H. và Dorfel dùng phương pháp sắc ký trên giấy phát hiện được 30 - 70% acid L - glucuronic ở trong algin lá từ *Laminarin*.

Như vậy acid alginic là hỗn hợp của acid D - manuronic và acid glucuronic.

Khi nghiên cứu các thành phần hóa học khác nhau, một số nhà khoa học nhận thấy 2 loại acid uronic này thay đổi tùy theo từng phần của tảo và tùy theo loài, có khi acid này chiếm ưu thế hơn acid kia và ngược lại (Hang, Larsen & Smidard 1967 & 1968).

Do mang nhóm chức carboxyl tự do nên các acid alginic đã kết hợp với một số muối kim loại hoặc glycol tạo thành các alginate có công dụng rất lớn trong công nghiệp, nông nghiệp, thực phẩm và y học.

Trong Rong Mơ, acid alginic tồn tại dưới dạng muối calcium, Mg, Fe, các muối này cùng với cellulose và lignin tạo thành vách tế bào của rong. Tùy loài, tùy mùa mà hàm lượng acid alginic giao động từ 13 - 34% trọng lượng khô.

Những nghiên cứu gần đây trên Rong Mơ cho thấy hàm lượng acid alginic tăng dần theo thời gian sinh trưởng và đạt cao nhất vào tháng V tháng VI. Hàm lượng acid alginic của loài rong *S. tenerrimum* ở Cát Bà (Hải Phòng) cao nhất vào tháng V tháng VI (tháng III: 33,00%, tháng IV: 34,74%, tháng V: 46,60%, tháng VI: 45,87% theo tài liệu của Hoàng Cường, Lâm Ngọc Trâm, Phan Phương Lan, (1980), Nguyễn Hữu Dinh và c.s., (1993).

Cũng tùy thuộc loài mà hàm lượng và độ nhớt của acid alginic có thay đổi. Thí dụ: hàm lượng acid alginic của *S. meclurei* là 32,82%, độ nhớt 1426 cps; còn hàm lượng của loài *S. conghinhii* là 20,26% và độ nhớt là 496 cps, tuy thu hái cùng ngày (12/IV/1980) tại Hòn Chồng Nha Trang (theo Trần Văn Ân).

Hàm lượng acid alginic thay đổi theo thời gian sinh trưởng nhưng không phải loài nào cũng theo chiều hướng thuận. Thí dụ: *S. conghinhii* tháng III là 17,10% đến tháng VI là 34,40%, còn loài rong trong quá trình trưởng thành đã tàn lụi thì hàm lượng acid alginic giảm dần (*S. meclurei* tháng III là 34,17%, tháng VI là 30,50%).

Hàm lượng acid alginic là tiêu chuẩn cần nhưng chưa đủ để nói lên giá trị của Rong Mơ mà chất lượng được biểu thị bằng độ nhớt. Độ nhớt càng cao, chất lượng alginate càng lớn, bởi vì nó đặc trưng cho độ trùng hợp của phân tử (Draud J. P., 1974).

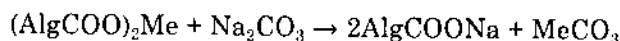
Nói cách khác, độ nhớt đặc trưng cho phân tử lượng. Giữa độ nhớt và phân tử lượng có mối quan hệ hàm số với nhau. Người ta đã xác định được một số phương trình biểu thị mối quan hệ đó.

Dưới đây là một trong những phương trình thực nghiệm;

$$M : k \cdot \log \eta / 2,268$$

$$k : 53361$$

Ở trạng thái tự nhiên, phần lớn acid alginic ở dưới dạng muối kim loại hóa trị 2 không hòa tan (các alginate của kim loại có hóa trị 1 tan dễ dàng tan trong nước tạo thành các dung dịch nhớt và nhựa keo). Dưới tác dụng của Na_2CO_3 sẽ xảy ra phản ứng trao đổi tạo thành muối sodium alginate tan trong nước theo phương trình:



Dựa vào tính chất trên người ta dùng soda để chiết tách sodium alginate ra khỏi Rong Mơ

Do bản chất của algin mà độ nhớt có thể thay đổi từ loài rong này sang loài rong khác (Vincent Gering 1955).

Phân tử lượng của các phân tử acid alginic trong rong không đồng đều. Các phân tử có phân tử lượng nhỏ sẽ có phản ứng với Na_2CO_3 nhanh hơn nên tách ra trước, còn các phân tử có phân tử lượng cao hơn sẽ tách ra sau. Tốc độ phản ứng của chúng theo nhiệt độ. Khả năng phản ứng của chúng thay đổi theo thời gian. Ta có thể thay đổi các điều kiện trên mà tách chúng thành từng phân đoạn để sử dụng theo yêu cầu của chúng ta.

Độ nhớt cũng như hàm lượng acid alginic còn phụ thuộc vào môi trường sinh sống của rong. Những nơi nước trong, sóng mạnh, có điều kiện trao đổi dinh dưỡng với môi trường bên ngoài nhiều thì rong phát triển mạnh, lá to, thân mập, đồng thời hàm lượng và độ nhớt của acid alginic cao. Những nơi êm sóng, rong kém phát triển, lá nhỏ, thân gầy, thì hàm lượng và độ nhớt thấp. Thí dụ: cùng thu mẫu trong tháng IV/1990, loài *S. meclurei* ở Bãi Tiên (sóng mạnh) có hàm lượng acid alginic là 35,82%, độ nhớt 2000 cps, nhưng ở Bãi Dương (sóng trung bình) *S. meclurei* có hàm lượng acid alginic là 32,80%, độ nhớt 1426 cps, và ở Hòn Đỏ (sóng yếu) thì hàm lượng acid alginic là 29,53%, độ nhớt là 1180 cps.. Điều này chứng tỏ sinh vật luôn luôn biến đổi để thích nghi với môi trường, hoàn cảnh mới để có thể sống, tồn tại và phát triển được.

Độ nhớt của acid alginic còn tùy thuộc vào nhiệt độ khi chiết xuất. Cùng chiết xuất trong thời gian 3h nhưng ở nhiệt độ khác nhau thì chất lượng không giống nhau. Ở 75°C hàm lượng acid alginic là 31,8%, độ nhớt là 281 cps., nhưng ở 35°C thì hàm lượng là 20%, độ nhớt chỉ 77.5 cps. Khi nhiệt độ tăng thì hàm lượng và độ nhớt tăng, nhưng từ 85°C trở lên thì hàm lượng và độ nhớt bắt đầu giảm. Nguyên nhân là nhiệt độ cao làm tăng tốc độ giáng hóa của acid alginic nhiều hơn. Nhiệt độ thích hợp cho việc chiết xuất acid alginic là 70 - 75°C.

Thời gian chiết xuất cũng ảnh hưởng đến hàm lượng và độ nhớt. Cùng chiết xuất ở 70°C nếu thời gian là 1giờ thì hàm lượng là 25,8%, độ nhớt là 100 cps., nhưng nếu thời gian là 4giờ, hàm lượng sẽ là 32,8% và độ nhớt là 285 cps..

Như vậy, yếu tố nhiệt độ, thời gian chiết xuất, thời điểm thu hoạch, môi trường sinh sống của rong đều ảnh hưởng đến hàm lượng, chất lượng của acid alginic. Các muối alginate (Na^+ , K^+ , NH_4^+) dễ tan trong nước ấm, tạo thành dung dịch nhờn sánh. Thông dụng nhất là muối sodium alginate, không tan trong cồn và các dung môi hữu cơ, bị kết tủa khi tác dụng với acid mạnh do tạo thành acid alginic và acid này lại tan khi trung hòa bằng kiềm.

Tác dụng của các ion kim loại đa trị (Ca^{++} , Ba^{++} , Sr^{++} , Al^{+++} , Cu^{++} , Pb^{++} , ...) tạo thành muối không tan trong nước. Alginate có 3 đặc tính: kết dính, nhũ hóa và ổn định huyền phù. Vì vậy, chúng có rất nhiều ứng dụng trong các ngành kinh tế.

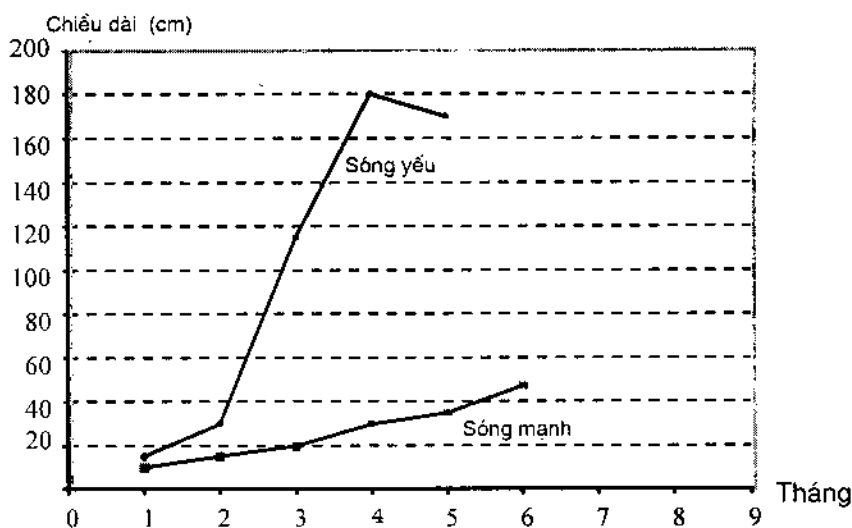
5.3. Đặc điểm sinh trưởng và thành phần sinh hóa của một số loài Rong Mơ ở Thừa Thiên - Huế

Thừa Thiên - Huế có bờ biển dài 126km với các cửa biển Thuận An, Tư Hiền, Cảnh Dương, Chu Mối và Lăng Cô. Vùng biển Thừa Thiên - Huế ở phía nam vịnh Bắc Bộ, phía bắc của miền Trung. Ở khu vực này, các dòng sông từ đất liền đổ ra biển thường ngắn và dốc. Hầu hết các sông đều đổ xuống đầm phá trước khi ra biển. Vì vậy mà Rong Mơ chỉ phát triển ở cửa sông và chủ yếu là ven biển. Đặc biệt từ Quảng Bình đến Đà Nẵng nhìn ra ngoài khơi là những rặng đá, là nơi Rong Mơ bám để phát triển. Có nhiều loài Rong Mơ phát triển ở khu vực này.

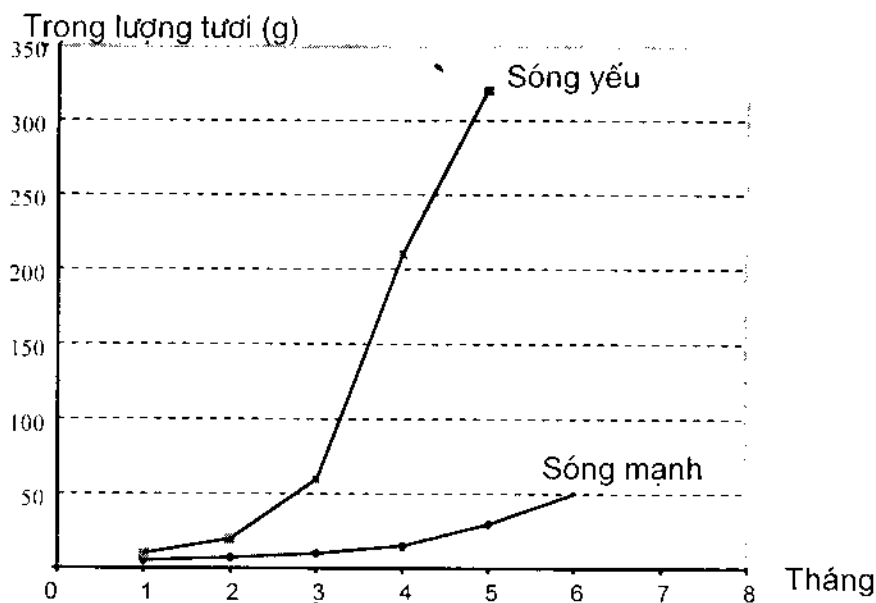
Võ Thị Mai Hương (1991, 1998, 2003) dưới sự hướng dẫn của Trương Văn Lung đã chọn 3 loài có sinh khối cao và diện tích phân bố lớn để tìm hiểu các đặc điểm sinh lí sinh hóa của chúng. Đó là các loài: *Sargassum polycystum*, *Sargassum oligocystum* và *Sargassum swartzii*.

5.3.1. Khả năng sinh trưởng của *Sargassum polycystum*

Sargassum polycystum là một trong những loài Rong Mơ có sinh khối lớn và phân bố rộng nhất trong các loài Rong Mơ ở khu vực Bình Trị Thiên. Vì vậy, chúng tôi chọn làm đối tượng để khảo sát khả năng sinh trưởng ở các vùng khác nhau, qua đó tìm hiểu ảnh hưởng của điều kiện sống đến sinh trưởng của loài rong này. Đây là loài rong có thể tìm thấy ở cả vùng sóng yếu lẫn sóng mạnh. Vùng sóng yếu là những vùng bên trong phía đầm và một số vị trí khuất sau



Hình 5. Biến động chiều dài cá thể của *Sargassum polycystum* ở vùng sóng mạnh và sóng yếu



Hình 6. Sự biến động trọng lượng tươi cá thể của *Sargassum polycystum* ở vùng sóng mạnh và sóng yếu

các rặng đá dài và lớn. Sóng khi đến các vùng này thì bị yếu đi rất nhiều do các dãi cát hoặc các tảng đá chặn lại.

Vùng sóng mạnh trải dài dọc bờ biển, dưới chân dèo Hải Vân, với nhiều tảng đá ngầm ăn lan ra biển, sóng gió thường xuyên dữ dội. Ngoài việc chịu ảnh hưởng khác nhau của chế độ sóng triều, rong ở hai vùng này còn chịu tác động khác nhau của điều kiện chiếu sáng, nhiệt độ, độ mặn... Chính điều kiện sống khác nhau này đã ảnh hưởng trực tiếp đến sinh trưởng và phát triển của rong. Trước hết là sự biến thiên chiều dài và sinh khối cá thể (trọng lượng tươi) của *Sargassum polycystum* ở vùng sóng mạnh và sóng yếu. Kết quả này được trình bày ở hình 5 và hình 6.

Qua các hình 5 và hình 6 cho thấy chiều dài trung bình cá thể của rong tăng dần theo thời gian sinh trưởng. Mức độ tăng giữa các tháng không đồng đều và rong ở vùng sóng yếu tăng trưởng về chiều dài mạnh hơn nhiều so với rong ở vùng sóng mạnh.

Ở vùng sóng mạnh do phải chịu tác động trực tiếp và liên tục của những cơn sóng dữ dội và dồn dập nên thân rong luôn bị lay động, va đập. Để thích nghi với điều kiện sống này, *S. polycystum* ở đây phải hạn chế sự phát triển về chiều dài và hình thành nhiều trục thứ cấp, tạo thành các "bụi rậm".

Chiều dài trung bình của rong ở vùng này lúc cao nhất (tháng VI) chỉ đạt 47,5 cm, bằng 25,27% chiều dài của rong vùng sóng yếu (188 cm vào tháng V). Quan sát hình thái ngoài cho thấy rong vùng sóng mạnh ngắn, mập và cứng chắc, "lá" nhỏ và dày hơn nhiều so với rong ở vùng sóng yếu. Đây có thể xem là đặc điểm thích nghi của rong trong điều kiện ngoại cảnh bất lợi.

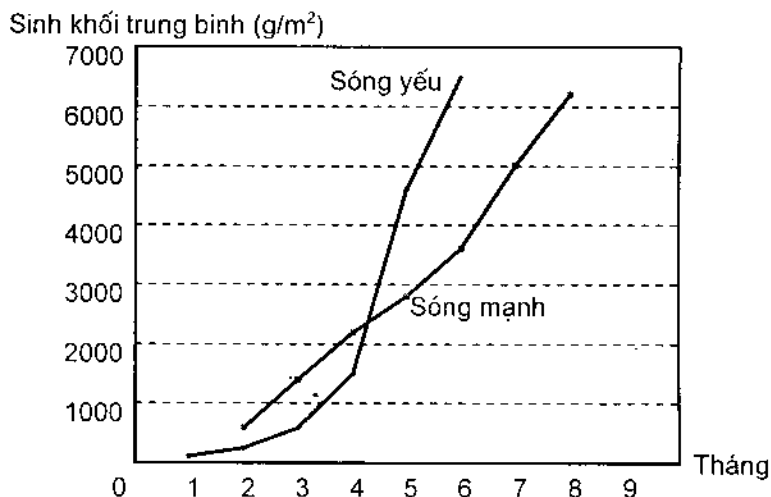
Cũng như chiều dài, trọng lượng tươi của rong ở sóng yếu tăng rất mạnh, đặc biệt vào tháng IV đến tháng VI. Chính sự tăng trưởng nhanh về chiều dài của rong kéo theo sự tăng trưởng nhanh về trọng lượng. Vào cuối chu kỳ sinh trưởng, trọng lượng tươi của rong ở sóng yếu chỉ đạt 325,3g/cây, gấp 8,34 lần rong ở sóng mạnh (chỉ đạt 39g/cây).

Thực tế, rong ở vùng sóng yếu bắt đầu mọc từ khoảng tháng IX năm trước, sớm hơn so với rong vùng sóng mạnh một tháng và nó cũng thành thực sinh sản và tàn lụi trước 20 - 39 ngày so với rong ở vùng sóng mạnh. Những tháng đầu của rong ở cả hai vùng sinh trưởng rất chậm. Đây cũng là thời gian tương ứng với thời kỳ không thuận lợi cho rong biển nói chung. (Nguyễn Hữu Đại, 1997; trong Rong Mơ Việt Nam nguồn lợi và sử dụng Nxb Nông nghiệp thành phố Hồ Chí Minh). Lúc này độ mặn và nhiệt độ của môi trường nước biển thường thấp vì thời tiết đang vào mùa mưa. Từ tháng III trở đi rong phát triển rất nhanh và ở vùng sóng yếu rong mọc thành bãi dày đặc, nổi thành từng mảng lớn trên mặt nước, nhất là khi triều xuống.

Ở vùng sóng mạnh, rong thường xuyên ngập sâu dưới nước 1,4 - 2m, ngay cả khi triều xuống thấp nhất.

Sau khi đạt kích thước tối đa vào tháng V (đối với rong ở nơi sóng yếu) hay tháng VI (đối với rong vùng sóng mạnh), *Sargassum polycystum* bị tàn lụi rất nhanh. Đây cũng là quy luật của rong sinh sản hữu tính. Lúc này đang là mùa khô, ở tỉnh Thừa Thiên - Huế chưa có mưa bão lớn nên có thể một phần rong ở những nơi sóng mạnh bị sóng nhỏ hay đánh đứt, nhưng sóng không phải là nguyên nhân dẫn đến sự tàn lụi nhanh chóng của *Sargassum polycystum* ở khu vực này.

Kết quả này cho thấy các giai đoạn tăng trưởng cũng như mùa về của *Sargassum polycystum* ở tỉnh Thừa Thiên - Huế tương tự với nhiều loài Rong Mơ như *Sargassum meclurei*, *Sargassum conginghii*... Ở Nha Trang theo kết



Hình 7. Sinh khối trung bình của Rong Mơ ở vùng sóng mạnh và sóng yếu (gam tươi/m²)

quả nghiên cứu của Nguyễn Hữu Đại và cộng sự (1997). Nhưng, so với một số loài Rong Mơ ở các bãi rặng đá ngầm sâu 2 - 10m của vùng Đầm Vân, Ninh Hòa, Khánh Hòa (rong tàn lụi vào tháng VII, tháng VIII) thì mùa về ở khu vực chúng tôi nghiên cứu sự tàn lụi của chúng sớm hơn.

5.3.2. Sinh khối trung bình của Rong Mơ ở vùng sóng mạnh và sóng yếu

Sinh khối trung bình (gam tươi/m²) của rong là một trong những chỉ tiêu làm cơ sở để đánh giá khả năng sinh trưởng và sản lượng rong.

Kết quả biến động sinh khối của rong tại vùng sóng mạnh và sóng yếu ở hình 7 cho thấy sinh khối của rong ở khu vực này khá lớn, nhất là những tháng cuối chu kỳ sinh trưởng. Do rong ở vùng sóng mạnh mọc muộn và sinh trưởng ở những tháng đầu rất chậm nên tháng XII vẫn chưa đánh giá sinh khối được. Từ tháng I trở đi rong sinh trưởng nhanh hơn, đặc biệt từ tháng IV đến tháng VII sinh khối tăng rất mạnh và tương đối đều giữa các tháng. Sinh khối rong đạt cao nhất vào tháng VII - tháng rong chuẩn bị tàn lụi là 6.400g/m². Rong ở vùng sóng yếu mọc sớm hơn và tốc độ sinh trưởng từ tháng XII đến tháng III chậm hơn vùng sóng mạnh. Từ tháng III Rong Mơ sinh trưởng đặc biệt nhanh. Điều này thể hiện rõ qua độ dốc rất lớn trên hình 7. Sự tăng sinh khối mạnh ở đây có liên quan đến sự tăng trưởng về chiều dài rất lớn của rong. Ở giai đoạn này sinh khối tăng mạnh là do ít bị ảnh hưởng của sự va đập và làm đứt sóng. Mặt khác, các cơn mưa lớn đầu mùa khô kéo theo một lượng chất dinh dưỡng từ đất liền đổ ra cửa đầm cũng góp phần làm rong ở đây sinh trưởng nhanh hơn. Có thể nhận thấy tốc độ sinh trưởng của Rong Mơ ở vùng sóng yếu bằng trực giác qua các đợt thu mẫu. Ở vùng này sinh khối rong đạt cao nhất là 6500g/m².

So với sinh khối trung bình của Rong Mơ ở Hòn Chông (Khánh Hòa) thì sinh khối ở đây có thấp hơn một số trạm cá biệt (đạt tối đa trên 7000g/m²), và cao hơn đa số các trạm còn lại (4000 - 7000 g/m²).

Qua theo dõi nhiều năm cho thấy Rong Mơ ở Thừa Thiên - Huế phát triển rất tốt, ổn định về sản lượng nhưng hoàn toàn chưa được khai thác, chỉ một lượng rất nhỏ Rong Mơ tấp vào bờ được dùng làm phân bón mà thôi. Đây cũng là tình trạng chung ở những vùng có nguồn lợi Rong Mơ lớn của nước ta như Khánh Hòa, Bình Định, Ba Rịa, Vũng Tàu, Quảng Ninh v.v. (theo tài liệu của Huỳnh Quang Năng, 1998). Vì vậy, việc định hướng khai thác và sử dụng hợp lý nguồn lợi Rong Mơ cần được quan tâm nhiều hơn.

5.3.3. Hàm lượng chất khô, hàm lượng acid alginic và độ nhớt của alginate chiết rút từ *Sargassum polycystum* ở các vùng khác nhau

Qua kết quả phân tích hàm lượng chất khô của *Sargassum polycystum* sống ở vùng có sóng mạnh và sóng yếu được trình bày ở hình 7, ta thấy hàm lượng chất khô của *Sargassum polycystum* ở cả hai vùng sóng đều có xu hướng tăng dần theo thời gian sinh trưởng. Tuy nhiên, ở vùng sóng yếu, *Sargassum polycystum* có hàm lượng chất khô là 8,08 - 16,78% thấp hơn ở vùng sóng mạnh (9,35 - 21,20%). Lượng chất khô của rong ở vùng sóng yếu lúc cao nhất là 16,78% (tháng V) chỉ bằng 79,15% so với chỉ tiêu này của rong ở vùng sóng mạnh lúc cao nhất (tháng VI).

Bảng 12. Hàm lượng acid alginic và độ nhớt của alginate ở *Sargassum polycystum*

Vùng	Chỉ tiêu	Thời gian (tháng)						
		I	II	III	IV	V	VI	
Sóng mạnh	Hàm lượng acid alginic (%)	16,89 ±0,50	22,98 ±0,37	27,99 ±0,31	30,19 ±0,42	37,86 ±0,37	36,00 0,58	Tàn lụi
	Độ nhớt (cps)	208,80 ±1,53	224,10 ±0,98	253,35 ±1,12	271,35 ±1,37	328,75 ±2,00	294,30 ±2,00	Tàn lụi
	Hàm lượng acid alginic (%)	18,52 ±0,35	18,68 ±0,30	20,07 ±0,19	20,08 ±0,20	21,76 ±0,30		
Sóng yếu	Độ nhớt (cps)	153,90 ±6,00	173,25 ±4,06	227,70 ±7,01	253,80 ±3,22	270,00 ±7,09		

Hàm lượng acid alginic và độ nhớt của alginate trong rong của hai vùng được trình bày ở bảng 12.

Qua bảng 12 ta thấy rằng, hàm lượng acid alginic (13,52 - 21,76%) và độ nhớt của alginate (153,90 - 270,00 cps) của rong vùng sóng yếu đều thấp hơn so với các chỉ tiêu này của *Sargassum polycystum* ở vùng có sóng mạnh (hàm lượng acid alginic: 16,89 - 37,86%; độ nhớt: 208,80 - 328,75 cps)

Hàm lượng và độ nhớt alginate trong rong cũng có xu hướng tăng theo thời gian sinh trưởng trừ tháng cuối cùng ở rong của vùng sóng mạnh có hàm lượng và độ nhớt giảm nhẹ trước khi tàn lụi. Đây cũng là chiều hướng biến đổi hàm lượng acid alginic trong quá trình sinh trưởng của các loài *Sargassum meclurei*, *Sargassum kjellmanianum* ở Hòn Chông Nha Trang (theo tài liệu của Lâm Ngọc Trâm và cộng sự, 1991 - 1999) và *Sargassum tenerrimum* ở Cát Bà, Hải Phòng (Hoàng Cường, Lâm Ngọc Trâm, Phan Phương Lan, 1980; Nguyễn Hữu Dinh và cs., 1993).

Hàm lượng acid alginic của rong ở hai vùng sóng có sự sai khác rất rõ ràng. Chỉ tiêu này của rong ở vùng sóng yếu lúc cao nhất là 21,76% trọng lượng rong khô (vào tháng V) chỉ gần bằng hàm lượng acid alginic của rong vùng sóng mạnh khi chưa bước vào giai đoạn trưởng thành (tháng II đạt 22,98%) và chỉ bằng 57,47% hàm lượng acid alginic của rong ở vùng sóng mạnh vào tháng V (37,86%).

Như vậy, tuy cùng một loài rong nhưng khả năng tổng hợp và chuyển hóa chất hữu cơ cũng như khả năng tích lũy chất khô của rong ở vùng sóng mạnh cao hơn so với rong ở vùng sóng yếu. Chất lượng của rong ở vùng sóng mạnh cũng tốt hơn rong ở vùng sóng yếu, thể hiện qua sự chênh lệch độ nhớt của rong ở hai vùng sóng này.

Như chúng ta cũng đã biết, trong Rong Nấu, alginate là một hợp phân cấu trúc của tế bào ở gian bào. Nó đảm bảo cho cơ thể rong vừa vững chắc, vừa mềm dẻo. Có sự thay đổi thành phần alginate giữa các loài rong khác nhau, trong các mô khác nhau hay ở các điều kiện sống khác nhau của cùng một đối tượng. Do

vậy, kết quả thu được về sự khác nhau của hàm lượng và chất lượng alginate trong cùng loài *Sargassum polycystum* nghiên cứu này phù hợp với nhận định của các tác giả trên đối với Rong Mơ ở các vùng khác nhau trên cả nước.

Các chỉ tiêu thu được ở trên cũng đã nói lên được sự thích nghi của sinh vật nói chung và Rong Mơ nói riêng rằng, trong điều kiện khắc nghiệt của môi trường để Rong Mơ có thể tồn tại được thì ở vùng sóng mạnh rong phải ngắn lại, mập hơn, hàm lượng các chất có trong rong phải cao hơn, đặc biệt là độ nhớt phải rất cao để cho chúng có độ bền chắc hơn không bị xé rách hoặc nhổ cây khi sóng lớn vỗ mạnh vào chúng.

Các kết quả phân tích sinh lý sinh hóa thu được trên đây có thể là điểm cần lưu ý khi đề xuất hướng khai thác loài rong này trước mắt là ở Thừa Thiên - Huế. Nếu *Sargassum polycystum* được khai thác với mục đích sản xuất alginate có độ nhớt cao thì nên dùng rong mọc ở vùng sóng mạnh và thời gian thu hoạch vào tháng V - VI dùng làm nguyên liệu. Nếu lĩnh vực sử dụng chỉ đòi hỏi độ nhớt không cao thì *Sargassum polycystum* ở vùng sóng yếu là nguyên liệu tốt bởi vì ở vùng này sinh khối rong cao hơn nhiều so với vùng sóng mạnh. Nên thu hoạch rong ở vùng sóng yếu sớm hơn vùng sóng mạnh khoảng 15 đến 30 ngày.

5.3.4. Thành phần hóa học của ba loài rong *Sargassum polycystum*, *Sargassum oligocystum* và *Sargassum swartzii* ở Thừa Thiên-Huế.

Sargassum là một đối tượng phân bố rộng rãi ở nhiều vùng biển trên thế giới nói chung và ở Việt Nam nói riêng. Do đặc điểm riêng của từng loài và ảnh hưởng trực tiếp đến điều kiện sống mà khả năng tích lũy các thành phần sinh hóa của các loài Rong Mơ rất khác nhau. Để tìm hiểu khả năng này, chúng tôi đã tiến hành phân tích một số thành phần các chất hữu cơ và vô cơ cơ bản của ba loài rong chiếm ưu thế ở khu vực nghiên cứu là *Sargassum polycystum*, *Sargassum oligocystum* và *Sargassum swartzii*.

5.3.4.1. Hàm lượng một số chất hữu cơ trong ba loài Rong Mơ.

Kết quả phân tích hàm lượng một số chất hữu cơ của các loài Rong Mơ được trình bày ở bảng 13.

Qua bảng 13 cho thấy hàm lượng protein trong ba loài Rong Mơ không lớn. Hàm lượng protein thay đổi theo loài, trong đó *Sargassum oligocystum* có hàm

Bảng 13. Thành phần hóa học của một số loài Rong Mơ (% rong khô)

Tên loài	Protein	Lipid	Glucid	Cellulose	Chất khô*
<i>S. polycystum</i>	10,20 ±0,13	1,17 ±0,02	41,77 ±1,10	10,97 ±1,18	17,27 ±1,00
<i>S. oligocystum</i>	13,50 ±0,06	2,62 ±0,02	44,05 ±1,23	11,05 ±1,00	19,13 ±1,02
<i>S. swartzii</i>	12,73 ±0,05	2,02 ±0,03	47,63 ±1,09	13,33 ±0,09	20,78 ±1,10

* % trọng lượng tươi

lượng protein cao nhất, chiếm 13,50% trọng lượng khô, ở loài *Sargassum swartzii* có 12,73% và thấp nhất là ở *Sargassum polycystum* chỉ chiếm 10,20%.

Sự sai khác này không chỉ là do khả năng trao đổi protein giữa các loài không giống nhau mà còn do các mẫu rong thu ở các điều kiện sống không giống nhau. So với kết quả phân tích hàm lượng protein trong các loài Rong Mỡ ở Nha Trang, Ninh Thuận, Hải Phòng (chiếm 8,05-22,14%) thì Rong Mỡ ở Thừa Thiên-Huế có hàm lượng protein tương tự (Lâm Ngọc Trâm và cs., 1999)

Hàm lượng lipid trong cả ba loài Rong Mỡ nghiên cứu đạt 1,17 - 2,62%, chỉ chiếm một lượng nhỏ so với thành phần các chất hữu cơ khác của rong và không có sự sai khác đáng kể về thành phần này giữa các loài nghiên cứu.

Glucid là thành phần có hàm lượng cao nhất so với thành phần các chất hữu cơ có trong Rong Mỡ. Hàm lượng glucid ở *Sargassum swartzii* chiếm 47,63% trọng lượng khô, thứ đến ở *Sargassum oligocystum* chiếm 44,05% và thấp nhất là ở *Sargassum polycystum*, chỉ chiếm 41,77%. Nhìn chung, hàm lượng glucid của cả ba loài rong trên đều cao hơn thành phần này trong *Sargassum turbinariodes* ở Trường Sa, nhưng lại thấp hơn so với hàm lượng glucid trong nhiều loài Rau Câu (Đặng Diễm Hồng và cộng sự, 2000).

Hàm lượng chất khô là một trong những chỉ tiêu phản ánh khả năng tổng hợp và tích lũy chất dinh dưỡng của Rong Mỡ. Qua kết quả nghiên cứu cho ta thấy *Sargassum swartzii* có khả năng tổng hợp và tích lũy chất dinh dưỡng cao nhất. Với hàm lượng chất khô là 20,78% trọng lượng rong tươi.

Loài *Sargassum oligocystum* có hàm lượng chất khô cũng khá cao (19,13%) cuối cùng là ở *Sargassum polycystum* có hàm lượng chất này thấp nhất chỉ chiếm 17,27%. So sánh với hàm lượng chất khô của các loài Rong Mỡ ở Đảo Xanh, Bình Định (10%) theo nghiên cứu của Nguyễn Thọ Phát (1998) thì hàm lượng chất khô của chúng thấp hơn ba loài Rong Mỡ chúng tôi đang nghiên cứu.

5.3.4.2. Hàm lượng acid alginic và độ nhớt của alginate

Acid alginic là hợp chất cao phân tử rất quan trọng và là thành phần chính được chú ý khi khai thác Rong Mỡ.

Hàm lượng acid alginic trong Rong Mỡ được nghiên cứu khá

Bảng 14. Hàm lượng acid alginic và độ nhớt của alginate trong Rong Mỡ

Tên loài	Chỉ tiêu	
	Hàm lượng acid alginic (%)	Độ nhớt (cps)
<i>S. swartzii</i>	37,13 ± 1,60	352,11 ± 3,60
<i>S. oligocystum</i>	34,56 ± 1,57	320,89 ± 2,14
<i>S. polycystum</i>	26,25 ± 2,32	207,40 ± 3,24

cao (bảng 14), đặc biệt là ở *Sargassum swartzii* hàm lượng acid alginic chiếm 37,13% thứ đến là *Sargassum oligocystum* (34,56%) cuối cùng là *Sargassum polycystum* có hàm lượng acid alginic thấp nhất (26,25%). Theo nghiên cứu của nhiều tác giả, hàm lượng acid alginic trong các loài Rong Mỡ tại những vùng chúng sống tập trung có thể khai thác sử dụng như ở biển Hòn Dấu, Cát Bà (Hải Phòng) đạt 21,8 - 34,41%. Trong các loài Rong Mỡ ở Hòn Chồng (Nha Trang), Sơn Hải (Ninh Thuận), hàm lượng acid alginic chiếm 26,41 - 47,16% trọng lượng khô (Hoàng Cường và c.s., 1980; Nguyễn Hữu Đại và c.s., 1995 - 1997; Lâm Ngọc Trâm và c.s., 1991, ...). Kết hợp các kết quả phân tích của các

tác giả trên với số liệu phân tích hàm lượng alginate trong Rong Mơ ở Thừa Thiên-Huế (chiếm 26,35 - 37,13%) đã cho thấy xu hướng biến động của acid alginic là tăng lên khi vĩ độ địa lý giảm dần (theo nhận định của Lâm Ngọc Trâm, 1999). Sự sai khác hàm lượng acid alginic cũng có thể là do ảnh hưởng phần nào của phương pháp chiết rút, do sự khác nhau về loài và do điều kiện sống của rong.

Về độ nhớt - đó là chỉ tiêu khá quan trọng. Để đánh giá một cách toàn diện về giá trị của acid alginic cần phải xem xét chất lượng của chế phẩm này của rong mà theo quan điểm kỹ thuật: độ nhớt là tính chất rất quan trọng cần lưu ý. Độ nhớt đặc trưng cho độ trùng hợp phân tử, tức là đặc trưng cho trọng lượng phân tử của alginate. Độ nhớt cao ứng với trọng lượng phân tử lớn, độ nhớt thấp ứng với trọng lượng phân tử nhỏ.

Kết quả thu được ở bảng 14 cho thấy độ nhớt của alginate trong ba loài Rong Mơ nghiên cứu dao động trong khoảng 207,40 đến 352,11 cps. Trong đó, loài *Sargassum swartzii* chứa alginate có độ nhớt là 352,11 cps, cao nhất trong ba loài nghiên cứu. Alginate của *Sargassum oligocystum* có độ nhớt là 320.89 cps, và *Sargassum polycystum* chứa alginate có độ nhớt thấp nhất (207,40 cps).

Hàm lượng và độ nhớt alginate trong ba loài Rong Mơ tăng theo thứ tự: *Sargassum polycystum* > *Sargassum oligocystum* > *Sargassum swartzii*.

Trên thực tế độ nhớt và trọng lượng phân tử của alginate phụ thuộc vào rất nhiều nhân tố như: loài, độ trưởng thành, khu vực sinh trưởng, vào kỹ thuật tách chiết, thời gian bảo quản alginate, dụng cụ và phương pháp đo độ nhớt. Theo kết quả nghiên cứu của Trần Văn Ân (1982), Johnson và c.s. (1997), độ nhớt của alginate chiết từ Rong Mơ nói riêng và các alginophyte nói chung có sự khác biệt rất lớn.

Từ công nghệ tách chiết, alginate được chiết từ *Sargassum polycystum* ở Philippines có độ nhớt là 148 - 1450 cps, từ *Turbinaria ornata* là 113 - 457 cps, từ *Sargassum cristaeofolium* ở Đài Loan có độ nhớt khoảng 180 - 240 cps (dẫn theo Ngô Đăng Nghĩa, Luận án Tiến sĩ, Đại học Thủy sản Nha Trang, 2000). Tổng kết của Huỳnh Quang Năng và c.s. (1999) cho thấy độ nhớt trung bình trong các loài Rong Mơ ven biển phía nam Việt Nam dao động trong khoảng 500 - 800 cps, trong khi đó độ nhớt trung bình của các nguyên liệu chế biến alginate ở các nước trên thế giới là ≥ 1000 cps (theo Jahara J. et al., 1990; Obluchinskaya E. D. et al., 2002). Như vậy xét về mặt hàm lượng, cả ba loài Rong Mơ nghiên cứu có thể là nguồn nguyên liệu tốt để sản xuất alginate, nhưng về độ nhớt thì Rong Mơ của Thừa Thiên - Huế nói riêng và của Việt Nam nói chung thuộc loại thấp. Đây cũng là quy luật chung của Rong Mơ vùng nhiệt đới. Điều đó không có nghĩa là các nước nhiệt đới nói chung và Việt Nam nói riêng, trong đó có khu vực mà chúng tôi nghiên cứu - nơi mà có nguồn lợi Rong Mơ rất phổ biến, việc chế biến alginate từ Rong Mơ không đặt ra. Điều quan trọng là cần có định hướng công nghiệp chế biến và mục đích sử dụng alginate cho thích hợp và hiệu quả.

5.3.4.3. Hàm lượng chất khoáng của ba loài rong *Sargassum polycystum*, *Sargassum oligocystum* và *Sargassum swartzii* ở Thừa Thiên - Huế.

Hàm lượng khoáng tổng số và một số nguyên tố đại lượng và vi lượng trong Rong Mơ được trình bày ở bảng 15.

Bảng 15. Hàm lượng khoáng trong ba loài Rong Mơ (trọng lượng khô)

Loài	<i>Sargassum polycystum</i>	<i>Sargassum oligocystum</i>	<i>Sargassum swartzii</i>
N.tổ khoáng			
Khoáng ts (%)	20.17 ± 0.60	20.03 ± 0.80	21.75 ± 0.60
P (mg/g)	0.054 ± 0.003	0.061 ± 0.003	2.041 ± 0.003
K (mg/g)	18.036 ± 0.027	16.520 ± 0.088	15.974 ± 0.024
Ca (mg/g)	10.834 ± 0.047	22.556 ± 0.050	17.899 ± 0.071
Cu (µg/g)	7.982 ± 0.318	5.550 ± 0.220	5.733 ± 0.318
Mn (µg/g)	62.133 ± 3.828	55.200 ± 3.365	89.200 ± 3.800
Fe (µg/g)	255.05 ± 9.707	243.933 ± 5.829	266.867 ± 5.937
Mg (µg/g)	8520.000 ± 150.000	9655.111 ± 435.359	7598.000 ± 110.653
Co (µg/g)	26.513 ± 0.323	26.327 ± 0.323	26.885 ± 0.320
Zn (µg/g)	47.711 ± 1.210	61.400 ± 2.381	48.911 ± 8.527
I (µg/g)	33.00 ± 1.70	40.00 ± 1.00	40.00 ± 0.55
Pb (µg/g)	< 0.001	< 0.001	< 0.001

Qua bảng 15 chúng ta thấy ở cả ba loài rong được nghiên cứu đều rất giàu chất khoáng. Hàm lượng khoáng tổng số chiếm 20,03 - 21,75 trọng lượng khô và thay đổi tùy theo loài. Các nguyên tố khoáng đại lượng và vi lượng như Mg, Ca, K, Co, I, Fe,... đều cao hơn so với nhiều loài thực phẩm khác. Hàm lượng Mg đạt 7,598 - 9,655mg/g trọng lượng khô, hàm lượng Ca đạt 10,834 - 22,556mg/g; K: 15,978 - 18,035mg/g.

Hàm lượng iode trong rong chiếm 33 - 40µg/g, cao hơn nhiều so với hàm lượng iode trong nhiều loại thực phẩm, kể cả các thực phẩm có nguồn gốc từ biển (rau Cải Xoong: 0,45 µg/g, cá tươi: 2,4µg/g, nước mắm: 9,5µg/g v.v....). Vì vậy có thể xem Rong Mơ là một trong những nguồn bổ sung iode tự nhiên quan trọng để chống bệnh bướu cổ do thiếu nguyên tố này. Đặc biệt, hàm lượng Fe trong Rong Mơ chiếm 243,933 - 266,867µg/g, cao trội hơn hẳn so với hàm lượng Fe có trong các loại rau quả ở trên cạn (trung bình chỉ 5 - 30µg/g).

Theo các nhà chuyên môn, tác dụng tạo máu không những chỉ do Fe là nhóm ngoại của enzyme tham gia trong việc tổng hợp protoporphyrine, sau đó hình thành hemoglobine mà còn do các nguyên tố khác, đặc biệt là Mn, Cu, Co. Sự có mặt với hàm lượng cao các nguyên tố Mn: 55,5 - 89,2µg/g; Cu: 5,550 - 7,983µg/g; Co: 26,327 - 26,885µg/g trong Rong Mơ cũng rất cần được chú ý.

Mặt khác, các nhà khoa học Việt Nam khi nghiên cứu về bệnh bướu cổ, có địa phương đã kết luận: bệnh bướu cổ có xuất hiện không chỉ do thiếu iode mà còn do thiếu cả các chất khoáng vi lượng và đại lượng khác, đặc biệt là Ca, Mn, Fe, Co, Cu, Zn,... trong môi trường sống và thực phẩm. Vì vậy việc bổ sung cho

cơ thể các thực phẩm giàu khoáng là cần thiết (Hoàng Tích Minh và c.s., 1977). Về phương diện này có thể xem Rong Mơ là một thực phẩm có giá trị.

Đây cũng là lý do để các nhà dinh dưỡng học của thế giới xác nhận tảo biển là thực phẩm chức năng, tức là loại thức ăn có thể phòng và chữa trị một số bệnh cho con người. Ngoài ra các Rong Mơ này cũng có thể là nguồn phân bón cung cấp chất khoáng rất tốt cho cây trồng.

Kết quả phân tích còn cho thấy trong cả ba loài Rong Mơ, hàm lượng Pb rất thấp nên không gây độc hại.

Theo Lâm Ngọc Trâm và c.s. (1991), tổng lượng khoáng trong một số loài Rong Mơ ở Nha Trang dao động từ 21,08 – 423,43% trọng lượng khô. Hàm lượng một số nguyên tố đại lượng như Ca, Mg,... có thể đạt đến $n.10^{-3}$ g/g; các nguyên tố như: Zn, Mn, Co, Sn,... có hàm lượng từ $n.10^{-5}$ đến $n.10^{-7}$ g/g và hàm lượng iode từ 0,05 đến 0,16%. Như vậy, thành phần khoáng trong ba loài rong được chọn để nghiên cứu cũng nằm trong khoảng tương tự. Trong khi đó, các thành phần này trong *Sargassum hemiphyllum* của Hồng Kông có phần thấp hơn (Jenny C. C. Chan et al., 1997).

Hàm lượng các chất khoáng cao trong các loài Rong Mơ nghiên cứu chứng tỏ chúng có khả năng tích lũy hàng loạt các nguyên tố hóa học với hệ số tập trung cao. Một loài rong có khả năng tích tụ các lượng nguyên tố khác nhau (Bùi Minh Lý và c.s., 1995). Trong đó một số loài hấp thụ mạnh các nguyên tố đại lượng và vi lượng cần thiết cho quá trình sinh trưởng của cơ thể sống như đã phân tích ở trên. Ngoài ra, những nghiên cứu trong cả thập niên gần đây cho thấy các hợp chất polysaccharide trong một số loài rong biển có khả năng kết dính *in-vivo* với các ion kim loại nhiễm bẩn, đặc biệt là các nguyên tố phóng xạ. Do đó, nghiên cứu sử dụng rong biển nói chung và Rong Mơ nói riêng vào mục đích làm sạch môi trường biển, đặc biệt là những vùng có hàm lượng chất thải phóng xạ Sr^{90} , các kim loại nặng như Pb, Cd,... cao ngày càng được quan tâm. Khả năng đặc biệt này của Rong Mơ còn mở ra triển vọng sử dụng chúng như chỉ thị sinh học về độ nhiễm bẩn môi trường biển.

Việc phân tích thành phần khoáng trong Rong Mơ làm cơ sở khoa học cho việc khai thác và sử dụng có hiệu quả nguồn lợi phong phú này của Việt Nam.

5.4 Một số phương pháp chiết xuất sodium alginate của các nước trên thế giới và Việt Nam (Trương Văn Lung, 1999)

Có nhiều phương pháp chiết rút alginate, nhưng nguyên lý chung là dùng kiềm để chiết xuất acid alginic ra khỏi Rong Mơ, tẩy màu bằng chất oxy hóa, dùng acid vô cơ để tách acid alginic ra khỏi tạp chất, hòa tan trở lại bằng kiềm rồi làm khô thành phẩm. Tùy theo điều kiện mỗi nước và phương pháp chiết xuất có thể thay đổi ở một số công đoạn.

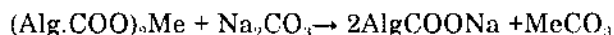
Sau đây là một số phương pháp của Pháp, Mỹ, Trung Quốc và Việt Nam.

5.4.1. Phương pháp chiết xuất của Pháp

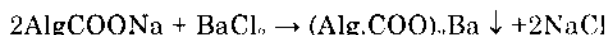
(theo tài liệu của Michel Beguery, 1976).

L'exploitation des océans. L'économie département demain - Press Universitaires de France).

Chiết xuất alginate bằng soda (sodium carbonate)

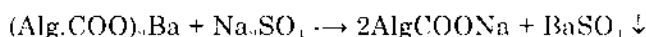


- Dùng muối barium chloride (BaCl_2) để kết tủa alginate dưới dạng barium alginate.



- Rửa tủa để loại tạp chất

- Dùng Na sulfate để chuyển Ba alginate trở lại sodium alginate hòa tan



Lọc, loại tủa BaSO_4 và làm khô thành phẩm sodium alginate.

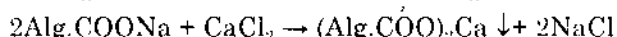
5.4.2. Phương pháp chiết xuất của Mỹ

(theo tài liệu của Chapman V. J., 1970)

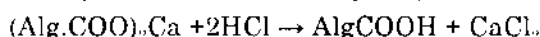
Seaweed and their use-methuen 8. CO. LTD London)

- Chiết xuất alginate bằng soda

- Dùng calcium chloride để kết tủa alginate dưới dạng Ca alginate

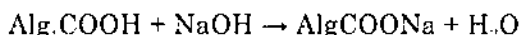


- Dùng acid chlohydric loãng chuyển Ca alginate thành acid alginic



- Rửa acid alginic cho sạch tạp chất và tẩy màu bằng dung dịch Javel.

Dùng kiềm để chuyển acid alginic thành sodium alginate



5.4.3. Phương pháp chiết xuất của Trung Quốc

- Xử lý nguyên liệu. Rửa sạch rong, loại các tạp chất lẫn lộn trong rong. Cắt nhỏ nguyên liệu, ngâm trong HCl 0.1N trong 4h (1 phần rong trong 14 phần HCl). Lắc, rửa rong vài lần (lượng nước gấp 5 lần lượng rong). Dùng nước này để lấy mannitol, iode. Rong rửa sạch được ngâm tiếp trong dung dịch formol 0.5 - 1% trong 23 - 24h để cố định sắc tố và chống thối.

- Chiết xuất: ngâm xong, vớt rong cho vào dung dịch Na_2CO_3 1% (lượng dung dịch bằng 20 lần lượng nguyên liệu). Tiếp đó cho formol 40% (lượng bằng 3% trọng lượng khô). Nấu trong 3h ở nhiệt độ 40°C phải khuấy trộn đều liên tục.

- Lọc. Nấu xong thêm nước gấp 2.5 lần lượng nước ban đầu để giảm độ nhớt cho dễ lọc.

- Cho H_2SO_4 5% vào đến pH: 4 - 5. Khuấy nhẹ liên tục trong khi thêm acid. Acid alginic kết tủa nổi lên trên. Lọc lấy keo (acid alginic) rửa sạch H_2SO_4 (thử với dung dịch BaCl_2 đến lúc không còn kết tủa BaSO_4).

- Trung hòa acid alginic bằng dung dịch bão hòa Na_2CO_3 đến pH: 8 - 9. Keo tan có màu cánh dán.

- Làm khô: dùng cồn 95% (thể tích cồn bằng thể tích dung dịch keo) vừa cho vào vừa khuấy trong 20 - 30 phút. Keo đông kết lại. Lọc, làm khô ở 40°C . Thành phẩm có dạng như tơ, màu nâu.

- Có thể để dung dịch keo vào khay kính phơi ở 40°C sẽ được các tấm keo mỏng alginate.

5.4.4. Phương pháp chiết xuất của Việt Nam

(theo tài liệu của Trần Kim Quy, 1978)

Sản xuất alginate từ Rong Mơ (*Sargassum*)

Báo Khoa học và Đời sống số 15 (39) ngày 1.VIII .1978

a/ Xử lý Rong Mơ

- Loại tạp chất 1 bằng HCl
- Rửa sạch rong
- Loại tạp chất 2 bằng $\text{Ca}(\text{OH})_2$
- Rửa sạch rong.

b/ Chiết xuất

Dùng NaOH để chiết xuất alginate

- Lọc dịch chiết để tách cellulose
- Dùng HCl để kết tủa acid alginic
- Dùng NaOH để chuyển acid alginic thành sodium alginate
- Làm bay hơi nước để được thành phẩm sodium alginate

Từ các tạp chất có thể tách ra iode, mannitol, laminarine, fucoidine và protein.

Sodium alginate là dung dịch keo rất sánh, rất khó lọc, chiết xuất xong phải pha loãng từ 2 - 2,5 lần thể tích để lọc được nhanh hơn, trở ngại là phải có nhiều dụng cụ chứa các dung tích lớn, cồng kềnh. Vì vậy Pháp và Mỹ kết tủa sodium alginate bằng BaCl_2 , CaCl_2 để khỏi phải lọc một lượng dung dịch quá lớn. Nhưng gặp phải nhược điểm là tốn kém hóa chất.

5.4.5. Quy trình chiết xuất alginate từ Rong Mơ Bình Trị Thiên (*Sargassum meclurei* Setchell)

(tài liệu nghiên cứu của Trương Văn Lung, Võ Thanh Kỳ, Đỗ Thị Nga, 1987)

Sau khi nghiên cứu ảnh hưởng của formol đến độ nhớt của alginate, ảnh hưởng của acid đặc HCl đến độ nhớt, ảnh hưởng của kiềm (NaOH) và Na_2CO_3 , ảnh hưởng của các chất tẩy màu (nước Javel, sodium hypochlorite), ảnh hưởng của nhiệt độ chiết xuất và thời gian chiết, ảnh hưởng của thời gian thu mẫu, ảnh hưởng của bảo quản rong, chúng tôi rút ra quy trình chiết xuất alginate Bình Trị Thiên bao gồm các công đoạn sau:

- Xử lý rong để loại tạp chất
- Chiết xuất alginate
- Làm khô thành phẩm.

5.4.5.1. Tách xử lý rong trước khi chiết xuất

Rong được rửa sạch bằng nước máy, nhặt hết tạp chất, ngâm trong nước 2 - 3h, thái nhỏ khoảng 1cm. Để ráo nước, ngâm trong dung dịch HCl 0.075N trong

th để loại các muối kim loại. Rửa sạch rong bằng nước máy. Ngâm tiếp trong dung dịch nước vôi bão hòa (1,7g/l) trong 12h. Rửa sạch rong.

5.4.5.2. Chiết xuất alginate

Pha dung dịch Na_2CO_3 1% (10g Na_2CO_3 /1lít nước). Cứ 1 phần (trọng lượng) rong khô cho vào 20 phần (thể tích) dung dịch Na_2CO_3 1% đựng trong nồi inox, đun nóng đến 70 - 75°C trong 4h. Thỉnh thoảng khuấy trộn.

Tiếp tục chiết lần 2 như trên với tỷ lệ 1 rong 20 dung dịch Na_2CO_3 1% ở 70 - 75°C trong 4h. Lọc nước 2. Gộp dịch lọc của 2 lần chiết. Tẩy màu bằng dung dịch sodium hypochlorite (NaOCl) 5% trong 1 - 2h cho hết màu nâu.

Acid hóa bằng dung dịch HCl 10% đến pH: 3. Vừa acid hóa vừa khuấy nhẹ để acid alginic nổi lên. Tách riêng acid alginic để rửa sạch đến khi mất màu chlore. Ly tâm tách kiệt nước. Trung hòa bằng Na_2CO_3 bão hòa (215g/l) đến pH: 6,5 - 7,0.

5.4.5.3. Làm khô sản phẩm

Đổ vào khay (tráng men) chiều cao dịch alginate khoảng 1cm. Làm khô nơi thoáng gió để có thành phẩm dạng tấm. Có thể dùng cón 90 - 95° để tách alginate ra khỏi nước; 1 thể tích dung dịch alginate trộn với 1 thể tích cón 90°, khuấy thật đều, vắt kiệt nước, bóp alginate thành bột rải trên polyethylene, làm khô.

Alginate điều chế theo phương pháp này có màu trắng ngà vàng, không mùi, không vị, dễ tan trong nước ấm, tạo thành dung dịch keo rất nhớt pH: 7.

Bị kết tủa khi tác dụng với acid (do tạo thành acid alginic) và khi tác dụng với muối kim loại kiềm thổ (do tạo thành alginate kiềm thổ không tan).

Chúng tôi dùng nước vôi bão hòa thay dung dịch formol 1% cho đỡ tốn kém vì formol đắt tiền, khó mua. Vả lại nước vôi hòa tan được protid nên có thể tách ra khỏi rong, khỏi lẫn vào alginate.

Chúng tôi không theo quy trình nước ngoài như dùng BaCl_2 , CaCl_2 cho vào dung dịch alginate kết tủa, tuy rằng dùng 2 hóa chất này có lợi là chuyển dạng, sodium alginate hòa tan thành Ba hay Ca alginate không tan nên dễ lọc, đỡ tốn thời gian lọc và bình chứa. Công nghiệp hóa chất nước ta chưa phát triển nên hạn chế dùng hóa chất càng tốt.

Khi chiết xuất sodium alginate muốn đạt chất lượng tốt cần nhớ những điểm cơ bản sau:

- Alginate là một polymer, dễ bị cắt mạch giáng hóa giảm độ nhớt. Cần tránh nhiệt độ cao, các chất acid, kiềm đậm đặc và các chất oxy hóa mạnh pha ở nồng độ cao.

- Nhiệt độ cao nhất ở 75°C, nấu chiết ở nhiệt độ trên 75°C, alginate bị đứt mạch, độ nhớt giảm. Alginate bị giảm chất lượng.

- Không dùng NaOH để chiết xuất vì NaOH là một kiềm mạnh. Dùng Na_2CO_3 1% và chiết 2 lần là đủ để đạt hàm lượng cao nhất.

- Acid chlohydric dùng ngâm rong để loại tạp chất thích hợp nhất là 0,075N (khoảng 2,8gHCl/lít).

Nếu tẩy màu không đúng thì độ nhớt của alginate cũng giảm (dung NaOCl 5% là thích hợp). Có thể điều chế dung dịch này bằng tách điện phân muối ăn (NaCl) rồi điều chỉnh để được nồng độ NaOCl 5%.

Sản xuất alginate khó khăn nhất là khâu lọc và khâu tẩy màu. Độ nhớt alginate càng cao thì càng khó lọc, cần pha loãng trước khi lọc để đỡ tốn thời gian.

Nếu có điều kiện thì ly tâm trước khi lọc để tách dung dịch alginate ra khỏi bã rong.

Có thể thiết kế những dàn lọc rung, vì khi rung các bã rong bị khuấy động, không bịt các lỗ màng lọc nên dịch lọc chảy nhanh hơn.

Làm khô alginate bằng cồn thì rất nhanh nhưng tốn kém. Cần có nổi cất để thu hồi, cồn sau khi tách riêng alginate để hạ giá thành sản phẩm. Ngoài ra muốn làm khô alginate, có thể dùng phương pháp sấy màng mỏng, quét dung dịch alginate lên giấy polyethylene, rồi sấy ở nhiệt độ thấp (40 - 50°C), có quạt gió.

Có thể sản xuất alginate dưới dạng dung dịch keo đặc để phục vụ ngay trong địa phương cho đỡ tốn kém (vì khi sử dụng, lúc nào cũng phải hòa tan alginate rắn thành dung dịch trước khi dùng).

Cũng có thể sản xuất alginate dưới dạng acid alginic. Khi dùng chỉ việc hòa tan acid alginic vào dung dịch sodium carbonate bão hòa đến pH: 7 là có sản phẩm dùng ngay. Và tiện lợi hơn nữa là trong mỗi đơn vị đóng gói nên để riêng acid alginic và Na_2CO_3 thành 2 lọ riêng với số lượng đã tính sẵn. Khi dùng người tiêu thụ cần cho vào nước là 2 chất này phản ứng vừa đủ với nhau để tạo dung dịch keo trung tính.

Khi sản xuất alginate cần dùng nồi inox (thép không rỉ) để khỏi bị hóa chất ăn mòn. Có thể dùng chum vại, rồi phát hơi chuyển sức nóng vào chum vại với nhiệt độ 75°C.

Sau khi tham khảo quy trình chiết xuất của nước ngoài và nghiên cứu các thông số kỹ thuật, chúng tôi đã xây dựng quy trình chiết xuất alginate.

So với phương pháp của Trung Quốc

- màu sắc trắng hơn
- hàm lượng (29,216% $\pm$ 0,232) (Trung Quốc: 21,884% $\pm$ 0,314)
- độ nhớt (34,80 cps. $\pm$ 0,48) (Trung Quốc: 30,06 cps. $\pm$ 0,28)

Để làm cơ sở khoa học vững chắc cho việc chiết rút alginate từ Rong Mơ tỉnh Thừa Thiên - Huế, những năm sau này chúng tôi tiếp tục nghiên cứu bổ sung quy trình chiết rút Rong Mơ ở địa phương một cách thích hợp.

Như chúng ta đã biết, ba nhân tố quan trọng trong công đoạn nấu chiết là nồng độ Na_2CO_3 , nhiệt độ và thời gian nấu chiết. Vấn đề đặt ra là vai trò của từng nhân tố và tổ hợp các nhân tố đối với độ nhớt và hàm lượng alginate thu được sau khi chiết rút như thế nào? Khoảng nào của các nhân tố thuộc vùng tối ưu cho độ nhớt lớn nhất trên từng loài Rong Mơ nguyên liệu cụ thể? Bước đầu, chúng tôi chọn hai loài Rong Mơ để nghiên cứu là *Sargassum oligocystum* và *Sargassum swartzii*.

in để loại các muối kim loại. Rửa sạch rong bằng nước máy. Ngâm tiếp trong dung dịch nước vôi bão hòa (1,7g/l) trong 12h. Rửa sạch rong.

5.4.5.2. Chiết xuất alginate

Pha dung dịch Na_2CO_3 1% (10g Na_2CO_3 /lít nước). Cứ 1 phần (trọng lượng) rong khô cho vào 20 phần (thể tích) dung dịch Na_2CO_3 1% đựng trong nồi inox, đun nóng đến 70 - 75°C trong 4h. Thỉnh thoảng khuấy trộn.

Tiếp tục chiết lần 2 như trên với tỷ lệ 1 rong 20 dung dịch Na_2CO_3 1% ở 70 - 75°C trong 4h. Lọc nước 2. Gộp dịch lọc của 2 lần chiết. Tẩy màu bằng dung dịch sodium hypochlorite (NaOCl) 5% trong 1 - 2h cho hết màu nâu.

Acid hóa bằng dung dịch HCl 10% đến pH: 3. Vừa acid hóa vừa khuấy nhẹ để acid alginic nổi lên. Tách riêng acid alginic để rửa sạch đến khi mất màu chlore. Lây tâm tách kiệt nước. Trung hòa bằng Na_2CO_3 bão hòa (215g/l) đến pH: 6,5 - 7,0.

5.4.5.3. Làm khô sản phẩm

Đổ vào khay (tráng men) chiều cao dịch alginate khoảng 1cm. Làm khô nơi thoáng gió để có thành phẩm dạng tấm. Có thể dùng cón 90 - 95° để tách alginate ra khỏi nước: 1 thể tích dung dịch alginate trộn với 1 thể tích cón 90°, khuấy thật đều, vắt kiệt nước, bóp alginate thành bột rải trên polyethylene, làm khô.

Alginate điều chế theo phương pháp này có màu trắng ngà vàng, không mùi, không vị, dễ tan trong nước ấm, tạo thành dung dịch keo rất nhớt pH: 7.

Bị kết tủa khi tác dụng với acid (do tạo thành acid alginic) và khi tác dụng với muối kim loại kiềm thổ (do tạo thành alginate kiềm thổ không tan).

Chúng tôi dùng nước vôi bão hòa thay dung dịch formol 1% cho đỡ tốn kém vì formol đắt tiền, khó mua. Vả lại nước vôi hòa tan được protid nên có thể tách ra khỏi rong, khỏi lẫn vào alginate.

Chúng tôi không theo quy trình nước ngoài như dùng BaCl_2 , CaCl_2 cho vào dung dịch alginate kết tủa, tuy rằng dùng 2 hóa chất này có lợi là chuyển dạng sodium alginate hòa tan thành Ba hay Ca alginate không tan nên dễ lọc, đỡ tốn thời gian lọc và bình chứa. Công nghiệp hóa chất nước ta chưa phát triển nên hạn chế dùng hóa chất càng tốt.

Khi chiết xuất sodium alginate muốn đạt chất lượng tốt cần nhớ những điểm cơ bản sau:

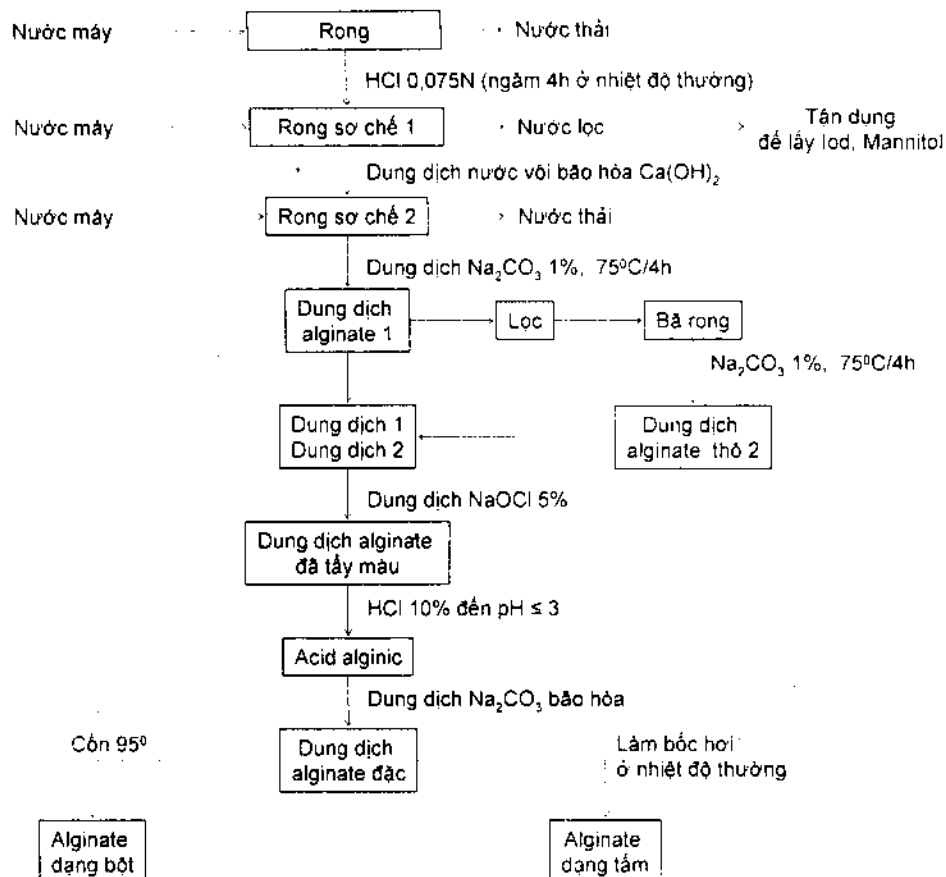
- Alginate là một polymer, dễ bị cắt mạch giống hóa giảm độ nhớt. Cần tránh nhiệt độ cao, các chất acid, kiềm đậm đặc và các chất oxy hóa mạnh phá ở nồng độ cao.

- Nhiệt độ cao nhất ở 75°C, nấu chiết ở nhiệt độ trên 75°C, alginate bị đứt mạch, độ nhớt giảm. Alginate bị giảm chất lượng.

- Không dùng NaOH để chiết xuất vì NaOH là một kiềm mạnh. Dùng Na_2CO_3 1% và chiết 2 lần là đủ để đạt hàm lượng cao nhất.

- Acid chlohydric dùng ngâm rong để loại tạp chất thích hợp nhất là 0,075N (khoảng 2,8gHCl/lít).

Quy trình chiết xuất alginate từ Rong Mỏ



Để giải quyết vấn đề đặt ra ở trên, cần phải thực hiện hai mảng thí nghiệm:

* Phân tích tương quan của từng nhân tố với hàm mục tiêu là độ nhớt và hiệu suất chiết rút, thông qua phương trình hồi quy bậc một ba nhân tố:

$$y = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_3x_3 + b_{1,2}x_1x_2 + b_{1,3}x_1x_3 + b_{2,3}x_2x_3 + b_{1,2,3}x_1x_2x_3$$

trong đó Y là hàm mục tiêu (độ nhớt hoặc hiệu suất chiết)

x_1 là nồng độ Na₂CO₃; x_2 là nhiệt độ nấu chiết; x_3 là thời gian chiết

b_0 là hệ số hồi quy bậc không

b_1 là hệ số hồi quy bậc một mô tả định tính và định lượng sự ảnh hưởng của nồng độ Na₂CO₃ đến y

b_2 là hệ số hồi quy bậc một mô tả định tính và định lượng sự ảnh hưởng của nhiệt độ nấu chiết đến y

b_3 là hệ số hồi quy bậc một mô tả định tính và định lượng sự ảnh hưởng của thời gian nấu chiết đến y

$b_{1,2}$, $b_{1,3}$, $b_{2,3}$ và $b_{1,2,3}$ lần lượt là hệ số hồi quy bậc một mô tả định tính và định lượng sự ảnh hưởng kết hợp của hai yếu tố nồng độ Na_2CO_3 và nhiệt độ; nồng độ Na_2CO_3 và thời gian; nhiệt độ và thời gian chiết cũng như ảnh hưởng của nồng độ Na_2CO_3 , nhiệt độ và thời gian chiết đến y

x_1x_2 , x_1x_3 , x_2x_3 và $x_1x_2x_3$ lần lượt là hai yếu tố: nồng độ Na_2CO_3 và nhiệt độ; nồng độ Na_2CO_3 và thời gian; nhiệt độ và thời gian chiết cũng như ba yếu tố: nồng độ Na_2CO_3 , nhiệt độ và thời gian chiết cùng ảnh hưởng đến y

Các hệ phương trình hồi quy mô tả định tính và định lượng được giải thích như sau:

+ Định tính:

Nếu $b < 0$: ảnh hưởng tiêu cực đến y vì nó làm giảm trị số y .

Nếu $b > 0$: ảnh hưởng tích cực đến y vì nó làm tăng trị số của y .

+ Định lượng:

- Nếu $|b|$ càng lớn thì sự ảnh hưởng càng mạnh.

- Nếu $|b|$ càng nhỏ thì càng ít ảnh hưởng.

Trong đó có 8 số hạng $\Rightarrow$ 8 hệ số

Mỗi một yếu tố ta chỉ lấy hai mức để tiến hành thí nghiệm nên số thí nghiệm cần tiến hành $N = 2^3 = 8$

Phương trình hồi quy này được xây dựng trên cơ sở thực nghiệm theo mô hình hóa thực nghiệm đa nhân tố.

* Tối ưu hóa thực nghiệm theo hàm mục tiêu là độ nhớt của từng loại Rong Mơ nguyên liệu

Vai trò của các thông số trong quá trình nấu chiết:

Để tách chiết được alginate người ta phải nấu rong trong môi trường kiềm (Na_2CO_3) ở nhiệt độ thích hợp trong khoảng thời gian nhất định. Mục đích của phần này là đánh giá ảnh hưởng của nồng độ Na_2CO_3 , nhiệt độ nấu và thời gian nấu đến hiệu suất chiết rút (%) và độ nhớt (cps) của dung dịch alginate. Hiệu suất càng cao, chứng tỏ phương pháp chiết rút đã lôi kéo đa số các phân tử alginate có trong rong tham gia phản ứng trao đổi ion và khuếch tán ra ngoài tế bào. Độ nhớt càng lớn cho thấy phương pháp chiết rút ít làm cắt mạch phân tử alginate.

Trước hết cần phải xây dựng sơ đồ thực nghiệm và các mức thực nghiệm như sau:

Các mức tiến hành thí nghiệm	X_1	X_2	X_3
Mức gốc (0)	1.4	70	2
Mức cao (+1)	2.1	80	3
Mức thấp (-1)	0.7	60	1
Khoảng biến thiên	0.7	10	1

Đối với loài rong *Sargassum swartzii*

Số liệu thí nghiệm nghiên cứu tách chiết được trình bày ở bảng 16

Xử lý thống kê các số liệu thực nghiệm ta thu được kết quả:

Bảng 16. Kết quả thí nghiệm tách chiết alginate từ *Sargassum swartzii*

Số thứ tự	Nồng độ Na_2CO_3 (%) U_1	Nhiệt độ (%) U_2	Thời gian (giờ) U_3	Độ nhớt (cps) Y_1	Hiệu suất (%) Y_2
1	0,7	60	1	323,33	19,04
2	2,1	60	1	395,67	25,72
3	0,7	80	1	227,00	24,29
4	2,1	80	1	352,67	28,13
5	0,7	60	3	252,00	22,27
6	2,1	60	3	358,33	28,66
7	0,7	80	3	198,67	26,27
8	2,1	80	3	321,67	30,01

Bảng 17. Kết quả thí nghiệm tách chiết alginate từ *Sargassum oligocystum*

Số thứ tự	Nồng độ Na_2CO_3 (%) U_1	Nhiệt độ (%) U_2	Thời gian (giờ) U_3	Độ nhớt (cps) Y_1	Hiệu suất (%) Y_2
1	0,7	60	1	268,00	16,12
2	2,1	60	1	334,00	25,12
3	0,7	80	1	244,33	24,80
4	2,1	80	1	316,00	28,24
5	0,7	60	3	229,33	23,22
6	2,1	60	3	282,33	27,17
7	0,7	80	3	165,67	26,52
8	2,1	80	3	240,00	29,65

- **Độ nhớt** (cps dung dịch sodium alginate 1% W/V trong NaCl 0,1M) Các hệ số của phương trình hồi quy: $b_0 = 303,67$; $b_1 = 53,42$; $b_2 = -28,67$;

$b_3 = -21,00$; $b_{1,2} = 8,75$; $b_{1,3} = 3,92$; $b_{2,3} = 6,17$; $b_{1,2,3} = -4,58$.

Các giá trị kiểm định theo tiêu chuẩn Student thu được:

$t_1 = 12,83$; $t_2 = -6,89$; $t_3 = -5,04$; $t_{1,2} = 2,10$; $t_{1,3} = 0,94$; $t_{2,3} = 1,46$; $b_{1,2,3} = -1,10$.

Các thông số $t_{1,2}$; $t_{1,3}$; $t_{2,3}$; $t_{1,2,3}$ nhỏ hơn t lý thuyết ($T_{1,7} = 2,12$) nên các hệ số hồi quy tương ứng bị loại khỏi phương trình hồi quy. Vì vậy, ta có phương trình hồi quy:

$$Y_1 = 303,67 + 53,42x_1 - 28,67x_2 - 21,00x_3$$

- **Hiệu suất chiết rút** (% khối lượng sodium alginate/khối lượng rong khô)

Với các bước tiến hành tương tự như trên ta có phương trình hồi quy đối với hiệu suất chiết rút như sau:

$$Y_2 = 25,82 + 2,36x_1 + 1,85x_2 + 1,53x_3$$

Đối với loài rong *Sargassum oligocystum*

Số liệu thí nghiệm nghiên cứu tách chiết được trình bày ở bảng 17

Phương trình hồi quy thu được trong quá trình chiết alginate từ *Sargassum oligocystum* sau khi đã xử lý thống kê kết quả như sau:

- Độ nhớt:

$$Y_1 = 274,21 + 36,21x_1 - 28,96x_2 - 32,38x_3$$

- Hiệu suất chiết rút:

$$Y_2 = 25,11 + 2,44x_1 + 2,20x_2 + 1,54x_3$$

ảnh hưởng của các thông số đến hiệu suất chiết rút.

** Đối với loài rong *Sargassum swartzii*

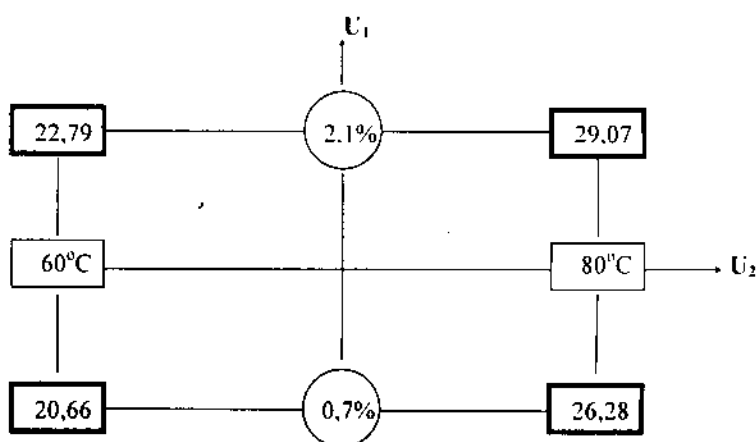
Trước

khi đánh
giá các hệ số
phương

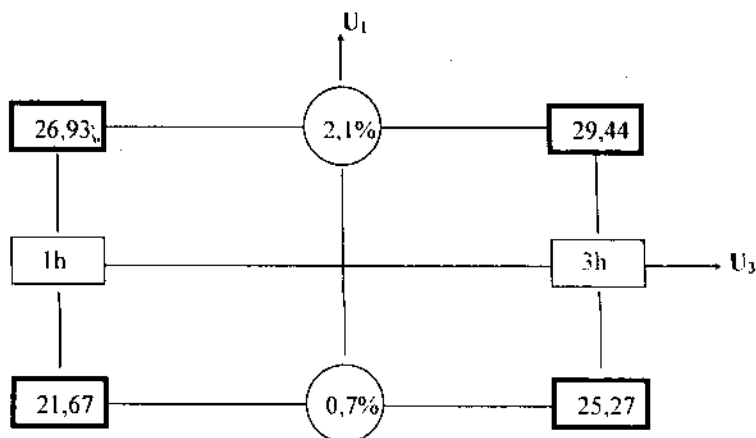
trình hồi
quy và quan
hệ của các
hệ số đó với
hàm mục
tiêu (Y_1),
cần đánh
giá tính lặp
lại của thí
nghiệm qua
phương

trình hồi
quy. Dựa
vào tiêu
chuẩn

Cochran ta
thấy $G_{TN} = 0,385$ và $G_{LT} = 0,516$,
nghĩa là $G_{LT} > G_{TN}$ chứng
tỏ sai số lớn
nhất của
thực nghiệm
không lớn
hơn tổng sai
của toàn bộ
thực
nghiệm, với
thực nghiệm
lặp lại.



Hình 8. Biến đổi hiệu suất alginate theo nồng độ Na_2CO_3 và nhiệt độ



Hình 9. Biến đổi hiệu suất alginate theo nồng độ Na_2CO_3 và thời gian

Như đã trình bày ở phần trên, alginate trong thành tế bào Rong Mỏ phân lớn ở dưới dạng muối ion hóa trị 2 không hòa tan như Ca^{++} , Ba^{++} , Mg^{++} ... Quá trình chiết rút là quá trình thực hiện phản ứng trao đổi ion, chuyển alginate từ dạng các muối không tan sang dạng muối sodium alginate hòa tan trong nước.

Trước khi nấu chiết rong thường được xử lý sơ bộ bằng acid để chuyển các muối alginate trong rong thành acid alginic. Công đoạn tiếp theo là nấu chiết trong môi trường kiềm - công đoạn chúng ta quan tâm - acid alginic dễ dàng chuyển thành sodium alginate hòa tan trong dung dịch. Từ phản ứng trên ta thấy hiệu suất phản ứng sẽ phụ thuộc vào nồng độ kiềm, nhiệt độ và thời gian tiến hành phản ứng. Mức độ phụ thuộc cụ thể được phản ánh qua kết quả thí nghiệm ở bảng 17.

Qua các kết quả trên cho thấy hiệu suất chiết rút alginate từ *Sargassum swartzii* có tương quan dương với cả 3 yếu tố trên: $b_2 = 2,36$; $b_3 = 1,85$; $b_4 = 1,53$. Điều này có nghĩa là cả nồng độ Na_2CO_3 (b_2), nhiệt độ (b_3) và thời gian chiết rút (b_4) đều ảnh hưởng tích cực đến hiệu suất chiết rút (Y_1). Trong đó, hệ số b_2 lớn hơn cả, chứng tỏ vai trò quan trọng của nồng độ Na_2CO_3 trong quá trình nấu chiết này. Khi nồng độ Na_2CO_3 càng lớn thì hiệu suất chiết càng lớn. Kiểm chứng điều này bằng cách so sánh kết quả từng cặp thí nghiệm ở cùng điều kiện nhiệt độ và thời gian chiết rút trên bảng 16 theo thứ tự: số đứng hàng trên tương ứng với nồng độ Na_2CO_3 0,7% và số đứng hàng dưới tương ứng với nồng độ Na_2CO_3 là 2,1%, ta có:

Na_2CO_3 0,7%: 19,0424, 2422, 2728, 27

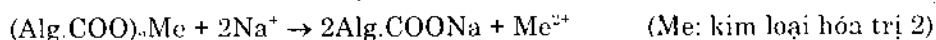
Na_2CO_3 2,1%: 25, 7228, 1328, 2730, 01

Như vậy, các số dưới luôn lớn hơn các số hàng trên, nghĩa là hiệu suất chiết rút ở nồng độ Na_2CO_3 2,1% cao hơn hiệu suất chiết rút ở nồng độ Na_2CO_3 0,7%.

Qua giá trị dương của b_2 và b_3 cho thấy khi tăng nhiệt độ (b_3) và thời gian nấu (b_4) thì hiệu suất chiết tăng lên nhưng do giá trị $b_2 > b_3$ cho nên mức tăng hiệu suất chiết khi tăng nhiệt độ rõ hơn khi tăng thời gian nấu chiết (hình 8, 9).

Cụ thể ở cùng nồng độ Na_2CO_3 0,7% khi tăng nhiệt độ từ 60°C lên 80°C thì hiệu suất tăng từ 20,66% lên 26,28% nghĩa là tăng 27,20% (hình 8); nếu tăng thời gian chiết từ 1 giờ lên 3 giờ thì hiệu suất tăng từ 21,67% lên 25,27% nghĩa là tăng 16,61% (hình 9). Rõ ràng trong giới hạn thời gian và nhiệt độ đã chọn, cả hai yếu tố này đều tỷ lệ thuận với hiệu suất chiết rút, tuy nhiên khi tăng nhiệt độ thì hiệu suất chiết tăng mạnh hơn.

Vai trò của nhiệt độ trong quá trình chiết rút là làm mềm thành tế bào, phá hủy thành tế bào và các mô, tạo điều kiện cho Na_2CO_3 khuếch tán dễ dàng vào các lớp tế bào bên trong, làm cho phản ứng trung hòa giữa Na_2CO_3 và acid alginic xảy ra thuận lợi hơn. Cũng nhờ tác dụng làm mềm các lớp tế bào mà quá trình khuếch tán của các phân tử sodium alginate vào dung dịch chiết rút thuận lợi hơn. Tác động cơ học kết hợp như cắt hoặc xay nhỏ rong nguyên liệu, khuấy đảo trong dung dịch khi nấu chiết cũng góp phần quan trọng thúc đẩy các quá trình trên. Thời gian của quá trình nấu chiết là thời gian để Na_2CO_3 khuếch tán vào vách tế bào, thực hiện phản ứng trao đổi ion theo phương trình:



Các phân tử sodium alginate được tạo thành sẽ khuếch tán ra khỏi các mô và đi vào dung dịch. Bởi vậy cần có thời gian dài để thực hiện các quá trình trên. Mặt khác, là một polymer có khối lượng phân tử lớn trong tế bào, quá trình khuếch tán alginate sẽ khó khăn và cần thời gian để thực hiện. Rong nguyên liệu càng chứa nhiều alginate và khối lượng phân tử alginate càng lớn thì không những chỉ đòi hỏi nồng độ Na_2CO_3 cao mà mà thời gian chiết rút cũng cần dài hơn.

Ngoài ra cần phải kiểm định tính phù hợp của phương trình hồi quy, tức là đánh giá sự thích ứng của mô hình với thực nghiệm theo tiêu chuẩn Fisher (F). Kết quả xử lý số liệu cho thấy $F_{TX} = 1,56$ và $F_{1,T} = 3$; như vậy, $F_{TX} < F_{1,T}$ do đó phương trình hồi quy đối với hiệu suất chiết rút *Sargassum swartzii* là thích ứng với thực nghiệm.

**** Đối với loài *Sargassum oligocystum***

Phương trình hồi quy biểu diễn mối quan hệ giữa 3 thông số với hiệu suất chiết rút alginate từ loài *Sargassum oligocystum* có cùng quy luật như phương trình của loài *Sargassum swartzii*, với các hệ số tương quan b_1 , b_2 , b_3 đều dương. Trong đó hệ số hồi quy của Na_2CO_3 cũng lớn nhất. Điều này một lần nữa chứng tỏ vai trò quan trọng của Na_2CO_3 đến hiệu suất chiết rút. Kết quả xử lý số liệu cho thấy tính lặp lại của thí nghiệm được đảm bảo và phương trình mô tả đúng thí nghiệm.

Ảnh hưởng của các thông số đến độ nhớt của dung dịch alginate.

Độ nhớt là một trong những chỉ tiêu chất lượng quan trọng, được đặc biệt quan tâm trong quá trình tách chiết alginate. Có rất nhiều nguyên nhân gây phản ứng cắt mạch alginate, làm giảm độ polymer hóa, dẫn đến giảm độ nhớt của sản phẩm. Có thể kể một số nguyên nhân chủ yếu sau:

- Do quá trình thu hoạch, phơi khô, bảo quản nguyên liệu.
- Cắt mạch do xử lý acid ban đầu.
- Do xử lý formol ban đầu.
- Do sự oxy hóa trong khi nấu chiết với sự có mặt của các hợp chất phenol.
- Do công đoạn chiết bằng kiềm.
- Cắt mạch khi kết tủa acid.
- Cắt mạch khi sấy khô.

Như vậy, trong toàn bộ quá trình từ khi thu hái nguyên liệu đến khi chế biến ra sản phẩm luôn có những nguyên nhân gây giảm độ nhớt. Vì vậy, để nghiên cứu các nhân tố ảnh hưởng của một khâu nào đó – cụ thể trong nghiên cứu này là khâu tách chiết – cần phải khống chế các khâu khác trong cùng một điều kiện. Đây là một việc làm khó khăn. Trong quá trình thực nghiệm vấn đề trên đã được hết sức chú ý đến.

**** Đối với loài *Sargassum swartzii***

Từ phương trình hồi quy của độ nhớt dung dịch alginate ở loài *Sargassum swartzii*: $Y_1 = 303,67 + 53,42x_1 - 28,67x_2 - 21,00x_3$, ta thấy quan hệ của độ nhớt với các thông số thí nghiệm không theo quy luật như quan hệ với hiệu suất

chiết mà ta vừa xét ở trên. Trong khoảng nồng độ Na_2CO_3 từ 0,7 đến 2,1%, hệ số $b_1 = 53,42 > 0$ cho thấy độ nhớt dung dịch alginate tăng theo sự tăng của nồng độ Na_2CO_3 . Điều này có thể lý giải là ở nồng độ kiềm thấp, vách tế bào chưa được phá hủy hoàn toàn và chỉ có các phân tử alginate có khối lượng phân tử nhỏ tan ra trước nên ta thu được alginate có độ nhớt thấp. Khi tăng nồng độ Na_2CO_3 , do vách tế bào và mô bị phá hủy mạnh hơn, các phân tử mạch dài dễ trung hòa và tan ra dung dịch, do đó độ nhớt tăng lên.

Tuy nhiên, trong môi trường tách chiết có độ pH lớn kết hợp với nhiệt độ cao và thời gian chiết kéo dài sẽ làm cắt mạch, dẫn đến giảm độ nhớt alginate. Điều này được thể hiện rõ ở mối tương quan âm của độ nhớt dung dịch alginate với nhiệt độ và thời gian nấu chiết ở phương trình trên:

$b_2 = -28,67$, $b_3 = -21,00$. Vì vậy, cần phải tiến hành nấu chiết trong thời gian vừa đủ cho acid alginic trao đổi ion với Na^+ và khuếch tán ra dung dịch, không nên kéo dài thời gian nấu cũng như tăng nhiệt độ quá cao.

Có thể kiểm chứng ảnh hưởng của nồng độ Na_2CO_3 , nhiệt độ và thời gian nấu chiết đến độ nhớt của dung dịch alginate qua hình 10 và hình 11.

Hình 10 cho thấy khi nồng độ Na_2CO_3 từ 0,7 đến 2,1% (U_1), độ nhớt tăng từ 287,67 cps đến 377,00 cps tương ứng với nhiệt độ chiết là 60°C. Điều này chứng tỏ có nhiều phân tử alginate mạch dài đã tan ra dung dịch chiết nhờ sự tăng nồng độ Na_2CO_3 làm phản ứng trao đổi ion triệt để hơn, thành tế bào và mô mềm thêm làm alginate khuếch tán ra dung dịch dễ dàng hơn. Tuy nhiên, ở nồng độ Na_2CO_3 0,7% khi tăng nhiệt độ từ 60°C lên 80°C (U_2) thì độ nhớt giảm từ 287,67 cps xuống 212,84 cps, ở nồng độ Na_2CO_3 2,1% khi tăng nhiệt độ, độ nhớt giảm từ 377,00 cps xuống 337,17 cps.

Như vậy, cả khi nồng độ Na_2CO_3 nhỏ (0,7%) và nồng độ Na_2CO_3 lớn (2,1%) việc tăng nhiệt độ nấu chiết từ 60°C lên 80°C đều làm giảm độ nhớt. Điều này cho thấy nhiệt độ làm mềm, phá hủy thành tế bào, và các mô, tạo điều kiện cho Na_2CO_3 khuếch tán dễ dàng vào các lớp tế bào bên trong, làm phản ứng trung hòa giữa Na_2CO_3 và acid alginic xảy ra thuận lợi hơn, với tốc độ nhanh hơn và quá trình khuếch tán của các phân tử sodium alginate ra dung dịch chiết rút dễ dàng. Nhưng nếu nâng cao nhiệt độ nấu chiết alginate sẽ bị chính môi trường kiềm lớn phá hủy. Đây là hiện tượng đã được Moe Storker T. và c.s, (1995) chứng minh trong nghiên cứu của mình.

Hình 11 cho thấy tác dụng tiêu cực của việc tăng thời gian nấu chiết với các nồng độ Na_2CO_3 khác nhau: ở nồng độ Na_2CO_3 0,7%, nếu tăng thời gian nấu từ 1 giờ lên 3 giờ (U_3) thì độ nhớt dung dịch alginate giảm từ 278,50 cps xuống 183,50 cps, còn ở nồng độ Na_2CO_3 2,1% độ nhớt giảm từ 372,33 cps xuống 328,34 cps khi tăng thời gian chiết. Rõ ràng thời gian là cần thiết để các phản ứng trao đổi và quá trình khuếch tán alginate, đặc biệt là các phân tử alginate dài xảy ra triệt để hơn nhưng nếu kéo dài thời gian thì độ nhớt sẽ giảm dưới tác dụng của môi trường pH lớn và nhiệt độ cao.

Do $|b_2| > |b_3|$ nên hình 10 và 11 còn có thể thấy khi tăng tăng nhiệt độ chiết, độ nhớt của dung dịch alginate giảm mạnh hơn khi kéo dài thời gian.

**** Đối với loài *Sargassum oligocystum*:**

Phương trình hồi quy của độ nhớt đối với *Sargassum oligocystum* là:

$$Y_1 = 274,21 + 36,21x_1 - 28,96x_2 - 32,28x_3$$

Phương trình này có các hệ số $b_1 > 0$, b_2 và $b_3 < 0$ cùng quy luật với *Sargassum swartzii*: $Y_1 = 303,67 + 53,42x_1 - 28,67x_2 - 21,00x_3$.

Tuy nhiên ở *Sargassum oligocystum* hệ số $b_1 = 36,21$ nhỏ hơn b_1 trong phương trình hồi quy của *Sargassum swartzii* (54,42) nên tác dụng tăng độ nhớt alginate khi tăng nồng độ Na_2CO_3 ở *Sargassum*

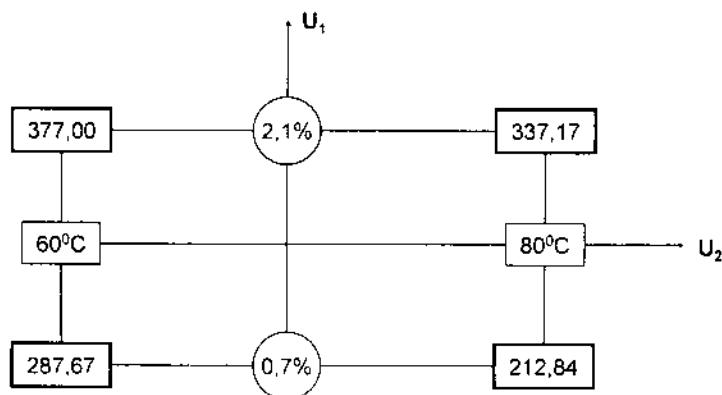
oligocystum thấp hơn so với ở *Sargassum swartzii*; trong khi đó b_3 32,28 lớn hơn b_3 trong phương trình hồi quy của *Sargassum swartzii* $b_3 = 21,00$ nên tác dụng giảm độ nhớt alginate (vì b_3 mang dấu âm) khi kéo dài thời gian chiết rút ở *Sargassum oligocystum* mạnh hơn.

Trong phương trình hồi quy ở cả hai loài rong trên các hệ số tương tác $b_{1,2}$, $b_{2,3}$, $b_{1,2,3}$ có mức ý nghĩa nhỏ (đánh giá theo tiêu chuẩn Student) nên có thể bỏ qua.

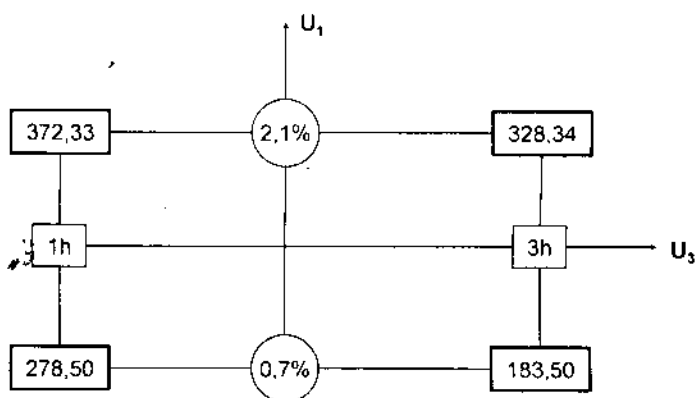
Các phương trình hồi quy sau khi kiểm định theo tiêu chuẩn Fisher đều thích hợp với thực nghiệm.

Tối ưu hóa công đoạn chiết theo phương pháp đường dốc nhất (steepest ascent).

Sau việc xây dựng thí nghiệm theo sơ đồ thực nghiệm và tìm ra phương trình hồi quy là tìm điều kiện nấu chiết tối ưu. Độ nhớt là thông số rất quan



Hình 10. Biến đổi độ nhớt alginate theo nồng độ Na_2CO_3 và nhiệt độ



Hình 11. Biến đổi độ nhớt alginate theo nồng độ Na_2CO_3 và thời gian

trọng của chất lượng alginate nên được chọn làm hàm mục tiêu. Như vậy, mục đích để ra là tìm các điều kiện thí nghiệm để dung dịch alginate chiết được có độ nhớt cao nhất.

Thực chất của việc thực nghiệm theo đường dốc nhất để tìm kiếm điều kiện tối ưu thực nghiệm là tìm các khoảng biến thiên mới λ_i^* , λ_j^* tương ứng với các yếu tố x_i , x_j ... tỷ lệ với nhau theo một tỷ số xác định để dịch chuyển đồng thời các điều kiện về phía cực trị (bảng 18).

Bảng 18. Bố trí và kết quả thí nghiệm tách chiết alginate từ *S. swartzii*

Tên biến thiên	Nồng độ Na_2CO_3 (%) U_1	Nhiệt độ (%) U_2	Thời gian (giờ) U_3	Độ nhớt (cps) Y_1	Hiệu suất (%) Y_2
Mức gốc	1,4	70	2		
Khoảng biến thiên Δ_i	0,7	10	1		
Giá trị nhỏ nhất	0,7	60	1		
Giá trị lớn nhất	2,1	80	3		
Hệ hồi quy b_j	53,42	-28,67	-21,00		
$b_i \Delta_i$	37,394	-286,70	-21,00		
Bước chuyển λ_i^*	0,2	-2	-0,15		
Thí nghiệm 9	1,6	68	1,85	329	24,50
Thí nghiệm 10	1,8	68	1,70	365	28,70
Thí nghiệm 11	2,0	64	1,55	401	26,12

Trong giới hạn giá trị các thông số đã được chọn, ở thí nghiệm thứ 11, tương ứng với điều kiện chiết: nồng độ Na_2CO_3 2%, nhiệt độ 64°C và thời gian 1,55 giờ (1 giờ 33 phút), alginate thu được có độ nhớt lớn nhất.

Tiến hành bố trí thí nghiệm tối ưu theo cách thức tương tự cho loài *Sargassum oligocystum* tương ứng với các điều kiện nồng độ Na_2CO_3 1,85%, nhiệt độ 64°C, thời gian 1,4 giờ (1 giờ 24 phút).

Như vậy, vùng tối ưu của hai loài Rong Mỏ nghiên cứu khá gần nhau, trong đó yêu cầu về nồng độ Na_2CO_3 và thời gian đối với *Sargassum oligocystum* có thấp hơn một ít.

Một điều cần lưu ý là do có nhiều nhân tố ảnh hưởng đến độ nhớt của alginate từ khi thu nguyên liệu cho đến khi tạo ra alginate thành phẩm như đã nói ở trên, cho nên không thể đưa ra một điểm tối ưu tuyệt đối mà chỉ tồn tại vùng tối ưu với các giá trị của các nhân tố ở lân cận các điểm tối ưu đã xác định được ở trên.

Ngô Đăng Nghĩa (2000) khi nghiên cứu tối ưu hóa quy trình công nghệ sản xuất alginate từ *Sargassum kjellmanianum* và *Sargassum meclurei* của Nha Trang thu được vùng tối ưu nằm trong khoảng nồng độ Na_2CO_3 1,5 - 1,6%, nhiệt độ 55-60°C, thời gian 1 giờ 15 phút - 2 giờ 20 phút. Như vậy, yêu cầu về

Bảng 19. Bố trí và kết quả thí nghiệm tách chiết alginate từ *S. oligocystum*

Tên biến thiên	Nồng độ Na_2CO_3 (%) U_1	Nhiệt độ (%) U_2	Thời gian (giờ) U_3	Độ nhớt (cps) Y_1	Hiệu suất (%) Y_2
Mức gốc	1.4	70	2		
Khoảng biến thiên Δ_1	0.7	10	1		
Giá trị nhỏ nhất	0.7	60	1		
Giá trị lớn nhất	2.1	80	3		
Hệ hồi quy b_1	36,21	-28,96	-32,38		
$b_1 \Delta_1$	25,347	-289,60	-32,38		
Bước chuyển λ_1^*	0.15	-2	-0,20		
Thí nghiệm 9	1,55	68	1,80	317	22,75
Thí nghiệm 10	1,7	66	1,60	342	26,08
Thí nghiệm 11	1,85	64	1,40	366	23,57
Thí nghiệm 12	2,00	62	1,20	301	20,42

nồng độ Na_2CO_3 và nhiệt độ trong quá trình chiết rút của hai loài Rong Mơ trên ở Nha Trang thấp hơn các yêu cầu này của Rong Mơ ở Thừa Thiên-Huế.

Kết luận:

- Các kết quả thí nghiệm cho thấy alginate rất nhạy cảm với các yếu tố trong quá trình chiết rút và mối quan hệ của độ nhớt alginate và hiệu suất chiết với các yếu tố trong quá trình này không giống nhau.

- Na_2CO_3 là nhân tố có ảnh hưởng lớn đến chất lượng alginate đối với cả hai loài rong nghiên cứu.

- Trong giới hạn nồng độ Na_2CO_3 đã chọn, đối với loài *Sargassum swartzii*, khi nồng độ Na_2CO_3 càng lớn thì độ nhớt dung dịch alginate thu được càng cao, hiệu suất chiết rút càng lớn. Đối với loài *Sargassum oligocystum* khi nồng độ Na_2CO_3 quá cao thì độ nhớt của alginate sẽ giảm.

- Nhiệt độ có tác dụng thúc đẩy quá trình trao đổi Na^+ với acid alginic và làm cho quá trình khuếch tán alginate vào dung dịch dễ dàng hơn, quá trình chiết xảy ra nhanh hơn. Nhưng nhiệt độ cao ở môi trường pH cao làm cắt mạch, giảm độ nhớt của alginate.

- Cần có thời gian để phản ứng trao đổi ion thực hiện một cách triệt để (đặc biệt là các phân tử alginate có khối lượng phân tử lớn) và khuếch tán ra môi trường nhưng thời gian kéo dài sẽ làm độ nhớt bị giảm xuống do tác dụng lâu của môi trường kiềm cao.

- Độ nhớt của hai loài rong có tương quan giống nhau với Na_2CO_3 , nhiệt độ và thời gian nấu chiết.

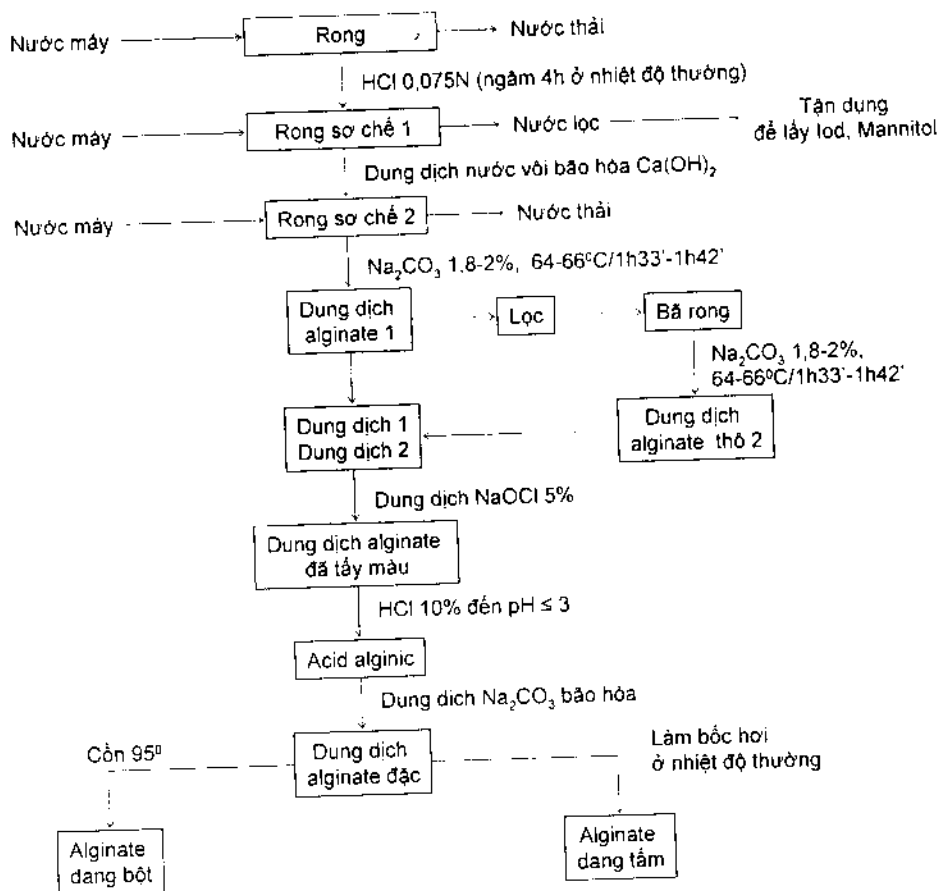
- Hiệu suất chiết rút có tương quan dương với cả ba nhân tố nấu chiết, trong đó ảnh hưởng của Na_2CO_3 là lớn nhất. Chiều hướng ảnh hưởng của các yếu tố này đến hiệu suất chiết rút ở cả hai loài rong nghiên cứu tương tự nhau.

- Tối ưu hóa thực nghiệm là phương pháp ưu việt, có thể định hướng cho người làm thí nghiệm có kế hoạch đúng để thu được kết quả tốt nhất, nhằm

đánh giá chính xác ảnh hưởng của các nhân tố về định tính và định lượng đến các biến mục tiêu, tiếp cận khoảng tối ưu và giảm đáng kể số thí nghiệm. Mặc dù quan hệ thu được mang tính chất thống kê, nhưng qua các thông số có được từ các phương trình hồi quy là cơ sở để tiên đoán và điều chỉnh nhằm có được sản phẩm theo nhu cầu.

Vùng tối ưu để nấu chiết alginate có độ nhớt và hiệu suất cao ở *Sargassum swartzii* nằm trong khoảng nồng độ Na_2CO_3 1,8 - 2,0%, nhiệt độ 64 - 66°C và thời gian 1,55 - 1,70 giờ (1 giờ 33 phút - 1 giờ 42 phút). ở *Sargassum oligocystum* nồng độ Na_2CO_3 1,70 - 1,85%, nhiệt độ 64-66°C, thời gian nấu 1,4 - 1,6 giờ (1 giờ 24 phút - 1 giờ 36 phút). Như vậy, vùng tối ưu của *Sargassum oligocystum* khá gần với vùng tối ưu của *Sargassum swartzii*, trong đó yêu cầu về nồng độ Na_2CO_3 và thời gian có thấp hơn một ít. Đây có thể là điểm thuận lợi trong quá trình chế biến rong sau này.

Quy trình chiết xuất alginate từ Rong Mỏ ở tỉnh Thừa Thiên - Huế (*Sargassum swartzii* và *Sargassum oligocystum*)



Trong sơ đồ trên, chúng tôi đã bổ sung vào quy trình đã được đưa ra trước đây sau khi đã nghiên cứu tách chiết alginate từ Rong Mơ tỉnh Thừa Thiên - Huế.

5.5. Công dụng của alginate

Như trên đã nói, alginate có rất nhiều công dụng khác nhau. Sau đây chúng ta điểm qua một số công dụng chủ yếu.

5.5.1. Trong công nghiệp

Alginate được dùng để hồ vải và in hoa trên vải. Nhờ tác dụng nhũ hóa và kết dính của alginate nên phẩm màu được phân tán đều đặn, dễ dính vào vải nên màu không loang lổ, rất đẹp. Alginate có thể chuyển thành dạng không tan để làm tơ nhân tạo lý tưởng.

Khi nhúng vải vào dung dịch sodium alginate rồi vào muối nhôm có ammoniac ta được vải nhôm alginate không thấm nước; đó là loại vải dùng làm áo di mưa nhũ và bền, đó cũng là tách làm vải bạt che mưa cho hàng hóa ngoài trời.

Alginate rất quan trọng trong công nghiệp chế biến cao su. Khi phối chế ammonium alginate với cao su, cao su sẽ được tăng tính đàn hồi và độ bền cơ học. Trong công nghiệp chế biến sơn, alginate phân tán phẩm, giữ vững các nhũ tương nên nước sơn rất đều, bóng và ít bị ảnh hưởng của nhiệt độ.

Trong công nghiệp giấy, alginate thay thế colophan (nhựa thông) làm giấy không thấm nhòe, dai và nhẵn mặt. Giấy alginate được dùng bọc kẹo cao cấp, chống ẩm cho kẹo khỏi bị chảy nước.

Alginate là chất kết dính tốt, có thể thay thế gồm adragant làm keo dán. Trong sản xuất xà phòng đánh răng, alginate thay thế carboxymethylcellulose (CMC) làm chất nhũ hóa. Alginate được dùng làm chất kết dính than đá khi làm than quả bằng. Alginate được dùng để khử Ca, Mn trong nước cứng đựng trong các nồi hơi (chaudière). Đồng alginate được dùng để bảo quản gỗ chống mối mọt.

5.5.2. Trong thực phẩm

Ở Mỹ người ta cho alginate vào thực phẩm làm kem trở nên mịn "lạ lùng".

Alginate giữ sữa bền, lâu lắng cặn. Nước trái cây cũng cần alginate. Alginate làm sữa bột và bột ca cao dễ tan hơn; cho vào bánh mì để bánh mì tươi lâu, mềm lâu; cho vào bia làm cho bia tăng hương vị đặc trưng đậm đà.

Khi hòa tan alginate vào nước đường, rồi acid hóa, alginate sẽ vón lại, quện theo các chất bẩn và các sắc tố, làm đường trong và sáng màu. Đó là phương pháp tẩy màu dùng trong công nghiệp lọc đường.

Alginate được dùng bảo quản cá, thịt được tươi không mất hương vị và trọng lượng nhờ tạo thành một màng bao bọc cách ly với môi trường bên ngoài.

5.5.3. Trong mỹ phẩm

Alginate dùng làm cho nước gội đầu, kem bôi mặt, thuốc đánh móng tay móng chân, thuốc xịt tóc, nhuộm tóc bền hơn, dịu hơn, đẹp hơn.

5.5.4. Trong y dược

Alginate được dùng để giải độc các muối kim loại nặng, do tạo thành các hợp chất không tan nên không thấm vào máu để đầu độc cơ thể. Alginate làm giảm nồng độ cholesterol trong máu; để phòng chống xơ cứng mạch máu. Alginate làm tá được dính cho thuốc viên và tá được nhũ hóa cho các nhũ dịch.

Phối hợp với muối nhôm, alginate làm thuốc chữa dạ dày do tác dụng trung hòa acid trong dịch vị và bao che vết loét. Phối hợp với calcium sulfate, alginate được làm khuôn răng giả trong nha khoa. Với calcium chloride ta được calcium alginate làm phim mỏng không chảy. Tinh chế và giáng hóa đến mức độ thích hợp, alginate được dùng thay thế dextrane để tiêm truyền máu khi mất máu.

5.5.5. Trong nông nghiệp

Trong thời gian gần đây, oligoalginate (OA) sử dụng trong nghiên cứu được sản xuất từ alginate chiết rút từ Rong Mơ bằng phương pháp cắt mạch bằng chiếu xạ ^{60}Co . Oligoalginate được ghi nhận có nhiều tác dụng quý như thúc đẩy quá trình nảy mầm của hạt giống và quá trình phát triển rễ, thân, lá của cây.

Vừa qua, một số nước nhất là Nhật Bản đã ứng dụng có kết quả oligoalginate (OA) dùng trong kích thích sự sinh trưởng cây trồng như là chất điều hòa sinh trưởng ở thực vật.

Vừa qua, chúng tôi cũng đã tiến hành thử nghiệm đối với một số cây trồng nông nghiệp ở Thừa Thiên - Huế.

Đối với cây Lạc, phun chế phẩm OA có nồng độ 60 - 100ppm đã có ảnh hưởng tích cực đến khả năng hình thành nốt sần của Lạc, đến đặc tính ra hoa (đều và tập trung hơn, tăng tỷ lệ hoa hữu hiệu) và sản lượng thu hoạch của Lạc (tăng 1,77 - 7,48 tạ/ha, tăng 38,66% so với đối chứng). Không những ảnh hưởng đến sản lượng mà OA còn ảnh hưởng tốt đến chất lượng của Lạc (tỷ lệ nhân tăng 110,29 - 113,03% so đối chứng; Lipid tăng 106,60 - 109,46% so đối chứng; protein tăng 111,18 - 112,42% so với đối chứng).

Đối với cây Xà Lách, OA làm tăng chiều cao và sinh khối (tăng 33,32 - 46,96% so với đối chứng). OA làm tăng đường khử, cellulose, vitamin C trong lá; tăng sản lượng thu hoạch từ 130,26 - 141,65% so với đối chứng). OA cũng làm tăng sản lượng Ngò từ 141,99 - 160,76% so với đối chứng.

Nhiều nghiên cứu cũng cho rằng khi xử lý OA không những chỉ tác dụng thúc đẩy sự sinh trưởng mà còn tăng khả năng chống chịu của cây có tác dụng phòng ngừa bệnh như là quá trình tiêm chủng (vaccination process) cho các phản ứng bảo vệ phòng ngừa ở thực vật (Darwill A.G. et al., 1992).

Alginate có công dụng rất lớn nên thị trường thế giới tiêu thụ rất nhiều và giá cả ngày một tăng. Hiện nay giá bán 1kg alginate trên thị trường quốc tế là 53 dollards (có thể tăng hơn). Vì vậy, các nước đang phát triển đã đầu tư vào lĩnh vực này rất lớn và thu được lợi nhuận rất cao. Ở Việt Nam, cơ sở Bình Đông phường 20 quận Tân Bình, thành phố Hồ Chí Minh đã chế biến thành công keo alginate chiết xuất từ Rong Mơ và ký hợp đồng tiêu thụ đầu tay 150000USD với một xí nghiệp chế biến cao su xuất khẩu. Cơ sở đang có kế hoạch sản xuất lớn để dần dần đáp ứng nhu cầu trong nước. Trường Đại học Quân y nước ta đã hoàn thiện qui trình sản xuất dịch truyền cao phân tử

alginate từ sodium alginate dùng trong truyền máu cho thương binh. Thành phố Đà Nẵng cũng đã có xây dựng xí nghiệp sản xuất alginate từ Rong Mơ.

Tương lai không xa, với trữ lượng của Rong Nâu, Việt Nam chúng ta sẽ có những nhà máy sản xuất alginate để tiêu dùng trong nước và xuất khẩu.

6

CÁC LOÀI AGAROPHYTE

Từ nhiều năm nay, sản xuất agar - agar (nhiều chỗ chúng tôi nói gọn là agar) đã phát triển thành một ngành công nghiệp quan trọng ở một số nước trên thế giới, nhằm phục vụ thiết thực cho nhu cầu ngày càng rộng rãi trong nhiều lĩnh vực kinh tế quốc dân của hầu hết các nước. Chính vì vậy mà người ta nghiên cứu phát hiện nhiều loài agarophyte khác nhau: *Gelidium amansii*, *Gracilaria verrucosa*, *Gracilaria lichenoides*, *Pterocladia lucida*, *Pterocladia copillacea*, *Gelidium cartiladium*, *Gelidium erinale*, *Gelidium japonicum*, *Campilaphora hyphecodes*, *Acanthepeltis japonica*, *Gelidium divaricatum*, *Ahnfeltia puricata*, *Ahnfeltia plicata*, *Phyllophora nervosa*, *Gelidium pacifilum*, *Fucellaria fastigiata*, *Laurencia cerymbosa*, *Grateloupia filicina*, *Gracilaria crassa*, *Gelidiella acerosa*, *Laurencia papilosa*, *Gracilaria tikvahiae*, *Euchema speciosum*.

Hiện nay mỗi nước đều tập trung vào một số loài chính để nghiên cứu và sản xuất agar - agar. Do đó tùy theo đối tượng và mức độ nghiên cứu, ở mỗi nước có một số đặc trưng riêng của từng loài.

6.1. Sự phân bố các loài agarophyte trên thế giới và Việt Nam

Ngành Tảo Đỏ có khoảng 2500 loài phần lớn phân bố ở biển (khoảng 50 loài sống ở vùng nước ngọt), phạm vi phân bố rộng. Tùy theo điều kiện thuận lợi của mỗi vùng, một số loài phát triển mạnh được chọn khai thác và sử dụng để sản xuất agar phục vụ cho nhu cầu trong nước và giao dịch quốc tế.

Riêng *Gracilaria* trên thế giới có khoảng 160 loài, phân bố ở khắp vùng nhiệt đới và ôn đới. Tùy theo điều kiện thuận lợi của mỗi vùng, một số loài phát triển mạnh đã khai thác và sử dụng rộng rãi để sản xuất agar - agar phục vụ cho nhu cầu trong nước và giao dịch quốc tế. Một số nước châu Âu, châu Mỹ dùng *Gelidium* để sản xuất agar - agar, nhưng các nước châu Phi, quanh vùng châu Á và Thái Bình Dương dùng chủ yếu là *Gracilaria*.

Sự phân bố các loài agarophyte có thể sơ bộ kể ra như sau:

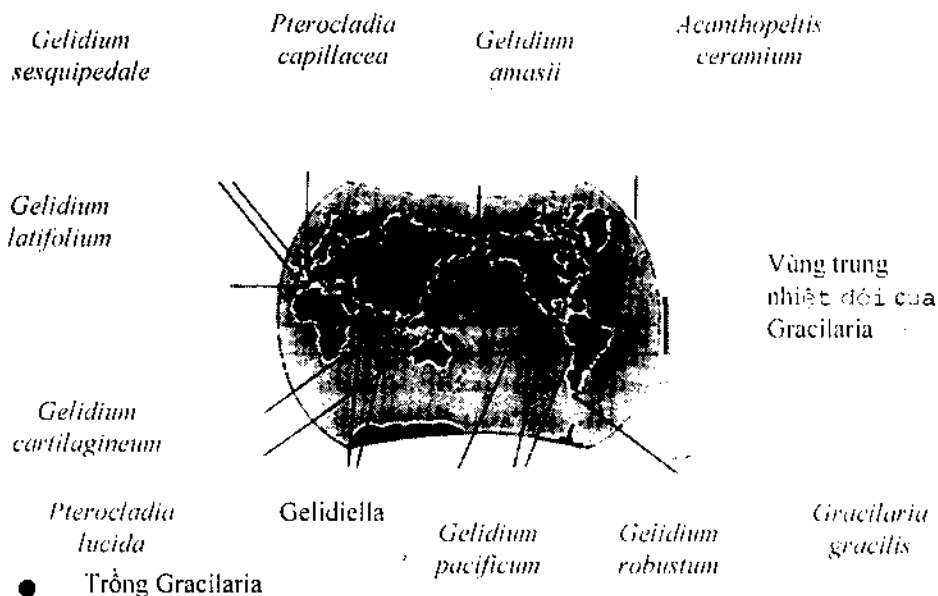
- Châu Á: ở các nước Nhật Bản, Philippinnes, Indonesia, Ấn Độ, bờ biển phía nam Seiland, vịnh Bengal, đảo Đài Loan, Hồng Kông, Trung Quốc, Thái lan, Việt Nam, Singapore, Srilanka, Myanmar, Pakistan .

- Châu Phi: bờ biển nam châu Phi.
- Châu Âu: vùng bờ biển Adriatic, và Mediterranean ở Italia, vùng biển bắc nước Pháp.
- Bắc Mỹ: vùng biển Columbian (Canada), vịnh Florida (American).
- Nam Mỹ: vùng biển ở trung và nam Chilê, vịnh Bustamante (Argentine), vùng biển trung và bắc Peru, bờ biển Brazilian.

Theo tài liệu của FAO/UNDP (1990), sản lượng Tảo Đỏ trên thế giới phân bố không đều, trong đó châu Á là khu vực cung cấp nguồn Tảo Đỏ chủ yếu. Sản lượng tảo để sản xuất agar trên thế giới theo khu vực phân bố là: châu Á: 18.080 tấn; châu Mỹ Latinh là 9990; châu Âu: 6350, các nơi khác: 1660 (tổng cộng: 36.094 tấn). Philippin, kể từ năm 1970 sau khi áp dụng thành công phương pháp phát triển nguyên liệu sản xuất agar với khối lượng lớn nhất, chiếm 62% (theo tài liệu của FAO/UNDP (1990)). Nguyên liệu của tảo dùng để sản xuất agar có hai loại: một loại sống ở vùng nước mặn, bám trên đá, vỏ ngao, vỏ sò gốc sủ vệt hay cành mục ở vùng trung triều, hạ triều. Xuất hiện từ tháng XI năm trước đến tháng V năm sau. Thời kỳ phát triển tốt nhất vào tháng III - IV. Sinh lượng bình quân không cao, mọc xen lẫn với các loài tảo khác. Loại thứ hai thường mọc trong đầm nước lợ thành từng cụm bám gốc xuống bùn, hoặc rải rác trên mặt đáy, một năm có hai về sinh trưởng, về tháng III đến tháng V chiếm khoảng 70 - 80% tổng sản lượng, về sau chiếm 20 - 30% tổng sản lượng. Sinh lượng bình quân của tảo trong nước lợ khá cao, dễ khai thác. Nguồn nguyên liệu chính hiện nay là tảo nuôi trồng trong các đầm phá, ao dià, ruộng nước lợ. Các giống tảo thường nhắc đến trong tài liệu như là nguyên liệu sản xuất agar như: *Acanthopeltis* (*A. crispus*, *A. japonica*), *Ahlfeltia* (*A. puricata*, *A. plicata* var. *tobuchiensis*), *Campylaephora hypnaeoides*, *Ceramium* (*C. rubrum*, *C. crassum*), *Eucheuma* (*E. spinosum*, *E. denticulata*, *Eisiforme...*), *Gelidium* (*G. austral*, *G. amansii*, *G. cornucum*, *G. pacificum*, *G. linoides*, *Gracilaria* (*G. verrucosa*, *G. confervoides*, *G. chondra*, *G. tenuistipitata*, *G. asiatica*, *G. heteroclada*, ... (Nguyễn Văn Tiến, 1994). Tuy nhiên không phải tất cả các loài tảo nói trên đều là nguồn nguyên liệu tốt, cho phép thu được agar với chất lượng cao. Trong thực tế sản xuất, mỗi nước đều sử dụng một số loài tảo nhất định dùng làm nguyên liệu chính. Việc chọn loài tảo nào làm nguyên liệu chính, phụ thuộc vào nhiều yếu tố khác nhau, mà quan trọng nhất là tính chất ổn định về nguyên liệu. Nói cách khác là khả năng phát triển của loài tảo trong đó điều kiện tự nhiên của mỗi nước cũng như chất lượng polymer chiết từ các đối tượng đó.

Về *Gracilaria* thuộc ngành Tảo Đỏ Rhodophyta, bộ Gigartinales, họ Gracilariaceae lần đầu tiên được Greville mô tả năm 1830 (Trương Văn Lung, 1999)

Riêng ở Việt Nam, trong các nguồn tư liệu ta thấy có công trình đề cập đối tượng này sớm nhất là bài báo của Anonymus: *Le Gracilaria confervoides et autres algues commerciales du Quảng Bình* "Bull. Econ. Indochine" N° 30, 1905. Năm 1920 Petelot và Maganlan cũng mô tả loài *Gracilaria confervoides* ở Cửa Việt, Quảng Trị trong "Elément de botanique Indochine". Năm 1962, Tăng Trình Khuê và những người khác đã giới thiệu "Trung Quốc kinh từ Hải tảo



Hình 12. Sự phân bố một số loài agarophyte và các khu vực trồng *Gracilaria* chủ yếu trên thế giới



Hình 13. Thu hoạch agarophyte ở Canada

chỉ". Khoa học xuất bản xã Bắc Kinh. Năm 1969, Nguyễn Hữu Đình và những người khác đã xuất bản cuốn "Rau câu" đã mô tả 11 loài Rau câu ở miền Bắc Việt Nam.

Hiện nay thành phần loài Rau câu phân bố ở vịnh Bắc Bộ lên tới 20 loài như sau:

Rau cong *Gracilaria arcuata* Zan.

Rau câu khớp *Gracilaria articulata* Chang et Xia.

Rau câu thắt *Gracilaria blodgettii* Harv.

Rau câu dòn *Gracilaria bursa - pastoris* (Gmel.) Silva.

Rau câu giống nhánh *Gracilaria cacialia* (J.Ag.) Dawson.

Rau câu thừng *Gracilaria chorda* Holm.

Rau câu tần *Gracilaria coronopifolia* J.Ag.

Rau câu ngắn *Gracilaria crassa* (Harv.) J.Ag.

Rau câu chân vịt *Gracilaria eucheumoides* Harv.

Rau câu cứng *Gracilaria firma* Chang et Xia.

Rau câu đẹp gai *Gracilaria punctata* (Okam.) Yamada.

Rau câu đẹp nhọn *Gracilaria foliifera* (Forsk.) Boerg.

Rau câu thô *Gracilaria gigas* Harv.

Rau câu Hải Nam *Gracilaria hainanensis* Chang et Xia.

Rau câu đỏ *Gracilaria rubra* Chang et Xia.

Rau câu dốt *Gracilaria salicornia* (C.Ag.) Dawson.

Rau câu gai *Gracilaria spinulosa* Chang et Xia.

Rau câu mảnh *Gracilaria tenuistipitata* Chang et Xia.

Rau câu đẹp *Gracilaria textorii* (Sur.) J.Ag.

Rau câu chỉ vàng *Gracilaria verrucosa* (Huds.) Papenf.

Trong số các loài kể trên có 13 loài phân bố ven phía tây vịnh Bắc Bộ (phía Việt Nam) và 17 loài phía tây đảo Hải Nam, bán đảo Lôi Châu ven bờ Quảng Tây (phía Trung Quốc). Có 10 loài chung cho cả 2 phía Trung Quốc và Việt Nam. Ba loài chỉ phát hiện ở ven bờ Việt Nam và 7 loài khác chỉ có ở ven bờ Trung Quốc. chia ra nhóm loài ôn đới ấm (warm - water temperate) gồm các loài *Gracilaria foliifera*, *Gracilaria textorii*, *Gracilaria verrucosa*. Nhóm loài á nhiệt đới (subtropical) gồm *Gracilaria punctata*, *Gracilaria bursa - pastoris*, *Gracilaria gigas*.

Nhóm loài nhiệt đới (tropical) *Gracilaria cacialia*, *Gracilaria chorda*, *Gracilaria eucheumoides*, *Gracilaria coronopifolia*, *Gracilaria crassa*, *Gracilaria hainanensis*, *Gracilaria salicornia*, *Gracilaria spinulosa*, *Gracilaria tenuistipitata*.

Nhóm loài nhiệt đới rộng: *Gracilaria arcuata*, *Gracilaria blodgettii*. (Trương Văn Lung, 1999; Nyan Taw, 1991...)

Vùng ven biển Quảng Ninh - Hải Phòng, theo phân bố thẳng đứng ở khu vực đảo Cái Bàu cho thấy vùng triều cao (2,83 - 3,73m) không có rong. ở vùng triều giữa (1,34 - 2,83m) có các loài *Gracilaria verrucosa* (syn. *Gracilaria asiatica*), *Gracilaria blodgettii*, *Gracilaria salicornia*, *Gracilaria chorda*, *Gracilaria bursa - pastoris*. ở vùng triều thấp (0,46 - 1,34m) và phần trên của

vùng dưới triều có các loài *Gracilaria articulata*, *Gracilaria crassa*, *Gracilaria gigas*, *Gracilaria chorda*. Ở vùng triều thấp thuộc Hòn Dấu - Đồ Sơn thường có *Gracilaria textorii*, *Gracilaria foliifera*, *Gracilaria hainanensis*. Như vậy vùng ven biển Quảng Ninh - Hải Phòng đã phát hiện 11 loài Rau câu khác nhau phân bố trên vùng triều giữa.

Trong đầm nước lợ thường gặp 2 loài *Gracilaria verrucosa* (syn. *Gracilaria asiatica*) và *Gracilaria blodgettii* và cả ở đầm muối cũng có cả 2 loài này (Nguyễn Văn Tiến, 1994)

Ở vùng ven triều của miền Trung chủ yếu là từ Thanh Hóa vào Bình Định chưa có nhiều tài liệu công bố ngoài những tài liệu của Phạm Hoàng Hộ (1969), "Rong biển Việt Nam. Trung tâm Học liệu Sài Gòn xuất bản". Lương Công Kính (1964), phúc trình kết quả điều tra mức sản xuất nguyên liệu chế biến đông sương tinh khiết tại các tỉnh duyên hải miền Nam Việt Nam (tài liệu của Hải học viện Nha Trang). Vì vậy sự phân bố các loài agarophyte ở đây còn là chỗ trống cần tiếp tục nghiên cứu.

Quanh vùng đầm phá của các tỉnh Quảng Bình, Quảng Trị, Thừa Thiên-Huế chủ yếu mới phát hiện loài *Gracilaria verrucosa*. Hiện nay có người cho là không phải *Gracilaria verrucosa* mà là *Gracilaria tenuistipitata* hoặc *Gracilaria asiatica*. Mặc dù số lượng loài ít nhưng sinh khối tương đối lớn và phân bố rộng khắp vùng đầm phá, nhất là các vùng có điều kiện sinh thái thích hợp.

Theo tài liệu của Lâm Ngọc Trâm và một số người khác (1978) giới thiệu hàm lượng agar - agar của 13 loài Tảo Đỏ vùng ven biển Nha Trang - Vũng Tàu:

- . Rau câu chi vàng *Gracilaria verrucosa* (Huds.) Papenf.
- . Rau câu cù *Gracilaria crassa* J.Ag.
- . Rau câu cong *Gracilaria arcuata* Zan.
- . Rau câu giả *Gracilariopsis rhodotricha* Dawson.
- . Rau câu rẽ tre *Gelidiella acerosa* (Forsk.) Feldm. et Hem.
- . Rong đông gai dài *Hypnea boergesenii* Tanaka.
- . Rong gai bông *Acanthophora spicifera* (Vahl.) Båoerg.
- . Rong gai chim *Acanthophora orientalis* J.Ag.
- . Rong mào gà núm *Laurencia papillosa* (Forsk.) Grey.
- . Rong mào gà ngà *Laurencia corymbosa* J.Ag.
- . Rong mào gà sụn *Laurencia cartilaginea* Yam.
- . Rong chũn sợi *Grateloupina filicina* (Wulf.) J.Ag.
- . Rong măng leo biển *Asparagopsis taxiformis* (Dal.) Collet Harv.

Mẫu rong lấy các điểm Bãi Miến, Hòn Yến, Hòn Chồng (Nha Trang), Cà Ná, Dầm Nại (Bình Thuận), Vũng Tàu (Đồng Nai). Các điểm thu mẫu phần lớn thuộc vùng triều ven biển. Riêng ở Cà Ná, Dầm Nại lấy trong đầm nước lợ và chứa nước làm muối.

Bảng 20. Sự phân bố và trữ lượng (tấn tươi) của Rau câu ở ven biển Việt Nam

Vùng	Trữ lượng	Vùng	Trữ lượng
Quảng Ninh	2.000	Bình Trị Thiên	2.000
Hải Phòng	1.800	Quảng Nam-Đà Nẵng	250
Thái Bình	400	Quảng Ngãi-Bình Định	800
Nam Định-Ninh Bình	440	Phú Yên-Khánh Hòa	600
Thanh Hóa	560	Ninh Thuận-Bình Thuận	150
		Tổng cộng	9.300

Qua những số liệu thu được trong quá trình nghiên cứu cho phép chúng ta khẳng định rằng dọc theo bờ biển Việt Nam từ bắc chí nam đều có Rau câu sinh trưởng và phát triển. Tùy theo điều kiện sống mà các loài agarophyte phân bố ở các mức độ khác nhau về thành phần loài và số lượng.

Sau đây là trữ lượng (tấn tươi) Rau câu ven biển Việt Nam.

6.2. Đặc điểm sinh lý sinh hóa của các loài agarophyte

Các loài agarophyte ngoài agar - agar là sản phẩm chủ yếu ra, chúng còn có các sản phẩm khác như protein, phycoerythrine... có giá trị kinh tế cao. Vì vậy từ lâu các nhà khoa học trên thế giới đã tập trung nghiên cứu chúng: H.H. Gail. Shelford (1922), Hubbelet và Voblikov (1928), W.N. Luibimenco và Tichevskaia (1929), Montfort (1929 - 1933), Tschudy (1936) và Levring T. (1947) đã nghiên cứu tác dụng của ánh sáng đến quá trình quang hợp của Tảo Đỏ. Một số tác giả này nghiên cứu về độ sâu của Tảo Đỏ cho thấy chúng có khả năng quang hợp tốt ở độ sâu 10 - 15m, vì trong thành phần các sắc tố phycoerythrine có khả năng hấp thụ tia tử ngoại (theo tài liệu của Đông Hồ Kim, 1969).

N. B. Causey (1944) và Stokke K. (1957) cho rằng nồng độ muối thích hợp cho sự phát triển của *Gracilaria* là 25‰ còn W. Brucker (1980) thì cho rằng nồng độ muối thích hợp cho Rau câu chỉ vàng phát triển là 15 - 18 ‰.

Năm 1959 Jones W.E. đã thấy rằng nhiệt độ có vai trò điều hòa tốc độ sinh trưởng của *Gracilaria* và có liên quan đến thu hoạch agar - agar. Mặt khác Jones W.E. cho rằng nhiệt độ nước là một trong những điều kiện quan trọng đối với sự tăng trưởng và đồng thời cũng ảnh hưởng đến chất lượng của Rau câu chỉ vàng và thích hợp ở 18 - 25°C. Trong khi đó Causey N. B. (1944) cho rằng nhiệt độ nước tốt nhất cho Rau câu chỉ vàng phát triển là 24 - 28°C. Takagi M. (1953) khi nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ đối với enzyme catalase ở Tảo Đỏ cho thấy rằng *Gelidium amansii* nhiệt độ thích hợp cho hoạt tính catalase là 10 - 15°C, *Gracilaria confervoides* là 10°C, *Coranum boydenii* là 10°C và *Porphyra pseudolinearis* nhiệt độ thích hợp từ 5 - 12,5°C.

Năm 1959 bằng thực nghiệm trên *Gracilaria verrucosa* (Huds.) Papenf., Jones đã chứng minh rằng Rau câu chỉ vàng trở nên trắng bạc và ngừng tăng trưởng sau 4-5 h dưới tác động của ánh sáng có cường độ lớn (50000 lux).

Theo Đông Hồ Kim (1969) Rau câu chỉ vàng phát triển tốt lúc cường độ ánh sáng 5000 lux. Nếu cường độ ánh sáng quá mạnh và thời gian kéo dài sẽ làm Rau câu chỉ vàng chết. Cũng theo Kim ở vùng nước sâu do cường độ ánh sáng bị

khuyết tán nhiều nên tốc độ sinh trưởng của *Gracilaria* sẽ kém hơn so với điều kiện nước cạn. Độ sâu thích hợp là 0,5 - 1,0m. E. Ogata và H. Takada (1967 - 1968) đã nghiên cứu thí nghiệm ở các loài Tảo Đỏ đã kết luận rằng sự hô hấp tăng khi nồng độ trong nước biển bị pha loãng hơn 1/2. Đồng thời, các tác giả đã so sánh cường độ hô hấp ở một số loài Tảo Đỏ khi chịu ảnh hưởng của nhiệt độ. Với những loài *Gloipeltis furcata*, *Gracilaria verrucosa*, *Gloipeltis tenaux* cùng có trọng lượng tươi (500mg) được ngâm ủ ở nhiệt độ 30°C, các tác giả nhận thấy rằng cường độ hô hấp ở *Gracilaria verrucosa* cao nhất (Q_{O_2} : 1,60 μ l/mg P tươi/h). Các tác giả cũng đã thấy rằng *Gracilaria verrucosa* có cường độ cao nhất về hô hấp khi nồng độ muối thấp (2,76‰) và giảm khi nồng độ muối cao (38,8‰).

H. Takada nhận thấy rằng Rau câu ngâm ủ ở nồng độ muối khác nhau trong 24h thường có cường độ hô hấp cao hơn Rau câu đối chứng và cường độ hô hấp tăng ở môi trường có nồng độ muối thấp (5,14‰).

Theo K. Stokke cho rằng *Gracilaria* có thể sống sót với nồng độ H_2S chỉ trong một thời gian không lớn và ở nồng độ chừng 5ml H_2S /lít môi trường thì Rau câu chỉ sống được 40 ngày.

Cũng theo K. Stokke cho rằng cường độ quang hợp của Rau câu chỉ vàng phụ thuộc vào độ đục, độ sâu của nước. Ở những tháng có cường độ ánh sáng thấp thì Rau câu chỉ vàng phát triển ở độ sâu 10cm, nhiệt độ thích hợp cho sự phát triển của Rau câu chỉ vàng là 18 - 25°C.

Một số công trình nghiên cứu của Okamura K. (1924), Smorateda C.L. (1926), Cân Giang, Nham Vinh (1948), Tăng Trinh Khuê (1962) đã đề cập đến chu kỳ sinh sản của Rau câu chỉ vàng ngoài bãi triều (theo tài liệu của Hồ Hữu Nhượng, 1973).

Loài *Gracilaria* tồn tại và phát triển tốt nhất trên các dạng đáy thường gặp là bùn, bùn cát, cát bùn và cát. Đôi khi nó còn có thể sống được bằng cách bám trên đá, vỏ sò, ốc hay trên sợi nhân tạo trong cách trồng dàn (Jones R.I., 1959).

Độ pH đối với *Gracilaria* có thể sống được là 6,3 - 9,5. Độ pH thích hợp nhất là 7 - 8,5. pH dưới 6 sẽ làm Rau câu chết (theo tài liệu của Đinh Ngọc Chất).

Một số công trình đi sâu vào nghiên cứu sản phẩm của nó là agar - agar. Agar - agar là một polysaccharide có giá trị kinh tế lớn, đó là loại sản phẩm được chiết xuất từ nhiều loài agarophyte khác nhau.

Trước kia nguồn nguyên liệu chính để sản xuất agar - agar ở các nước trên thế giới là *Gelidium* và *Ahnfeltia*. Các loài này có tốc độ sinh trưởng chậm, mọc ở những vùng nước sâu, điều kiện thu hoạch khó khăn nên khả năng về nguồn lợi bị hạn chế, không đảm bảo đủ nguyên liệu cho sản xuất agar - agar. Vì thế thời gian sau này các nước đã tiến hành sản xuất agar - agar từ các loài *Gracilaria*, *Eucheuma*. Đây là những loài có tốc độ sinh trưởng nhanh, sản lượng cao, mọc ở vùng nước cạn, điều kiện thu hoạch và khả năng nuôi trồng cũng dễ dàng. Do đó mặc dù chất lượng agar-agar sản xuất từ *Gracilaria* có sức đông thấp hơn (khoảng 250 - 400g/cm³) so với agar-agar chiết xuất từ 2 loài *Gelidium amansii* và *Gelidium crinale* (600 - 700g/cm³) nhưng Rau câu chỉ vàng trở thành nguồn nguyên liệu chính dùng cho sản xuất agar - agar của một số nước trên thế giới. Gần đây một số nước quanh vùng Đông Nam Á phát hiện

Bảng 21. Sự thay đổi hàm lượng agar-agar trong chu kỳ sống của rau câu ở Nhật Bản

Tháng	VI	VII	VIII	IX	X	XI
Hàm lượng agar-agar	42.45	45.43	45.60	47.84	47.10	44.70

loài *Eucheuma* vừa cho lượng protein vừa cho agar-agar cao nên các nước trên cũng đã tiến hành nuôi trồng loài agarophyte này. Trong thực tế hiện nay người ta cũng đã sử dụng trên 40 loài agarophyte để sản xuất agar - agar.

Agar - agar là sản phẩm giống chất gelatin, có trọng lượng phân tử thay đổi từ 100 - 500000. Agar - agar không tan trong nước lạnh nhưng tỏa mùi rõ rệt, hấp thụ một lượng nước gấp 20 lần lượng nước nó có thể tan dễ dàng trong nước sôi và có thể tạo thành dung dịch keo với nồng độ thấp khoảng 0.5%. Dung dịch 1% agar - agar đông lại thành một khối khi nhiệt độ khoảng 104°F. Agar - agar bị nóng chảy khi nhiệt độ khoảng 203°F. Điều đó chứng tỏ agar - agar là một mixen keo mang điện âm và cũng giống như những loại keo khác, có tính lưỡng tính (Ruth Falsban et al., 1998; Stadler T. et al., 1988).

Ở trạng thái tự nhiên, agar - agar là thành phần của thành tế bào agarophyte có thể tồn tại ở dạng muối calcium và magnesium.

Về mặt hóa học, agar - agar là ester của H_2SO_4 và galactan bao gồm một chuỗi dài những gốc D - galactose gắn với nhau từng liên kết 1,4 tilicoside. Chuỗi này tận cùng bằng gốc L - galactose mà nó được gắn với phần còn lại của chuỗi qua phân tử C số 4 và được ester hóa tại nguyên tử C số 6 với acid sulfuric. Có thể có 53 đơn vị galactose gắn với nhóm $-HSO_4$.

Agar - agar có thể chiết xuất từ nhiều loài tảo khác nhau nên thành phần hóa học của nó phụ thuộc vào nguyên liệu sản xuất. Nhiều nghiên cứu cho thấy cấu tạo hóa học của agar - agar hoàn toàn không giống nhau ngay cả khi chiết xuất từ một loài tảo. Ngoài ra còn tùy thuộc vào cách xử lý mẫu, điều kiện bảo quản nguyên liệu, phương pháp chiết xuất... mà thành phần của nó có khác nhau. So sánh hàm lượng agar-agar giữa các loài tảo khác nhau cùng một thời kỳ sinh trưởng, ta thấy giữa chúng có sự chênh lệch nhau. Loài *Laurencia corymbosa* cho hàm lượng agar - agar thấp nhất (24,4% trọng lượng khô) trong khi đó loài *Cratelonpia filicina* lại cho hàm lượng cao (41,6% trọng lượng khô). Ngay trong một loài *Gracilaria* nhưng các giống khác nhau cũng cho hàm lượng agar - agar khác nhau. Ở những nơi sống khác nhau và những tháng khác nhau hàm lượng của chúng cũng thay đổi. Theo tài liệu của Kuroda K. & Matsumura K. (1951) về sự biến động hàm lượng agar - agar của loài *Gracilaria verrucosa* ở hồ Akkusli (Nhật Bản) trong chu kỳ sống từ tháng VI đến tháng XI thấy xu hướng thay đổi rõ rệt (tính theo % trọng lượng khô).

Một số công trình nghiên cứu cho thấy hàm lượng agar - agar được chiết xuất phụ thuộc vào độ pH. Ví dụ pH: 7,3 - 6,5 thì *Gelidium* cho hàm lượng agar - agar cao nhất là 16% nếu cho thêm vào môi trường 1% acid acetic thì hàm lượng đạt đến 38% nhưng phẩm chất sẽ yếu đi.

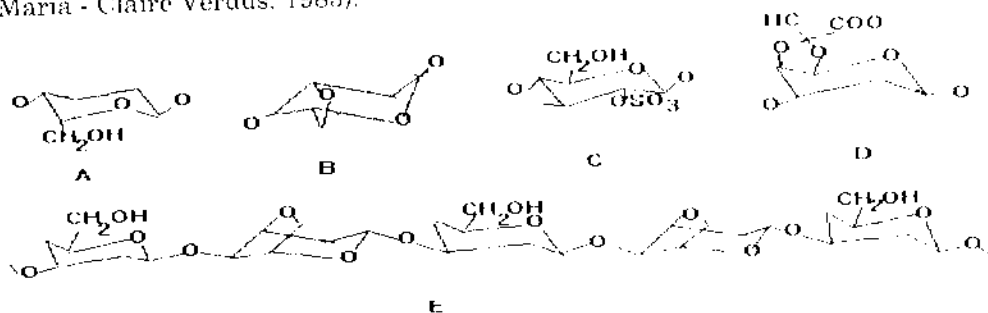
Endochadia, *Gigartia* & *Ahnfeltia* chỉ cho agar-agar trong môi trường kiềm pH: 8 - 12. *Hypnea* chỉ cho agar - agar tốt trong môi trường pH: 6,0 có thêm 0.2 - 0.5% KCl (V. Zaitsev và một số người khác, 1969).

M. Payen (1859) đưa ra công thức phân tử của agar - agar là $(C_6H_{10}O_5)_n$.

Đến năm 1942 W.E. Jones và Peat đã công bố công thức hóa học của agar agar.

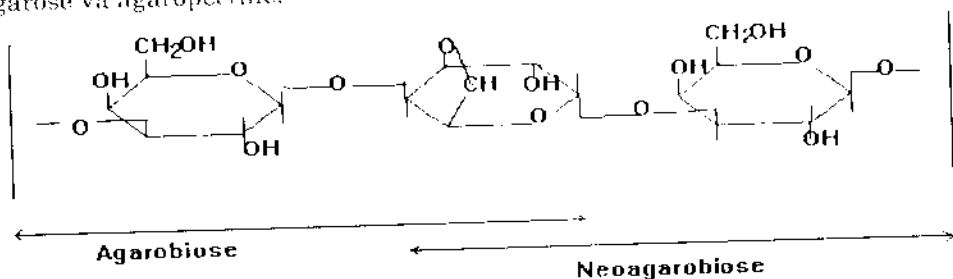
Agar - agar là một loại polymer được tạo nên bởi sự lặp lại thường xuyên của một hợp chất cơ bản gồm 2 đơn vị galactose liên tục nối với nhau bằng liên kết β -1,4 và α -1,3. Kiểu này thường được đặc trưng bởi agarose mà cấu trúc được xác định theo Araki C. (1937, 1944a, 1944b, 1956, 1966) cũng như theo Yaphe W. (1957, 1960) từ 3,6 anhydro-4-O-(-D- galactopyranosyl)- L- galactose, số polymer hóa cho một chuỗi cao phân tử trên đó có thể thay thế ở C số 6 của D- galactose, của ester sulfate (2-5%) hay của ether methylic. Nó cũng chứa (bao gồm) acid pyruvic 3% (theo Hirase S, 1957) và còn lại acid D- glucuronic cũng có mặt. Yaphe W. và Duckworth M. (1971) và Izumi K. (1970) dùng sắc ký cột xác định được 5 đoạn: 1 galactane nhiều sulfate, 3,6- anhydrogalactose nghèo, 1 agarose tinh khiết, 3,6- anhydrogalactose giàu và 6-O- methyl- galactose.

Agar - agar của *Gelidiales* (*Gelidium* và *Pterocladia*) và của *Gigartinales* (*Gracilaria*) bản chất giống nhau, (theo tài liệu của M. Bodard, D. Christiaen và Maria - Claire Verdus, 1983).



A: L-galactose. B: 3,6anhydrogalactose. C: D-galactose-sulfate. D: D-galactopyranosyl, E: agarose.

Araki C. (1958) cho rằng cấu trúc hóa học của agar-agar gồm 2 phần chính: agarose và agaropectine.



Agaropectine là một nhóm polysaccharide có chứa gốc sulfate. Cấu trúc của nó chưa biết rõ lắm, nhưng theo Hirase S. (1957) thì agarobiase cũng là một

methylen
tosan lại
cao.

Về hàm
lượng
lipid: đặc
trưng của
lipid trong
Tảo Đỏ là
những
acid béo
không no.
Hàm
lượng từ
0,2 - 1,6%
trọng
lượng khô.

Về
vitamin
người ta
phát hiện
trong tảo
biển có
nhiều
vitamin:
A, B, C, D,
E, F, G.
Trong tảo,
vitamin C
có đến 3 -
83 mg/g
trọng
lượng khô.

Ở Tảo Đỏ vitamin C có hàm lượng cao nhất từ 24 - 83mg/g trọng lượng khô.

Về các sắc tố, trong tảo có chlorophyll, carotenoid, phycobiline. Trong diệp lục thì người ta thấy chúng có $d_{\lambda_{max}}$ và có những cực đại hấp thụ khác nhau: diệp lục a cực đại ở dung môi ether diethyl là 662 nm (Smith J.H.C. and Benitez A., 1955). Diệp lục b với dung môi như trên có cực đại là 660 nm (Smith J.H.C. and Benitez A., 1955). Diệp lục c_{1+2} trong acetone cực đại là 630nm (Jeffrey S. W. and Humphrey G. F. 1975). R-phycoerythrine trong nước cực đại là 568nm (O'carra P. 1965) Phucoxanthine trong ethanol cực đại là 452nm (Evstignev V. B. Paramonova L.I. 1974). Siphonaxanthine trong ethanol cực đại là 447nm (Ricketts T.R. 1971). Caroten trong ether petrol cực đại là 452nm (Sapojnikov D.I. 1964), lutein + zeaxanthine trong ethanol cực đại là 445nm (Sapojnikov D.I. 1964). Anteraxanthine trong ethanol cực đại là 446nm (Hager A. und Meyer Bertenrath T. 1966). Violoxanthine trong ethanol cực đại

Bảng 22. Thành phần hữu cơ của các loài agarophyte

(hàm lượng tính theo % trọng lượng khô)

Thành phần các chất	Ahnfeltia	Phylloporpha	Furcellana
Protein	13,2 - 35,4	23,6 - 28,3	19,2 - 24,8
Thành tế bào	13,2 - 15,8	11,1 - 13,0	5,4 - 11,9
Pentosan	2,0 - 4,0	1,3 - 1,5	2,6
Methylpentosan	-	1,9 - 2,0	1,1 - 1,3
Glucose	20,6 - 44,4	11,0	31,8 - 32,9

Bảng 23. Sự thay đổi hàm lượng protein trong Tảo Đỏ qua các tháng

Tháng	VI	VII	VIII	IX
Hàm lượng protein	17,68	15,69	14,44	11,69

Bảng 24. Cực đại hấp thụ của phycobiline ở một số Tảo Đỏ (theo Lee B.D. 1978)

Loài tảo	Phycoerythrinee	Phycocyanine
<i>Ahnfeltia tobuchiensis</i>	498; 540; 568	-
<i>Bossienlla cretacea</i>	498; - ; 568	-
<i>Ceramium kondoi</i>	497; 540; 568	-
<i>Chondria dasyphylla</i>	498; 540; 567	618
<i>Corallina pilulifera</i>	497; - ; 567	-
<i>Grateloupia turuturu</i>	496; 540; 568	-
<i>Lithothamnion sp.</i>	497; - ; 567	-
<i>Mastocaputs ochotensis</i>	498; 540; 568	-
<i>Platythamnion sp.</i>	499; 538; 567	-
<i>Polysiphonia janosia</i>	495; - ; 568	615
<i>Porphyra ochotensis</i>	496; - ; 565	-
<i>Ptilota filicina</i>	498; 545; 570	620
<i>Rhodomenia stenogona</i>	498; - ; 567	618
<i>Rhodomenia pertusa</i>	498; - ; 567	-

là 442nm (Hager A. und Meyer Berytenrath T. 1966). Neoxanthine trong ethanol cực đại là 438 nm (Davies B.H. 1965). Diệp lục d trong methanol có cực đại là 700nm (Holt A.S. and Morley H.V. 1959).

Đối với một số sắc tố trong các loài khác nhau cũng có sự hấp thụ cực đại khác nhau. Ví dụ đối với phycobiline chiết xuất từ nước có cực đại hấp thụ trong các vùng 495 - 498; 538 - 545; 565 - 570nm (Hirose 1975).

Về hàm lượng khoáng trong các loài tảo biển cũng đáng kể. Hàm lượng khoáng tổng số trong Tảo Đỏ trung bình là 20% trọng lượng khô, đôi khi còn lớn hơn. Một số lượng lớn các phức hợp quan trọng có tính chất sinh học có mặt trong tảo dưới cả hai dạng: muối khoáng và hợp chất hữu cơ - kim loại.

Thành phần của các anion, cation trong muối khoáng thay đổi tùy theo loài, giai đoạn sinh trưởng và điều kiện thủy học và thủy hóa học mà chúng sinh trưởng. Khoáng trong tảo quan trọng nhất có iode, Fe, Ca, P, Mg, Na, S, Cl (Baraskov G.C. 1973).

Hàm lượng nguyên tố đại lượng trong Tảo Đỏ (tính theo % trọng lượng khô): Ca: 0.1 - 1.5; Mg: 0.3 - 1.0; P: 0.2 - 0.3; K: 1.0 - 2.2; Fe: 0.10 - 0.15; I: 0.10 - 0.15. Ngoài ra trong tảo còn chứa các nguyên tố vi lượng như: Al, B, Va, Zn, Sr, Co, Mn, Rb, Mo, Ni... có hàm lượng từ $0.6 \cdot 10^{-12}$ - 9.6% trọng lượng khô (Baraskov G.C. 1973, "Hóa học tảo biển", Nxb Moskva). Nghiên cứu sâu hơn, các tác giả cho rằng các nguyên tố vi lượng trong tảo gấp hàng chục, hàng trăm lần có trong nước biển (Bowen, 1956) và chất phóng xạ như Co^{60} ở *Rhodomenia palmata*, Ru^{106} , Rh^{106} ở *Porphyra tanera* (Tauruga Takenchi) do đó có thể cho phép sử dụng một số loài Tảo Đỏ là chỉ thị sự nhiễm xạ của nước (Varmkov J.K 1963, "Hóa học tảo biển" Nxb Moskva).

Ở Việt Nam cũng đã có nhiều nghiên cứu về đặc điểm sinh lý sinh hóa của một số loài agarophyte.

Năm 1964, hợp đồng nghiên cứu Rau câu giữa ta và nước CHDC Đức đã ký kết. Cùng phối hợp nghiên cứu là viện Nghiên cứu biển Hải Phòng, viện Nghiên cứu Hải sản, trường Đại học Hải sản, nhà máy cá hộp Hạ Long. Đầu năm 1965, ở nước ta bắt đầu chiết xuất thủ agar-agar và một số công trình bước đầu nghiên cứu (Ngô Xuân Hiến, 1967, Nguyễn Hữu Đình, 1969, Đình Ngọc Chất, 1973 - 1974, Lâm Ngọc Trâm, 1977).

Năm 1973, Tổng cục Thủy sản cho lưu hành nội bộ bản qui trình tạm thời về kỹ thuật sản xuất giống nẩy mầm và giồng dấy của Rau câu chỉ vàng ở đầm nước lợ. Theo qui trình này thì biện pháp chăm bón trong quá trình trồng Rau câu là bón phân vô cơ trực tiếp xuống đầm với nồng độ N + P: 1,33ppm, N/P: 2/1 mỗi tháng 2 lần. Kết quả về đông xuân năm 1974 - 1975 bị thất bại vì rong tảo phát triển quá nhiều.

Cũng từ năm 1973 đến nay nhiều công trình nghiên cứu đã đem lại một số kết quả.

Năm 1973, Hồ Hữu Nhượng đã nghiên cứu sinh sản bào tử của Rau câu chỉ vàng.

Năm 1974, Nguyễn Văn Hiến nghiên cứu ảnh hưởng của độ sâu đến cường độ quang hợp và khả năng sinh trưởng của Rau câu chỉ vàng trong đầm nước. Độ sâu thích hợp là 30 - 50cm.

Cũng năm 1974, Nguyễn Văn Hiến và Hồ Hữu Nhượng nghiên cứu khả năng hấp thụ N, P và thấy rằng bón phân đạm từ 1- 6mg/lit, lân từ 0,5 - 3mg/lit (thời gian thí nghiệm là 24 và 48 giờ). Họ cũng đã tiến hành hồ phân với tỷ lệ 3 - 5mg/l phân đạm và 0,5 - 4,5mg/l phân lân, sau đó đem ra trồng. Họ thấy rằng hàm lượng N tổng số tương đối cao và ít biến đổi qua các tháng tuổi và sau đó giảm dần.

Năm 1975, Lê Nguyên Hiếu nghiên cứu chế độ phân bón đã thấy rằng giai đoạn mà Rau câu dài 5 - 20cm phát triển tốt nhất ở nồng độ phân 8 - 12mg/l và tỷ lệ N/P: 2/1 - 3/1, ở giai đoạn từ 20cm trở lên tảo phát triển tốt nhất ở nồng độ 6 - 8mg/l và tỷ lệ 2/1, hàm lượng agar - agar cao từ 1,5 - 2 lần so với không bón.

Nguyễn Trọng Nho (1977-1980) khi nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ, năng lượng bức xạ và thời gian kích thích của tia cực tím đến cường độ quang hợp của Rau câu chỉ vàng đã đi đến kết luận rằng các yếu tố tác động trên đều ảnh hưởng đến cường độ quang hợp của Rau câu chỉ vàng, cường độ quang hợp mạnh nhất ở 25°C và nhiệt độ thích hợp cho quang hợp khoảng 20 - 30°C. Khí năng lượng bức xạ 0,43 - 3,34 calo cm²/giờ cường độ quang hợp tăng từ 100 lên 200 - 300%. Thời gian kích thích tia cực tím từ 2 - 4 phút, cường độ quang hợp lớn nhất. Sau khi bị kích thích tia tử ngoại 1 tháng, hoạt động quang hợp của Rau câu chỉ vàng trở lại bình thường. Trên cơ sở dữ liệu về khí tượng thủy văn về đặc điểm sinh học của Rau câu chỉ vàng các tác giả cho thấy rằng Rau câu chỉ vàng có khả năng phát triển quanh năm tốt nhất là tháng IX - XII và tháng III - VI (mà trước đây có nhiều tác giả cho là Rau câu chỉ vàng 1 năm có 2 về).

Từ năm 1977 cho đến nay Trương Văn Lung & tập thể cán bộ giảng dạy trường ĐHTH Huế đã nghiên cứu một cách có hệ thống Rau câu chỉ vàng sống ở đầm phá nước lợ ở các tỉnh Quảng Bình, Quảng Trị và Thừa Thiên - Huế về các mặt điều tra cơ bản, sự phân bố, sinh lý, sinh hóa Rau câu qui trình nuôi trồng chế biến...

Các tác giả trên (1977) đã thấy rằng phân vô cơ ảnh hưởng đến quá trình sống của Rau câu chỉ vàng tùy thuộc vào giai đoạn sinh trưởng. Đối với Rau câu non cần bón K, Rau câu trưởng thành cần bón N,P phối hợp. Rau câu già bón P. Về liều lượng thì tùy theo độ phì của đất và môi trường.

Năm 1979, Trương Văn Lung nghiên cứu thấy rằng cường độ chiếu sáng tối thích cho quang hợp là 5000 lux. Cường độ quang hợp đạt giá trị cao nhất là ở độ sâu 60cm và Rau câu có thể sống bình thường ở 120cm.

Trong các giai đoạn sinh trưởng khác nhau không những tăng trưởng khác nhau mà hàm lượng và chất lượng của agar - agar cũng khác nhau. Hàm lượng và sức đông tăng trưởng giai đoạn non đến trưởng thành, đạt cực đại ở đây và sau đó giảm dần trong giai đoạn già, nên để có sản lượng và chất lượng tốt phải thu hoạch ở giai đoạn trưởng thành (Trương Văn Lung, Nguyễn Thị Phương Liên, Nguyễn Thị Tuyết, 1978).

Trương Văn Lung, Hoàng Thị Ánh Tân, Trần Thị Tuyết Nhân (1978) khi nghiên cứu về nhiệt độ thấy rằng ở nhiệt độ cao cường độ quang hợp giảm, hô

hấp tăng, ảnh hưởng xấu đến quá trình sinh trưởng. Nhiệt độ thích hợp là 20 - 25°C. độ mặn thích hợp cho Rau câu phát triển giai đoạn non là 10‰, giai đoạn trưởng thành là 20‰, giai đoạn già là 15‰.

Trương Văn Lung và ctv. (1977, 1989, 1984, 1991, 1995, 1996, 1998, 1999, 2000) thấy rằng Rau câu ở các tỉnh miền Trung sống quanh năm (không phải 2 về như một số tác giả công bố trước đây). Khí hậu thời tiết của khu vực miền Trung một năm có 2 mùa: mùa khô và mùa mưa. Mùa khô thì nhiệt độ nước lên cao, cường độ ánh sáng cao, độ mặn cao, mùa mưa thì ánh sáng thấp, mưa nhiều, độ mặn hạ thấp, nước đục nhiệt độ thấp đều ảnh hưởng bất lợi đến quá trình sống của Rau câu chỉ vàng.

Các tác giả Trương Văn Lung, Võ Thị Mai Hương, Lê Khắc Ngọc Thiên, Lê Văn Nhân, Phan Xuân Hà, Phạm Đình Mỹ Hạnh, Lê Bá Quý Đôn, Hoàng Trọng Tân, Châu Tuyết Hạnh, Nguyễn Thị Tương Giang, Võ Văn Hưng... (1981 - 1994) đã dùng các nguyên tố vi lượng như B, Mn, Zn, Cu bốn riêng rẽ và phối hợp hoặc dùng các chất điều hòa sinh trưởng như 2,4-D, gibberellin, NAA, antonic... riêng lẻ và phối hợp vi lượng với chất điều hòa sinh trưởng đã tăng khả năng chống chịu trong điều kiện bất lợi của mùa khô và mùa mưa nói trên. Kết quả không những tăng sản lượng mà còn tăng cả phẩm chất của agar - agar về các chỉ tiêu sinh hóa như hàm lượng sức đông agar - agar, hàm lượng đường tổng số, hàm lượng sulfate thì giảm. Các tác giả cũng đã tìm ra nồng độ vi lượng và chất điều hòa sinh trưởng riêng lẻ cũng như phối hợp thích hợp nhất cho sự sinh trưởng của Rau câu. Về nhân tố của môi trường thì độ mặn là nhân tố hạn chế chủ yếu quá trình sinh trưởng của Rau câu (đặc biệt là độ mặn thấp làm cho Rau câu ở dạng tiềm sinh, thậm chí còn tàn lụi mất giống, không còn để thu cho về sau).

Trong năm 1988 cũng đã có những công trình công bố ở hội thảo Rau câu lần I ở Đà Nẵng như công trình của Nguyễn Xuân Lý về một số đặc điểm sinh học và biện pháp phòng tránh sự phát triển của rong tảo thường gặp trong ao đầm nuôi trồng Rau câu chỉ vàng.

Nguyễn Duy Minh và ctv., công bố vai trò của các nguyên tố vi lượng (Cu, Mn, Zn, B) và chất ức chế hô hấp sáng Na_2SO_3 đối với sinh trưởng của Rau câu.

Hồ Hữu Nhượng và ctv. công bố về sản xuất giống Rau câu chỉ vàng trái về trong mùa mưa lũ.

Nguyễn Hữu Ninh và ctv. nghiên cứu ảnh hưởng của sự biến động môi trường, khí hậu với trồng tảo biển. Lê Lan Oanh và ctv. nghiên cứu ảnh hưởng của một số nguyên tố vi lượng và chất kích thích sinh trưởng đến Rau câu giống.

Nguyễn Hữu Thuốc và ctv. nghiên cứu ảnh hưởng của một số nguồn C khác nhau đến sinh trưởng và hàm lượng agar - agar của Rau câu chỉ vàng.

Lê Xuân Tú và ctv nghiên cứu một số kết quả về ảnh hưởng của gibberellin, NAA và tia gamma đến sinh trưởng của Rau câu chỉ vàng.

Nguyễn Văn Lý nghiên cứu ảnh hưởng của một số chất kích thích sinh trưởng NAA, GA₃, TTC, thiourea đến kỹ thuật sản xuất giống và kỹ thuật trồng thâm canh Rau câu chỉ vàng.

Dương Đức Tiến nghiên cứu về rong đại trong thủy vực nuôi trồng Rau câu chỉ vàng ở trạm Quý Kim Hải Phòng.

Trần Đăng Trà nghiên cứu về Rau câu ở trại Thuận An đạt năng suất bình quân trên 10 tấn tươi/ha/năm v.v..., nhưng chưa mấy ai nói đến tác động của chúng đến tính chống chịu.

Năm 1991, Nguyễn Thị Thu nghiên cứu sự sinh trưởng sự phát triển của Rau câu chỉ vàng *G. verrucosa* (Huds.), Papenf. (syn. *G. asiatica*) trong mùa mưa bão ở đầm nước lợ Tiên Lãng - Hải Phòng đã thấy rằng trong điều kiện nhiệt độ 30 - 35°C độ muối 1 - 3‰, pH: 7 - 7.5 Rau câu lưu giữ trong ao qua mùa mưa bão không có hiện tượng chết mà tồn tại trong trạng thái tiềm sinh.

Năm 1966, Trương Văn Lung, Phạm Vinh và ctv đã thăm dò tác động của colchicine và tia laser He-Ne đến quá trình sinh lý sinh hóa của Rau câu chỉ vàng ở các nồng độ và thời gian tác động khác nhau. Các tác giả đã đi đến kết luận rằng, trong thời gian đầu, khi xử lý colchicine vào Rau câu chỉ vàng đã ức chế hoạt động sống của tế bào, làm giảm các chỉ tiêu sinh lý sinh hóa của chúng, mạnh nhất là ở nồng độ 0,2% ngâm trong 48h. Sau 20 ngày nuôi, quá trình sinh trưởng của Rau câu chỉ vàng tăng lên và vượt quá đối chứng. Nồng độ colchicine 0,2% ngâm trong 42h đã làm cho năng suất tăng. Khi chiếu tia laser He-Ne cường độ 100 lux, tác động trong 30 phút, sau 20 ngày nuôi Rau câu đã bị chết. Tác động của tia laser He-Ne với cường độ 100 lux thời gian 10 phút là tốt nhất, Rau câu chỉ vàng tăng năng suất gấp 3 lần và phẩm chất của Rau câu tăng lên so với đối chứng và so với các thí nghiệm khác (Nguyễn Thị Mỹ Châu, 1997).

Về agar - agar cũng có nhiều công trình công bố. Năm 1987, trạm Hải sản Hải Phòng nghiên cứu nuôi trồng Rau câu, phân tích thành phần hóa học của một số loài Rau câu.

Năm 1969, phòng thí nghiệm Sinh hóa viện Nghiên cứu biển Hải Phòng nghiên cứu sự biến động hàm lượng các thành phần hóa học chủ yếu của một vài loài tảo biển kinh tế tại Đồ Sơn, Cát Bà, Cát Hải.

Năm 1971, Lê Nguyên Hiếu và ctv nghiên cứu ảnh hưởng của phân bón đến hàm lượng protein và agar - agar của Rau câu chỉ vàng.

Năm 1972, trường Đại học Hải sản Hải Phòng xác định một số thành phần hóa học có trong Rau câu nuôi ở bể nuôi.

Năm 1972, Lâm Ngọc Trâm và Nguyễn Quang Hiếu nghiên cứu nồng độ và tỷ lệ phân (N - P) đến sự tích lũy một số thành phần hóa học trong Rau câu chỉ vàng ở các ao nuôi trồng trong đầm Quý Kim, Hải Phòng.

Năm 1974, Hoàng Cường và ctv viện Nghiên cứu biển Hải Phòng nghiên cứu thành phần hóa học của tảo biển vùng Hải Phòng thấy rằng Rau câu chỉ vàng chứa 35 - 40% agar - agar.

Năm 1977, Nguyễn Văn Thiện khi xác định một số thành phần hóa học của các loài Tảo Đỏ, Tảo Nâu, Tảo Lục tại Hòn Chồng, Nha Trang thấy hàm lượng agar - agar của 3 loài Tảo Đỏ từ 28,95 - 40,77% trọng lượng khô.

Năm 1978, Lâm Ngọc Trâm và một số người khác nghiên cứu agar-agar trong một số loài Tảo Đỏ vùng biển Nha Trang, Vũng Tàu thấy rằng loài

Laurencia corymbosa có hàm lượng agar - agar thấp nhất (24,4% trọng lượng khô) thì hàm lượng agar-agar ở loài *Grateloupia filicina* rất cao (41,6% trọng lượng khô). Ở cùng một địa điểm (Hòn Chồng) hàm lượng agar - agar của loài *G. crassa* là 29,1% còn *Gelidiella acerosa* là 40,7%. Loài *G. crassa* ở Cà Ná hàm lượng agar - agar là 35,1%, loài *Laurencia papillosa* ở Cà Ná có 32,7% còn ở Mũi Né là 31,1%.

Hàm lượng agar-agar của tảo biển thay đổi theo thời gian sinh trưởng. Kết quả phân tích trong 3 loài: Rau câu ngắn (cù) *G. crassa*, Rau câu cong *G. arcuata* và Rau câu rễ tre *Gelidiella acerosa* từ tháng III đến tháng VI cho thấy agar-agar tăng dần theo thời gian sinh trưởng đạt cực đại vào tháng IV và giảm rõ rệt vào tháng VI. Qua phân tích 13 loài Tảo Đỏ thì những giống có hàm lượng agar-agar cao là: *Grateloupia*, *Hypnea*, *Gelidiella*, *Acanthophora* và *Gracilaria*.

Năm 1977 - 1981, Trương Văn Lung, Trần Thanh Phong, Nguyễn Thị Phương Liên, Hoàng Thị Hòa, Nguyễn Thị Tuyết trường ĐHTH Huế đã nghiên cứu agar - agar trong một số vùng thuộc đầm phá tỉnh Bình Trị Thiên và một số tỉnh miền Trung từ Quảng Ngãi, Bình Định, Phú Yên, Khánh Hòa thấy ở các địa điểm phân bố khác nhau thì hàm lượng agar - agar thay đổi, phụ thuộc vào điều kiện sống, điều kiện dinh dưỡng và nằm trong khoảng từ 21,5 - 31,2% trọng lượng khô trong Rau câu chỉ vàng.

Năm 1978, Trương Văn Lung, Nguyễn Thị Phương Liên, Nguyễn Văn Quang nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ phân N, P, K đến năng suất và phẩm chất của Rau câu chỉ vàng qua các thời kỳ sinh trưởng khác nhau ở các độ muối khác nhau thấy rằng ở giai đoạn trưởng thành độ muối 10‰ bốn N, P nồng độ 25mg/l thì hàm lượng agar-agar là 24,55%, ở độ muối 15‰ hàm lượng agar-agar là 32,16%, ở độ muối 20‰ bốn N, P 15mg/l thì hàm lượng agar-agar 26,72%. Trương Văn Lung, Võ Thị Mai Hương, Trần Thị Bích Huệ (1991) nghiên cứu một số chỉ tiêu thương phẩm trong agar - agar và so sánh việc sử dụng NaOH nội và ngoại khi chiết rút agar - agar trong Rau câu chỉ vàng đã thấy rằng trong agar - agar độ ẩm từ 18,54 - 20,00%; chất không tan từ 0,50 - 1,30%; nhiệt độ đông từ 39,00 - 42,50°C; nhiệt độ tan từ 85,5 - 89,5°C. Như vậy agar - agar chiết rút theo qui trình của ĐHTH Huế đảm bảo được qui định cho phép trong agar - agar thương phẩm trên thế giới. Agar - agar xử lý bằng NaOH ngoại cho hàm lượng và sức đông cao hơn agar - agar xử lý bằng NaOH nội, song nếu nhập ngoại NaOH khó khăn thì dùng NaOH nội cũng được.

Đỗ Văn Sỹ (1988) khi nghiên cứu chất lượng Rau câu thu mua những năm qua (1986-1987) tại nhà máy Chế biến thủy sản Hạ Long thấy hàm lượng agar - agar từ 14,0 - 24,0% và sức đông từ 234 - 414g/cm², tốt nhất là Rau câu xung quanh khu vực Hải Phòng và Nam Định.

Năm 1988, Nguyễn Xuân Thư, Trương Văn Lung, Võ Thị Mai Hương, Trương Hoài Hương thử xác định hàm lượng agarose trong Rau câu chỉ vàng ở Bình Trị Thiên đã thấy rằng bằng phương pháp Duckworth và Yaphe theo nguyên tắc dùng nhựa DEAE Sephadex A₅₀ thu được agarose là 13,3% đã khẳng định rằng nghiên cứu tiếp tục qui trình công nghệ sẽ có thể sản xuất agarose bằng Rau câu chỉ vàng Bình Trị Thiên trong thời gian tới.

Võ Thị Mai Hương, Kling R. (1990), trên cơ sở phân tích nhiễm sắc thể thấy rằng Rau câu Huế có $n:24$ và $2n:48$ nên chúng không phải là loài *G. verrucosa*. Galactose là loại đường cao nhất so với các loại đường khác trong Rau câu Huế (48,0 - 76,2%) chứng tỏ từ Rau câu này có thể cho chất lượng tốt.

Về thành phần các chất khác, Trương Văn Lung, Trần Thanh Phong, Lê Thị Pháp (1981) thấy rằng trong Rau câu chỉ vàng ở Bình Trị Thiên hàm lượng nước: 84,38%; protein: 19,89% trọng lượng khô; lipid: 33,3%; khoáng tổng số: 26,31%; đường khử 1%; saccharose: 2,17%; cellulose: 15,15% trọng lượng khô.

Trong số các nguyên tố hóa học tích lũy trong tro của Rau câu chỉ vàng có Ca: 1,82% trọng lượng tro, Mg: 3,51%; P: 3,12%; K: 4,27%; Fe: 27,55% và I: 0,14% trọng lượng tro.

Dùng sắc ký diện di kết hợp với sắc ký trên giấy chúng tôi đã phát hiện được 17 acid amin tự do. Trên sắc đồ xuất hiện 11 vạch đó là: acid aspartic, leucine, serine, glycine, alanine, isoleucine, phenylalanine, tryptophan, valine, methionine, tyrosine, acid glutamic + threonine, lysine, proline, histidine + arginine, cystine + cysteine. Như vậy trong Rau câu chỉ vàng các acid amin cần thiết đều có mặt (acid amin thay thế và không thay thế).

Như ta đã biết, Thừa Thiên - Huế là tỉnh có nguồn Rau câu đáng kể so với nhiều khu vực khác ở Việt Nam. Tuy nhiên, theo kết quả nghiên cứu thu được ở phân trên, cũng như theo một số tác giả khác thì giống Rau câu chỉ vàng (*Gracilaria tenuistipitata*) truyền thống đang được trồng ở đây là giống có chất lượng agar chưa cao, chưa đáp ứng được cho việc xuất khẩu nguồn nguyên liệu và chế biến agar có chất lượng tốt. Trong khi đó Rau câu cước (*Gracilaria heteroclada*) là loài mới được đưa vào trồng ở các tỉnh nam Trung Bộ trong những năm gần đây có chất lượng agar vượt trội so với Rau câu chỉ vàng. Vì vậy, trong một số năm gần đây, bộ Thủy sản có dự kiến di dời Rau câu cước đi nhiều vùng ven biển Việt Nam. Chúng tôi tiến hành nghiên cứu Rau câu cước tại vùng ven biển, cửa sông ở tỉnh Thừa Thiên-Huế.

Sau đây là một số đặc tính sinh lý sinh hóa của Rau câu cước mà chúng tôi nghiên cứu trong thời gian qua ở tỉnh Thừa Thiên - Huế.

Đặc điểm sinh lý sinh hóa của Rau câu cước (RCC) ở phòng thí nghiệm.

Ảnh hưởng của độ mặn đến một số chỉ tiêu sinh lý sinh hóa của RCC.

Đối với cường độ quang hợp và hô hấp của RCC. Ở độ mặn 30‰, RCC có cường độ quang hợp cao nhất đạt 1,326 - 1,592mgO₂/g.h; tiếp đến là ở độ mặn 25‰ (1,092 - 1,520mg O₂/g.h). ở các độ mặn khác đều đạt kết quả thấp. Ngay cả ở độ mặn 30‰ và 25‰ cho ta thấy, cường độ quang hợp tăng theo thời gian sinh trưởng, trong khi đó ở độ mặn 35 và 40‰ cường độ quang hợp giảm dần. Đặc biệt ở độ mặn 40‰ vào những tuần thí nghiệm cuối, cường độ quang hợp giảm mạnh (- 0,5mgO₂/g.h). Hiện tượng này có thể do bộ máy quang hợp cũng như hệ enzyme xúc tác cho phản ứng quang hóa trong RCC bị tổn thương dưới tác động lâu ngày của độ mặn quá cao. Ngược lại cũng tại độ mặn 35 - 40‰ cường độ hô hấp tăng mạnh (0,65mgO₂/g.h), dẫn đến cường độ quang hợp thực giảm thấp. Có thể cường độ hô hấp của RCC tăng lên do hoạt tính của các enzyme hô hấp như catalase, peroxydase,... tăng để giải phóng năng lượng nhằm

Bảng 25. Trọng lượng tươi (P) của RCC ở các độ mặn khác nhau

Chỉ tiêu	Độ mặn ‰						
	Ban đầu	15	20	25	30	35	40
P _i (g)	20,000	20,200	23,500	27,020	32,000	21,010	19,100
	±0,000	±0,040	±0,020	±0,015	±0,030	±0,025	±0,021
%so với ban đầu	100,00	100,01	117,50	135,10	160,00	105,00	95,00

Bảng 26. Hàm lượng agar, sức đông, hàm lượng đường tổng số, hàm lượng sulphate của agar khi thay đổi độ mặn (‰) trong môi trường nuôi trồng

(-) những tháng không đủ mẫu để phân tích

Chỉ tiêu	Độ mặn (‰)							
	5	10	15	20	25	30	35	40
Hàm lượng agar (%)	-	-	6,873	8,000	8,460	9,370	7,450	-
	-	-	±0,135	±0,130	±0,170	±0,100	±0,210	-
Sức đông agar (g/cm ²)	-	-	233,155	248,800	283,500	292,400	220,990	-
	-	-	±5,172	±2,000	±4,000	±5,000	±2,000	-
Hàm lượng đường ts (%)	-	-	52,682	60,190	63,430	79,940	54,940	-
	-	-	±2,235	±1,080	±2,177	±2,991	±2,240	-
Hàm lượng sulphate (%)	-	-	1,686	1,682	1,640	1,640	1,740	-
	-	-	±0,050	±0,040	±0,010	±0,020	±0,050	-

bảo vệ cơ thể trước điều kiện bất lợi của môi trường. Vì vậy, mặc dù hô hấp cao nhưng RCC không được cung cấp đủ năng lượng dưới dạng các liên kết cao năng và các sản phẩm trung gian khác để duy trì hoạt động trao đổi chất bình thường trong cơ thể.

Tại độ mặn 20‰ cường độ quang hợp tăng vào giai đoạn đầu của quá trình thí nghiệm, nhưng ở giai đoạn sau cường độ quang hợp của RCC giảm nhẹ. Điều đó cho phép ta nghĩ rằng, có thể hoạt động quang hợp của RCC đòi hỏi độ mặn cao hơn. Tại độ mặn 15‰ cường độ quang hợp hai tuần đầu tương đối thấp (0,6 - 0,7mgO₂/g.h) và sau đó giảm mạnh hơn ở độ mặn 20‰ (0,52 - 0,50mgO₂/g.h). Như vậy ở độ mặn 25 - 30‰ là thích hợp cho quá trình quang hợp và hô hấp của RCC. Các nghiên cứu của Huỳnh Quang Năng và c.s. (1999) về ảnh hưởng của độ mặn trên đối tượng này ở Nha Trang cũng cho kết quả tương tự.

Ảnh hưởng của độ mặn đến trọng lượng tươi của RCC.

Kết quả nghiên cứu ở bảng 25 cho thấy trọng lượng tươi của RCC thay đổi khá mạnh theo độ mặn của môi trường. Tại độ mặn 30‰ RCC sinh trưởng và phát triển khá tốt. Sau 20 ngày nuôi, trọng lượng tươi đạt 32g (đạt 160% so với ban đầu), cao nhất trong các độ mặn nghiên cứu.

Ở độ mặn 25‰ trọng lượng tươi cũng khá cao, đạt 135,1% so với ban đầu. Trong đó tại 15 và 35‰ RCC sinh trưởng rất chậm, trọng lượng tươi tăng không đáng kể. Đặc biệt tại 40‰ trọng lượng tươi của RCC giảm so với ban đầu

(chỉ đạt 95%). Quan sát thực tế cho thấy ở độ mặn này RCC phát triển rất kém, sợi tảo ngày càng mềm, đứt ngắn, bề mặt xù xì, thỉnh thoảng xuất hiện những sợi trắng, đó là dấu hiệu của Rau câu bị chết. Tại độ mặn 20‰, tuy trọng lượng tươi tăng ít hơn (117%) nhưng vẫn thấy rõ sức sống khá cao của RCC bằng mắt thường.

Ảnh hưởng của độ mặn đến thành phần sinh hóa của agar chiết rút từ RCC trong phòng thí nghiệm.

Kết quả phân tích hàm lượng, sức đông, hàm lượng đường tổng số và hàm lượng sulphate trong agar của RCC ở các độ mặn khác nhau được trình bày ở bảng 26.

Các số liệu thu được ở bảng 26 cho thấy sau 20 ngày nuôi trồng giới hạn các độ mặn nghiên cứu, hàm lượng agar của RCC dao động trong khoảng 7,45 - 9,37%. Sức đông đạt 220,9 - 292,4g/cm². Trong đó, hàm lượng agar thu được thấp nhất (7,45 trọng lượng khô) tại độ mặn 35‰. Tại môi trường có độ mặn 20‰ sức đông và hàm lượng agar của RCC cao hơn ở độ mặn 35 và 15‰ nhưng lại thấp hơn ở 25 và 30‰. Đặc biệt ở độ mặn 30‰ hàm lượng và sức đông agar đạt cao nhất (9,37, 292,4g/cm²).

Trong khi đó, các thí nghiệm nuôi Rau câu chỉ vàng (RCCV) song song với RCC cho thấy: RCCV sống ở độ mặn 25‰ có hàm lượng agar chỉ đạt 6,53% trọng lượng khô, sức đông 110g/cm². Tại độ mặn 30‰ các chỉ tiêu trên còn thấp hơn (5,92%, 102g/cm²). Hàm lượng và sức đông agar của RCCV ở độ mặn 25 - 30‰ thấp hơn so với các chỉ tiêu này của RCC là do độ mặn 25 - 30‰ không thích hợp với yêu cầu của RCCV trong giai đoạn này. Bởi vì đối với RCCV ở độ mặn 15‰ có hàm lượng agar đạt 11,35%, sức đông 162g/cm², là độ mặn thích hợp cho chúng. Như vậy, sau 20 ngày nuôi, RCCV có hàm lượng agar cao hơn RCC nhưng sức đông thì thấp hơn nhiều.

Qua nghiên cứu về khả năng đẻ nhánh, cũng cho thấy ở 25 - 30‰ thích hợp cho sự phát triển của RCC và thích hợp về độ mặn của RCC cũng cao hơn RCCV.

Về ảnh hưởng của nhiệt độ đến các chỉ tiêu sinh lý sinh hóa của RCC, chúng ta thấy rằng, quang hợp của RCC ở nhiệt độ từ 10, 15, 20, 25, 30, 35 và 40°C thì trong khoảng nhiệt độ 25 - 30°C có cường độ cao (1,365 - 1,950mgO₂/g.h) và tăng theo thời gian sinh trưởng. Về cường độ hô hấp ở khoảng nhiệt độ này cũng khá ổn định và đạt 0,304 - 0,364mgO₂/g.h. Đây cũng là khoảng nhiệt độ thích hợp nhất cho RCC.

Khi nghiên cứu thành phần sinh hóa của RCC dưới ảnh hưởng của nhiệt độ cũng thấy rằng ở nhiệt độ 25 - 30°C có hàm lượng, sức đông hàm lượng đường tổng số cao (bảng 27).

Tìm hiểu nhu cầu ánh sáng đối với quang hợp chúng ta thấy điểm bù ánh sáng đối với quang hợp của RCC khoảng 2.264 lux. Khi tăng cường độ ánh sáng thì cường độ quang hợp tăng dần và đạt giá trị cao nhất là 2,150mgO₂/g.h ở cường độ ánh sáng 8.100 lux. Đây là điểm bão hòa ánh sáng đối với quang hợp theo thực nghiệm.

Qua số liệu thực nghiệm chúng ta có được đường cong theo hàm đa thức:

Bảng 27. Hàm lượng agar, sức đông, hàm lượng đường tổng số và hàm lượng sulphate trong agar của RCC dưới ảnh hưởng của nhiệt độ

Nhiệt độ (°C)	Hàm lượng agar (%)	Sức đông agar (g/cm ²)	Hàm lượng đường tổng số (%)	Hàm lượng sulphate (%)
15	7,050 ± 0,145	120,490 ± 0,421	44,960 ± 0,89	1,42 ± 0,05
20	9,780 ± 0,214	180,520 ± 2,355	61,420 ± 2,110	1,49 ± 0,06
25	13,630 ± 0,210	290,000 ± 2,000	72,940 ± 1,160	1,58 ± 0,02
30	13,400 ± 0,230	310,000 ± 2,000	73,110 ± 2,150	1,61 ± 0,03
35	9,130 ± 0,200	215,100 ± 2,000	72,690 ± 1,200	2,02 ± 0,11

$$Y = -1,0870 + 0,0005234 \times -2,105.10^{-8}x^2; (r = 0,9435)$$

Trong đó y là cường độ quang hợp (mgO₂/g.h), x là cường độ ánh sáng (lux).

Qua tính toán theo phương trình thực nghiệm cho thấy cường độ quang hợp (y) đạt giá trị cực đại ở cường độ ánh sáng (x) là 12.550 lux. Đây là điểm bão hòa ánh sáng đối với quang hợp của RCC.

Đối với RCCV thì điểm bão hòa ánh sáng đối với quang hợp của chúng là 5.500 - 9.211 lux. Như vậy, nhu cầu ánh sáng đối với quang hợp của RCCV thấp hơn nhu cầu ánh sáng đối với quang hợp của RCC.

Thử nghiệm nuôi trồng RCC ở một số điểm trên đầm phá Thừa Thiên - Huế. RCC được trồng thử nghiệm tại 6 địa điểm khác nhau trên đầm phá tự nhiên là Mỹ Tân, nam cửa Thuận An, Tân An, cầu Thuận An, vùng Hạ Đạo và khu Nhà Vuông. Trong đó, Tân Mỹ và nam cửa Thuận An, RCC được nuôi 2 đợt: đợt 1 từ ngày 19 tháng VII/1997 đến 19/IX/1997, đợt 2 từ 25/II/1998 đến 25/IV/1998. Các địa điểm còn lại chỉ trong 1 đợt từ 25/II/1998 đến 25/IV/1998. Kết quả thu được ở các địa điểm thử nghiệm vào các đợt có sự sai khác nhau khá lớn.

Tại Tân Mỹ, tùy theo biến đổi của điều kiện môi trường nuôi trồng (chủ yếu là biến đổi của độ mặn và nhiệt độ), trong cả 2 đợt nuôi thử nghiệm, RCC có mức độ sinh trưởng chênh lệch nhau khá rõ. Để so sánh khả năng sinh trưởng của RCC với RCCV của địa phương, chúng tôi bố trí nuôi song song 2 loài vào cả 2 đợt. Kết quả cho thấy trong đợt 1, RCC sinh trưởng mạnh ngay từ những ngày đầu. Từ 5kg Rau câu giống, sau 10 ngày trọng lượng tươi đạt 5,996kg, tăng 19,917% so với ban đầu. Qua 30 ngày nuôi (từ 19/VII đến 29/VIII), trọng lượng tươi của RCC cao nhất là 8,969kg, tăng 79,375%. Cũng trong thời gian này, RCCV phát triển yếu trong những ngày đầu và có xu hướng tàn lụi dần. Sau 1 tháng, trọng lượng tươi của RCCV là 3,45kg (chỉ còn 69,150%, giảm 30,85% so với ban đầu). Tuy nhiên, trong thời gian tiếp theo, RCC đợt ngọt sinh trưởng chậm lại, sau đó ngừng sinh trưởng và tàn lụi.

Nguyên nhân là do trong thời gian đầu, độ mặn trong ao nuôi (26 - 32‰) và nhiệt độ (29,5 - 31,0°C) nằm trong giới hạn thích hợp cho sinh trưởng và phát triển của RCC, do đó, RCC sinh trưởng mạnh, khả năng tổng hợp và tích lũy chất hữu cơ nhanh, dẫn đến trọng lượng Rau câu tăng nhanh. Từ 19/VIII trở đi bắt đầu có mưa lớn, độ mặn môi trường giảm nhanh (bảng 28), không phù hợp với yêu cầu của RCC nên chúng không thể sinh trưởng bình thường và cuối cùng bị tàn lụi. Trong khi đó RCCV tuy sinh trưởng không mạnh bằng RCC

Bảng 28. Độ mặn (‰) và nhiệt độ (°C) ở ao nuôi Tân Mỹ và nam cửa Thuận An (Đồn biên phòng) vào đợt 1 và đợt 2

Đợt 1	Ngày	19/VII/ 1997	29/VII/ 1997	9/VIII/ 1997	19/VIII/ 1997	29/VIII/ 1997	9/IX/ 1997	10/IX/ 1997
Tân	Độ mặn	30,0	28,0	29,0	32,0	18,0	7,0	8,5
Mỹ	Nhiệt độ	30,5	29,5	30,0	31,0	20,0	20,5	16,0
Đồn	Độ mặn	29,5	29,5	30,0	32,5	20,0	9,7	12,6
BP	Nhiệt độ	29,0	28,5	29,5	30,0	25,8	19,6	16,0
Đợt 2	Ngày	25/II/ 1998	5/III/ 1998	15/III/ 1998	25/III/ 1998	5/IV/ 1998	15/IV/ 1998	25?IV/ 1998
Tân	Độ mặn	12,0	16,5	16,5	19,0	19,5	20,0	20,0
Mỹ	Nhiệt độ	23,0	22,5	25,0	26,0	26,0	27,0	26,5
Đồn	Độ mặn	15,5	18,0	19,5	20,5	19,5	20,0	20,0
BP	Nhiệt độ	22,0	22,5	24,5	25,0	26,0	26,5	26,0

trong thời gian đầu do nhiệt độ và độ mặn môi trường tương đối cao so với yêu cầu của chúng, nhưng từ 19/VIII về sau khi độ mặn và nhiệt độ thấp, RCCV vẫn tiếp tục phát triển và không bị tàn lụi như RCC.

Ở đợt 2 RCC không phát triển bình thường. Trong tuần đầu Rau câu sống cầm chừng, sau đó tàn lụi dần. Ngược lại RCCV vẫn sinh trưởng bình thường, trọng lượng tươi tăng theo thời gian. Nguyên nhân của hiện tượng trên là do điều kiện nhiệt độ và độ mặn môi trường khá thuận lợi cho sinh trưởng của RCCV nhưng lại thấp hơn so với nhu cầu sinh trưởng của RCC.

Như vậy có thể thấy rằng, RCCV có khả năng thích nghi với sự thay đổi các điều kiện nhiệt độ và độ mặn của môi trường trong giới hạn rộng hơn so với RCC. Đây là một trong những ưu điểm cần chú ý khi đề xuất cơ cấu nuôi trồng các giống agarophyte tại địa phương.

Tại nam cửa Thuận An (Đồn BP), trong đợt 1, RCC sinh trưởng rất mạnh trong tháng đầu do điều kiện môi trường thuận lợi, trọng lượng tươi của RCC sau 1 tháng tăng 97,63% so với ban đầu. Cuối đợt 1, RCC tăng chậm hẳn lại, sau đó cũng bị tàn lụi dần như ở Tân Mỹ.

Trong đợt 2, ngoài 2 ao nuôi trên, RCC được trồng thử nghiệm ở chân cầu Thuận An, ao nuôi khu vực chợ Tân An, ở Hạ Đạo và ở khu Nhà Vua. Sau 50 ngày, ở cả 4 địa điểm trên RCC đều không phát triển được do độ mặn thấp hơn so với cùng kỳ ở Tân Mỹ và nam cửa Thuận An. Trọng lượng tươi ở giai đoạn cuối của RCC giảm so với ban đầu. Trong khi đó RCCV có thể tồn tại và phát triển mạnh tại cả 4 địa điểm thí nghiệm trên ngay cả khi RCC bị tàn lụi. Những kết quả thử nghiệm trồng RCC trên đảm phá cho thấy tác động của nhiệt độ và độ mặn đến sinh trưởng của RCC ngoài tự nhiên hoàn toàn phù hợp với các kết quả thu được trong phòng thí nghiệm. RCCV tuy có năng suất chưa cao bằng RCC nhưng là giống địa phương, thích nghi tốt với điều kiện môi trường và duy trì sinh trưởng bình thường trong giới hạn nhiệt độ và độ mặn rộng.

truyền thống, đồng thời kết hợp trồng RCC từ tháng V đến tháng VIII, khi có độ mặn và nhiệt độ môi trường thích hợp, như vậy có thể tăng sản lượng Rau câu ở đầm phá tỉnh Thừa Thiên - Huế.

Một số chỉ tiêu sinh hóa của RCC khi trồng ở đầm phá Thừa Thiên-Huế

Để đánh giá hàm lượng và chất lượng sản phẩm tích lũy trong quá trình sinh trưởng và phát triển của RCC, phân tích một số thành phần sinh hóa cơ bản của RCC được tiến hành (bảng 29).

Kết quả cho thấy hàm lượng acid amin trong RCC chiếm 14,706 g/100 gam Rau câu khô, bao gồm 18 acid amin trong đó có 8 acid amin không thay thế cho cơ thể người và động vật.

Các acid amin có hàm lượng cao trong RCC này là acid aspartic (13,483% acid amin), acid glutamic (10,754%), arginine (8,266%). Các acid amin không thay thế có hàm lượng cao đáng chú ý là leucine và lysine (7,143%).

Như vậy, RCC và RCCV có thành phần acid amin giống nhau và hàm lượng chênh lệch không đáng kể.

6.3. Tách protoplast và phân chia tế bào từ *Gracilaria*.

Các protoplast đã được sản xuất rất nhiều đối tượng thực vật bậc cao và được sử dụng thường xuyên như những công cụ nghiên cứu sinh lý học và tế bào học cũng như trong kỹ thuật công nghệ di truyền (Galun, 1981; Ahuia, 1982; Potrykus et al., 1983). Một trong những ứng dụng của nghiên cứu protoplast trong nông nghiệp đã được sử dụng là dung hợp protoplast để sản xuất cây lai soma giữa các thực vật không hợp nhau về giới tính hoặc bất thụ. Đến nay hơn 80 thử nghiệm lai cùng loài, lai khác loài và ngay cả lai soma khác giống đã được công bố ở các thực vật bậc cao (Evans và cs, 1983; Harm, 1983). Xét trên khía cạnh các sản phẩm có giá trị thương mại sản xuất từ một số loài tảo biển, lai soma hoặc các kỹ thuật biến nạp cũng đã có những ứng dụng có ý nghĩa để cải tạo giống các loài tảo biển (Cheney, 1984). Tuy nhiên trước khi các kỹ thuật có thể được áp dụng vào thực tế cho các loài rong biển có giá trị thương mại, thì phương pháp cơ sở để tách và nuôi protoplast phải được phát triển hoàn chỉnh (Donal P. Cheney, 1985). Nghiên cứu protoplast trên đối tượng rong biển là một phạm vi mới và chậm hơn nhiều so với các thực vật ở cạn và tảo đơn bào (Berliner 1981, 1983; Cheney, 1986). Đến nay tổng cộng có 15 loài (9 giống) của rong biển đa bào đã được tách protoplast (Fujita và Migita, 1985). Phần lớn chúng thuộc ngành Tảo Lục (7 loài, 3 giống) và Tảo Đỏ (4 loài, 4 giống). Chỉ có 4 loài thuộc 2 giống *Porphyra* và *Gracilaria* của ngành Tảo Đỏ sản xuất được protoplast có thể phát triển được. Những nghiên cứu đầu tiên của Donal P. và cs về sản xuất protoplast từ *G. tikvahiae* được công bố vào 1983. Sau đây là phương pháp để sản xuất một lượng lớn các protoplast có thể phát triển tốt từ *G. tikvahiae* và *G. lemaneiformis*. Sau khi loại sạch các thực vật phụ sinh, *G. lemaneiformis* được xử lý 24 - 48 giờ bằng hỗn hợp kháng sinh cải tiến AM9 với lượng 85mg/ml polymixin E thay thế cho polymixin B. Rau câu được nuôi trong môi trường F/2 ở 20°C, chu kỳ ánh sáng 12:12 và cường độ ánh sáng khoảng 45 $\mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$. Cả các bào tử non (dài 0,3 - 4cm) và Rau câu trưởng thành đều được thử tách protoplast. Rau câu được đặt trong tối 24 giờ trước khi thử

nghiệm tiến hành. Ngay trước khi xử lý enzyme, cây được cắt thành những mẫu nhỏ bằng lưỡi dao thật mỏng và rửa 3 lần bằng nước rửa protoplast chứa nước biển vô trùng có bổ sung mannitol 0,3M và CaCl_2 5mM, ở pH 5,8. Cho khoảng 0,5g mô tươi đã cắt mỏng vào 5ml hỗn hợp enzyme trong một cái cốc thủy tinh 50ml hoặc 0,25g trong 2,5ml hỗn hợp enzyme trong một đĩa plastid nhỏ.

Đối với *G. tikvahiae*, enzyme được dùng để làm tiêu thành tế bào và tạo protoplast là 3% (trọng lượng/thể tích) onozuka R - 10, 3% macceryzyme R - 10, 1% agarase và 0,5% pectolyase Y-2B (hỗn hợp enzyme OMAP). Các enzyme trên được hòa tan trong dung dịch gồm 60% nước biển, 40% nước trao đổi ion, mannitol 1M và CaCl_2 5mM, ở pH 5,8. Ly tâm 200xg trong vòng 20 phút và lọc qua lọc vô khuẩn 0,2 μm . Hỗn hợp enzyme được chuẩn bị ngày trước khi thí nghiệm bắt đầu và bảo quản lạnh. Thời gian xử lý enzyme khoảng 2 - 2,5 giờ. Trong thời gian này mô được khuấy nhẹ bằng một máy lắc quay (50rpm) ở nhiệt độ 26°C trong tối. Sau khi xử lý enzyme, tất cả hỗn hợp trong cốc thủy tinh hoặc trong đĩa được rây nhẹ qua lưới lọc nylon dày 100 μm , pha loãng đến 10ml với môi trường nuôi protoplast và ly tâm ở 100xg trong 5 phút. Môi trường nuôi protoplast thích hợp thường được sử dụng nhất là nước biển vô trùng có bổ sung mannitol 0,6M và CaCl_2 5mM, ở pH 8,0. Protoplast được rửa và ly tâm lại 2 lần. Phần lắng cuối cùng được hòa vào 1ml môi trường nuôi, từ đó mẫu được đưa vào buồng đếm hồng cầu để xác định số lượng protoplast. Tùy vào số lượng protoplast mà 1 - 3 giọt dịch có protoplast (hoặc $1 - 2 \times 10^4$) được phân phối đều lên 24 giếng. Mỗi giếng có chứa 1,5ml môi trường nuôi protoplast. Các protoplast được nuôi ở 14°C và ánh sáng khoảng 20 $\mu\text{E.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. Các protoplast có thể tạo thành từ các tế bào vỏ trong và ngoài khi xử lý hỗn hợp enzyme OMAP (hình 15 : 1, 2, 3). Số lượng protoplast thay đổi nhiều tùy theo giống (hoặc kiểu gene), tuổi (kích thước) và đặc điểm sinh lý của nguyên liệu bố mẹ. Thường có thể thay đổi trong khoảng 1,5 - 5,0 x 10⁵/0,5 trọng lượng tươi mô bố mẹ. Protoplast tạo thành thường có đường kính khoảng 10 - 15 μm đối với các tế bào lớp vỏ bên ngoài và khoảng 25 - 30 μm đối với tế bào vỏ bên trong.

Sự tiêu hủy và tái sinh màng tế bào được xác định bởi thuốc nhuộm cho cellulose là calcofluride white M2R 0,01% và cho agar là toluidin blue O (TBO) 0,05% ở pH 1.

Sự dung hợp protoplast tự phát có thể quan sát được ở một vài trường hợp mà nó không thể thấy được với sự hiện diện của thành tế bào (hình 15 : 6). Đây là nghiên cứu đầu tiên chứng tỏ việc loại bỏ hoàn toàn vách tế bào ở các protoplast từ tảo biển được dùng như là một biện pháp kỹ thuật. Sự tái sinh của màng tế bào và sự phân chia tế bào tiếp theo được quan sát chỉ ở vài giống. Trong các thử nghiệm mà sự phân chia tế bào đã được quan sát, sự tái sinh màng xuất hiện trong 2 - 6 ngày ở gần 60 - 80% protoplast đã nuôi. Tỷ lệ màng tế bào tái sinh cao ở một vài giống chứng tỏ rằng sẽ thu được tỷ lệ cao các protoplast khỏe mạnh. Mặc dù tỷ lệ tái sinh màng cao như vậy nhưng sự phân chia tế bào xảy ra chỉ ở một phần rất ít (0,1 - 1,0%) trong số các protoplast quan sát được. Sự phân chia tế bào đã quan sát được sớm nhất là sau khoảng 5 ngày và chậm nhất là khoảng 20 ngày sau khi tách (hình 15 : 7) (Naviawne Saga, Yoshiaki Sabonsuga, 1988...)

Chỉ có 6 loài thuộc Tảo Lục và 3 loài thuộc *Porphyra* có thể quan sát thấy sự phân chia tế bào trong 5-6 ngày (Tang, 1892; Zang, 1983; Saga & Sakai, 1984; Fujita & Migita 1985). Cho đến nay đã thu được protoplast ở giai đoạn 16 - 23 tế bào (hình 15; 8) nhưng không có khả năng duy trì sự phân chia tế bào và tái sinh cây hoàn chỉnh. Mặc dù các phương pháp đã trình bày không tạo được các protoplast duy trì rõ ràng sự phân chia từ *Gracilaria* nhưng chúng cho phép chuẩn bị một lượng lớn các protoplast khỏe mạnh có thể được sử dụng như là những công cụ duy nhất trong nghiên cứu tế bào học và sinh lý học. Chẳng hạn như các protoplast từ *G. tikvahiae* vô trùng và không vô trùng đã được sử dụng bởi Williams, Cheney và Bruttig để nghiên cứu kỹ adenosine và sự trao đổi chất. Trong nghiên cứu loại này các protoplast có nhiều thuận lợi hơn các cây hoàn chỉnh.

6.4. Nuôi trồng agarophyte (chủ yếu là *Gracilaria*).

Những thử nghiệm nuôi trồng *Gracilaria* đầu tiên được tiến hành cách đây hơn 50 năm. Từ đó đến nay, cùng với sự phát triển của công nghiệp sản xuất agar, nhu cầu agarophyte nói chung và *Gracilaria* nói riêng ngày càng tăng, nhiều hình thức nuôi trồng khác nhau đã được sử dụng để không ngừng nâng cao sản lượng thu hoạch.

Các thử nghiệm nuôi trồng *Gracilaria* được tiến hành ở nhiều nước như trồng *G. asiatica* ở vùng triều ở Qingdao (Ren Guizhong, 1984); trồng *G. sjostedtii* (Jiang Benyu và cs, 1984); *G. domigensis* bằng phương pháp căng dây trên cọc (T. McLachlan, 1986) ở Canada; trồng ở ao và thâm canh *G. lichenoides* ở Đài Loan (Jiang Yongnian, 1986); trồng bè *G. tenuistipitata* ở vùng triều và *G. tenuistipitata* var Liu ở các hồ nước mặn và các đồng muối (Liu Sijian, 1987); trồng *G. verrucosa* ở Chile (Santelices & Ugarte 1987).

Hiện nay Trung Quốc được xem là nước thành công nhất trong việc nuôi trồng *Gracilaria* (Chapman, 1970; Edward et al., 1988). Nuôi trồng agarophyte được thực hiện trên cơ sở những hiểu biết về các đặc điểm sinh học của chúng. Từ đó mà lựa chọn phương pháp và các vị trí nuôi trồng thích hợp để thu được hiệu quả cao nhất.

Lựa chọn địa điểm

Cơ sở chủ yếu khi chọn địa điểm nuôi trồng agarophyte là những hiểu biết về các yếu tố sinh thái và phương pháp nuôi đã chọn. Thường có 3 loại địa điểm là các vùng trong vịnh, vùng biển gần bờ và các ao.

- Tiêu chuẩn để lựa chọn các vị trí trong vịnh:
 - Bãi cát phẳng và rộng. Nước vẫn còn lại khi thủy triều xuống để tảo không bị khô trong không khí.
 - Có đáy sét cứng hay đáy cát, tránh các vùng có nước đục do đáy bùn.
 - Tránh các vùng thường xuyên có bão và sóng mạnh. Nước trong, không ô nhiễm và lưu thông tốt.

Tỷ trọng nước khoảng 1,010 - 1,025, nhiệt độ tối đa vào mùa hè khoảng 35°C.

- Tiêu chuẩn để chọn các vị trí ở vùng biển gần bờ:

- Nước biển giàu dinh dưỡng. Hàm lượng N khoảng 50 mg/m^3
- Nước lặng và trang thiết bị không bị phá hủy bởi gió hoặc bão.
- Nước trong, không ô nhiễm và lưu thông tốt.
- Nước sâu khoảng 1,5m khi triều xuống.



Hình 15. Phơi agar chiết xuất từ *Gracilaria* ở Trung Quốc



Hình 16. Phơi *Gracilaria verrucosa* ở Chile

- Thường ở vùng này phương pháp nuôi trồng bằng bè được sử dụng.
- Tiêu chuẩn để chọn các ao nuôi:
 - Các ruộng lúa bị mặn hóa, các ao nuôi cá bị cạn hay các ruộng muối được cải tạo lại có thể được sử dụng để nuôi trồng *Gracilaria*.
 - Nước sâu 0,3 - 0,5m, có khi sâu đến 1 - 1,2m.
 - Tỷ trọng nước tối ưu là 1,010. Khoảng thay đổi phù hợp là 1,005 - 1,015.
 - Nhiệt độ thích hợp khoảng 20 - 30°C. *Gracilaria* sẽ ngừng sinh trưởng nếu nhiệt độ lớn hơn 30°C hoặc nhỏ hơn 10°C. Chúng sẽ bị thối rửa và chết ở khoảng 35°C.
 - pH thích hợp khoảng 8,0.
 - Đất cát sét là phù hợp nhất. Tránh các vùng có đáy bùn gần bờ vì nước đục do một lượng lớn chất hữu cơ của bùn và phù sa làm hạn chế sự sinh trưởng của Rau câu.

Nhiều thí nghiệm đã chứng tỏ các tiêu chuẩn để lựa chọn vị trí nuôi trồng không nghiêm ngặt lắm. Đa số các vịnh và vùng biển gần bờ đều có thể sử dụng để trồng *Gracilaria*. Tuy vậy phải tính đến đặc điểm địa lý, các điều kiện biển của địa phương cũng như chọn phương pháp nuôi trồng hợp lý.

Phương pháp nuôi trồng bào tử

****Thu nhận bào tử và trồng bào tử mầm:**

Cùng với sự phát triển của sản xuất, phương pháp thu nhận bào tử và bào tử mầm ngày càng được tiến hành có hiệu quả. Có 2 phương pháp được sử dụng:

a. Thu nhận bào tử và trồng bào tử mầm ở biển:

Đây là phương pháp đơn giản nhưng đòi hỏi nhiều nhân công.

- Chọn vị trí: chọn các vùng trong vịnh và ven bờ biển theo các tiêu chuẩn đã nêu trên. Các vũng và các ao cũng có thể dùng làm vị trí thu nhận bào tử và bào tử mầm vì độ sâu và sự trao đổi nước trong các ao này có thể điều chỉnh được.
- Chuẩn bị đáy sinh trưởng:

Tùy theo điều kiện của địa phương mà vỏ sò, đá nhỏ, san hô vụn được sử dụng. Bề mặt các giá thể phải sạch và các bào tử dễ bám. Rải khoảng 500 - 600 hòn đá có nhiều góc cạnh với trọng lượng không quá 0,5kg/viên hoặc 180 - 210 tấn vỏ sò, điệp, ngao cho 1ha. Nếu có thể thì mặt ngoài của vỏ được quay lên phía trên vì nó không nhẵn và phù hợp cho các bào tử bám vào. San hô cũng là giá thể sinh trưởng tốt. Sợi thừng vinylon (3x20), sợi PVC (3x11), lưới 15x15 bền với các dây thừng trên cũng được dùng làm giá sinh trưởng.

b. Chuẩn bị Rau câu trưởng thành:

- Rau câu được lựa chọn trước khi thu nhận bào tử. Chúng phải có nhiều nhánh, khỏe, tươi tốt, nguyên vẹn, không bị hư hại và có mang nhiều bào tử phòng (sporangia). Quả bào tử (cystocarps) hướng ra phía ngoài và dễ nhận biết. Nhiều tử bào tử phòng (tetrasporia) được hình thành dưới dạng các đốm đỏ rất nhỏ có thể nhìn thấy ở các cây tử bào tử

(tetrasporophyte) nếu quan sát ngược dưới ánh nắng mặt trời. Một điều cần phải khẳng định là chỉ có các bào tử trưởng thành mới được lựa chọn. Nó có thể được nhận biết từ các đặc điểm của các ổ túi bào tử (sporangium).

- Các đặc điểm của túi quả bào tử (carposporangium) trưởng thành: khi các bào tử quả (carpospores) trưởng thành thì các quả bào tử (cystocarps) nhô cao lên. Phần đỉnh của quả túi tròn, nhẵn, trông như cái bánh bao hấp. Các lỗ nhỏ li ti trên bề mặt của quả túi rất rõ ràng, một vài cái có màu trắng. Một đốm trắng lớn với các lỗ nhỏ li ti báo hiệu rằng các quả túi đã chuẩn bị phóng bào tử. Số lượng bào tử có thể kiểm tra qua kính hiển vi.
- Các đặc điểm của túi tử bào tử trưởng thành: khi các túi tử bào tử trưởng thành chúng có thể được nhìn thấy rõ nhờ các đốm lớn phân bố đều đặn khi nhìn ngược ánh sáng mặt trời. Túi bào tử rất sáng và có khứa chữ thập khi quan sát dưới kính hiển vi.

c. Thu nhận các bào tử:

Có nhiều phương pháp thu nhận bào tử:

- Để lại một lượng rong sau khi thu hoạch để chúng phát triển lại: phương pháp này có thể áp dụng ở những nơi có Gracilaria phát triển tự nhiên, có giá thể rải rác. Các bào tử phóng ra sẽ gắn và các giá và nảy mầm.
- Làm khô tảo, khuấy để phóng thích bào tử: chọn tảo khô mạnh và trưởng thành, rửa sạch với nước biển, sau đó để khô bằng một trong hai cách:

- Rải Rau câu lên một chiếu tre hoặc làm thành bó rồi treo lên giá trong 2 - 4 giờ trong bóng râm. Thời gian làm khô tùy theo nhiệt độ, độ ẩm và sự thông khí. Khi bề mặt tảo khô và xuất hiện vài nếp nhăn thì việc xử lý kết thúc.

- Phơi dưới ánh sáng mặt trời, tảo phải được trở thường xuyên và thời gian phơi ngắn. Sau khi làm khô cắt tảo thành 2 - 3 đoạn. Thông thường cần khoảng 15 - 20kg Gracilaria tươi / 0,066ha. Rải cho tảo chìm trong nước tại các điểm nuôi, các túi bào tử sẽ được mở ra, bào tử được giải phóng. Có khoảng 60000 bào tử hoặc hơn 40000 quả túi được giải phóng (Mathieson, 1975). Các bào tử tự do chìm chậm và bám trên đá, vỏ sò. Chúng tiếp tục nảy mầm. Một đĩa bám nhỏ được hình thành sau khoảng 1 tuần. Phương pháp này thích hợp cho các vùng không có nhiều Rau câu trưởng thành. Cần tiến hành lúc đẹp trời, vào buổi chiều, khi nhiệt độ ổn định.

d. Phun nước chứa bào tử:

Rau câu trưởng thành sau khi làm khô như trên được đặt vào một thùng gỗ lớn chứa nước biển. Dùng gậy khuấy liên tục để giúp phóng thích các bào tử. Mật độ bào tử trong nước khoảng 30 - 40 bào tử trong hiển vi trường. Chuyển Rau câu sang thùng khác và làm lại như trên. Các bào tử sẽ giải phóng tiếp. Chọn thời gian thủy triều xuống để đổ nước có chứa bào tử vào các điểm nuôi trồng hay phun trực tiếp lên giá thể. Khả năng bám của bào tử sẽ yếu dần theo

thời gian. Các bào tử mất khả năng bám sau khi giải phóng 36 giờ. Nhìn chung Rau câu khô bắt đầu phóng bào tử 10 - 15 phút sau khi được rải xuống nước và đạt cực đại sau 2 giờ. Nếu nhiệt độ nước dưới 5°C thì việc phóng bào tử không xảy ra. Nhiệt độ thích hợp nhất là 20°C.

Ưu điểm của phương pháp: các bào tử có thể được phun đều. Rau câu sau khi thu bào tử dùng làm nguyên liệu để chiết agar.

Nếu lưới và dây thừng được dùng làm giá sinh trưởng thì cho dây và lưới vào thùng rất lớn chứa nước bào tử. 24 giờ sau, các bào tử sẽ bám chắc vào các giá sinh trưởng này. Đem đặt chúng ở vùng triều, nơi còn nước giữ lại khi thủy triều xuống. Lưới thì được cố định bằng các cọc hay buộc vào bè.

Để kiểm tra mật độ bào tử trên giá sinh trưởng, đặt lam kính trên các giá thể trước khi phun nước bào tử, khi phun xong, lấy lam ra rồi dùng kính hiển vi để kiểm tra. Nếu có vài bào tử trong hiển vi trường là được. Có thể cắt một mẫu dây và kiểm tra theo phương pháp trên. Nếu mật độ quá thấp phải thêm nước chứa bào tử vào.

e. Sự nảy mầm của bào tử:

Các bào tử có hình elip ngay sau khi được tự do và trở nên tròn sau 10 phút do hấp thụ nước. Đường kính của chúng khoảng 30µm và có thể khác nhau giữa các giống. Sau khi được phóng thích bào tử sẽ nhanh chóng bám vào giá và sau đó nảy mầm. Thường sau 2 lần phân chia đầu tiên, 4 tế bào được tạo thành. Sau đó mỗi tế bào phân chia không đều để tạo nên nhiều tế bào nhỏ. Thời gian nảy mầm của các bào tử không giống nhau. 24 giờ sau khi bào tử bám vào giá sinh trưởng, một số bào tử vẫn giữ nguyên, số khác có 2 tế bào, một số có 4 tế bào, thậm chí một số có nhiều tế bào. Lúc đầu đường kính bào tử gần như không đổi. Ngày sau 1 đĩa đa bào nhỏ được hình thành, bám lên giá và lớn rất nhanh. Thường bào tử mầm thẳng đứng có thể nhìn thấy được sau một tháng.

f. Nuôi trồng bào tử mầm:

Việc chăm sóc trong thời gian nuôi trồng ở biển thực hiện như sau:

- Kiểm tra xem bào tử mầm phát triển bình thường hay không. Lập tức loại ngay rong đại (*Enteromorpha prolifera*, *Ulva*, *Ectocarpus confervoides*, *Diatoms* hoặc *Amphipoda*) trên giá sinh trưởng nếu có.

- Kịp thời rửa sạch bùn nếu có để tránh làm bào tử mầm bị ngạt.

- Giữ lại nước sau khi thủy triều xuống để giá thể luôn luôn ẩm, nếu không, bào tử mầm sẽ khô và chết. Nếu trồng ở ao, đầm thì phải giữ nước ở độ sâu 50cm.

- Tỷ trọng nước không thấp hơn 1,010 trong suốt mùa mưa.

- Thực tế cho thấy có thể sử dụng lưới vinylon hay dây thừng PVC để thu nhận và trồng bào tử. Chúng dễ quản lý, dễ rửa sạch bùn, dễ di chuyển từ nơi này sang nơi khác khi cần thiết và đòi hỏi ít nhân công.

Nếu trồng bè thì độ sâu của nước phải khống chế theo sự lưu thông của nước biển. Thường thì các bè ở vùng nước sâu, trong, ít bẩn bởi chất hữu cơ, sự sinh trưởng của bào tử mầm kém. Ở vùng nước nông thì ngược lại.

Tuy nhiên sử dụng các giá sinh trưởng là đá, vỏ sò... thường đơn giản, dễ và rẻ hơn. Khoảng 150kg Rau câu được dùng để thu nhận bào tử và phun cho 1ha. Lượng bào tử mầm thu được từ 1 ha tảo ở vùng biển đủ để gây bào tử mầm nuôi trồng cho 10ha.

g. Thu nhận bào tử mầm trong nhà:

Khi phương pháp thu nhận bào tử và nuôi trồng bào tử mầm ở biển không đáp ứng đủ nhu cầu sản xuất mới thực hiện phương pháp trong nhà vì phương pháp này phức tạp và khá tốn kém. Trong phương pháp này cần xây dựng một cơ sở để ương giống với các yêu cầu sau:

- Có hệ thống điều hòa nhiệt độ để ươm giống, nhiệt độ phải khống chế là 20 - 25°C

- Có hệ thống cấp và thoát nước với các thiết bị kèm theo như thùng chứa nước, thùng lọc nước, bơm, hồ dự trữ nước tự nhiên hay nhân tạo.

- Chuẩn bị một số thùng hình chữ nhật sâu 40cm với các van cho nước vào, ra và lót đá gôm trắng ở 2 bên và đáy thùng. Các thùng được sắp thành hàng ở các độ cao khác nhau để nước có thể lưu thông.

- Bào tử mầm sau khi thu phải được trồng ở nhà ương giống sau. Nước phải thay hàng ngày và giữ lưu thông với tốc độ nhất định. Cường độ ánh sáng tối ưu khoảng 5000 lux. Một số chất dinh dưỡng cần được bổ sung thêm. Bào tử mầm được ương đến khi chúng phát triển thành dạng cơ thể thẳng đứng thì được chuyển đến trồng ở các vùng đã chọn.

Các phương pháp được chọn để thu nhận và trồng bào tử mầm tùy theo điều kiện cụ thể của từng địa phương.

- Các phương pháp trồng agarophyte bằng bào tử

Trồng rải ở ao:

Trung Quốc, Đài Loan, Philippines là những nước đã có hệ thống trồng ao hoàn chỉnh. Thiết kế ao đầm và điều tiết nước là nhân tố then chốt đưa đến thành công trong phương thức trồng ao. Các điều kiện cần lưu ý là:

- Ao hình chữ nhật, rộng khoảng 1ha, tránh nơi có gió mạnh.
- Hệ thống đê và cống được thiết kế hợp lý, đảm bảo luân chuyển nước và duy trì mức nước trong ao hợp lý.
- Đáy cát bùn, cát hoặc bùn cát.
- Tùy theo loài mà khống chế điều kiện môi trường như nhiệt độ, độ mặn, pH... cho thích hợp.

Rải bào tử mầm:

Bào tử mầm được chuyển đến địa điểm nuôi vào mùa xuân và rải xuống ao với số lượng 4500kg/ha. Việc rải mầm cần tiến hành vào buổi sáng, cuối chiều hay vào những ngày có mây để bào tử mầm khỏi bị khô dưới tác động trực tiếp của ánh sáng mặt trời. Để tránh rong khỏi bị gió cuốn dạt lại, vại thanh tre nhỏ được đóng vào ao. Giữ mực nước khoảng 20 - 30cm hoặc hơn. Vào mùa hè khi nhiệt độ tăng có thể đưa độ sâu lên 60 - 80cm. Có thể rải thêm phân vào ao để rong phát triển mạnh. 2 - 3 tuần thay nước một lần, luôn giữ chất lượng nước

tốt, trong và nhất sạch các rong gây hại. Sau 30 - 40 ngày rải bào tử mầm, rong sẽ trưởng thành và có thể thu hoạch lứa đầu tiên. Một phần rong cần được để lại để tiếp tục phát triển cho lứa sau. Ở Trung Quốc tảo phát triển tốt cho đến tháng X, từ tháng XII đến tháng III là giai đoạn sản xuất thấp vì nhiệt độ xuống quá thấp. Hiện Trung Quốc có 2000ha *Gracilaria* được nuôi trồng theo phương pháp này với sản lượng 2000 tấn rong khô/năm. Ở Đài Loan sản lượng nuôi trồng cũng đạt 12 tấn/ha/năm. *G. tenuistipitata*, *G. parvaspora*, *G. blodgettii*... rất thích hợp với phương pháp nuôi trồng này [36, 38].

*** Trồng bằng căng lưới ở vùng triều:**

Phương pháp này đang được sử dụng để nuôi trồng tảo ở Nhật Bản, Philippines, Ấn Độ, Miến Điện, Đài Loan và Trung Quốc [45] (hình 18).

Các cọc được đóng xuống biển với khoảng cách nhất định. 8m x 1m lưới vinylon dày 15 x 15cm được dùng để làm giá sinh trưởng cho bào tử. Một búi bào tử mầm được kẹp vào mỗi mắt lưới. Do *Gracilaria* là loại sinh trưởng đỉnh nên chúng không bị ảnh hưởng bởi việc bị giữ chặt phần giữa của Rau câu.

Thường 180 túm bào tử mầm được gài trên một tấm lưới. Ở đầu và cuối tấm lưới buộc vào 2 - 3 thanh tre nhỏ có độ dài bằng nhau. Toàn bộ hệ thống này được buộc vào các cọc ở trên. Khi thủy triều xuống, lưới có thể nằm trên cát còn xấp nước, khi thủy triều lên hệ thống lưới sẽ nổi lên và Rau câu phát triển trong điều kiện lơ lửng (hình 18:1). Năng suất của phương pháp này có thể đạt 1500kg rong khô/ha sau 3 tháng.

*** Trồng bè:**

Phương pháp này tương tự như trồng lưới nhưng có khác là các dây được căng ở giữa bè. Cỗ bè thường khoảng 2,5 x 5m, mỗi túm buộc 35 bào tử mầm, cách nhau 10cm. Sau 2 tháng, Rau câu phát triển từ 3 cm lên 130cm. Có nơi *Gracilaria* dài đến 2m. Sản lượng thu được có thể lên đến 6 000kg khô/ha. Đây là phương pháp đơn giản đang được sử dụng phổ biến để nuôi trồng *Gracilaria*, *Eucheuma* ở Philippines, Indonesia, Trung Quốc [37].

*** Trồng lồng:**

Hệ thống này mới được sử dụng nuôi trồng *Gracilaria* trong những năm gần đây (Edward P., Jed Rrown J. Sherman N. và cs, 1998), mặc dù đã được thực hiện thử nghiệm trước đó (McLachan & Bird, 1986; Guanzon & Castro, 1992). Lồng có kích thước 1,0m x 0,5m x 0,7m, làm bằng lưới (cổ mắt lưới 5.0mm) và cố định trên các bè tre. Lồng phải ngập trong nước 40 - 60cm. *Gracilaria* sp. (dài 10 - 15cm) được thả vào lồng với mật độ 350 - 500g/m² (hình 18:2). Phương pháp thường áp dụng ở các phá, vịnh, đầm (vùng dưới triều) ở các nước như Namibia, Venezuela, Hawaii... Sản lượng thu được khoảng 50 tấn/ha/năm.

Ở phá Tam Giang (Thừa Thiên-Huế) hệ thống nuôi trồng tương tự như thế được thực hiện mà không hề biết đến. Loại nan tre và lưới sử dụng để bắt tôm, cá được dùng làm hàng rào để trồng lồng. Lồng nuôi có thể ở giữa đầm cạn hoặc có thể vây ở một phía hồ (hình 18:4) nhưng giống được sử dụng không phải là dạng bào tử mầm.

Kỹ thuật trồng *Gracilaria* bằng bào tử mầm đã được nghiên cứu nhiều và được ứng dụng rộng rãi (Smith & cs, 1984; Doty & Fischer, 1986; Santelices &

Doty, 1989; Smith, 1992; Kain & Destome, 1995; Alvea & cs, 1995...) vì có thể thu được một lượng lớn Rau câu giống (bào tử mầm) từ một lượng tảo không nhiều. Tuy nhiên việc nuôi trồng bằng nguồn giống này không phải bao giờ cũng thuận lợi do sinh khối của các bào tử mầm quá nhỏ, có khi chúng sinh trưởng chậm, hiệu quả kinh tế không cao (Dawes C.P., 1995).

*. Nuôi trồng *Gracilaria* bằng sinh sản sinh dưỡng:

Gracilaria là loại tảo có khả năng tái sinh mạnh. Trong nước biển hay nước lợ tự nhiên các đoạn Rau câu có thể tiếp tục phát triển với tốc độ khá nhanh. Các trang trại đã sử dụng phương pháp này ở nhiều nước khác nhau tỏ ra có hiệu quả như Ấn Độ (Raju & Thomas, 1971), Trung Quốc (Ren & cs, 1984; Ren & Wang, 1987); Philippin (Hurtado - ponce, 1990), Cuba (Areces, 1990), Namibia (Molly, 1992), Nam Phi (Andreson & cs. 1992), Brasil (Camara Neto, 1987), Chilê (Westermeyr & cs. 1992) và Venezuela (Rincones & cs. 1992; Racca & cs, 1993...) (Dawes C.P., 1995).

Các phương pháp nuôi trồng đã trình bày ở trên như phương pháp căng lưới, trồng bè, trồng lồng, dây đơn căng trên dáy (hình 18:3) hay rải giống... đều có thể áp dụng để nuôi trồng *Gracilaria* bằng sinh sản sinh dưỡng. Giống để nguyên cây hoặc cắt khúc, trước khi trồng có thể hồ phân và trong quá trình nuôi và chăm sóc cần bón thúc phân hoặc treo nguồn dinh dưỡng cạnh Rau câu để chúng dễ hấp thụ. Tùy theo đặc điểm của các loài tảo và điều kiện cụ thể của từng vùng mà chọn phương pháp cho phù hợp.

Việt Nam là một trong những nước nuôi trồng *Gracilaria* bằng sinh sản sinh dưỡng và đã thu được những thành công nhất định. Các loài Rau câu được trồng là *G. asiatica* và *G. blodgettii* (ở miền Bắc); *G. teniustipitata* và *G. heteroclada* (ở khu vực miền Trung và miền Nam) theo hình thức bán thâm canh và quảng canh ở các ao đầm. Quảng Ninh, Hải Phòng, Thừa Thiên - Huế là những địa phương có sản lượng Rau câu cao. Ngoài ra, Nam Định, Thanh Hóa, Quảng Nam, Đà Nẵng, Quảng Ngãi, Bình Định, Phú Yên, Khánh Hòa, Bình Thuận, Ninh Thuận, vùng duyên hải thành phố Hồ Chí Minh, Vũng Tàu, mũi Cà Mau, v.v... cũng tiến hành nuôi trồng Rau câu. Những nơi có diện tích vùng ao đầm rộng lớn, người ta tiến hành khoanh ô từng ao khoảng 5 - 10ha để nuôi trồng. Nền đáy thường là bùn, bùn cát, cát bùn hoặc cát, có độ sâu từ 20 đến 150cm, tạo dòng chảy để chủ động điều khiển độ muối. Ao nuôi được xử lý rong tạp, bón vôi khử độ chua, bón lót phân, sau đó thả Rau câu. Mật độ thả ban đầu là 200 - 500g/m². Có thể hồ phân cho Rau câu trước khi thả. Trong quá trình nuôi trồng cần tiếp tục xử lý rong tạp và bón thúc cho Rau câu. Theo dõi độ mặn, độ pH, nhiệt độ và nhất là giai đoạn sinh trưởng để xử lý thích hợp (bao gồm việc bón phân hợp lý). Thu hoạch đúng kỳ sinh trưởng: giai đoạn trưởng thành để sản lượng thu hoạch và phẩm chất tốt nhất.

Diện tích trồng Rau câu ở nước ta khoảng 1500 - 2000ha và tổng sản lượng 1500 - 2000 tấn khô/năm. Những năm gần đây Rau câu cước (*G. heteroclada*) được xem là nguồn nguyên liệu xuất khẩu và chế biến agar ở phía nam Việt Nam. Nó có thể được trồng bằng nhiều hình thức: bằng giống bào tử hay giống sinh dưỡng; bằng buộc trên dây hay dãn căng trên dáy...; và chủ yếu hiện nay đang trồng bằng phương pháp rải giống trực tiếp trên đáy trong các ao, địa,

dầm nuôi tôm cá... Đây là phương pháp phù hợp, mang tính ổn định và hiệu quả nhất (Huỳnh Quang Năng, 2000). Các thủy vực ven biển từ Đà Nẵng đến Bà Rịa-Vũng Tàu và ven biển Hà Tiên - Kiên Giang rất thích hợp cho việc phát triển Rau câu cước, đặc biệt là ở Bà Rịa - Vũng Tàu, Phú Yên và Khánh Hòa. Ở nước ta chưa tiến hành trồng các loài agarophyte ở vùng triều có quy mô mà chủ yếu là thu hoạch tự nhiên.

Ngoài các hệ thống nuôi trồng rong biển hoàn chỉnh ở một số nước như Nhật Bản, Philippin, Đài Loan..., hiện nay có 2 phương thức tổ chức nuôi trồng *Gracilaria* có hiệu quả kinh tế cao đang được quan tâm:

• Phương thức nuôi ghép:

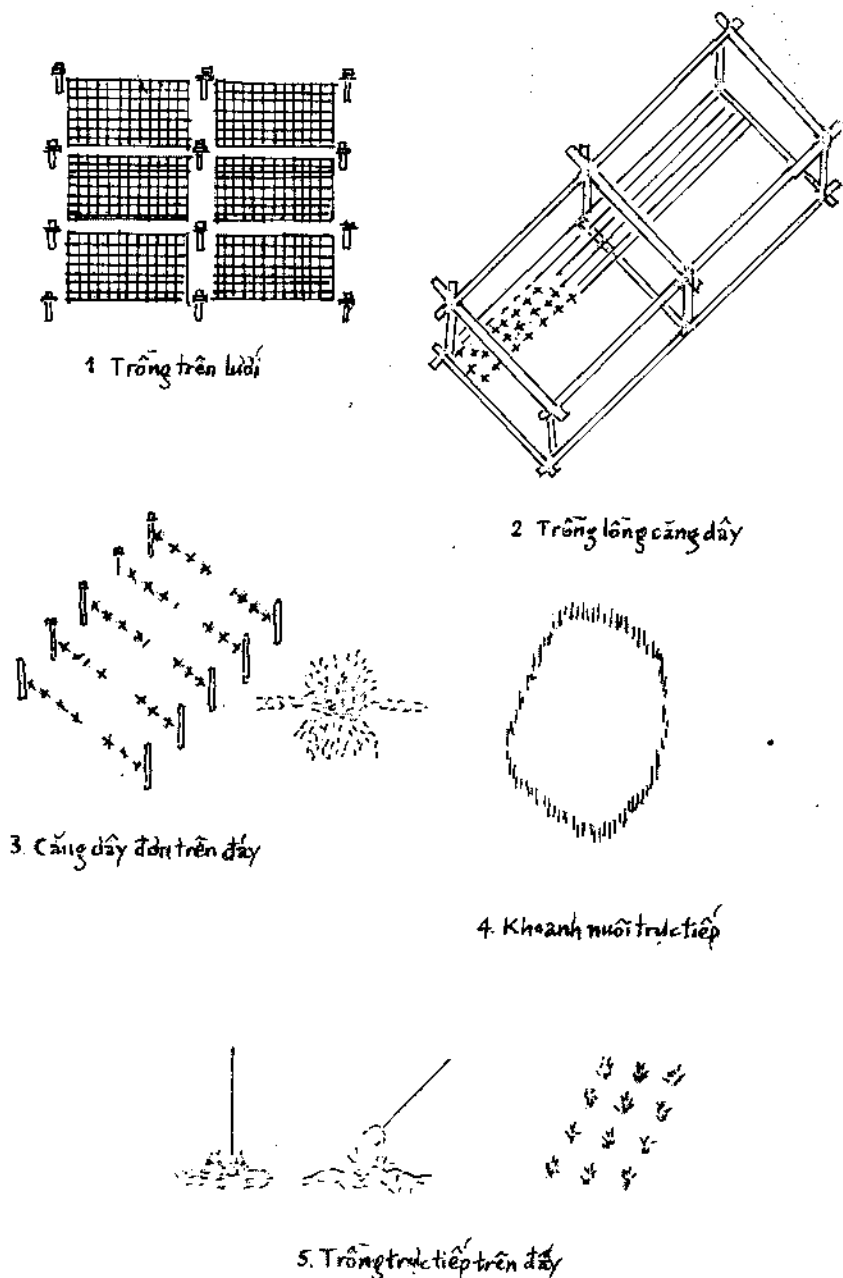
Khi triển khai ao để nuôi trồng ghép, cần phải xác định rõ sản phẩm nào là chính. Người nuôi tôm không nhất thiết phải sản xuất Rau câu theo vẽ, trái lại, những nhà trồng Rau câu có thể nuôi một vài loại động vật nào đó trong ao như là sản phẩm phụ. Thường các động vật nuôi kết hợp làm công cụ khống chế các loài rong tạp không cần thiết và Rau câu sẽ sử dụng các chất thải và thức ăn thừa của các vật nuôi sau khi bị phân hủy. Nhật Bản, Trung Quốc, Triều Tiên, Philippin, Ấn Độ và Việt Nam đang thực hiện trồng *Gracilaria* kết hợp với tôm, cua, Cá măng... Ở Đài Loan, trồng 1ha ao nuôi thả 4 - 5 tấn Rau câu, 5 - 10 ngàn cua con, 1 - 2 vạn tôm con. Sau 3 tháng Rau câu được thu hoạch, tôm và cua thu sau 3 - 5 tháng. Lợi tức thực tế từ phương thức nuôi ghép lợi gấp 3 lần so với độc canh rong biển. Tỷ lệ cua sống trên 80% và 80 - 90% tôm sống và phát triển nhanh. Đây là phương thức nuôi trồng thủy sản có lợi nhất ở Đài Loan.

Ở Israel hệ thống nuôi trồng kết hợp cá, *Gracilaria* và Sò huyết (*abalone*) đã mang lại hiệu quả cao về nhiều mặt. Ưu điểm của hệ thống này là hoàn chỉnh chu trình dinh dưỡng, giảm lượng nước sử dụng, giảm tiêu hao thức ăn và đạt sản lượng cao. Các chất thải của Sò huyết làm thức ăn cho cá, chất thải của cá cung cấp cho Rau câu, Rau câu làm thức ăn cho Sò huyết. Với cách nuôi này có thể thu được 28kg cá/m²/năm, Rau câu đạt 78kg/m²/năm, Sò huyết đạt 9,4kg/m²/năm (Amin Neori et al., 2000)

• Phương thức nhân giống *G. parvisposa* bằng các bào tử rồi trồng trên cát và các lồng nổi ở Hawaii.

Hệ thống này gồm một nhà ươm *G. parvisposa* để sản xuất Rau câu giống non ở giai đoạn cây từ bào tử và cây giao tử, sau đó chuyển chúng ra nuôi trồng ở trên bờ biển hay vịnh đáy cát và thu hoạch khi Rau câu đạt kích thước trưởng thành. Số Rau câu vừa thu hoạch trên được nhân lên trong các lồng trước khi bán. Một trung tâm liên doanh để sản xuất giống ở nhà ươm, sản xuất các lồng nổi và tiêu thụ sản phẩm được hình thành. Các bào tử mầm từ nhà ươm được phân phát cho dân ở các vị trí ven biển. Những người này sẽ nuôi trồng tiếp Rau câu non ở các vùng nước đáy cát, và khi thu hoạch bán cho liên doanh. Tỷ lệ sinh trưởng của Rau câu là 2.64% /ngày và sản lượng trung bình 14.8g khô/m²/ngày. Sinh trưởng của Rau câu vào mùa xuân và mùa hè cao hơn mùa đông. Hệ thống này có khả năng khắc phục vấn đề thiếu Rau câu giống do các nguồn Rau câu tự nhiên bị khai thác quá mức, tăng sản lượng nuôi trồng Rau câu bào tử và khắc phục được vấn đề thoái hóa của Rau câu do nuôi trồng dinh

dưỡng trong thời gian dài. Bởi vậy sản phẩm thu được khi nuôi trồng theo phương thức này cao hơn 2 - 5 lần so với kết quả trồng rãi trong ao và các phương pháp nuôi trồng dây khác (La Pointe & cs, 1976; Hanisak, 1987; Santelices & Doty, 1989; Ugarte & Santelices, 1992; Edward & cs, 1998).



Hình 18. Một số phương pháp nuôi trồng rau câu

6.5. Công dụng của các loài agarophyte

Đề cập đến vai trò của các loài agarophyte chúng ta không thể bỏ qua tầm quan trọng của chúng trong việc sử dụng nguồn tài nguyên này. Hàng ngàn năm về trước con người đã biết sử dụng nó vào đời sống hằng ngày nhưng số lượng còn ít, phạm vi sử dụng còn hẹp. Về sau khoa học kỹ thuật ngày càng tiến bộ, khối lượng và phạm vi sử dụng ngày càng rộng. Gần đây số lượng thu hoạch tăng lên trên thế giới hàng năm vào khoảng 4 - 5 triệu tấn, Hầu hết tập trung ở các nước Nhật Bản, Liên Xô (cũ), Triều Tiên, Na Uy... Hiện nay trên thế giới các loài agarophyte có giá trị thương mại như *Ahnfeltina*, *Gracilaria*, *Porphyra*... Chúng được dùng trong nước chấm, gia vị, các món ăn, kẹo, mứt... Ở các nước ven biển châu Âu, châu Mỹ, châu Á dùng chúng làm thức ăn cho gia súc để tăng trọng, nuôi bò đã tăng sữa, nuôi gà thì mắn đẻ. Ngoài ra chúng còn được dùng làm phân bón. Phân rong làm giàu thêm cho đất các nguyên tố khoáng, cải thiện cấu trúc của đất, làm giảm tính acid quá độ, làm chậm sự phát triển của cỏ dại.

Nhật Bản là nước đầu tiên trên thế giới điều chế ra agar - agar, lúc đầu chỉ dùng làm thực phẩm. Về sau agar - agar được dùng trong hàng chục ngành kỹ nghệ khác nhau.

Có thể nói trong đại chiến thế giới lần II, Nhật Bản là nước có vị trí độc quyền về công nghiệp sản xuất và xuất khẩu agar - agar. Trong thời gian chiến tranh cũng như sau chiến tranh, nhu cầu agar - agar ngày càng gia tăng mạnh mẽ nên một số nước trên thế giới xây dựng và phát triển công nghiệp sản xuất agar - agar để phục vụ cho tiêu dùng trong nước.

Từ năm 1963 - 1970, Nhật Bản sản xuất bình quân 270 tấn agar-agar /năm, năm cao nhất lên tới 3025 tấn (1968), Spain: 990 - 1000 tấn, Triều Tiên: 700 - 800 tấn, Maroc: 300 - 350 tấn, Portugane: 300 - 350 tấn, Philippin: 80 - 100 tấn. Riêng Chilê (1967) sản xuất 4500 tấn Rau câu và bán nguyên liệu đã thu nhập đến 3 triệu USD.

Nhu cầu tiêu dùng agar - agar ở Nhật Bản rất lớn khoảng 1500 tấn năm. Ngoài ra Nhật Bản còn xuất khẩu một khối lượng agar - agar khá lớn đến một số nước trên thế giới. Nhật Bản bình quân hàng năm thu lợi khoảng 20 triệu USD.

Năm 1966 sở Hải sản và bộ Công nghiệp Chilê cho biết mức tiêu thụ agar - agar ở một số nước trên thế giới như sau:

Theo tài liệu J. Dano (1982) toàn thế giới tiêu

Bảng 30. Mức tiêu thụ agar-agar của một số nước trên thế giới

Tên nước	Mức tiêu thụ
Argentina	100 tấn/năm
Canada	100 -
Tiệp Khắc, Ba Lan và các quốc gia khác	300-
Pháp	200 -
Đức	200 -
Anh	500 -
Italia	100 -

thụ 7000 tấn / năm agar - agar

Nói chung các nước có nền công nghiệp tiên tiến thì việc sử dụng agar - agar càng nhiều.

Sơ bộ hiện nay có khoảng 45 ngành kinh tế khác nhau sử dụng chúng.

- Trong y dược: agar-agar được dùng làm môi trường nuôi cấy vi sinh vật, chế thuốc nhuận trường, làm vỏ bọc thuốc khó uống, phối hợp với các loại thuốc khác để chế thuốc viên, thuốc cao, làm khuôn răng giả, mắt giả, thuốc đông máu, chỉ khâu và trong phẫu thuật ngoại khoa, làm chất nhũ hóa trong dầu cá...

- Trong công nghiệp thực phẩm: agar - agar dùng làm dung dịch ổn định, tránh lắng cặn trong công nghiệp đồ hộp, gây tác dụng xốp trong nhà máy lên men, dùng để lọc trong khi chế biến rượu, làm tăng phẩm chất của bia, làm tương xốp bánh mì, làm tác nhân chống khô ở bánh ngọt, làm giấy bóng bọc kẹo, các món ăn giải khát, kem agar, chè thạch xoa, sữa ngọt...

- Trong nông nghiệp: dùng agar-agar làm môi trường chế phẩm vi sinh vật, phân vi sinh vật, làm chất ổn định trong dung dịch thuốc trừ sâu, làm môi trường chọn giống cho các loài tảo đơn bào...

- Trong kỹ nghệ: agar-agar được dùng để hồ tơ lụa, vải, sợi trong kỹ nghệ dệt. Ngoài ra agar-agar còn được dùng trong các ngành kỹ nghệ khác như dùng trong ấn loát, pha chế thuốc đánh răng, dùng trong hóa học chất dẻo, chất keo, điện hóa học, làm giấy chống ẩm, dùng trong kỹ nghệ làm phim ảnh, làm bóng giấy, làm điện cực, làm bóng đèn điện, hoặc dùng để chế hàng loạt các loại dầu mỡ bôi máy...

- Trong phòng thí nghiệm: người ta dùng agar-agar để làm chất môi giới cho những cuộc thí nghiệm về kích thích tố, chất cố định cho phẫu thức cắt mỏng, nuôi cấy vi sinh vật, nuôi cấy mô và tế bào, làm giá thể trong sắc ký và điện di...

Ngoài ra agar-agar còn dùng trong các ngành kinh tế khác nhau, hiện nay trong quá trình chiết xuất agar-agar người ta đồng thời tiến hành chiết xuất protein. Một số nhà sinh hóa Nhật Bản phân tích 36 loài Tảo Đỏ, protein có trong khoảng 6,30 - 31,35% trọng lượng khô. Ở Việt Nam protein có khoảng 17,18 - 28,40% (theo Hoàng Cường, 1980). Rau câu chỉ vàng ở Thừa Thiên - Huế là 19,89% (theo Trương Văn Lung, Trần Thanh Phong, Lê Thị Pháp, 1981) thì rõ ràng các loài agarophyte ngoài agar - agar ra, lượng protein cũng cần chú ý khai thác.

Những năm gần đây Philippin dùng Eucheuma để nuôi trồng vì lượng protein trong chúng cao hơn các loài agarophyte khác. Ở Philippin người ta vừa chiết xuất agar - agar vừa chiết xuất protein (theo Barbaroux cho biết khi ông từ Philippin đến Việt Nam). Bên cạnh đó người ta tiến hành chiết xuất phycobiline đặc biệt là phycoerythrine có nhiều trong các loài Tảo Đỏ. Ở Nhật Bản và một số nước đã dùng phycobiline để chế biến các mỹ phẩm, các chất màu thực phẩm.

6.6. Chế biến các loài agarophyte

Về chiết xuất agar - agar.

Công nghiệp sản xuất agar - agar trong những năm gần đây phát triển rất nhanh. Trên căn bản không dùng phương pháp làm đông và phơi khô mà thay thế bằng máy móc nhân tạo. Do đó sản xuất agar - agar không còn phụ thuộc vào thời tiết và phẩm chất của thành phẩm cũng được nâng lên nhiều.

Chiết xuất agar - agar là quá trình phân ly loại bỏ những thành phần khác như protein, lipid, sắc tố, cellulose, muối vô cơ và nước để thu được agar - agar thuần khiết.

Hiện nay, ở một số công xưởng người ta dùng áp lực, cho thêm các chất như bột giấy, mùn cưa v.v... để loại bỏ cellulose. Cũng có công xưởng dùng máy lọc ly tâm tiến hành phân ly ở nhiệt độ 60°C có thể thu được dung dịch keo trong. Ngoài ra, phương pháp điện phân cũng đã bắt đầu được ứng dụng trong sản xuất agar - agar. Phương pháp này rất có hiệu quả trong việc phân ly các tạp chất trong dung dịch agar - agar.

Để làm khô agar - agar, ngoài hai phương pháp quạt khí nóng và ống lăn, người ta còn dùng các phương pháp làm khô bằng tia hồng ngoại, điện cao tần, phun mù v.v...

Trong kỹ nghệ sản xuất agar - agar, việc chiết xuất agar - agar đi qua nhiều giai đoạn với hàng loạt các phương pháp khác nhau. Kojima Y., Kusakabe và Funaki (1952) đã cho ra hai quy trình:

- Quy trình tổng quát chiết xuất agar - agar từ *Gracilaria verrucosa* và *Gelidium* (sơ đồ 1).

- Quy trình tổng quát chiết rút agar-agar từ *Gracilaria verrucosa*. Quy trình này cho biết số lượng nguyên liệu sử dụng ban đầu là 100kg cùng với số lượng hóa chất sử dụng trong suốt thời gian chiết xuất đã thu được 60kg agar - agar thô chế. Dựa vào quy trình này người ta có thể ước tính được giá cả của thành phẩm agar - agar (sơ đồ ở trang sau).

* Ở Trung Quốc khả năng sản xuất agar - agar phát triển nhanh từ năm 1970. Trung Quốc đã xây dựng nhà máy sấy phun agar - agar, sản xuất theo phương pháp nhiệt giống như phương pháp sản xuất sữa bột. Ngoài phương pháp nhiệt, Trung Quốc còn sản xuất theo quy mô lớn bằng phương pháp lạnh. Nguyên liệu dùng là *Gelidium* và *Gracilaria*.

Đối với nguyên liệu *Gelidium*, Trung Quốc sản xuất agar - agar theo phương

Bảng 31. Tiêu chuẩn agar của Trung Quốc

Chỉ số	Màu sắc	Độ trong	Nước	Tro	Chất không hòa tan
Agar			%	%	trong nước %
Loại I	Trắng	Trong suốt	20	4.0	1,5
Loại II	Xám nhạt	Trong suốt	23	5.0	2.0
Loại III	Xăm tối	Đục	25	6.5	-

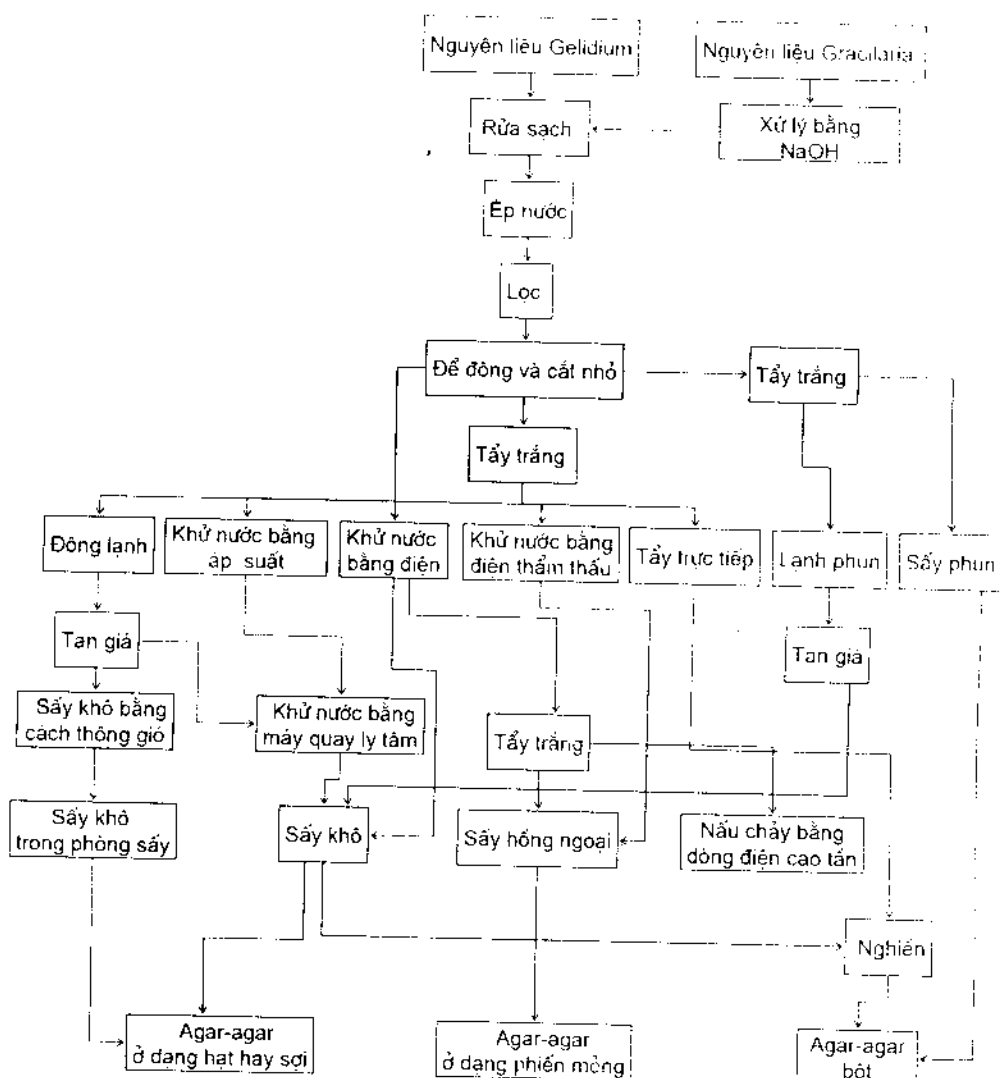
pháp lạnh. Sơ đồ quy trình kỹ thuật gồm các bước như sau:

Nguyên liệu $\rightarrow$ tẩy trắng $\rightarrow$ chà rửa $\rightarrow$ nấu lọc $\rightarrow$ để đông $\rightarrow$ cắt sợi $\rightarrow$ làm lạnh $\rightarrow$ tan giá $\rightarrow$ sấy khô $\rightarrow$ thành phẩm.

Quy trình này được tiến hành một cách đơn giản và tiêu chuẩn agar - agar của Trung Quốc (Sơ đồ 1).

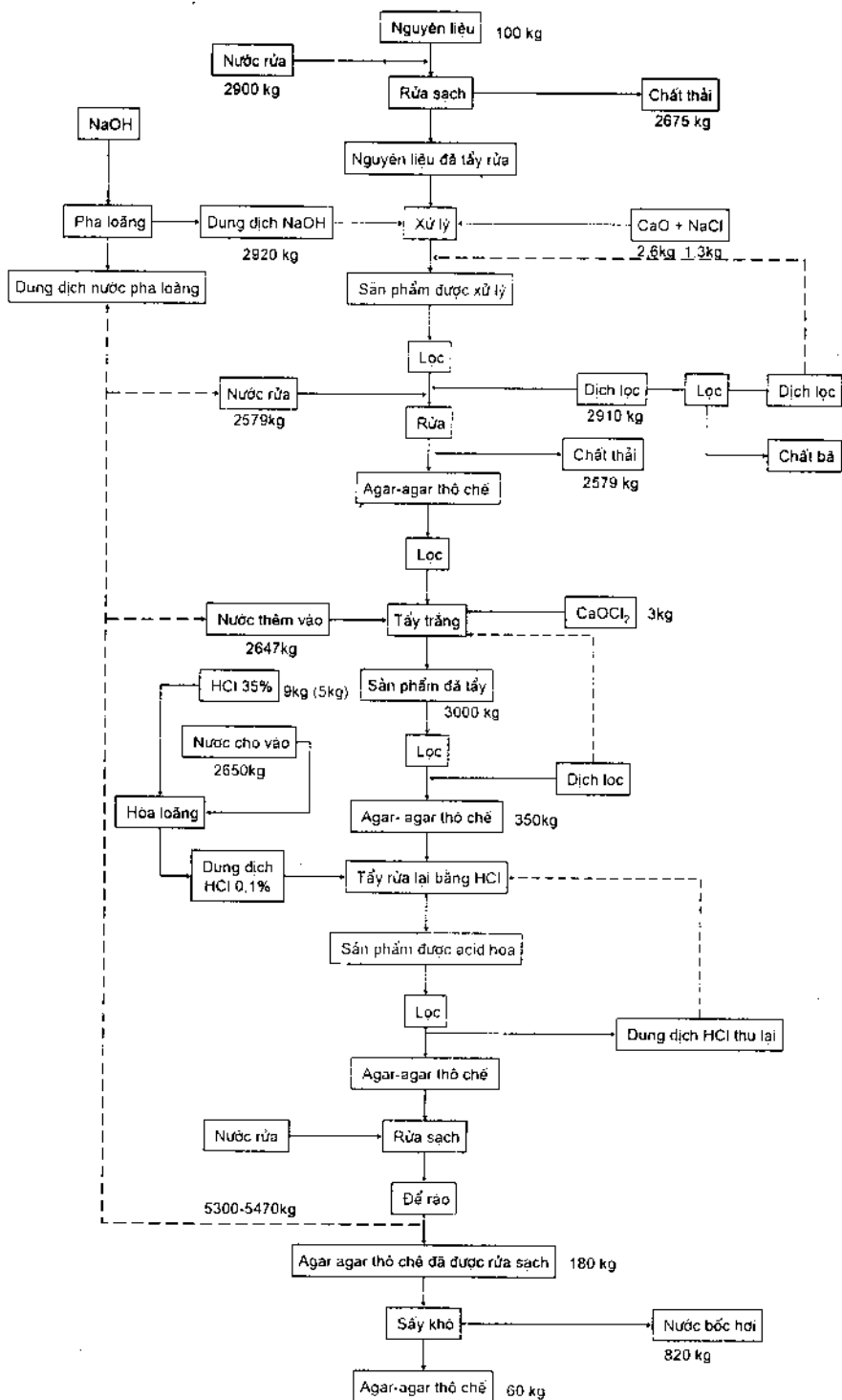
Đối với nguyên liệu *Gracilaria*: từ năm 1981, Trung Quốc cũng đã nghiên cứu sản xuất agar - agar từ Rau câu chỉ vàng (*Gracilaria verrucosa*). Qua nghiên cứu tác động ảnh hưởng của một số hóa chất (kiềm, muối) khi nấu agar - agar người ta đã đưa ra điều kiện xử lý thích hợp nhất cho dung dịch agar - agar khi nấu lên:

Sơ đồ 1. Quy trình tổng quát chiết rút agar-agar từ *Gelidium* và *Gracilaria verrucosa*



Sơ đồ 2. Quy trình cơ bản để sản xuất agar-agar thô chế từ

Gracilaria verrucosa



- Dung dịch NaOH có nồng độ là 1%
- Áp suất (kg/cm^2) là 1.3608
- Thời gian xử lý là 2h.

* Ở Liên Xô (cũ): công nghiệp sản xuất agar - agar ở Liên Xô cũ bắt đầu từ năm 1931 và phát triển rất nhanh chóng. nguyên liệu chính để sản xuất agar - agar là *Ahnfeltia*. Ngày nay dọc bờ biển từ Viễn Đông đến Hắc Hải có nhiều nhà máy sản xuất agar - agar với qui mô lớn và đều sản xuất theo phương pháp nhiệt (sấy màng) là phương pháp làm thoát nước cho agar - agar không qua giai đoạn lạnh.

Sơ đồ qui trình kỹ thuật sản xuất agar - agar bằng phương pháp nhiệt như sau:

Ngâm rửa nguyên liệu $\rightarrow$ nấu agar - agar $\rightarrow$ lọc agar $\rightarrow$ làm đông thạch $\rightarrow$ ngâm rửa thạch $\rightarrow$ cô đặc $\rightarrow$ sấy khô $\rightarrow$ đóng gói thành phẩm.

Chất lượng agar - agar sản xuất theo phương pháp sấy màng ở Liên Xô (cũ) như sau:

- * Về cảm quan: không màu hoặc có màu kem sẫm, không vị.
- * Về hóa lý:

Nước	8 - 18%
Tro	2 - 6%
Chất hữu cơ	77 - 83%
Đường	56.6 - 71,5%
Chất hòa tan trong ether	0,3%
Chất hòa tan trong nước lạnh	6 - 8%
Chất không hòa tan trong nước nóng	0,1 - 0,4%
Đạm	0,32 - 1,5%
Độ trong (qua kính thạch 10-15 cm)	trong suốt
Nhiệt độ nóng chảy	80 - 85°C
Nhiệt độ đông đặc	35 - 40°C
Sức đông	350 - 450g/cm ²

Sau này ở Liên Xô (cũ) các nhà máy sản xuất agar - agar có công suất lớn đều sản xuất theo phương pháp sấy phun là phương pháp sản xuất liên tục cơ giới, có năng suất cao, có khả năng làm thoát nước cho agar - agar không qua giai đoạn làm lạnh. Thành phẩm agar-agar ở dạng bột mịn như sữa bột.

* Nhật Bản: công nghiệp sản xuất agar - agar ở Nhật Bản xuất hiện sớm nhất thế giới, cách đây hơn 350 năm. Nguyên liệu chính dùng cho sản xuất agar-agar của Nhật Bản chủ yếu là các loài *Gelidium amansii*, *Gelidium crinale*, *Gelidium japonicum* và nguyên liệu phụ là *Gracilaria verrucosa*.

Phương pháp sản xuất agar - agar của Nhật Bản rất hoàn chỉnh với những kỹ thuật công nghệ độc đáo trong việc làm thoát nước cho agar - agar như phương pháp ép, phương pháp điện thẩm thấu, phương pháp sấy phun... và đặc biệt trong thời gian gần đây người ta ép nước cho agar - agar bằng phương pháp máy ép thủy lực, đó là phương pháp sản xuất độc đáo của Nhật Bản hiện nay.

- + Phương pháp lạnh: sơ đồ kỹ thuật gồm có các bước sau:

Ngâm rửa nguyên liệu → nấu agar → lọc agar → làm đông thạch → làm lạnh thạch → tan giá → sấy agar → đóng gói agar - agar.

+ Phương pháp điện thẩm thấu và sấy màng: đó là phương pháp thoát nước cho agar - agar bằng dòng điện. Sơ đồ kỹ thuật gồm các bước sau:

Nguyên liệu → ngâm rửa → nấu agar → lọc agar → làm đông thạch → ngâm rửa thạch → ngâm rửa → làm thoát nước (bằng dòng điện cao tần) → sấy màng → đóng gói → thành phẩm.

Phương pháp làm thoát nước cho agar - agar bằng dòng điện theo nguyên lý dung dịch agar - agar gồm có các phân tử agar - agar mang điện tích âm và các phân tử nước bao quanh agar - agar tạo thành lớp ion mang điện tích dương. Khi có dòng điện đi qua dung dịch agar - agar thì các phân tử nước sẽ bị hút về cực âm nên có tác dụng thoát nước cho agar - agar.

- Phương pháp sấy phun: là phương pháp làm thoát nước cho agar-agar dưới tác dụng của nhiệt. Các nhà máy agar - agar ở vùng Shizuoka của Nhật Bản đều sản xuất agar - agar theo phương pháp sấy phun. Sơ đồ kỹ thuật gồm các bước sau:

Nguyên liệu → ngâm rửa → nấu agar → lọc agar → tẩy màu → ngâm rửa thạch → cô đặc (chân không) → sấy phun → đóng gói → thành phẩm agar-agar bột.

Phương pháp này có nhược điểm là trong điều kiện giảm áp suất qua khâu cô đặc bằng thiết bị cô chân không thì dung dịch agar - agar dính trên thành thiết bị.

- Phương pháp ép: là phương pháp làm thoát nước cho agar - agar bằng cơ học. Trong phân tử agar - agar có chứa một lượng nước ở dạng liên kết phân tử agar-nước là 400g/cm^2 . Bằng tác động cơ học với lực $T > 400\text{g/cm}^2$ thì có đến 90% nước được thoát khỏi agar-agar.

Sản xuất bằng phương pháp ép là phương pháp rất độc đáo của Nhật Bản và có hiệu quả tốt nhất vì nó không qua giai đoạn làm thoát nước cho agar-agar bằng ướp lạnh và nhiệt độ (sấy khô, sấy phun...)

Sơ đồ kỹ thuật gồm các bước sau:

Nguyên liệu → ngâm rửa → nấu agar → lọc agar → làm đông thạch → ép nước → sấy khô → nghiền nhỏ → đóng gói → bảo quản thành phẩm.

- Phương pháp hóa học: là phương pháp rút nước cho agar - agar bằng dung môi hữu cơ như cồn, acetone. Tính chất hóa học của agar - agar là không hòa tan trong cồn và acetone, còn các thành phần khác như, protein, sắc tố, tro, đều hòa tan trong dung môi. Vì thế nước liên kết trong agar - agar và các tạp chất được thoát ra khỏi agar - agar.

Với phương pháp này, ngoài sự rút nước cho agar - agar còn có tác dụng tinh chế agar - agar bảo đảm màu sắc trắng nhạt và lượng tạp chất thấp nhất. Tuy nhiên thiết bị rút nước cho agar - agar cần phải bảo đảm hoàn toàn kín để lượng cồn không bị mất do bay hơi.

Phương pháp này tuy có ưu điểm, song vẫn còn hạn chế vì thiết bị phức tạp và lượng cồn tiêu tốn rất lớn.

• Phương pháp sản xuất agar - agar từ Rau câu chỉ vàng (*Gracilaria verrucosa*).

Từ 1949, Nhật Bản đã dùng Rau câu chỉ vàng như một nguyên liệu chính để sản xuất agar - agar. Sơ đồ qui trình gồm các bước sau:

Ngâm rửa kiểm và trung hòa → nấu agar - agar → lọc agar - agar → tẩy màu → làm đông thạch → làm lạnh agar - agar → sấy khô → nghiền nhỏ → đóng gói bảo quản thành phẩm.

Nhìn chung các phương pháp sản xuất agar - agar trên thế giới không ngừng được cải tiến và ngày càng hoàn chỉnh. Những tiến bộ kỹ thuật mới về quá trình làm thoát nước cho agar - agar bằng máy ép thủy lực và làm khô agar - agar với thiết bị sấy chân không, sấy phun, sấy hồng ngoại cũng được nghiên cứu áp dụng ở một số nước như Nhật Bản, Liên Xô (cũ), Trung Quốc...

Trong công nghiệp sản xuất agar - agar hiện đại của thế giới, tuy có nhiều phương pháp sản xuất khác nhau nhưng phổ biến nhất là phương pháp lạnh nhân tạo với hiệu quả thoát nước rất tốt và có tác dụng tinh chế, loại bỏ các tạp chất cho agar - agar trong quá trình tan giá, nên phương pháp lạnh vẫn có ưu điểm hơn so với các phương pháp khác. Vì thế ngày nay phương pháp này vẫn được áp dụng ở nhiều nước trên thế giới.

* Ở Việt Nam: từ trước đến nay nhân dân ta có truyền thống nấu thạch xoa: "thạch xoa một vốn bốn lời" ở qui mô nhỏ trong gia đình để dùng trong thực phẩm và giải khát.

Từ 1963, sau khi nghiên cứu đặc điểm sinh học của Rau câu thì việc nghiên cứu chiết xuất agar - agar cũng được hình thành ở viện Nghiên cứu biển Hải Phòng, trường Đại học Thủy sản, trạm Nghiên cứu Thủy sản nước lợ Hải Phòng. Qua những năm phối hợp nghiên cứu với giáo sư W. Brucker (CHDC Đức) và chúng ta thấy rằng nguồn nguyên liệu ở nước ta để sản xuất agar-agar phong phú nhưng có 2 loài chính để sử dụng là Rong xoa *Gelidiella acerosa* và Rau câu chỉ vàng *Gracilaria tenuistipitata*. Rong xoa (có người gọi là Rau câu rế tre) có chất lượng agar - agar cao song sản lượng lại không nhiều, trong khi đó Rau câu chỉ vàng có sản lượng lớn có khả năng phát triển trồng và cải tạo giống để có chất lượng cao. Tập trung nghiên cứu đối tượng Rau câu chỉ vàng phòng thí nghiệm Rong biển và nhóm chuyên gia CHDC Đức tại viện Nghiên cứu Nuôi trồng Hải sản Hải Phòng để ra qui trình chiết rút agar - agar như sau:

Nguyên liệu khô → trương nước → để ráo → xử lý kiềm → hấp trong nồi áp suất → rửa sạch → để ráo → xử lý acid → rửa sạch → để ráo → chiết rút agar-agar bằng nồi áp suất → lọc hút chân không → dịch lọc → vào khuôn để đông → đông lạnh → tách agar - agar → sấy khô → thành phẩm agar - agar.

• Rau câu khô được trương phồng bằng cách cho vào nước ngâm trong vòng 30 phút. Làm ráo.

• Xử lý kiềm: nguyên liệu được xử lý trong môi trường kiềm 3%. Cho vào nồi áp suất ở nhiệt độ 100°C trong thời gian 30 phút nhằm loại bỏ các tạp chất như protein, sắc tố, nhất là để khử gốc sulfate ra khỏi phân tử agar - agar, làm tăng sức đông. Sau đó rửa bằng nước máy 5 lần và để ráo nước 10 phút. Sau khi xử lý kiềm, Rau câu có màu lục nhạt, trong và mềm.

- Xử lý acid: nguyên liệu được trung hòa bằng acid citric 0,3% trong 20 phút nhằm phá vỡ màng bên ngoài của Rau câu. Sau đó rửa sạch bằng nước ngọt 5 lần và để ráo 10 phút. Sau khi xử lý acid, Rau câu có màu trắng và trong hơn.

- Chiết rút agar - agar: bằng thiết bị nấu dưới áp suất cao trong 40 phút với chất tẩy màu là polyphosphate.

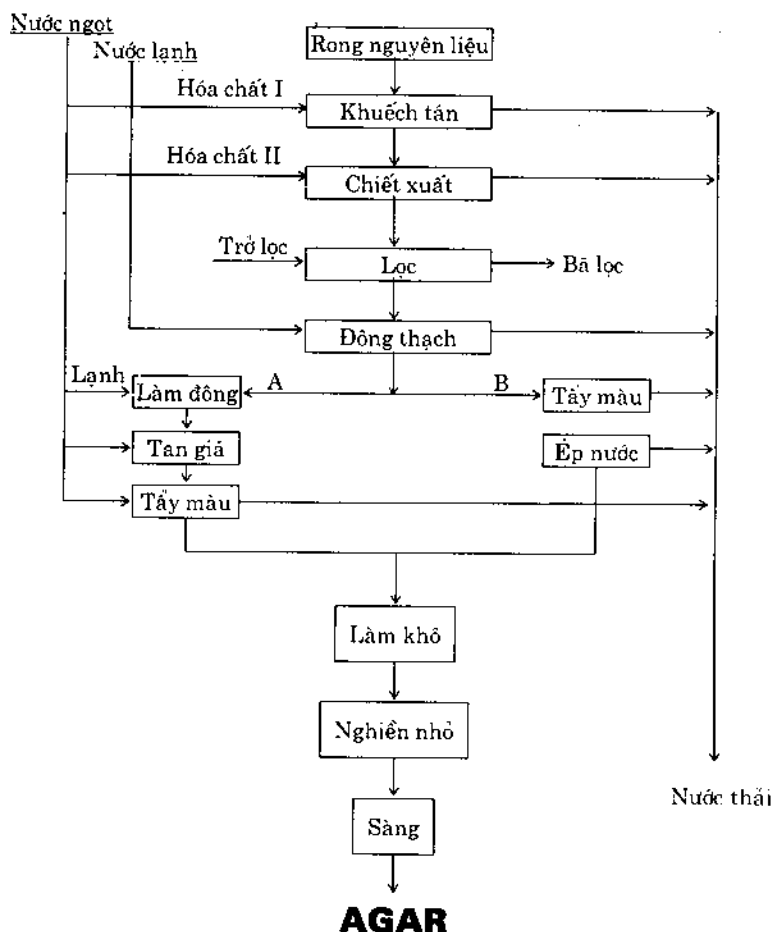
- Lọc hút chân không: dịch agar - agar được lọc lúc nóng ở nhiệt độ trên 70°C bằng lọc hút chân không. Giai đoạn này cần lọc nhanh để agar không bị đông lại trong bể.

- Để đông agar - agar: dịch lọc agar - agar cho vào khuôn và để đông tự nhiên.

- Đông lạnh: khuôn agar - agar cho vào tủ lạnh cho đến khi đông băng. thường sau 24 giờ. Độ đông băng càng cao sẽ cho agar - agar càng xốp.

- Tách agar - agar: khuôn agar-agar sau khi đông lạnh được làm tan lớp nước đá ở trên và bên trong agar - agar để tách riêng lớp agar - agar. Sau đó agar - agar được làm ráo nước trên giấy thấm.

- Sấy khô: làm khô agar - agar dưới ánh nắng mặt trời, sau đó cho vào sấy ở



nhệt độ 60°C cho đến khi trọng lượng khô không đổi.

Trong thực tế đã thấy rằng nguyên liệu ban đầu đóng vai trò quan trọng không những trong thu hoạch đúng giai đoạn sinh trưởng, trong bảo quản mà ngay cả trong sơ chế nguyên liệu. Đã hoàn chỉnh phương pháp sơ chế bằng tách rửa và phơi 2 lần (thành qui trình xử lý cấp xí nghiệp)

Năm 1988 trong hội thảo Rong câu lần thì I tại Đà Nẵng, Hà Ký viết báo cáo chung (báo cáo tổng kết của về Quản lý KHKT thuộc bộ Hải sản) đã đưa ra qui trình chiết rút agar - agar cho mọi nguyên liệu (tất nhiên có sự khác nhau về các chế độ công nghệ, loại và liều lượng hóa chất cụ thể, phụ thuộc vào loại tảo nguyên liệu và mục tiêu công nghệ của sản phẩm agar - agar). Cái khác nhau cơ bản trong các dây chuyền công nghệ cho đến nay chỉ là phương pháp tách nước, làm khô. Hà Ký đã đưa ra sơ đồ sau:

Ghi chú: Hóa chất I - chủ yếu là kiềm để thủy phân các gốc sulfate

Hóa chất II - chủ yếu là các acid để điều chỉnh môi trường chiết xuất.

Chúng ta đều biết, trong quá trình chiết xuất agar - agar, sử dụng hóa chất gì, nồng độ bao nhiêu thời gian tác động dài hay ngắn dưới điều kiện nhiệt độ và áp suất nào, pH bao nhiêu... có ảnh hưởng lớn đến chất lượng agar - agar. Thí dụ trong một loại Rau câu nếu chiết xuất agar ở pH: 7,3 thì nhận được agar - agar hàm lượng là 16%. Nếu môi trường có thêm 1% acid citric thì hàm lượng đạt 38%, còn sức đông thì giảm đi rõ rệt. Nếu khi xử lý kiềm thì sức đông tăng lên mà hàm lượng agar - agar lại ít đi. Khi xử lý kiềm, nếu dùng NaOH thì agar - agar có sức đông cao hơn khi dùng KOH. Còn nồng độ của chúng là bao nhiêu, chất tẩy trắng gì ở nồng độ nào vào khâu đoạn nào trong quá trình chiết xuất thì cho agar-agar có màu sắc đẹp mà không bị ảnh hưởng đến chất lượng, hợp với thị hiếu của người tiêu dùng.

Năm 1985, Trương Văn Lung, Nguyễn Xuân Thư, Hoàng Quang, Võ Thị Mai Hương, Trần Thanh Phong, Nguyễn Từ đã công bố công trình của mình trong "Nghiên cứu qui trình sản xuất agar - agar ở qui mô công nghiệp" đã viết: "Sau khi nghiên cứu thành công qui trình chiết rút agar - agar trong Rau câu chỉ vàng tỉnh Thừa Thiên - Huế ở phòng thí nghiệm đã nghiên cứu thành công qui trình sản xuất agar - agar ở qui mô công nghiệp".

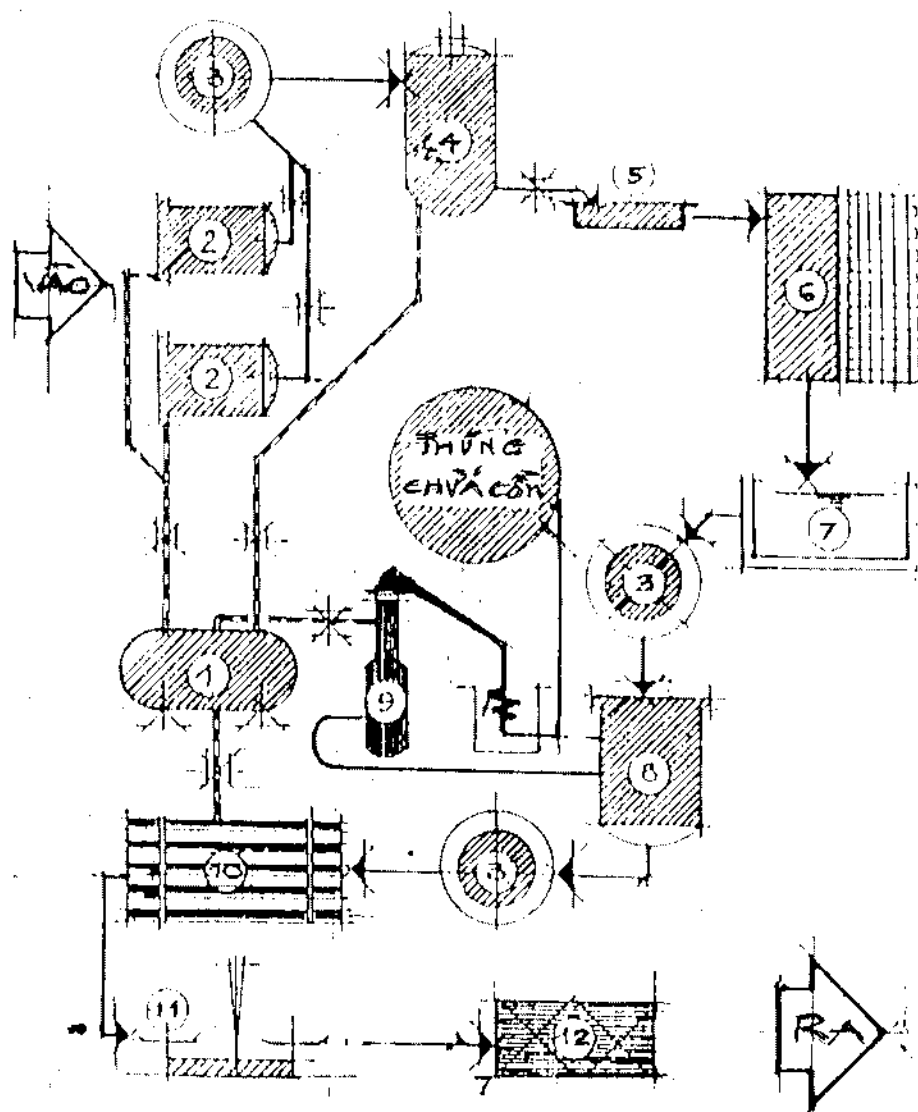
Sản phẩm thu được có hàm lượng tương đối cao (18,5 - 19,8%) sức đông khá (240 - 243g/cm² so với agar - agar của Nhật Bản có sức đông 252g/cm²) màu tương đối trắng và trong ở dạng sợi. Kết quả này các tác giả đã cải tiến trong nhiều khâu của qui trình chiết rút agar - agar của Nhật Bản, Australia, Liên Xô, CHDC Đức. Trong qui trình này tẩy rửa lần I đã dùng NaOH và nhiệt độ thích hợp, tẩy rửa lần II đã cho thêm một số hóa chất tẩy trắng với các nồng độ thích hợp: xử lý bằng acid vô cơ thay cho acid citric, giai đoạn chiết rút cần độ pH nhất định thích hợp cho loại Rau câu chỉ vàng trồng ở khu vực Thừa Thiên - Huế.

Sơ đồ chiết xuất agar - agar ở Thừa Thiên - Huế đã nêu lên dây chuyền sản xuất agar - agar ở qui mô công nghiệp mà chúng tôi đã thực hiện ở dạng pilotte từ năm 1986 (để kỷ niệm 10 năm thành lập trường Đại học Tổng hợp Huế).

Sơ đồ nguyên lý sản xuất agar - agar được trình bày ở hình 19.

Chú thích:

Nồi hơi lượng nhiệt cần cung cấp: 70 - 80kg hơi/h. Có hệ thống ống và phụ tùng an toàn kèm theo.



Hình 19. Sơ đồ chiết xuất agar - agar ở Thừa Thiên - Huế
của trường Đại học Khoa học Huế

Nồi nấu: hai lớp bằng inox chịu lực 2,5atm., giữ nhiệt tốt, thể tích bên trong 1m^3 , dưới có lưới inox để lọc sơ bộ.

Ly tâm $\Phi 700$, h 400, vòng quay từ 1000 - 1500 vòng/phút.

Nồi cô chân không: hai lớp giữ nhiệt bằng inox. Bơm chân không 1 ngựa. Thể tích 1m^3 .

Khay: $30\text{cm} \times 40\text{cm} \times 1,5\text{cm}$ bằng inox hoặc tôn hoa.

Lạnh khô: nhiệt độ -25°C đến -35°C , trong lồng rộng 2m, cao 2m, dài 4m.

Bể nước xây bằng xi măng có lót gạch men trắng: số lượng: 3 cái. Chiều rộng 1m, dài 2m, cao 80cm.

Thùng cồn: $\Phi 80\text{cm} \times 50\text{cm}$, bằng tôn hoa hay nhôm. Số lượng: 2 cái.

Tháp cồn: khoảng 100lít/ngày (phối hợp với nơi sản xuất cồn).

Giàn sấy: cao $1,6\text{m} \times 2\text{m} \times 2\text{m}$. Nhiệt độ: $40^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$. Có quạt hút.

Cân.

Đóng gói.

Ngoài ra ở nhiều nước, nhất là các nước như Thái Lan, Việt Nam, Trung Quốc... rất nhiều cơ sở sản xuất agar thủ công hoặc các gia đình cũng tổ chức sản xuất agar với qui mô nhỏ để phục vụ nhu cầu tại chỗ của địa phương hoặc tiêu dùng trong nước. Một số công đoạn trong quá trình sản xuất agar của một xưởng thủ công ở Trung Quốc, về nguyên tắc các bước tiến hành tương tự như nhau nhưng có nhiều cải tiến (chủ yếu là theo kinh nghiệm) để phù hợp với điều kiện, nguyên liệu và thị hiếu của người tiêu dùng địa phương.

RONG SỤN (*KAPPAPHYCUS* *ALVAREZII DOLY*)

7.1. Vùng phân bố

Rong Sụn *Kappaphycus alvarezii* là loài rong không phân bố ở Việt Nam mà chỉ sống ở các nước Philippin, Indonesia, Tanzania, Nhật Bản là nguyên liệu rong chính cho công nghiệp sản xuất carrageenan trên thế giới. Nó là loài rong nhiệt đới đã và đang dùng để trồng với quy mô lớn ở vùng biển một số nước nhiệt đới đặc biệt là Philippin (từ năm 1969 - 1970), Indonesia (từ năm 1985), Tanzania, (từ năm 1989).

Là loài rong không phân bố ở Việt Nam nên phòng Vật liệu Hữu cơ từ Tài nguyên biển thuộc phân viện Khoa học Vật liệu Nha Trang hợp tác với viện Sinh học biển trường Đại học Kochi Nhật Bản tiến hành di giống, nghiên cứu và trồng nó vào vùng biển miền Trung Việt Nam từ tháng III năm 1993. Giống Rong Sụn này có nguồn gốc từ Philippin ở dạng sinh sản sinh dưỡng (vegetative reproduction). Việc nhân giống ban đầu được tiến hành tại vùng biển Cửa Bé (Nha Trang) bằng phương pháp trồng dàn nổi (floating raft) cách mặt nước 0,5 - 0,8m. Đây là vùng biển hỏ, độ sâu lớn ($\geq 3\text{m}$), đáy đơn cứng trên đáy (fixed of bottom monoline) ở các bãi ngang ven biển, đầm phá, vùng vịnh, ao địa có đê cống (địa nuôi tôm, đầm chứa nước làm muối).

7.2. Đặc điểm sinh lý sinh hóa của Rong Sụn.

7.2.1. Nhu cầu dinh dưỡng của Rong Sụn

Sau đây là số liệu nghiên cứu của Huỳnh Quang Năng và Nguyễn Hữu Đình, (1998) đã công bố năm.

Khả năng hấp thụ N đối với Rong Sụn khá cao (57,8% lượng N) trong điều kiện nhiệt độ 32 - 34°C, cường độ ánh sáng cao ($>12.000\text{ lux}$). Đối với P, nhu cầu của Rong Sụn luôn luôn cao (hấp thụ 85,3% và 89,2% lượng P) ở các điều kiện nhiệt độ và ánh sáng khác nhau. Trong điều kiện của mùa nắng nóng, nhất là ở các thủy vực trao đổi của nước hạn chế, việc tăng cường hấp thụ N, P (với nồng

Bảng 32. Nhu cầu dinh dưỡng của Rong Sụn *Kappaphycus alvarezii* ở các điều kiện môi trường khác nhau (thực nghiệm trong bể nuôi)

Công thức thí nghiệm	$\mu\text{g/l N}$ (có trong NO_3^-)			$\mu\text{g/l P}$ (có trong PO_4^{3-})			Tốc độ tăng trưởng (%ngày)
	Hàm lượng		Tỷ lệ tiếpthu (%)	Hàm lượng		Tỷ lệ tiếpthu (%)	
	đầu	cuối		đầu	cuối		
Nhiệt độ nước: 28-29°C Ánh sáng: 12000 lux Độ muối: 34‰							
Không bón phân	3,17	0,34	89,2	1,06	0,06	94,43	1,09
Bón phân ($\text{NO}_3 + \text{PO}_4$)	159,70	117,10	21,4	21,40	0,47	85,30	1,44
Nhiệt độ nước: 33-34°C Ánh sáng: >12000 lux Độ muối: 34‰							
Không bón phân	3,15	0,16	95,0	1,00	0,05	95,9	1,19
Bón phân ($\text{NO}_3 + \text{PO}_4$)	159,7	67,26	57,8	3,25	0,35	89,2	1,58

Bảng 33. Tốc độ tăng trọng (%/ ngày) của Rong Sụn *Kappaphycus alvarezii* trong điều kiện độ mặn thấp khi thực nghiệm trong bể nuôi.

Điều kiện môi trường	Bón phân $\text{NO}_3 + \text{PO}_4$ (2,5mgN/l + 0,1mgP/l)	Không bón phân
Nhiệt độ nước: 33-34°C		
Ánh sáng: >1200 lux.	1,40	0,75
Độ muối: 20‰		
Nhiệt độ nước: 33-34°C		
Ánh sáng: >1200 lux.	1,02	0,60
Độ muối: 15‰		

độ 1,4mg/l N và 0,1mg/l P) sẽ tạo điều kiện thuận lợi cho việc phát triển Rong Sụn.

7.2.2. Khả năng phát triển của Rong Sụn trong điều kiện độ mặn thấp.

Trong điều kiện môi trường có độ mặn thấp (15 -20‰) thường xảy ra trong các thủy vực ven triều miền Trung và miền Nam Việt Nam vào mùa mưa. Nếu trong môi trường có hàm lượng chất dinh dưỡng cao hoặc có bón các chất dinh dưỡng N, P sẽ tạo điều kiện cho Rong Sụn tồn tại và sinh trưởng, nếu không chúng sẽ bị chết trong thời gian 7 - 10 ngày ở nồng độ muối thấp.

7.2.3. Hàm lượng và chất lượng của kapp - carrageenan trong Rong Sụn.

Hàm lượng và chất lượng của kapp - carrageenan trong Rong Sụn theo thời gian trồng ở vùng biển hồ Nha Trang bằng dần nổi được xác định ở bảng 34.

Bảng 34. Hàm lượng và chất lượng của kapp-carageenan trong Rong Sụn *Kappaphycus alvarezii* theo thời gian trồng

Thời gian	Hàm lượng (%P khô)	Độ nhớt (cps)	Súc đông (g/cm ²) Dung dịch carragenan	
			với nước	với 0,2% KCl
Tháng IX/1995				
Sau 1 tháng trồng	29,6	213,2	1350	> 2000
Sau 2 tháng trồng	32,0	611,3	1450	> 2000
Sau 3 tháng trồng	31,1	674,8	1470	> 2000
Tháng III/1996				
Sau 1 tháng trồng	42,0	224,8	1150	1650
Sau 2 tháng trồng	40,0	761,4	1350	1550
Tháng IV/1996	34,0	268,2	1420	1750

Bảng 35. Tốc độ tăng trọng của Rong Sụn *Kappaphycus alvarezii* qua các mùa (trồng bằng dàn nổi, cách mặt nước 0,5-0,6 m ở vùng biển hở

Tháng	Điều kiện môi trường				Tốc độ tăng trọng (%/ ngày)	
	Nhiệt độ nước (°C)		Ánh sáng (10 ³ lux)			Độ muối (‰)
	Sáng	Chiều	Sáng	Chiều		
8	30,5	32,0	50,0	60,0	33	3,78
9	29,1	31,4	25,0	50,0	33	4,00
10	25,0	26,5	30,0	60,0	31	5,13
11	24,4	25,6	11,4	12,8	32	5,19

7.3. Thời vụ trồng Rong Sụn ở khu vực miền Trung Việt Nam.

7.3.1. Trồng Rong Sụn bằng dàn bè nổi ở vùng biển hở, độ sâu lớn (> 3m), vùng vịnh, ven bờ, các đảo.

Bảng 35, 36 cho thấy trong mùa nắng nóng từ tháng IV đến tháng IX, nhiệt độ cao (31 - 33°C) và cường độ ánh sáng cao (>50.000 lux) tốc độ tăng trọng của Rong Sụn đạt bình quân 3 - 4%/ ngày.

Vào các tháng nắng nóng (tháng IV đến tháng IX), dàn đặt sâu, cách mặt nước 0,8m, tốc độ tăng trọng của Rong Sụn được cải thiện, còn trong mùa mát mẻ (tháng X đến tháng III) dàn đặt gần mặt nước (cách mặt nước là 0,2m) tốc độ tăng trọng của Rong Sụn sẽ cao.

Thực tế cho thấy tốc độ tăng trọng và sản lượng của Rong Sụn trồng ở vùng biển miền Trung Việt Nam có hai mùa khá rõ. Trong mùa nắng nóng (tháng IV đến tháng IX), tốc độ tăng trọng thấp hơn, bình quân 3 - 4%/ ngày, thời gian trồng kéo dài hơn. Bình quân sau 3 tháng trồng có thể thu hoạch. Trong mùa mát mẻ, (tháng X đến tháng III năm sau), tốc độ tăng trọng đạt bình quân 5 - 6%/ ngày, thời gian trồng ngắn hơn (sau 2 tháng trồng có thể thu hoạch một lần). Trong mùa nắng nóng, dàn trồng cách mặt nước 0,6 - 0,8m, trong mùa mát, 0,2 - 0,4m là thích hợp cho Rong Sụn phát triển.

Bảng 36. Tốc độ tăng trọng của Rong Sụn *Kappaphycus alvarezii* trồng ở các độ sâu (m) cách mặt nước khác nhau qua các tháng

Tháng	Độ sâu trồng (m)	Điều kiện môi trường						Tốc độ tăng trọng (%/ ngày)
		Nhiệt độ nước (°C)		Ánh sáng (10 ³ lux)		Độ muối	pH	
		Sáng	Chiều	Sáng	Chiều			
I/1996	0,2	25,7	26,9	32,9	32,7	34	7,6	5,05
	0.8	25,9	26,7	30,2	29,1			3,93
II/1996	0,2	24,0	24,5	21,5	22,8	34	7,6	6,65
	0.8	24,1	24,6	18,5	20,4			4,80
IV/ -	0,2	26,4	27,8	46,0	49,2	35	8,0	3,00
	0.8	26,0	27,5	38,5	42,8			2,60
VI/ -	0,2	27,5	31,5	53,7	34,5	34	7,9	2,10
	0.8	27,2	30,8	27,7	14,5			3,13
VIII/ -	0,2	26,8	30,5	55,8	53,6	35	8,0	1,22
	0.8	26,7	30,4	20,8	18,4			2,90
X/ 1996	0,2	27,3	28,5	42,0	35,0	30	8,0	5,90
	0.8	17,9	29,0	35,0	27,0			4,10

Bảng 37. Tốc độ tăng trọng của Rong Sụn *Kappaphycus alvarezii* trồng trong ao địa qua các tháng

Tháng	Điều kiện môi trường						Tốc độ tăng trọng (%/ ngày)
	Nhiệt độ nước(°C)		Ánh sáng (10 ³ lux)		Độ muối (‰)	pH	
	Sáng	Chiều	Sáng	Chiều			
II/1996	24,8	25,5	44,0	50,0	26	7,2	6,1
III/1996	29,8	31,5	40,0	47,0	31	7,6	4,5
V/1996	29,8	33,5	46,0	53,5	32	6,7	3,7
VI/ 1996	29,4	32,6	40,0	36,0	29	6,5	3,3
IX/1996	30,4	32,0	40,0	52,0	34	8,1	2,5
X/1996	28,0	29,0	30,0	35,0	30	8,0	5,2

Những khó khăn trong việc trồng Rong Sụn ở loại thủy vực này là tốn kém về vật tư, lao động trồng và thu hoạch vất vả, sóng gió mạnh nhất là mùa gió Bắc làm hư hại hệ thống trồng và gây rong, ảnh hưởng đến sản lượng.

7.3.2. Trồng Rong Sụn trong ao địa.

Kiểu trồng này cho đến nay vẫn chưa được đề cập đến ở các nước khác. Mặc dầu vậy các nhà khoa học ở Việt Nam cũng tiến hành nghiên cứu thử nghiệm, hy vọng có thể nuôi trồng ở vùng ao đầm rộng lớn ở khu vực miền Trung Việt Nam.

Qua kết quả ở bảng 37 cho thấy, trong các tháng của mùa nắng nóng (tháng IV đến tháng IX) với nhiệt độ nước cao (33 - 35°C), cường độ ánh sáng lớn 40 - 50.000 lux, cùng với nước trong ao địa trao đổi không thường xuyên (vào kỳ nước thủy triều thấp), tốc độ tăng trọng của Rong Sụn thấp (2,5 - 3.7%/ngày). Trong điều kiện như vậy, cần thiết tăng cường các muối dinh dưỡng bằng phân

Bảng 38. Tốc độ tăng trọng của Rong Sụn *Kappaphycus alvarezii* trồng trong vịnh kín Sơn Hải

Tháng	Điều kiện môi trường				Độ muối (%)	Tốc độ tăng trọng (%/ngày)
	Nhiệt độ nước(°C)		Ánh sáng (10 ³ lux)			
	Sáng	Chiều	Sáng	Chiều		
V/1996	26,5	31,8	35	25	34	6,10
VI/1996	29,0	34,0	65	63	34	4,38
VII/1996	28,5	32,8	45	52	34	3,16
VIII/ 96	28,9	31,0	43	50	35	5,40
IX/1996	26,7	28,4	10	20	25	5,71
X/1996	27,0	28,5	50	60	30	6,50

bón như đã nêu ở phần trên, sản lượng sẽ tăng lên đáng kể. Như vậy, trồng Rong Sụn trong các ao đĩa nhân tạo (kiểu ao đĩa nuôi tôm) là có thể thực thi, mặc dù sản lượng không cao bằng ở các thủy vực tự nhiên, nhưng ngược lại ít tốn kém vật tư, lao động đơn giản và dễ dàng tránh được cá ăn. Hơn nữa, chúng ta còn tận dụng có hiệu quả trong việc trồng chuyên canh hay luân canh với nuôi tôm ở ao đĩa hiện có. Ở đây chưa đề cập đến việc Rong Sụn có thể có khả năng làm sạch môi trường nước nuôi tôm khi thức ăn của tôm bị dư thừa.

7.3.3. Trồng Rong Sụn ở các bãi ngang vùng triều ven biển và các vịnh, đầm phá kín, nửa kín có độ sâu thấp

Kết quả khảo nghiệm trồng Rong Sụn bằng hình thức dây đơn căng trên dáy ở các thủy vực này được trình bày ở bảng 38. Trong các tháng có có nhiệt độ < 30°C (từ tháng X đến tháng III năm sau), tốc độ tăng trọng của Rong Sụn khá cao ($\geq 6\%/ngày$). Trong các tháng mùa nắng nóng, tốc độ tăng trưởng thấp hơn (3,0 - 5,7%/ngày). Loại thủy vực này khá phổ biến ven biển miền Trung, kinh phí đầu tư ít, dễ thực hiện, sản lượng ổn định.

Từ những kết quả nghiên cứu trên cho ta nhận xét rằng, điều kiện tự nhiên ven biển miền Trung và miền Nam Việt Nam phù hợp cho sự phát triển trồng Rong Sụn. Về tốc độ tăng trọng và sản lượng của Rong Sụn có hai mùa tương ứng với mùa khí hậu của vùng: mùa nắng nóng (tháng IV đến tháng IX), tốc độ tăng trọng thấp (bình quân 3 - 4%/ ngày), thời gian trồng dài hơn (thu hoạch sau 3 tháng trồng); mùa mát (tháng X đến tháng III năm sau), tốc độ tăng trọng cao (bình quân 6%/ngày), thời gian trồng ngắn hơn (thu hoạch sau hai tháng trồng).

Có thể trồng Rong Sụn bằng hình thức dàn bè nổi (floating raft) ở các vùng biển hở ven bờ và các đầm có độ sâu lớn ($\geq 3m$), bằng dây đơn căng trên dáy (fixed bottom monoline) ở các vùng bãi ngang ven biển, các vịnh, đầm phá có độ sâu thấp, trong các ao đĩa nhân tạo ven biển, vùng chứa nước trong các đồng muối. Trồng chuyên quanh năm, theo mùa thích hợp, luân canh hay xen canh với các đối tượng thủy sản khác. Việc trồng Rong Sụn có sản lượng cao và ổn định phụ thuộc vào việc lựa chọn vùng trồng (ít chịu trực tiếp của sóng gió mạnh - kín gió, ít chịu trực tiếp của nguồn nước ngọt vào mùa mưa, nước trao

đối tốt) cũng như chọn hay tạo điều kiện môi trường sinh thái thích hợp cho Rong Sụn. Rong Sụn cần nhiệt độ: $25 - 30^{\circ}\text{C}$, cường độ ánh sáng $< 50.000 \text{ lux}$, độ mặn $25 - 33\text{‰}$, môi trường nước giàu dinh dưỡng đặc biệt là N và P, nhất là trong điều kiện nhiệt độ cao, ánh sáng cao nước ít lưu thông cần tăng cường chế độ dinh dưỡng để tăng tính chịu đựng trong điều kiện bất lợi của môi trường đó.

Vùng biển và ven biển nam Trung Bộ và Nam Bộ, đặc biệt là vùng Phú Yên, Khánh Hòa, Ninh Thuận, Bình Thuận, Bà Rịa-Vũng Tàu, Kiên Giang, có khả năng phát triển trồng Rong Rụn trên quy mô lớn.

Thực tế một số tỉnh miền Trung, ví dụ như ở đầm Sơn Hải, Ninh Thuận, từ tháng X năm 1993 đã có 15 hộ gia đình trồng 5kg giống Rong Sụn trên diện tích 0,6ha. Kết quả đã thu 15 tấn rong giống. Năm 1995 tại đầm Sơn Hải đã có 100 hộ gia đình trồng 10ha Rong Sụn.

Ngô Xuân Chế (1996) đã viết trong Thông tin khoa học và Công nghệ Thủy sản (số 9/1996, 16 - 17) rằng Rong Sụn có thể trồng theo 3 cách:

- Dùng cọc căng dây rong giống cắt thành đoạn ngắn bó thành búi nhỏ 100g/búi. Các búi giống buộc vào dây căng, mỗi búi cách nhau 30 - 35cm, dây căng cách nhau 0,3 - 0,5m.

- Tạo ra khung căng dây, khung nổi cách mặt nước 0,4 - 0,5m bằng hệ thống phao. Ở 4 góc có neo để cố định khung.

- Cấy trực tiếp rong xuống nền đáy ở những đầm ao nuôi tôm sau khi đã thu hoạch. Có cống để lưu thông nước. Ao sâu khoảng 0,8 - 1m. Trước khi cấy rong, ao phải được xử lý và bón lót phân vô cơ. Rong giống bó thành bó, mỗi bó 100g rải đều đáy ao. Thường xuyên xử lý rong tạp để hạn chế sự cạnh tranh của rong tạp. Kiểm tra búi rong. Thả 5 đến 8 tấn rong giống/ha thì thu hoạch được từ 15 đến 20 tấn rong khô.

Trên đây là một số loài tảo được giới thiệu trong nhiều loài có ích đang được nuôi trồng trên thế giới và có nhiều triển vọng để nuôi trồng ở Việt Nam.

TRIỂN VỌNG CỦA CÔNG NGHỆ SINH HỌC TẢO

Ngành công nghệ sinh học nói chung và công nghệ sinh học tảo nói riêng, đã và đang có những đóng góp ngày càng to lớn trong sự nghiệp phát triển nền kinh tế thế giới để phục vụ cho đời sống của con người ngày càng cao.

Công nghệ sinh học tảo bao gồm các loài tảo nhỏ (vi tảo) và tảo lớn đã được ứng dụng rộng rãi trong nhiều lĩnh vực khác nhau. Nhiều nước trên thế giới đang sử dụng để sản xuất thức ăn cho người và động vật, bởi vì chúng có nhiều chất dinh dưỡng quý giá và có nhiều hợp chất có hoạt tính sinh học cao.

Tảo dùng làm nguồn nguyên liệu cho công nghiệp hóa học, trong lĩnh vực xử lý môi trường ô nhiễm, xử lý hóa học, làm sạch sản phẩm. Tảo dùng tạo nguồn năng lượng, dùng để chiết xuất các dược chất, mỹ phẩm, góp phần bảo vệ sức khỏe cộng đồng, đấu tranh chống các bệnh của cây trồng và vật nuôi. Tảo tham gia vào việc khai thác khoáng sản ở đất liền và biển, đặc biệt là các loài vi tảo. Các loài Tảo Lam có khả năng cố định N trong không khí đóng vai trò quan trọng trong việc làm thay đổi độ phì cho đất một cách tự nhiên, nhất là ở ruộng lúa, làm tăng sản lượng cây trồng.

Tảo chiếm khoảng 1/3 sinh khối thực vật trên trái đất. Nhiều loài tảo hiện nay đang được nuôi trồng đại trà ở nhiều nước trên thế giới như: *Chlorella* (Nhật Bản, Bulgarie), *Scenedesmus obliquus* (Tiệp Khắc, Bulgarie, Ấn Độ), *Chlorella*, *Scenedesmus*, *Micractinium* (Đức), *Spirulina platensis* (Pháp, Mexico, Israel, Việt Nam, Thailand, Nhật Bản, Ấn Độ), *Dunaliella salina* (Australia). Các loài agarophyte và các loài chứa carrageenan (Nhật Bản, Philippin, Indonesia, Ấn Độ, Đài Loan, Trung Quốc, Thái Lan, Việt Nam, Singapore, Srilanka, Myanmar, Pakistan, Maroc, Madagascar, Italia, Pháp, Canada, Mỹ, Chilê, Argentina, Pérou, Brazil).

Trữ lượng tảo khô trên thế giới đạt tới hàng chục ngàn tấn/năm. Vì vậy trên thế giới có nhiều đề án lớn tiến hành sản xuất tảo. Các nước châu Âu ứng dụng đầu tiên thành công các mô hình hệ Shetlik trong sản xuất các loài tảo *Chlorella*, *Scenedesmus*, *Spirulina* và đã nuôi trồng đại trà trong hơn 20 năm nay. Tốc độ phát triển và hoàn thiện các quy trình nuôi trồng tảo khá nhanh là tiền đề và cũng là kết quả của các nghiên cứu ứng dụng sinh khối tảo trong thực tiễn.

Bên cạnh việc nuôi trồng, việc điều tra cơ bản nguồn lợi tự nhiên để thu hoạch các loài tảo cũng đóng góp phần đáng kể, đặc biệt là các nước có bờ biển dài và có nhiều hồ chứa. Đối với các nước đang phát triển công nghệ sinh học nói chung và công nghệ sinh học tảo nói riêng đã tạo ra một số lợi ích trong một số lĩnh vực công nghệ nhất định và những lợi ích đặc hiệu khác có liên quan đến tình hình và nhu cầu riêng của họ (theo Trung tâm Khoa học và Công nghệ và Phát triển của Liên hợp quốc, 1984).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Hoàng Cường, Lâm Ngọc Trâm, Phan Phương Lan, 1980. Thành phần hóa học của rong biển ở ven biển Hải Phòng. Tuyển tập Nghiên cứu biển tập II, 31-32.
2. Nguyễn Hữu Dinh, Huỳnh Quang Năng, Trần Ngọc Bút, Nguyễn Văn Tiến, 1993. Rong biển Việt Nam phần phía Bắc. Nxb Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội.
3. Nguyễn Thị Độ, 1994. Một số tính chất của các phycobiliprotein chính ở Tảo Lam Việt Nam. Tạp chí Sinh học, T 16, Số 3, 77-79.
4. Võ Thị Mai Hương, 1991. Cấu trúc hiển vi của thân, màng tế bào Rau câu chỉ vàng và một số chỉ tiêu hóa học của agar Huế. Report on the inservice training course on Gracilaria culture and processing. Seaweed Culture and Processing Project. UNDP-FAO VIE/86/010.57-58.
5. Võ Thị Mai Hương, 1998. Định lượng một số loại đường trong Rau câu chỉ vàng (*Gracilaria sp.*) ở dạng "cây" tử bào tử (tetrasporophyte) và "cây" giao tử cái (gametophyte female) tại đầm phá Thừa Thiên-Huế. Tạp chí Sinh học. Số 2, 154-157.
6. Võ Thị Mai Hương, 2003. Nghiên cứu đặc điểm sinh lí sinh hóa một số loài rong kinh tế thuộc ngành Rong Đỏ (Rhodophyta) và Rong Nâu (Phaeophyta) ở vùng đầm phá và ven biển Thừa Thiên-Huế. Luận án Tiến sĩ Sinh học, Đại học Huế.
7. Đặng Hoàng Phước Hiền, & cộng sự, 1994. Nghiên cứu hoạt tính sinh lý của dịch tảo *Spirulina platensis* và *Chlorella pirenoidosa*. Tạp chí Sinh học, T. 16, 32-36.
8. Đặng Đình Kim, 1994. Một số vấn đề về công nghệ sản xuất tảo *Spirulina* ở Việt Nam. Tạp chí Sinh học T. 16, 4-7.
9. Đặng Đình Kim, 1994. Vi tảo và ứng dụng của nó. Tạp chí Sinh học T. 16, 8-12.
10. Trương Văn Lung, Trần Đại Thành Ngọc, 1977. Một số tài liệu bước đầu về ảnh hưởng của ánh sáng, độ mặn đến cường độ quang hợp của Rau câu chỉ vàng qua các thời kỳ sinh trưởng khác nhau. TTKH, ĐHTH Huế, số 1, 74-82.
11. Trương Văn Lung, Trần Thanh Phong, Nguyễn Thị Tuyết, 1984. Đánh giá phẩm chất Rau câu chỉ vàng miền Trung. TTKH, ĐHTH Huế số 3, 94-97.
12. Trương Văn Lung, 1983. Một số đặc điểm sinh thái của Rau câu chỉ vàng ở đầm phá tỉnh Bình Trị Thiên. HNKH lần thứ 12 kỷ niệm 25 năm ngày thành lập trường ĐHTH Hà Nội.
13. Trương Văn Lung & ctv, 1991. Nghiên cứu nâng cao chất lượng của Rau câu chỉ vàng sống ở đầm phá nước lợ tỉnh Thừa Thiên-Huế. TTKH, ĐHTH Huế, số 7, 90-92.
14. Trương Văn Lung, 1995. Các nhân tố ngoại cảnh ảnh hưởng đến quá trình sinh lý sinh hóa của Rau câu chỉ vàng và một số biện pháp nâng cao tính chống chịu của chúng. B/c tại HNKH biển lần thứ nhất, 57-58.

15. Trương Văn Lung, Phạm Vinh, 1996. Tác dụng của colchicine và tia laser He-Ne đến quá trình sinh lý sinh hóa của *Gracilaria tenuistipitata* Liu. Báo cáo tham dự hội thảo về Khoa học và Công nghệ các tỉnh bắc miền Trung tổ chức tại Huế năm 1997.
16. Trương Văn Lung, Võ Thị Mai Hương, 1998. Khả năng sinh trưởng và tích lũy agar của Rau Câu Cước (*Gracilaria heteroclada*) khi nuôi trồng thâm độ trên đầm phá Thừa Thiên-Huế. Tạp chí Sinh học. Số 2, 112-114.
17. Trương Văn Lung, Võ Thị Mai Hương, 1999. Nghiên cứu hàm lượng agarose và phycoerythrine trong Rau Câu Chỉ Vàng (*Gracilaria tenuistipitata* Xia) ở độ sâu khác nhau. Tuyển tập công trình hội thảo "Đa dạng sinh học bắc Trường Sơn lần thứ 2". Nxb Đại học Quốc gia Hà Nội, tr. 70-72.
18. Trương Văn Lung, Võ Thị Mai Hương, 2000. Đa dạng sinh thái của một số loài rong kinh tế ở vùng đầm phá ven biển tỉnh Thừa Thiên-Huế. Những vấn đề nghiên cứu cơ bản trong sinh học. Báo cáo khoa học hội nghị Sinh học toàn quốc lần thứ nhất. Nxb Đại học Quốc gia Hà Nội, 260-264.
19. Trương Văn Lung, 1999. Chuyên đề Công nghệ sinh học một số loài tảo kinh tế (dành cho các lớp sau đại học), Trường ĐHKH Huế.
20. Trần Văn Nhị, Hoàng Thị Hoa, Lê Văn Quý, Nguyễn Thị Hồng, 1982. Một số đặc điểm sinh học của Bèo hoa dâu và Tảo Lam *Anabaena azollae* cộng sinh. B/c nghiên cứu khoa học Sinh vật học, Viện Khoa học Việt Nam, 52-60.
21. Nguyễn Hữu Ninh, Nguyễn Văn Mùi, G. Borbely, 1986. Mối quan hệ giữa trao đổi chất của vi khuẩn Lam với sự thiếu phosphore của môi trường. T/t b/c HNKH khoa Sinh học, trường ĐHTH Hà Nội, 69-70.
22. Huỳnh Quang Năng, Nguyễn Hữu Đại, 1978. Những kết quả về điều tra cơ bản rong biển Việt Nam: Tuyển tập nghiên cứu biển, tập I, phần 4, 19-32.
23. Huỳnh Quang Năng, Nguyễn Hữu Dinh, 1998. Kết quả nghiên cứu di trồng Rong Sụn *Kappaphycus alvarezii* vào vùng biển Việt Nam. Tuyển tập báo cáo khoa học Hội nghị KHCN biển toàn quốc lần thứ IV, 942-947.
24. Nguyễn Văn Tiến, 1994. Nguồn lợi sinh vật và các hệ sinh thái biển. Chuyên khảo Biển Việt Nam, 278-236.
25. Lâm Ngọc Trâm, Nguyễn Văn Thiện, Đỗ Tuyết Nga, Lưu Thị Hà, Nguyễn Kim Đức, 1991. Thành phần hóa học trong các loài rong biển vùng biển Phú Yên, Khánh Hòa, Minh Hải. Tuyển tập nghiên cứu biển, Tập III, 192 - 207.
26. Lâm Ngọc Trâm (chủ biên) và cộng sự, 1999. Các hợp chất tự nhiên trong sinh vật biển Việt Nam. Nxb KH và KT Hà Nội, 1-73.
27. Lê Ngọc Tú (chủ biên) và cộng sự, 1994. Hóa học thực phẩm, Nxb KH và KT Hà Nội, 124-217.
28. Albert and Wood, 1988. Biotechnology and development. Unesco, Prinsed in France.
29. Smith and Wood, 1991. Molecular biology and biotechnology. Chapman and Hall. London-NewYork-Tokyo-Melbourne-Madras.
30. Andreas Leusch, Zdenek R., Holan & Bohumil Volesky, 1995. Biosorption of Heavy Metals (Cd, Cu, Ni, Pb, Zn) by Chemically - Reinforced Biomass of Marine Algae. Journal Chem. Tech. Biotechnol., Vol. 62, 297-288.
31. Amir Neori et al. 2000. A sustainable integrated system for culture of fish, seaweed and abalon. Aquaculture 186, Issues 3-4, 279-291.

32. Bezborodov A. M., Moxolov V. V., Rabinovitch M. I., Nguyễn Văn Uyên, Ngô kế Sương và nnk., 1994. Công nghệ sinh học và một số ứng dụng tại Việt Nam. Tập I, II. Nxb Nông nghiệp Hà Nội.
33. Chapman V. J., 1970. Seaweed and their use - Menthuen 8. Co. LTD. London.
34. Dawes C. P. Suspended cultivation of *Gracilaria* in the sea, 1995. Jour. Applied Phycology, 7, 303-313.
35. Donald P. Cheney, 1985. Protoplast, cell and tissue culture in seaweeds. Biology Dept. Northeastern University, Boston, MA 02115.
36. Edward P. Glenn et al, 1998. A sustainable culture system for *Gracilaria parvispora* (Rhodophyta) using sporelings, reef growout and floating cages in HaWaii. Aquaculture 165 (1998) 221-232.
37. FAO/UNDP, 1990. Regional Seafarming Development and Desmonstration Project (RAS/86/024). Training Manual on *Gracilaria* Culture and Seaweed Processing in China. 60-85.
38. Feng Cheng, 1996. High cell density culture of microalgae in heterotrophic growth. Trends in Biotechnology. Vol. 14, 421-426.
39. Garcia-Jimenez et al, 1999. Spurulation and sterilization methode for axenic culture of *Gelidium canariensis*. Jour. Biotechnology. Vol. 70, 227-229.
40. Guanzon et al, 1992. The Effect of Different Stocking Densities and Some Abiotic Factors on Cage Culture of *Gracilaria* sp. (Rhodophyta, Gigartinales). Bot. Mar. Vol. 35. 239-243.
41. Heinz A. Hoppe, Tore Levring, 1982. Marine Algae in Pharmaceutical Sci. Vol. 2, 7-34. Hurtado-Ponce A. Q., 1994. Agar Production from *G. heteroclada* (Gracilariales, Rhodophyta) Growth at Different Salinity Levels. Bot. Mar. Vol. 37, 97-100.
42. Truong Van Lung, Vo Thi Mai Huong, 1997. Some chemical and physical factors increased the resistance of *Gracilaria tenuistipitata* growing in the brackish water lagoon of Thua Thien-Hue province in the dry and rainy seasons. Second Workshop on Plant Biotechnology, Hanoi.
43. Naofune Saga, Yoshiaki Sanbonsuga, 1988. Tissue culture and genetic engineering for seaweed aquaculture. In: New and Innovative Advances in Biology/Engineering with Potential for Use in Aquaculture. Proceedings of Fourteenth U.S.-Japan Meeting on Aquaculture Woods Hole, Massachusetts, October 16-17, 1985.
44. Ed. Albert K. Sparks. NOAA Technical Report NMFS 70.
45. Nyan Taw, 1993. Manual on Seaweed *Gracilaria* Farming. Seaweed Production Development Project. 3-15.
46. Nyan Taw, 1991. Report on the inservice training course on *Gracilaria* culture and processing. Seaweed Culture and Processing Project. UNDP-FAO VIE/86/010.
47. Raphael Armisen, 1995. World-wide use and importance of *Gracilaria*. Jour. Applied Phycology. Vol. 7, 231-243.
48. Raymond Kaas, Francois Campello, Suzanne Arbault, Olivier Barbaroux, 1992. La culture des algues marines dans le monde. 5-60.

49. Ruth Falshaw et al., 1998. Agars from nine species of Red seaweed in the genus *Curdiea* (Gracilariaceae, Rhodophyta). *Carbohydrate Research* 308, 107-115,
50. Saou-Lien Wong et al., 2000. Salinity and light effect on growth, photosynthesis, and respiration of *Grateloupia filicina* (Rhodophyta). *Aquaculture*. 182, 387-395.
51. Smith and Wood, 1991. *Molecular biology and biotechnology*. Chapman and Hall. London-New York-Tokyo-Melbourne-Madras.
52. Sri Istini, Masao Ohno and Hirozo Kusunose, 1994. Method of Analysis for agar, carrageenan and alginate in seaweed. *Bul. Mar. Sci. Fish. Kochi Univ.* No 14, pp 1-7.
53. Stadler T., Mollison J., Verdus M.C., Karamanos A. S., Morvan H. and Christiaen D., 1988. *Algal biotechnology*. Elsevier applied science. London and New York.. Albert and Wood, 1988. *Biotechnology and development*. Unesco, Prinsed in France. 16. Alistair M. Stephen, 1995. *Agar*. *Food Science and Technogogy*. Vol. 67, 187-204.

MỘT SỐ CÔNG TRÌNH NGHIÊN CỨU CÁC LOÀI TẢO CỦA TÁC GIẢ

1. **Trương Văn Lung, Trần Đại Thành Ngọc, 1977.** Một số dẫn liệu bước đầu về ảnh hưởng của ánh sáng, độ mặn đến cường độ quang hợp của Rau Câu Chỉ Vàng qua các thời kỳ sinh trưởng khác nhau. Thông tin Khoa học Đại học Tổng hợp Huế, Số 1, 74 - 82.
2. **Trương Văn Lung, Nguyễn Thị Phương Liên, Nguyễn Thị Kim Xuân, Hoàng Thị Hòa, 1977.** Một vài số liệu bước đầu nghiên cứu ảnh hưởng của điều kiện ánh sáng và độ mặn đến chất lượng agar - agar trong Rau Câu Chỉ Vàng qua các thời kỳ sinh trưởng khác nhau. Thông tin Khoa học Đại học Tổng hợp Huế, Số 1, 90 - 98.
3. **Trương Văn Lung, Tôn Nữ Thúy Hà, 1977.** ảnh hưởng của các loại phân vô cơ đến sự sinh trưởng của Rau Câu Chỉ Vàng qua các thời kỳ sinh trưởng khác nhau. Thông tin Khoa học Đại học Tổng hợp Huế, Số 1, 108 - 115.
4. **Trương Văn Lung, Hoàng Thị ánh Tân, Trần Thị Tuyết Nhân, 1978.** ảnh hưởng của nhiệt độ, độ mặn của môi trường đến cường độ quang hợp của Rau Câu Chỉ Vàng qua các thời kỳ sinh trưởng khác nhau. Thông tin Khoa học Đại học Tổng hợp Huế, Số 2, T. 1, 75 - 83
5. **Trương Văn Lung, 1978.** Rau Câu - nguồn tài nguyên phong phú của tỉnh Bình-Trị-Thiên. Thông tin Khoa học Đại học Tổng hợp Huế, Số 2, T.1, 22 - 26.
6. **Trương Văn Lung, Nguyễn Thị Phương Liên, Nguyễn Văn Quang, 1978.** ảnh hưởng của nồng độ phân bón NPK đến năng suất và phẩm chất của Rau Câu Chỉ Vàng qua các thời kỳ sinh trưởng khác nhau ở các độ muối khác nhau. Thông tin Khoa học Đại học Tổng hợp Huế, Số 2, T.1, 84 - 89.
7. **Nguyễn Thị Phương Liên, Trương Văn Lung, Nguyễn Thị Tuyết, 1978.** Bước đầu đánh giá hàm lượng và chất lượng agar - agar trong Rau Câu Chỉ Vàng ở một số vùng đầm phá tỉnh Bình-Trị-Thiên. Thông tin Khoa học Đại học Tổng hợp Huế, Số 2, T.1, 60 - 64.
8. **Trương Văn Lung, Trần Thanh Phong, Nguyễn Thị Tuyết, 1981.** Đánh giá phẩm chất Rau Câu Chỉ Vàng ở miền Trung. Thông tin Khoa học Đại học Tổng hợp Huế, Số đặc biệt kỷ niệm 5 năm thành lập trường Đại học Tổng hợp Huế, 84 - 89.
9. **Trương Văn Lung, Trần Thị Tuyết Nhân, Nguyễn Thị Phương Liên, Trần Thanh Phong, Đỗ Quý Hai, 1981.** Nghiên cứu một số đặc điểm sinh học của Rau Câu Chỉ Vàng sống ở đầm phá nước lợ tỉnh Bình -Trị -Thiên. Thông tin Khoa học số đặc biệt kỷ niệm 5 năm thành lập trường Đại học Tổng hợp Huế, 13 - 17.
10. **Trương Văn Lung, Trần Thị Tuyết Nhân, 1982.** Ảnh hưởng của độ sâu đến cường độ quang hợp của Rau Câu Chỉ Vàng (*Gracilaria verrucosa*) và

- rong tạp *Chaetomorpha linum* sống trong điều kiện tự nhiên. Thông tin Khoa học Đại học Tổng hợp Huế, Số 3, 65 - 70.
11. **Trương Văn Lung**, 1983. Một số đặc điểm sinh thái của Rau Câu Chỉ Vàng ở đầm phá tỉnh Bình-Trị-Thiên. Hội nghị Khoa học lần thứ 12 kỷ niệm 25 năm ngày thành lập trường Đại học Tổng hợp Hà Nội (1958 - 1983).
 12. **Trương Văn Lung, và ctv.**, 1985. Nghiên cứu quy trình sản xuất agar-agar ở quy mô công nghiệp. Hội nghị đưa tiến bộ khoa học vào sản xuất và đời sống trường Đại học Tổng hợp Huế.
 13. **Trương Văn Lung**, 1988. Nghiên cứu nâng cao sản lượng thu hoạch Rau Câu Chỉ Vàng về mùa khô ở đầm phá nước lợ tỉnh Bình-Trị-Thiên. Báo cáo tại Hội thảo khoa học kỹ thuật Rong Câu lần thứ nhất tại Đà Nẵng.
 14. **Nguyễn Xuân Thư, Trương Văn Lung, Võ Thị Mai Hương, Trương Thị Hoài Hương**, 1988. Thử xác định hàm lượng agarose trong Rau câu Chỉ Vàng. Tạp chí Thủy sản, Số 3, 25 - 26.
 15. **Trương Văn Lung**, 1988. Điểm qua việc nghiên cứu nguồn lợi thủy sản ở vùng nước lợ tỉnh Bình - Trị - Thiên. Thông tin Kinh tế Kỹ thuật thủy sản số 3, 12.
 16. **Trương Văn Lung, Võ Thị Mai Hương, Trần Thị Bích Huệ**, 1991. Một số chỉ tiêu thương phẩm trong agar - agar và so sánh việc sử dụng NaOH nội và ngoại khi chiết rút agar - agar trong Rau Câu Chỉ Vàng. Thông tin Khoa học Đại học Tổng hợp Huế, Số 7, 87-89.
 17. **Trương Văn Lung và ctv.** 1991. Nghiên cứu nâng cao chất lượng của Rau Câu Chỉ Vàng sống ở đầm phá nước lợ tỉnh Thừa Thiên - Huế. Thông tin Khoa học Đại học Tổng hợp Huế, Số 7, 90 - 92.
 18. **Trương Văn Lung**. 1991. Dùng vi lượng để chống lại điều kiện bất lợi của môi trường về mùa mưa khi trồng Rau Câu ở đầm phá nước lợ tỉnh Thừa Thiên - Huế. Thông tin Khoa học Đại học Tổng hợp Huế. Số 7, 93 - 95.
 19. **Trương Văn Lung, và ctv.** 1991. Nghiên cứu nâng cao chất lượng của Rau Câu phát triển ở đầm phá nước lợ tỉnh Thừa Thiên - Huế và điều kiện sản xuất agar - agar. Thông báo khoa học của các trường Đại học, Chuyên đề Sinh học - Nông nghiệp, Bộ Giáo dục và Đào tạo, 103 - 106.
 20. **Trương Văn Lung và ctv.** 1991. Nghiên cứu nâng cao chất lượng của Rau Câu Chỉ Vàng sống ở đầm phá nước lợ tỉnh Thừa Thiên - Huế. Hội nghị khoa học toàn quốc về Biển lần thứ 3, tháng 11 năm 1991 Viện Khoa học Việt Nam Tóm tắt báo cáo khoa học.8.
 21. **Trương Văn Lung**. 1994. Ngoại cảnh ảnh hưởng đến quá trình sinh lý sinh hóa của Rau Câu Chỉ Vàng (*Gracilaria sp.*) Thông báo Khoa học của các trường Đại học, chuyên đề Sinh học - Nông nghiệp, Bộ Giáo dục và Đào tạo, 57 - 61.
 22. **Trương Văn Lung**. 1994. Chất điều hòa sinh trưởng Gibberellin đã có tác dụng nâng cao tính chống chịu của Rau Câu Chỉ Vàng trong mùa mưa. Thông tin Khoa học Đại học Tổng hợp Huế, Số 9, 168 - 173.
 23. **Trương Văn Lung**. 1994. ảnh hưởng của 2,4-D đến quá trình sinh lý sinh hóa của Rau Câu *Gracilaria sp.* nuôi trồng trong mùa mưa. Thông tin Khoa học Đại học Tổng hợp Huế. Số 9, 174-179.

24. **Trương Văn Lung.** 1994. ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng 2,4D đến sự thay đổi một vài chỉ tiêu sinh lý sinh hóa của agar - agar khi trồng Rau Câu về mùa mưa. Báo cáo tại Hội nghị Công nghệ sinh học và Hóa sinh toàn quốc, tháng 12 năm 1994.
25. **Trương Văn Lung.** 1994. Chất điều hòa sinh trưởng 2,4-D và vi lượng Mo đã ảnh hưởng đến quá trình sinh hóa của agar - agar trong Rau Câu Chỉ Vàng trồng về mùa mưa và nâng cao tính chống chịu của chúng trong điều kiện bất lợi của môi trường. Báo cáo tại Hội nghị Công nghệ sinh học và Hóa sinh toàn quốc, tháng 12 năm 1994.
26. **Trương Văn Lung, Ông Văn Dũng.** 1994. Sự biến động của môi trường trong năm 1992 - 1993 ở ao nuôi Rau Câu tại đầm phá tỉnh Thừa Thiên - Huế.
27. **Trương Văn Lung.** 1995. Ảnh hưởng của 2,4-D đến quá trình sinh lý sinh hóa của Rau Câu *Gracilaria sp.* nuôi trồng trong mùa mưa. Báo cáo tại Hội thảo quốc gia và khu vực nhân năm Louis Pasteur, Vi sinh vật và Công nghệ sinh học tháng 10 năm 1995, 462 - 467.
28. **Trương Văn Lung.** 1995. Các nhân tố ngoại cảnh ảnh hưởng đến quá trình sinh lý sinh hóa của Rau Câu Chỉ Vàng (*Gracilaria sp.*) sống ở đầm phá nước lợ tỉnh Thừa Thiên - Huế và một vài biện pháp nâng cao tính chống chịu của chúng. Báo cáo tại Hội thảo quốc gia và khu vực nhân năm Louis Pasteur, Vi sinh vật và Công nghệ sinh học tháng 10 năm 1995, 468 - 471.
29. **Trương Văn Lung.** 1995. Chất điều hòa sinh trưởng Gibberellin đã có tác dụng nâng cao tính chống chịu của Rau Câu trồng trong mùa mưa. Báo cáo tại hội thảo quốc gia và khu vực nhân năm Louis Pasteur, Vi sinh vật và Công nghệ sinh học tháng 10 năm 1995, 472 - 477.
30. **Trương Văn Lung.** 1995 Các nhân tố ngoại cảnh ảnh hưởng đến quá trình sinh lý sinh hóa của Rau Câu và một số biện pháp nâng cao tính chống chịu của nó. Báo cáo tại Hội nghị Sinh học biển lần thứ nhất, tháng 10/1995, Tóm tắt báo cáo, 57 - 58.
31. **Trương Văn Lung.** 1995. ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng 2,4-D và vi lượng Mo, Cu đến quá trình sinh lý sinh hóa của Rong Câu. Báo cáo tại Hội nghị Sinh học biển lần thứ nhất, tháng 10/1995, 82 - 83.
32. **Trương Văn Lung.** 1996. Etude sur le renforcement de la résistance des agarophytes dans les conditions défavorables d'eaux saumâtres des lagunes à la province de Thua Thien - Hue. Symposium "Biodiversité et fonctionnement des écosystèmes". Paris le 12 Septembre 1996.
33. **Trương Văn Lung và ctv..** 1996. Nghiên cứu nâng cao tính chống chịu của các loài agarophyte sống trong điều kiện bất lợi của môi trường đầm phá nước lợ tỉnh Thừa Thiên - Huế. Thông tin Khoa học Đại học Tổng hợp Huế, Số 10, Tập 2 Sinh - Địa, 88 - 90.
34. **Trương Văn Lung, Võ Thị Mai Hương.** 1996. Một vài dẫn liệu về Rong Mơ (*Sargassum sp.*) tại vùng Lăng Cô, Phú Lộc, tỉnh Thừa Thiên - Huế. Báo cáo tại hội nghị Khoa học lần thứ X kỷ niệm 20 năm ngày thành lập trường Đại học Tổng hợp Huế, tháng 10 năm 1996. Thông tin Khoa học trường Đại học Khoa học Huế, Số 10, Tập 2, Sinh - Địa, 44 - 47.

35. **Trương Văn Lung, Phạm Vinh.** 1997. Tác động của colchicine và tia laser đến quá trình sinh lý sinh hóa của *Gracilaria tenuistipitata* Liu. Tham dự hội nghị Khoa học và Công nghệ Bắc Trung Bộ tại Thừa Thiên - Huế, (1997).
36. **Trương Văn Lung, Võ Thị Mai Hương, Phạm Văn Hội.** 1997. Thành phần loài Rong Mơ (*Sargassum*) ở ven biển nam Thừa Thiên - Huế và một số tính chất sinh lý sinh hóa của *Sargassum flavicans*. Thông tin Khoa học và Công nghệ thủy sản. Số 2, 15 - 19.
37. **Trương Văn Lung.** 1997. ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng 2,4-D và vi lượng Mo, Cu đến quá trình sinh lý sinh hóa của Rong Câu. Tuyển tập báo cáo khoa học hội nghị "Sinh học biển toàn quốc lần thứ nhất". Nxb Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội, 404 - 408.
38. **Trương Văn Lung, Võ Thị Mai Hương.** 1997. Some chemical and physical factors increased the resistance of *Gracilaria tenuistipitata* growing in the brackish water lagoon of Thua Thien - Hue province in the dry and rainy seasons. Second Workshop on Plant Biotechnology, Hanoi, December, 15 - 9/1997.
39. **Trương Văn Lung.** 1998. Tác động của tia laser đến năng suất của *Gracilaria tenuistipitata* khi nuôi trồng ở đầm phá tỉnh Thừa Thiên - Huế. Tạp chí Sinh học, Tập 20, Số 2, 115 - 118.
40. **Trương Văn Lung.** 1998. Chiết xuất phycoerythrine từ Rau Câu Chỉ Vàng (*Gracilaria tenuistipitata* Xia). Tạp chí Sinh học, Tập 20, Số 2, 119 - 121.
41. **Trương Văn Lung, Võ Thị Mai Hương.** 1998. Khả năng sinh trưởng và tích lũy agar của Rau Câu Cước (*Gracilaria heteroclada*) khi nuôi trồng thâm dò trên đầm phá Thừa Thiên - Huế. Tạp chí Sinh học, Tập 20, Số 2, 112 - 114.
42. **Trương Văn Lung, Võ Thị Mai Hương.** 1999. Nghiên cứu hàm lượng agarose và phycoerythrine trong Rau Câu Chỉ Vàng (*Gracilaria tenuistipitata* Xia) ở độ sâu khác nhau. Tuyển tập công trình hội thảo "Đa dạng sinh học bắc Trường Sơn" lần thứ II. Nxb Đại học Quốc gia Hà Nội, tr. 70 - 72.
43. **Võ Thị Mai Hương, Trương Văn Lung.** 1999. Nghiên cứu công nghệ tách chiết alginate từ Rong Mơ Thừa Thiên - Huế. Báo cáo khoa học tại Hội nghị Công nghệ Sinh học toàn quốc - Hà Nội tháng 12/1999. Nxb Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội, 566 - 571.
44. **Trương Văn Lung, Võ Thị Mai Hương.** 2000. Sự đa dạng sinh thái của một số loài rong kinh tế ở vùng đầm phá ven biển tỉnh Thừa Thiên - Huế. Những vấn đề nghiên cứu cơ bản trong sinh học. Báo cáo khoa học Hội nghị Sinh học quốc gia. Nxb Đại học Quốc gia Hà Nội, 260 - 264.
45. **Võ Thị Mai Hương, Trương Văn Lung.** 2000. Một số thành phần sinh hóa của Rong Mơ nguyên liệu ở bờ biển Lăng Cô, Thừa Thiên - Huế. Những vấn đề nghiên cứu cơ bản trong sinh học. Báo cáo khoa học hội nghị Sinh học quốc gia. Nxb Đại học Quốc gia Hà Nội, 243 - 246.
46. **Võ Thị Mai Hương, Trương Văn Lung.** 2000. Một số chỉ tiêu sinh lý - sinh hóa của loài Rong Mơ *Sargassum sp4*. phân bố ở ven biển Lăng Cô, Thừa Thiên - Huế. Tạp chí Sinh học, Tập 22, số 3b, 73 - 76.

47. **Võ Thị Mai Hương, Trương Văn Lung.** 2000. Rau Câu Chỉ Vàng (*Gracilaria tenuistipitata*) ở các độ mặn khác nhau. Thông tin Khoa học Đại học Khoa học Huế, Số 11(5), 51 - 55.
48. **Võ Thị Mai Hương, Trương Văn Lung.** 2000. Tìm hiểu quan hệ giữa ánh sáng và hàm lượng các sắc tố quang hợp của Rau Câu Chỉ Vàng *Gracilaria tenuistipitata* ở các độ sâu khác nhau. Tạp chí Sinh học, Tập 22, số 3b, 77 - 81.
49. **Võ Thị Mai Hương, Trương Văn Lung.** 2001. Thăm dò hiệu ứng tăng trưởng của oligoalginate trên cây Ngò (*Petroselinum crispum* Mill.) Tạp chí Khoa học Đại học Huế, Số 8/2001, 37 - 42.
50. **Võ Thị Mai Hương, Trương Văn Lung.** 2001. Thăm dò hiệu ứng tăng trưởng thực vật của oligoalginate đến khả năng hình thành nốt sần, đặc tính ra hoa và sản lượng của cây Lạc (*Arachis hypogea* L.). Thông tin Khoa học Đại học Khoa học Huế, Số 12, T. 1, 75 - 79.
51. **Võ Thị Mai Hương, Trương Văn Lung.** 2003. Thăm dò hiệu ứng tăng trưởng thực vật của Oligoaliginat sản xuất từ Rong Mơ (*Sargasum* sp.) đến sản lượng và phẩm chất của cây Lạc (*Arachis hypogea* L.). Tạp chí Sinh học, Tập 25, Số 1A, 132 - 136.

PGS. TS. Trương Văn Lung

**CÔNG NGHỆ SINH HỌC
MỘT SỐ LOÀI TẢO KINH TẾ**

Chịu trách nhiệm xuất bản:	PGS.TS. Tô Đăng Hải
Phản biện:	PGS.TS. Nguyễn Bá Lộc TS. Nguyễn Hoàng Lộc
Biên tập:	Trần Khánh Thịnh GS.TS. Lê Vũ Khôi
Kiểm tra bản can, theo dõi in:	Minh Tùng
Trình bày bìa:	Họa sĩ Hương Lan
Chế bản laser:	Nguyễn Hoài An

582

————— 113-158-03

KHKT - 04

NHÀ XUẤT BẢN KHOA HỌC VÀ KỸ THUẬT
70 Trần Hưng Đạo, Hà Nội

¥011 7 4

204068



Giá 30.000 đ