



(12) **BẢN MÔ TẢ GIẢI PHÁP HỮU ÍCH THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN
GIẢI PHÁP HỮU ÍCH**

(19) **Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ**

(11)



2-0002723

(51)⁷ **C12N 1/12; C12N 1/20**

(13) **Y**

(21) 2-2019-00557

(22) 09/12/2019

(45) 25/11/2021 404

(43) 25/02/2020 383A

(73) Viện Ứng dụng công nghệ (VN)

Số 25, Lê Thánh Tông, quận Hoàn Kiếm, thành phố Hà Nội

(72) Trần Bảo Trâm (VN); Nguyễn Thị Hiền (VN); Nguyễn Thị Thanh Mai (VN); Lê Thủy Tiên (VN); Vương Tất Đạt (VN).

(74) Công ty TNHH Sở hữu trí tuệ Bình Minh (SUNRISE IP CO.,LTD.)

(54) **QUY TRÌNH NUÔI SINH KHỐI TẢO SPIRULINA PLATENSIS BẰNG NƯỚC BIỂN TRONG BỂ HỒ**

(57) Giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình nuôi sinh khối tảo *Spirulina platensis* bằng nước biển trong bể hồ. Quy trình bao gồm các bước a) nhân giống trong chai nhựa PET 1,5L có sục khí, sử dụng nước biển pha loãng tới độ mặn nằm trong khoảng 5-10‰, và b) nuôi sinh khối ngoài bể sử dụng nước biển pha loãng tới độ mặn 5-10‰. Quy trình theo giải pháp hữu ích đơn giản, dễ thực hiện và tận dụng được nguồn nước biển có sẵn trong tự nhiên trong nuôi trồng tảo.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Giải pháp hữu ích thuộc lĩnh vực công nghệ sinh học. Cụ thể là giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình nuôi sinh khối tảo *Spirulina platensis* bằng nước biển làm nguyên liệu phục vụ chế biến thực phẩm.

Tình trạng kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Spirulina là vi khuẩn lam dạng sợi đa bào, có thể sống ở những môi trường khắc nghiệt mà không thích hợp cho các sinh vật khác, tạo thành quần thể trong các hồ nước ngọt, nước lợ và một số môi trường nước mặn, chủ yếu là ở các hồ nước muối kiềm. *Spirulina* có chứa hàm lượng protein cao (lên tới 70%) với lượng lớn các axit béo, axit amin thiết yếu (đặc biệt giàu axit gamma-linoleic – tiền chất của các hoạt chất sinh học), các khoáng chất và vitamin (nhất là vitamin nhóm B), các sắc tố chống oxy hóa (phycobiliprotein và carotenoid) và các polysaccharit. Chính vì vậy sản xuất *Spirulina* thương mại đã dành được sự chú ý trên khắp thế giới (sản lượng hàng năm đạt khoảng 20.000-45.000 tấn khô, chủ yếu của các nước Mỹ, Nhật Bản, Trung Quốc...), được sử dụng làm thực phẩm bổ sung cho người, thức ăn cho động vật và làm nguyên liệu cho các ngành dược phẩm, mỹ phẩm. Ngoài giá trị về dinh dưỡng, các bằng chứng cũng cho thấy tiềm năng ứng dụng của nó trong điều trị bệnh đang ngày càng phát triển.

Hiện công nghệ nuôi *Spirulina* trên thế giới có thể được chia thành 4 dạng: bể hở có sục khuấy, bể hở tuần hoàn, hệ thống kín, và dạng kết hợp giữa hệ thống kín và bể hở. Tuy nhiên việc nuôi *Spirulina* thương mại thu sinh khối phục vụ chế biến thực phẩm chủ yếu sử dụng hệ thống bể hở do chi phí đầu tư hợp lí, công tác kiểm soát các điều kiện nuôi trồng đơn giản mà vẫn đáp ứng được yêu cầu về chất lượng cho sản xuất thực phẩm.

Các loài thuộc chi *Spirulina* được biết đến hầu hết những vi sinh vật nước ngọt, nhưng khi thử nghiệm nuôi trong môi trường nước lợ hay nước mặn, có một số chủng có khả năng tồn tại và sinh trưởng được mặc dù năng suất không đạt mức tốt ưu như nuôi trong điều kiện phân bố. Việt Nam là nước có khí hậu nhiệt đới với chiều dài bờ biển trên 3.000 km nên có nhiều tiềm năng trong việc nuôi sinh khối các chủng

Spirulina chịu mặn. Trong nước biển có sẵn các thành phần khoáng đa lượng và vi lượng đáp ứng được nhu cầu dinh dưỡng cho tảo phát triển, vì vậy việc phát triển nuôi *Spirulina* bằng nguồn nước biển không chỉ giúp nâng cao giá trị dinh dưỡng mà còn giảm được chi phí trong sản xuất tảo *Spirulina* do tận dụng được nguồn nước biển sẵn có, tiết kiệm nguồn tài nguyên nước ngọt đang ngày càng khan hiếm.

Bản chất kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Mục đích của giải pháp hữu ích là giải quyết các vấn đề nêu trên. Theo đó, giải pháp hữu ích đề xuất quy trình nuôi sinh khối tảo *Spirulina platensis* bằng nước biển trong bể hở nhằm phát triển vùng sản xuất tảo *Spirulina* một cách bền vững.

Giống tảo *Spirulina platensis* chịu mặn sử dụng trong giải pháp hữu ích được mua từ các bảo tàng/bộ sưu tập giống trong nước hoặc trên thế giới; Hoặc thuần hóa và đánh giá/lựa chọn chủng tảo có khả năng chịu mặn trong ngưỡng từ 5-20‰.

Quy trình theo giải pháp hữu ích bao gồm các bước:

a) Nhân giống (trong phòng thí nghiệm)

Sử dụng chai nhựa PET 1,5L; môi trường nhân giống là nước biển (được khử trùng) pha loãng tới độ mặn trong ngưỡng chịu mặn của chủng giống (trong ngưỡng từ 5-20‰) và bổ sung thêm nguồn cacbon, nitơ, khoáng đa lượng, vi lượng, vitamin... có pH 9-10; mật độ tiếp giống OD₅₆₀ 0,2 (OD: Optical Density, đo trên máy quang phổ ở bước sóng 560nm), nhiệt độ: 28-35°C, cường độ chiếu sáng 3.000 – 5.000 lux, có sục khí với thời gian cùng chu kì chiếu sáng 8-10h/ngày.

b) Nuôi sinh khối ngoài bể

- chuẩn bị bể nuôi: vệ sinh bể bằng chlorin nồng độ 100-200 ppm trong 30 phút, tháo nước và phơi nắng bể trong 1-2 ngày.

- chuẩn bị môi trường nuôi: Xử lí nước biển: nước biển được bơm lọc qua cát và khử trùng bằng chlorin nồng độ 20-30ppm trong 02 ngày. Nước biển sau xử lí được pha loãng tới độ mặn trong ngưỡng chịu mặn của chủng giống và bổ sung thêm nguồn cacbon, nitơ, khoáng đa lượng, vi lượng, vitamin và đưa vào bể nuôi ở mức nước 40-60cm.

- tiếp giống: giống tảo *S. platensis* sau khi nhân trong phòng được bổ sung vào bể nuôi với mật độ OD₅₆₀ 0,2.

- điều kiện nuôi:

- + ánh sáng: 10.000 – 25.000 lux, dùng ánh sáng tự nhiên kết hợp với đèn chiếu sáng bổ sung trong trường hợp thiếu sáng hoặc che lưới đen cắt nắng nếu quá nắng,
- + tốc độ khuấy: 30-40 vòng/phút,
- + chu kì khuấy/chu kì chiếu sáng: 10-12h/ngày.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Hình 1: Chủng *S. platensis* TH chịu mặn (Hình 1a), Ảnh hưởng độ mặn đến sinh trưởng chủng *S. platensis* TH (Hình 1b)

Hình 2: Nhân giống trong chai nhựa PET 1,5L (Hình 2)

Hình 3: Nhân nuôi tảo *S. platensis* bằng nước biển trong bể hở tại Thanh Hóa (Hình 3)

Mô tả chi tiết giải pháp hữu ích

Sau đây, giải pháp hữu ích mô tả chi tiết các phương án và ví dụ cụ thể, tuy nhiên, các phương án này chỉ nhằm mục đích mô tả chi tiết giải pháp hữu ích chứ không nhằm mục đích hạn chế phạm vi yêu cầu bảo hộ của giải pháp hữu ích.

Các quy trình, kỹ thuật pha chế môi trường, đo pH, xác định tốc độ tăng trưởng của vi sinh vật... là đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này, ví dụ: phương pháp chuẩn bị môi trường gốc bổ sung vào môi trường nhân nuôi, phương pháp đo mật độ quang (Optical Density – OD) ở bước sóng 560nm để xác định tốc độ sinh trưởng của tảo *Spirulina*.

Các nguyên vật liệu, hóa chất, vật tư hoặc thiết bị sử dụng trong quy trình theo giải pháp hữu ích có thể tìm mua được trên thị trường.

Giống tảo *Spirulina platensis* mua từ các bảo tàng/bộ sưu tập giống trong nước hoặc trên thế giới; Thử nghiệm đánh giá và lựa chọn chủng tảo có khả năng chịu mặn trong ngưỡng từ 5-20‰. Hoặc thuần hóa chủng tảo chịu mặn qua nhiều lần nhân giống trong nước biển pha loãng tới độ mặn trong ngưỡng chịu mặn của chủng giống.

Cụ thể, chuẩn bị môi trường nước biển pha loãng với độ mặn 3, 5, 7, 10, 12, 15 và 20‰ được bổ sung môi trường dinh dưỡng trong 1L môi trường gồm NaNO₃ 2,5g; NaHCO₃ 10g, Na₂CO₃ 4g; K₂HPO₄.H₂O 0,5g; K₂SO₄ 1g, FeSO₄.7H₂O 0,01g, vi lượng MoO₃ 0,015g, ZnSO₄ 0,11g; vitamin B₁, B₆, B₁₂ 1ml được chia vào các bình tam giác 250ml, môi trường được khử trùng ở 121°C/20 phút. Sau khi để nguội, giống tảo được bổ sung vào các bình môi trường có độ mặn khác nhau với mật độ ban đầu OD₅₆₀ 0,2

và tiến hành đo sinh trưởng của tảo trong các ngày nuôi tiếp theo. Dựa trên khả năng sinh trưởng của tảo để chọn ra môi trường có độ mặn thích hợp để tiến hành nuôi tảo.

Theo đó, giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình nuôi sinh khối tảo *Spirulina* bằng nước biển trong bể hở, trong đó quy trình này bao gồm các bước a) nhân giống, b) nuôi sinh khối ngoài bể.

a) Nhân giống

- sử dụng chai nhựa PET 1,5L;

- môi trường nhân giống là nước biển (đã được khử trùng) pha loãng tới độ mặn nằm trong khoảng 5-10‰ và bổ sung (tính trong 1L) nguồn cacbon, nitơ, khoáng đa lượng gồm NaNO_3 2,5g; NaHCO_3 10g, Na_2CO_3 4g; $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0,5g; K_2SO_4 1g, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,01g, vi lượng MoO_3 0,015g, ZnSO_4 0,11g; vitamin B_1 , B_6 , B_{12} 1ml có pH 9-10;

- mật độ tiếp giống OD_{560} 0,2 (OD: Optical Density, đo trên máy quang phổ ở bước sóng 560nm),

- điều kiện nhân nuôi: nhiệt độ: 28-35°C, cường độ chiếu sáng 3.000 – 5.000 lux, có sục khí với thời gian cùng chu kì chiếu sáng 8-10h/ngày.

b) Nuôi sinh khối ngoài bể

- chuẩn bị bể nuôi: vệ sinh bể bằng chlorin nồng độ 100-200 ppm trong 30 phút, tháo nước và phơi nắng bể trong 1-2 ngày.

- chuẩn bị môi trường nuôi: Xử lí nước biển: nước biển được bơm lọc qua cát và khử trùng bằng chlorin nồng độ 20-30ppm trong 02 ngày. Nước biển sau xử lí được pha loãng tới độ mặn 5-10‰ và đưa vào bể nuôi ở mức nước 40-60cm, bổ sung (tính trong 1L) nguồn cacbon, nitơ, khoáng vi lượng và vitamin gồm NaNO_3 2,5g; NaHCO_3 10g, Na_2CO_3 4g; $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0,5g; K_2SO_4 1g, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,01g, vi lượng MoO_3 0,015g, ZnSO_4 0,11g; vitamin B_1 , B_6 , B_{12} 1ml. Môi trường nuôi được chuẩn bị có pH 9-10;

- tiếp giống: giống tảo *S. platensis* sau khi nhân trong phòng được đưa vào bể môi trường với mật độ OD_{560} 0,2.

- điều kiện nuôi:

- + ánh sáng: 10.000 – 25.000 lux, dùng ánh sáng tự nhiên kết hợp với đèn chiếu sáng bổ sung (trong trường hợp thiếu sáng) hoặc che lưới đen cắt nắng (nếu quá nắng),

- + tốc độ khuấy: 30-40 vòng/phút,

+ chu kì khuấy/chu kì chiếu sáng: 10-12h/ngày.

- theo dõi sinh trưởng: Tốc độ tăng trưởng của tảo được theo dõi hàng ngày bằng phương pháp đo mật độ quang ở bước sóng 560nm.

- thu hoạch sinh khối: Khi mật độ sinh khối tảo đạt trên 1 có thể bắt đầu thu hoạch bằng phương pháp lọc ly tâm và tiến hành bổ sung môi trường/dinh dưỡng để duy trì nhân nuôi liên tục.

Ví dụ thực hiện giải pháp hữu ích

Ví dụ 1: Lựa chọn nguồn giống tảo *S. platensis* chịu mặn

Trong giải pháp này chúng tôi lựa chọn 20 chủng giống để đánh giá khả năng chịu mặn từ các bảo tàng/bộ sưu tập giống.

Chuẩn bị môi trường nước biển pha loãng với độ mặn 3, 5, 7, 10, 12, 15 và 20‰ được bổ sung môi trường dinh dưỡng trong 1L gồm NaNO₃ 2,5g; NaHCO₃ 10g, Na₂CO₃ 4g; K₂HPO₄.H₂O 0,5g; K₂SO₄ 1g, FeSO₄.7H₂O 0,01g, vi lượng MoO₃ 0,015g, ZnSO₄ 0,11g; vitamin B₁, B₆, B₁₂ 1ml được chia vào các bình tam giác 250ml, môi trường được khử trùng ở 121°C/20 phút. Sau khi để nguội, giống tảo được bổ sung vào các bình môi trường có độ mặn khác nhau với mật độ ban đầu OD₅₆₀ 0,2 và tiến hành đo sinh trưởng của tảo trong các ngày nuôi tiếp theo.

Kết quả thu được cho thấy từ 20 chủng giống, lựa chọn chủng *S. platensis* TH (Hình 1a) có khả năng sinh trưởng và phát triển tốt nhất ở độ mặn 10‰ (Hình 1b). Chủng này được lưu trữ trong phòng thí nghiệm thuộc Trung tâm Sinh học Thực nghiệm - Viện Ứng dụng Công nghệ.

Chất lượng của chủng *S. platensis* TH nuôi trong nước biển được đánh giá các chỉ tiêu protein, lipid, cacbohydrat, phycocyanin theo TCVN và kết quả cho thấy chất lượng tảo tương đương so với nuôi trên môi trường nước ngọt (Bảng 1)

Bảng 1. Thành phần dinh dưỡng có trong tảo *S. platensis* nuôi ở độ mặn 10‰

Thành phần dinh dưỡng	Hàm lượng (%)
Protein	58,13±1,97
Lipit	7,76±0,25
Carbohydrat	9,05±0,89
Phycocyanin	1,82±0,09

Ví dụ 2: Sản xuất sinh khối tảo *S. platensis* bằng nước biển trong bể hở tại Thanh Hóa

Giống tảo *S. platensis* TH được lựa chọn để nhân giống trong hệ thống chai nhựa PET 1,5L sử dụng môi trường nền là nước biển được lấy ngay tại ven biển Quảng Xương – Thanh Hóa. Nước biển pha loãng tới độ mặn 10‰ được khử trùng ở nhiệt độ 121°C/20 phút, bổ sung môi trường dinh dưỡng trong 1L gồm NaNO₃ 2,5g; NaHCO₃ 10g, Na₂CO₃ 4g; K₂HPO₄.H₂O 0,5g; K₂SO₄ 1g, FeSO₄.7H₂O 0,01g, vi lượng MoO₃ 0,015g, ZnSO₄ 0,11g; vitamin B₁, B₆, B₁₂ 1ml, mật độ tiếp giống OD₅₆₀ 0,2 (OD: Optical Density), nhiệt độ: 28-35°C, cường độ chiếu sáng 3.000 – 5.000 lux, chu kỳ chiếu sáng 8-10h/ngày. Sau 7-10 ngày OD₅₆₀ đạt 1 – 1,2 đảm bảo điều kiện cung cấp giống cho sản xuất.

Hệ thống bể hở (kích thước 20x3x1m) được vệ sinh bằng chlorin nồng độ 150 ppm trong 30 phút, tháo nước và phơi nắng bể trong 1-2 ngày. Nước biển được bơm lọc qua cát và khử trùng bằng chlorin nồng độ 20-30ppm trong 02 ngày. Nước biển sau xử lý được pha loãng tới độ mặn 10‰ và bổ sung môi trường dinh dưỡng trong 1L gồm NaNO₃ 2,5g; NaHCO₃ 13,6g, Na₂CO₃ 4g; K₂HPO₄.H₂O 0,5g; K₂SO₄ 1g, FeSO₄.7H₂O 0,01g, vi lượng MoO₃ 0,015g, ZnSO₄ 0,11g ; vitamin B₁, B₆, B₁₂ 1ml và đưa vào bể nuôi ở mức nước 40-60cm.

Giống sau khi nhân trong phòng được đưa ra bể nuôi bổ sung với mật độ OD₅₆₀ 0,2-0,3.

Với điều kiện tự nhiên tại Quảng Xương (Thanh Hóa) có cường độ chiếu sáng trung bình 15.000 – 20.000 lux thích hợp cho tảo sinh trưởng và phát triển, khi ánh sáng không đủ vào mùa đông hoặc quá cao vào mùa hè có thể bổ sung đèn chiếu sáng hoặc cắt nắng bằng lưới đen, tốc độ khuấy 30-40 vòng/phút, chu kỳ khuấy/chu kỳ chiếu sáng: 10-12h/ngày. Sau 15 – 25 ngày có thể tiến hành thu hoạch tảo. Một số thời gian trong năm (khoảng tháng 6-7 hoặc tháng 12-01) khi nhiệt độ quá nóng hoặc xuống thấp quá nên tạm dừng nuôi do tảo sinh trưởng chậm và không hiệu quả.

Hiệu quả đạt được của giải pháp hữu ích

Quy trình theo giải pháp hữu ích đơn giản, có khả năng áp dụng để sản xuất thương mại tảo *Spirulina* bằng nước biển trong bể hở. Việc sản xuất này giúp tận dụng nguồn nước biển có sẵn ngoài tự nhiên, đặc biệt trong nước biển chứa nhiều hàm lượng khoáng, vi lượng giúp tảo sinh trưởng và phát triển tốt. Ngoài ra, việc sử dụng

nguồn nước biển góp phần hạn chế sử dụng nguồn nước ngọt đang khan hiếm góp phần vào phát triển nông nghiệp bền vững.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Quy trình nuôi sinh khối tảo *Spirulina platensis* bằng nước biển trong bể hở bao gồm các bước:

a) nhân giống

giống tảo *S. platensis* sau khi tuyển chọn được nhân nuôi trong chai nhựa PET 1,5L có sục khí, sử dụng nước biển pha loãng tới độ mặn nằm trong khoảng 5-10‰ được khử trùng ở nhiệt độ 121°C/20 phút và bổ sung môi trường dinh dưỡng, tính trong 1L, gồm: NaNO₃ 2,5g; NaHCO₃ 13,6g, Na₂CO₃ 4g; K₂HPO₄.H₂O 0,5g; K₂SO₄ 1g, FeSO₄.7H₂O 0,01g, vi lượng MoO₃ 0,015g, ZnSO₄ 0,11g; vitamin B₁, B₆, B₁₂ 1ml, mật độ tiếp giống OD₅₆₀ 0,2, nhiệt độ: 28-35°C, cường độ chiếu sáng 3.000 – 5.000 lux, chu kì chiếu sáng 8-10 giờ/ngày;

b) nuôi sinh khối ngoài bể

chuẩn bị bể nuôi: vệ sinh bể bằng chlorin nồng độ 100-200 ppm trong 30 phút, tháo nước và phơi nắng bể trong 1-2 ngày;

chuẩn bị môi trường nuôi:

- xử lí nước biển: nước biển được bơm lọc qua cát và khử trùng bằng chlorin nồng độ 20-30ppm trong 02 ngày; nước biển sau xử lí được pha loãng tới độ mặn 5-10‰ và đưa vào bể nuôi ở mức nước 40-60cm,

- bổ sung nguồn cacbon, nitơ, khoáng, vitamin, tính trong 1L, gồm NaNO₃ 2,5g; NaHCO₃ 10g, Na₂CO₃ 4g; K₂HPO₄.H₂O 0,5g; K₂SO₄ 1g, FeSO₄.7H₂O 0,01g, vi lượng MoO₃ 0,015g, ZnSO₄ 0,11g; vitamin B₁, B₆, B₁₂ 1ml;

- môi trường nuôi được chuẩn bị có pH 9-10;

tiếp giống: giống tảo *S. platensis* sau khi nhân trong phòng được đưa vào bể môi trường với mật độ OD₅₆₀ 0,2;

điều kiện nuôi:

+ ánh sáng: 10.000 – 25.000 lux, dùng ánh sáng tự nhiên kết hợp với đèn chiếu sáng bổ sung trong trường hợp thiếu sáng hoặc che lưới đen cắt nắng nếu quá nắng,

+ tốc độ khuấy: 30-40 vòng/phút,

+ chu kì khuấy/chu kì chiếu sáng: 10-12 giờ/ngày;

theo dõi sinh trưởng: tốc độ tăng trưởng của tảo được theo dõi hàng ngày bằng phương pháp đo mật độ quang ở bước sóng 560nm;

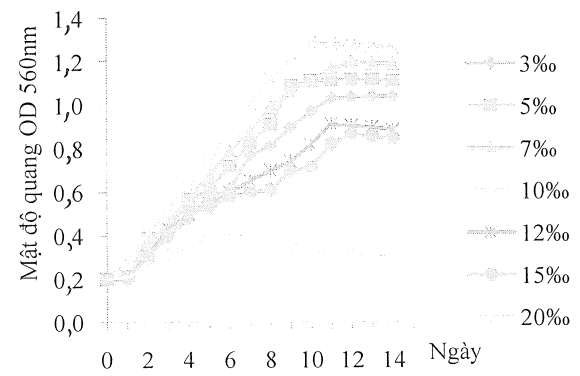
thu hoạch sinh khối: khi mật độ sinh khối tảo đạt trên 1 có thể bắt đầu thu hoạch bằng phương pháp lọc ly tâm và tiến hành bổ sung môi trường/dinh dưỡng để duy trì nhân nuôi liên tục.

2. Quy trình theo điểm 1, trong đó giống tảo được nuôi là *S. Platensis* TH và nước biển dùng để nuôi tảo được pha loãng tới độ mặn 10‰.

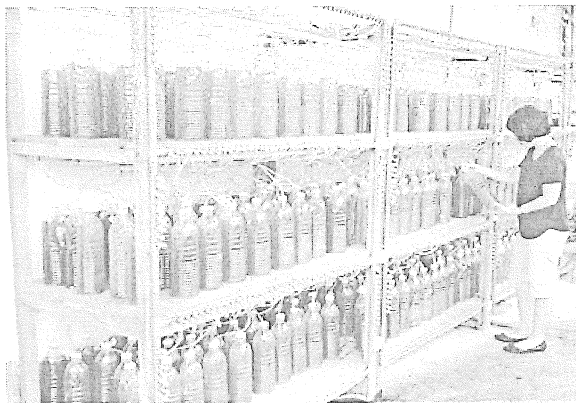
Hình 1a



Hình 1b



Hình 2



Hình 3

