



(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)



**2-0003663**

(51) **C08B 37/12**  
2020.01

(13) **Y**

---

(21) 2-2021-00497

(22) 24/11/2021

(45) 25/09/2024 438

(43) 25/01/2022 406

(73) Viện Nghiên cứu và Ứng dụng công nghệ Nha Trang - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam (VN)

Số 2A, Hùng Vương, Nha Trang, Khánh Hòa

(72) Trần Thị Thanh Vân (VN); Võ Mai Như Hiếu (VN); Cao Thị Thúy Hằng (VN); Trần Nguyễn Hà Vy (VN); Nguyễn Thị Thuận (VN); Phạm Đức Thịnh (VN); Nguyễn Ngọc Linh (VN).

---

(54) QUY TRÌNH SẢN XUẤT AGA TỪ RONG CÂU (GRACILARIA)

(57) Sáng chế đề cập đến quy trình sản xuất aga từ rong câu (*Gracilaria*), trong đó quy trình này bao gồm các bước: (i) sơ chế nguyên liệu; (ii) tẩy trắng rong câu; (iii) xử lý kiềm; (iv) chiết aga; và (v) thu aga.

### **Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập**

Sáng chế đề cập đến quy trình sản xuất aga từ rong câu (*Gracilaria*) không sử dụng bột trợ lọc nhằm mục đích ứng dụng trong công nghệ thực phẩm và công nghệ sinh học.

### **Tình trạng kỹ thuật của sáng chế**

Aga là polysaccarit mạch thẳng, có khả năng tạo gel và tan trong nước, được chiết từ các loài rong chứa aga (agaphyte) thuộc ngành rong đỏ, thuộc các chi *Gelidium*, *Gelidiella*, *Pterocladia*, *Gracilaria*, *Graciliaropsis*, và *Ahfeltia*. Cấu trúc hóa học của aga bao gồm sự lặp lại của disaccarit agarobioza bao gồm các monome luân phiên nhau là  $\beta$ -D-galactopyranoza và 3,6-anhydro- $\alpha$ -L-galactopyranoza thông qua liên kết (1-3) hoặc (1-4). Trong đó nhóm hydroxyl có thể được thay thế bởi nhóm sulfat hemieste và metyl ete và đôi khi bởi vòng pyruvic 4,6-O-[(R)-1-carboxyetyliden] [1]. Tùy theo sự có mặt của nhóm sulfat hay không mà tên gọi của chúng là agarpectin hay agarozơ và nếu nhóm sulfat có mặt tại vị trí C6 trong vòng galactopyranoza, chúng có tên gọi là porphyran. Chất lượng aga phụ thuộc vào hàm lượng agarozơ chứa trong chúng, vì vậy trong quy trình công nghệ sản xuất aga từ một số loài rong thuộc chi *Gracilaria* thường có giai đoạn xử lý kiềm để loại bỏ nhóm sulfat nhằm chuyển hóa agarpectin (dạng porphyran) sang dạng agarozơ để tăng chất lượng của aga.

Do khả năng tạo gel đặc biệt mà không cần một sự hỗ trợ của bất kỳ hóa chất nào, aga được sử dụng rộng rãi trong các lĩnh vực sản xuất, khoa học và kỹ thuật. [2,3]. Đặc biệt, các ngành công nghiệp thực phẩm và công nghệ sinh học sẽ có những đòi hỏi khác nhau về chất lượng aga thông qua các thông số chính gồm về thành phần như sulfat, khoáng và tỷ lệ 3,6 anhydrogalactozơ/galactozơ cũng như tính chất tạo gel như sức đông, nhiệt độ tan gel và nhiệt độ tạo gel.

Trên thế giới, nguyên liệu chính để sản xuất aga bao gồm các loài rong đỏ thuộc chi rong câu (*Gracilaria*) chiếm 60% sản lượng nguyên liệu, chi *Gelidium* chiếm 30% và 10% còn lại thuộc các chi *Gelidiella*, *Pterocladia*, *Porphyra* [2, 3]. Tại Việt Nam, nguyên liệu chính cho sản xuất aga chủ yếu thuộc chi rong câu (*Gracilaria*) và một lượng nhỏ thuộc chi rong *Gelidiella* cụ thể các loài rong như sau [3,4]:

- *Gracilaria asiatica* (Miền Bắc Việt Nam)
- *Gracilaria tenuistipitata* (toàn quốc)
- *Gracilaria heteroclada* (Miền Trung và Miền Nam Việt Nam)
- *Gelidiella acerosa* (không nhiều, chủ yếu ở các tỉnh miền Trung Việt Nam).

Các nghiên cứu ban đầu cho thấy hàm lượng aga trong rong Việt Nam được đánh giá qua các thông số về sức đông, độ nhớt, nhiệt độ tạo gel và nhiệt độ tan gel (bảng 1) cho thấy hàm lượng aga chiết tự nhiên (chiết bằng nước) của một số loài rong câu Việt Nam dao động từ 15,5 đến 40% trong khi hàm lượng aga khi được chiết xử lý kiềm dao động từ 12,5% đến 28,5%. Chất lượng của aga khi chiết xử lý kiềm có sức đông dao động từ 180g/cm<sup>2</sup> đến 903g/cm<sup>2</sup> trong khi chất lượng aga chiết tự nhiên (chiết bằng nước) chất lượng không cao. Để sử dụng aga trong công nghiệp thực phẩm đòi hỏi sức đông trong khoảng 300g/cm<sup>2</sup> và trong công nghệ sinh học đòi hỏi sức đông cao hơn và nhiệt độ tan tạo gel càng nhỏ càng tốt. Như vậy, nguồn lợi rong câu Việt Nam có thể là nguồn nguyên liệu tiềm năng để sản xuất aga ứng dụng trong công nghệ thực phẩm và công nghệ sinh học và trong quy trình công nghệ sản xuất aga bắt buộc phải qua giai đoạn xử lý kiềm.

Bảng 1. Hiệu suất chiết aga và tính chất gel của aga chiết tự nhiên (N) và chiết xử lý kiềm từ một số loài rong chứa aga thuộc chi rong câu sinh trưởng tại Việt Nam [5]

| Tên loài rong            | Ký hiệu mẫu | Hiệu suất Chiết | Tính chất gel của aga      |                      |                      |
|--------------------------|-------------|-----------------|----------------------------|----------------------|----------------------|
|                          |             |                 | Sức đông g/cm <sup>2</sup> | Nhiệt độ tan gel(°C) | Nhiệt độ tạo gel(°C) |
| <i>G. asiatica</i>       | N           | 27,9            | 91,7                       | 88,5-90              | 42-44                |
|                          | A           | 28,5            | 296,0                      | 87,5-89,5            | 42-44                |
| <i>G. tenuispititata</i> | N           | 15,5            | 112                        | 86-87                | 39-42                |
|                          | A           | 17,5            | 932                        | 88,5-90,5            | 39-42                |
| <i>G. heteroclada</i>    | N           | 34,4            | 60,6                       | 78,5-79,5            | 40-41                |
|                          | A           | 21,4            | 637,3                      | 94-90                | 36-40                |
| <i>G. fisheri</i>        | N           | 31,3            | 33,3                       | 74,5-76,5            | 33-36                |
|                          | A           | 12,5            | 180,6                      | 76,5-78              | 35-38                |
| <i>G. firma</i>          | N           | 40              | 102,9                      | 88,5-91,5            | 32-34                |
|                          | A           | 12,5            | 406,3                      | 92,5 -94             | 32 - 34              |

Công nghệ sản xuất aga theo mô hình công nghiệp thực hiện đầu tiên vào năm 1921 tại California [6]. Quy trình đơn giản như sau: các loài tảo đỏ *Gloiapeltis* được tẩy trắng bằng clorin theo tỷ lệ khối lượng rong:clorin = 9:1, sau khi tẩy trắng, đem rửa bằng dung dịch natri thiosulfat và rửa sạch lại bằng nước, đem đun nóng cho đến khi thu được dung dịch đồng nhất, để lạnh -5°C sau đó tách nước - thu “aga” (về sau này phát hiện đây chính là carrageenan). Ngày nay, một số cơ sở sản xuất aga tại một số quốc gia như Mỹ, Nhật Bản và Trung Quốc vẫn thường sản xuất aga vào mùa đông để các dịch chiết aga đông tự nhiên để tiết kiệm năng lượng.

Năm 1948, một số thiết bị được đưa vào công nghệ nấu chiết aga được thực hiện bởi tác giả Joseph Francis Byrne và CS [8] khi đưa ra quy trình nấu chiết aga bằng thiết bị nồi áp suất, sau đó sử dụng thiế

t bị lọc, cô đặc và sấy khô. Quy trình này áp dụng với loài rong đỏ *Chondrus crispus*.

Mặc dù có nhiều thay đổi trong quy trình công nghệ sản xuất aga tùy theo nguyên liệu là loài rong nào và mục đích sử dụng aga, tuy nhiên, quy trình chiết aga thường bao gồm các bước sau:

- Rửa và làm sạch rong biển bằng nước;
- Xử lý rong biển với axit hoặc kiềm tùy thuộc vào bản chất của loài rong chứa aga và sau đó là loại bỏ axit hoặc kiềm;
- Chiết aga từ rong biển trong điều kiện áp suất;
- Lọc dịch chiết xuất nóng với sự hỗ trợ bột trợ lọc;
- Phân loại dịch chiết nóng;
- Tạo gel dịch chiết (Làm đông);
- Tách nước gel để làm sạch gel (Tan băng);
- Thu nhận aga sau khi tách nước;
- Sấy và nghiền bột aga bằng phương pháp thông thường hoặc phương pháp sấy phun.

Đối với các nguyên liệu rong có hàm lượng aga cao như *Gelidium*, *Gelidiella*, *Pterocladia*, không nhất thiết bao gồm công đoạn xử lý kiềm hoặc axit, chỉ cần chiết với nước nóng cũng có thể thu được aga có chất lượng cao. Còn đối với rong *Gracilaria*, do có đặc điểm là chứa hàm lượng sulfat cao và hàm lượng agaroza thấp nên aga làm từ nguồn nguyên liệu này có chất lượng kém.

Mặc dù công nghệ chiết xuất aga đã có lịch sử cả 100 năm, cho đến ngày nay, vẫn cần các giải pháp cải tiến cho từng công đoạn nhằm giảm chi phí sản xuất và/hoặc để thu được sản phẩm aga có chất lượng cao. Y. Freile-Pelegrin và cs [8] đã đưa ra 2 điều kiện xử lý kiềm đối với rong *Gracilaria cornea* để thu nhận được 2 dạng sản phẩm aga sử dụng cho thực phẩm và cho công nghệ sinh học, đó là xử lý bằng NaOH 0,5 – 1,0% và NaOH 3,0-5,0% tại nhiệt độ 80-85°C trong 1 giờ. Trong khi đó, nhóm tác giả Dora Luz Arvizu-Higuera và cs [9] lại đưa ra điều kiện xử lý kiềm tối ưu đối

với rong *Gracilaria vermiculophylla* là NaOH 8,5% tại nhiệt độ 85°C trong 0,5 giờ. Để tiết kiệm năng lượng, Haiyan Li và cs [10] kết hợp xử lý kiềm và tẩy trắng aga bằng điều kiện xử lý kiềm như sau: NaOH nồng độ 3-5% và chiếu sáng trong 5 giờ.

Lebbar Rachid và các cs người Pháp [11] đưa ra ý tưởng độc đáo hơn là dùng sắc ký trao đổi ion để tách chất khoáng, chất màu và loại sulfat như sau: Dung dịch aga sau khi chiết được đưa qua cột nhựa trao đổi cation BERLITE 120 dạng  $\text{Na}^+$  để loại các khoáng như Ca, Mg, v.v., rồi đưa tiếp sang cột nhựa trao đổi anion DUOLITE A172 dạng  $\text{Cl}^-$  để loại chất màu và cuối cùng đưa qua cột nhựa anion yếu hoặc trung bình dạng  $\text{OH}^-$  để loại sulfat thông qua phản ứng đóng vòng tạo 3,6 anhydrogalactose làm tăng khả năng tạo gel của aga. Tuy nhiên, việc áp dụng patent này không hiệu quả với các nguyên liệu rong chứa aga có chất lượng kém do khả năng loại sulfat của nhựa anion dạng  $\text{OH}^-$  không cao và việc loại bỏ các chất màu hấp thụ trên cột trao đổi ion rất khó khăn. Để thu được aga có chất lượng cao các nhà khoa học Trung Quốc [12] đã sử dụng phương pháp xử lý rong bằng dung dịch kiềm (NaOH) pha loãng, giai đoạn axit hóa bằng axit oxalic và HCl và tẩy trắng sản phẩm aga bằng hỗn hợp các hóa chất:  $\text{NaClO}$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ , EDTA, trong đó tất cả các bước tiến hành trên đều được hỗ trợ bằng kỹ thuật siêu âm, nhờ vậy, giảm đáng kể thời gian xử lý kiềm, hàm lượng hóa chất xử lý mà vẫn bảo đảm chất lượng aga vượt trội so với aga thu được theo phương pháp thông thường. Gần đây, các nhà khoa học Hàn Quốc [13] đã sử dụng kỹ thuật vi sóng để làm tan băng thu gel aga và giải pháp mang lại hiệu quả kinh tế cao khi rút ngắn thời gian tan băng gel aga và giảm diện tích chứa khối băng aga tại nhà máy tạo băng aga bằng khí hậu tự nhiên. Hơn nữa, việc sử dụng vi sóng còn có công dụng kép là chức năng khử trùng sản phẩm aga, ổn định quy trình sản xuất cho thực phẩm.

Các nhà khoa học Nga [14,15] đưa ra quy trình chiết aga từ loài rong *Ahnfeltia tobuchiensis* tại điều kiện nhiệt độ cao 110 -120°C bằng  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  nồng độ 1%, sau khi lọc, thu được sản phẩm aga có chất lượng tương đương với agarose có sức đông lên tới 900g/cm và hàm lượng sulfat là 0,3%. Tuy nhiên, việc ứng dụng kết quả này

trong thực tế khó khăn do đòi hỏi thiết bị hiện đại và chi phí cao. Các nhà khoa học Nga và Việt Nam [16] đưa ra quy trình thu nhận aga ứng dụng cho thực phẩm tương đối đơn giản và hiệu quả khi bỏ qua giai đoạn xử lý kiềm rong đỏ và loại bỏ màu bằng cách ngâm rong trong môi trường axit có pH từ 2 đến 6,9 tại nhiệt độ từ 5°C đến 30°C và thời gian từ 0,25 đến 3 giờ. Tùy theo từng loài rong, điều kiện chiết có thể dao động tại pH từ 5 đến 12, thời gian gian từ 1 đến 4 giờ, tại nhiệt độ từ 97 đến 132°C, ví dụ như loài rong thuộc chi *Gracilaria* có điều kiện chiết là pH=6 tại 97°C trong 4 giờ. Phương pháp này nhanh, hiệu quả, tuy nhiên thu được aga có chất lượng không cao, chỉ thích hợp cho một số ứng dụng cho thực phẩm. Để khắc phục nhược điểm này và nâng cao chất lượng của aga, nhóm tác giả trên [17] đưa ra quy trình xử lý kiềm của các mẫu aga như sau: aga được hòa tan trong nước và điều chỉnh pH nằm trong khoảng từ 7 đến 14, được ủ trong thời gian từ 0,4 đến 3 giờ tại nhiệt độ từ 20 đến 90°C. Các điều kiện xử lý trên thay đổi phụ thuộc vào từng loài rong đỏ khác nhau. Quy trình này hiệu quả với quy mô nhỏ nhưng khó thực hiện quy mô lớn do khả năng hòa tan của aga thấp nên thể tích dung dịch aga sử dụng lớn, sau đó để thu nhận aga lại cần công đoạn làm đông aga như quy trình chung ban đầu nên hiệu quả kinh tế không cao. Cùng với ý tưởng xử lý kiềm các mẫu aga, các nhà khoa học Trung Quốc [18] đưa ra quy trình có những thay đổi như sau: Hòa tan aga trong dung dịch kiềm tại nhiệt độ từ 50 đến 90°C trong thời gian từ 2 đến 10 giờ, sau đó trung hòa và loại bỏ các chất màu cũng như hàm lượng kim loại trong mẫu bằng nhựa trao đổi ion và tác nhân tạo phức EDTA dạng muối của Na. Gần đây, Ni Hui Xie và Cộng sự [19] đã sử dụng phương pháp mô hình toán học sử dụng RSME (Căn bậc 2 của trung bình bình phương sai số) dựa trên mô hình thí nghiệm Box-Behnken để tối ưu hóa quá trình xử lý kiềm đối với loài rong *Gracilaria*, với các thông số tối ưu sau: nồng độ NaOH từ 1 đến 8,0%; nhiệt độ từ 50-90°C, thời gian từ 0,5 đến 3,5 từ các hàm mục tiêu như hiệu suất chiết, hàm lượng 3,6 anhydrogalactose, sức đông, chất màu.

Qua tham khảo các tài liệu patent, tác giả sáng chế nhận thấy rằng, tùy theo mục đích sử dụng aga mà các quy trình có thay đổi phù hợp với sản phẩm thu được. Tuy

nhiên, tất cả các patent đều giải quyết các vấn đề chính sau: tẩy màu aga nhằm tách các chất màu và các kim loại ra khỏi aga, xử lý kiềm nhằm giảm hàm lượng sulfat, tăng chất lượng aga. Để đạt được các mục đích này, có thể sử dụng các hóa chất như tác nhân oxy hóa khử, tác nhân tạo phức trong môi trường axit hoặc môi trường kiềm kết hợp với các thiết bị hiện đại như siêu âm, vi sóng, v.v.. Ngoài ra, còn bao gồm các cải tiến về thiết bị sử dụng trong các quá trình tách chiết và thu nhận aga nhằm giảm chi phí sản xuất, hạ giá thành sản phẩm.

Tại Việt Nam, công nghệ chế biến aga bắt đầu vào năm 1972 ở Hải Phòng và hiện nay, thêm một số cơ sở sản xuất ở thành phố Hồ Chí Minh và một số tỉnh ven biển miền trung. Hiện nay, ngành sản xuất aga đã tăng trưởng gấp nhiều lần. Ở Hải Phòng, hiện có khoảng 10 cơ sở sản xuất với tổng sản lượng khoảng 430 tấn aga/năm (tiêu thụ khoảng 1.100 tấn rau câu nguyên liệu/tháng). Công nghệ sản xuất aga vẫn theo quy trình công nghệ do Bộ Thủy sản đưa ra và có một số thay đổi về thiết bị lọc dịch chiết aga hoặc quy trình tách nước bằng ép cơ học các dịch chiết aga sau khi tạo gel để bỏ qua giai đoạn tạo băng gel aga theo sơ đồ dưới đây:

Rong câu → Rửa → Xử lý kiềm → Tẩy bằng chất hoạt động bề mặt → Tẩy màu → Ngâm muối axetat → Nấu chiết → Xử lý trợ lọc → Dịch lọc → Định hình → Loại nước → Làm khô → Nghiền bột → Bao gói.

Như vậy, các cơ sở sản xuất aga từ rong câu Việt Nam với quy trình cũ so với thế giới mà chưa có sự thay đổi cải tiến về công nghệ cũng như có những áp dụng kỹ thuật hiện đại trong công nghệ chế biến aga. Công ty Cổ phần Rau quả Việt Xô tại Hải Phòng là một trong hai doanh nghiệp sản xuất aga lớn nhất ở Việt Nam, với sản lượng khoảng 30 tấn/tháng. Tại đây, quy trình công nghệ sản xuất aga vẫn theo quy trình cũ do Bộ Thủy sản đưa ra và có một số thay đổi cụ thể như sau: sau khi xử lý kiềm, thay việc tẩy trắng bằng chất hoạt động bề mặt bằng việc sử dụng nước javel ( $\text{NaClO}$ ) và bằng Axit Oxalic ( $\text{C}_2\text{H}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ); Bỏ qua giai đoạn ngâm muối axetat. Quy trình cụ thể như sau:

Bước 1: Nguyên liệu rong biển

Rong câu sau khi thu hoạch từ các đầm nuôi trồng được loại bỏ sơ bộ bùn, đất, ốc, các loại rong tạp khác. Sau đó được rửa sơ bộ tại các đầm và được phơi khô tại các bãi cỏ hoặc những nơi khô ráo rồi đóng bao hoặc để rời vận chuyển về kho bảo quản.

#### Bước 2: Xử lý kiềm

Rong câu được cân và chuyển vào các bể (nồi) để xử lý kiềm. Xút (NaOH) được cho vào nồi gia nhiệt có chứa sẵn nước. Cấp nhiệt cho xút tan hoàn toàn thành dung dịch kiềm và nâng nhiệt độ của dung dịch lên đến nhiệt độ xử lý kiềm của rong. Bơm dung dịch kiềm vào bể chứa rong câu, thời gian xử lý kiềm khoảng 3 giờ.

#### Bước 3: Rửa rong sau xử lý kiềm

Rong câu sau khi xử lý kiềm xong, được rửa bằng nước sạch để loại bỏ hết lượng kiềm còn sót trong quá trình xử lý. Số lần rửa thường là 3 lần. Sau khi rửa xong, nước rửa trong và có độ pH=7,0

#### Bước 4: Tẩy Javel (NaClO)

Sau khi rửa sạch, rau câu được đưa vào tẩy Javel, mục đích của quá trình là để tẩy diệt lục trong rau câu, tạo điều kiện cho quá trình tẩy trắng sau này.

Rửa tẩy Javel : Dùng nước sạch để rửa Javel, thông thường rửa từ 2 đến 3 lần thì sạch. Kết thúc rửa, nước rửa trong và pH=7,0 .

#### Bước 5: Tẩy trắng rong câu bằng Axit Oxalic ( $C_2H_2O_4.2H_2O$ )

Dùng axit oxalic để tẩy trắng rong câu, thời gian tẩy khoảng từ 20 – 30 phút.

Rửa tẩy axit : Dùng nước sạch để rửa sạch axit oxalic còn sót lại trong rong, thông thường rửa từ 2- 3 lần. Sau khi rửa xong, nước rửa trong, pH = 6,5 – 7,0.

#### Bước 6: Ngâm rong trắng nhả hết axit oxalic

Rong câu sau khi được rửa sạch được chuyển ra các rọ và ngâm vào bể bê tông để tiếp tục ngâm rửa để loại bỏ hết axit dư còn sót lại trong rong. Thời gian ngâm thường từ 10 – 12 giờ.

#### Bước 7: Nấu chiết và lọc

Dùng nước sạch để nấu chiết aga, aga được chiết rút ra trong nước sôi tạo thành dung dịch có dạng sệt nhót. Kết thúc quá trình nấu khi rong đã tan hoàn toàn.

- Lọc sơ bộ: Dịch nấu được lọc qua hệ thống máy sàng rung để loại bỏ tạp chất sơ bộ, dung dịch chứa aga thu về thùng chứa.

- Lọc ép: Dung dịch lọc ở bể chứa được bơm vào máy để lọc. Thiết bị lọc là máy lọc ép khung bản. Dịch lọc chảy xuống máng thu và về thùng chứa.

Bước 8: Làm đông thạch.

Dịch thạch nóng trong được bơm từ thùng chứa qua hệ thống làm đông thạch. Quá trình làm đông thạch thực hiện qua hai cấp. Cấp 1 là hạ nhiệt độ của thạch xuống nhiệt độ 50°C bằng máy giảm nhiệt. Cấp 2 là hạ xuống nhiệt độ đông của thạch bằng hệ thống trao đổi nhiệt dạng ống lồng ống.

Bước 9: Ép tách nước

- Ép sơ bộ: Thạch sau khi làm đông được đóng vào các bao và được xếp vào các rọ, xếp đá bê tông vào để ép tách nước.

- Ép tinh: Sử dụng máy ép thủy lực để tách nước, giai đoạn này có thể tách được 60 – 70% lượng nước.

Bước 10: Sấy aga

Thạch sau khi ép được bóc ra khỏi túi và chuyển sang máy cắt để cắt thành những sợi nhỏ. Sau đó được chuyển sang sấy khô bằng hệ thống sấy bằng khí động.

Bước 11: Nghiền

Xay nhỏ sản phẩm sau sấy thành dạng bột mịn.

Bước 12: Đóng gói và bảo quản.

Nhược điểm của phương pháp thu nhận aga tại Việt nam nói chung như sau:

- Sử dụng hóa chất tẩy trắng rong tiến hành 03 lần (trước xử lý kiềm 1 lần và sau xử lý kiềm 02 lần) làm giảm chất lượng của aga do sử dụng hóa chất tẩy màu là axit có tính khử và chất oxy hóa có tính kiềm ảnh hưởng đến khối lượng phân tử aga từ đó làm giảm chất lượng của aga. Chính vì vậy, aga thu được theo quy trình trên chỉ sử dụng chủ yếu cho công nghệ thực phẩm.

- Quy trình lọc dung dịch aga sử dụng thiết bị lọc áp lực (máy lọc khung bản) và phải dùng bột trợ lọc diatomit để tách hỗn hợp dung dịch aga và bã rau câu. Tuy nhiên lượng bột trợ lọc phải dùng rất lớn, trung bình khoảng 2kg bột trợ lọc/kg (chi phí bột trợ lọc khoảng 25.000đ/kg sản phẩm), số lượng bột trợ lọc Công ty Cổ phần Rau quả Việt-Xô sử dụng 1 năm 800 tấn ( giá mua gần 10 tỷ đồng), chưa kể thải ra môi trường một lượng lớn bột trợ lọc có chứa xenluloza không thu hồi rất lãng phí.

### **Bản chất kỹ thuật của sáng chế**

Mục đích của sáng chế là nhằm giải quyết các tồn tại nêu trên. Theo đó, sáng chế đề cập đến quy trình sản xuất aga từ rong câu (*Gracilaria*), trong đó quy trình này bao gồm các bước:

- (i) Sơ chế nguyên liệu bằng cách: rửa sạch rong câu *Gracilaria* sau khi thu hoạch, phơi khô đến độ ẩm <22%;
- (ii) Tẩy trắng rong câu: cho rong câu được sơ chế ở bước i) vào ngâm trong nước ở nhiệt độ phòng đến khi trương nở hết, vớt ra và ngâm trong hỗn hợp dung dịch axit oxalic nồng độ 1% và axit sulfuric nồng độ 1% trong 30 phút, vớt ra rửa nước 2 lần cho hết axit;
- (iii) Xử lý kiềm: cho rong sau khi được tẩy trắng vào dung dịch kiềm NaOH nồng độ 10,0% theo tỷ lệ rong câu:dung dịch kiềm NaOH là 1:10 (kg/lít) cho vào nồi chiết bằng kim loại inox chịu kiềm, đun nóng trong 3 giờ tại nhiệt độ 80°C, dung dịch xử lý kiềm và bã rong được lọc qua bằng vải cotton lấy bã rong, dịch lọc quay vòng lại sử dụng cho đợt xử lý của đợt sau, bã rong được rửa bằng nước 2 lần cho đến khi pH nước rửa có độ pH=10-12;
- (iv) Chiết aga bằng cách bã rong sau khi xử lý kiềm ở bước (iii) được cho vào nước theo tỷ lệ bã rong:nước là 1:20 (kg/lít) trong nồi chiết bằng kim loại inox chịu kiềm được điều chỉnh độ pH=10-12 và đun nóng trong 3 giờ tại nhiệt độ 90°C; lọc thô bằng lưới kim loại, sau đó ly tâm tại nhiệt độ 80°C với tốc độ 10.000 vòng/phút trong thời gian 15 phút cho đến khi dung dịch trở nên trong suốt; và

(v) thu aga bằng cách dung dịch thu được ở bước (iv) được rót ra khay làm lạnh và tách nước bằng ép nước hoặc làm khô bằng sấy phun, thu sản phẩm aga và kiểm tra chất lượng của sản phẩm.

### **Mô tả vắn tắt các hình vẽ**

Hình 1 là phổ  $^{13}\text{C}$  NMR của mẫu aga thu được từ quy trình theo sáng chế.

Hình 2 là hình minh họa khả năng phân tách ADN của aga thu được từ quy trình theo sáng chế và agaroza thương mại. Trong đó, hình 2A: aga theo sáng chế và 2B: Agaroza của hãng ThermoFisher.

### **Mô tả chi tiết sáng chế**

Sau đây, sáng chế mô tả chi tiết các phương án cụ thể, tuy nhiên, các phương án này chỉ nhằm mục đích mô tả chi tiết sáng chế, chứ không nhằm mục đích hạn chế phạm vi yêu cầu bảo hộ của sáng chế.

Sáng chế đề cập đến quy trình sản xuất aga từ rong câu (*Gracilaria*), trong đó quy trình này bao gồm các bước:

(i) Sơ chế nguyên liệu bằng cách rong câu *Gracilaria* sau khi thu hoạch được rửa sạch chất bẩn cơ học, đem phơi khô tự nhiên cho đến khi đạt độ ẩm  $< 22\%$ ;

(ii) Tẩy trắng rong câu bằng cách cho rong câu được sơ chế ở bước i) vào ngâm trong nước ở nhiệt độ phòng khi trương nở hết, vớt ra và ngâm trong hỗn hợp dung dịch axit oxalic nồng độ 1% và axit sulfuric nồng độ 1% trong 30 phút, vớt ra rửa nước 2 lần cho hết axit;

(iii) Xử lý kiềm bằng cách rong sau khi được tẩy trắng được cho vào dung dịch kiềm NaOH nồng độ 10,0% theo tỷ lệ rong câu:dung dịch kiềm NaOH là 1:10 (kg/lít) cho vào nồi chiết bằng kim loại inox chịu kiềm, đun nóng trong 3 giờ tại nhiệt độ  $80^{\circ}\text{C}$ , dung dịch xử lý kiềm và bã rong được lọc qua bằng vải cotton lấy bã rong, dịch lọc quay vòng lại sử dụng cho đợt xử lý của đợt sau, bã rong được rửa bằng nước 2 lần cho đến khi pH nước rửa có độ pH=10-12;

(iv) Chiết aga bằng cách bã rong sau khi xử lý kiềm ở bước (iii) được cho vào nước theo tỷ lệ bã rong:nước là 1:20 (kg/lít) trong nồi chiết bằng kim loại inox chịu kiềm được điều chỉnh độ pH=10-12 và đun nóng trong 3 giờ tại nhiệt độ 90°C; lọc thô bằng lưới kim loại, sau đó ly tâm tại nhiệt độ 80°C với tốc độ 10.000 vòng/phút trong thời gian 15 phút cho đến khi dung dịch trở nên trong suốt; và

(v) thu aga bằng cách dung dịch thu được ở bước (iv) được rót ra khay làm lạnh và tách nước bằng ép nước hoặc làm khô bằng sấy phun, thu sản phẩm aga và kiểm tra chất lượng của sản phẩm.

Có thể thấy quy trình theo sáng chế có những điểm khác biệt sau:

- Tiến hành tẩy màu bằng hỗn hợp dung dịch axit oxalic và axit sulfuric trước khi xử lý kiềm rong *Gracilaria* ở nhiệt độ phòng (khoảng 30°C);
- Tiến hành xử lý kiềm 02 lần như sau: lần 1 xử lý rong *Gracilaria* tại điều kiện nồng độ NaOH là 10,0% cao hơn các quy trình khác, lần 2 xử lý kiềm nhẹ trong quá trình chiết aga nhằm tăng chất lượng aga;
- Tiến hành chiết aga trong môi trường kiềm tại điều kiện pH từ 10 đến 12;
- Thay thế hệ lọc khung bản có sử dụng bột trợ lọc là diatomit bằng ly tâm với tốc độ 10.000 vòng/phút trong 15 phút

#### **Ví dụ thực hiện sáng chế**

- Cân 0,5 kg Rong *Gracilaria* (3 loại *G. asiatica*, *G. tenuistipitata* và *G. heteroclada*) sau khi thu hoạch, rửa sạch chất bẩn cơ học, đem phơi khô tự nhiên cho đến khi đạt độ ẩm < 22%, sau đó đem cắt nhỏ bằng máy cắt rong tới kích thước 2-5mm.

- Đưa 0,5 kg rong khô đã cắt vào 5L nước và ngâm ở nhiệt độ phòng trong thời gian 1 giờ đến khi rong trương nở hết, vớt ra cho vào nồi chiết làm bằng vật liệu inox chịu axit, thêm vào đó 1 lít dung dịch hỗn hợp axit oxalic nồng độ 1% và axit sulfuric nồng độ 1% và ngâm trong 30 phút. Vớt rong ra rửa 02 lần cho hết axit với thể tích mỗi lần là 5 lít nước sinh hoạt.

- Rong sau khi được tẩy trắng (0,5 kg) và 5 lít dung dịch kiềm NaOH 10,0% được cho vào nồi chiết bằng kim loại inox chịu kiềm. Đun nóng trong 3 giờ tại nhiệt độ 80°C. Dung dịch xử lý kiềm và bã rong được lọc qua bằng vải cotton lấy bã rong. Dịch lọc quay vòng lại sử dụng cho đợt xử lý của đợt sau. Bã rong được ngâm rửa bằng nước 2 lần cho đến khi pH nước rửa có pH=10-12.

- Chiết aga: Rong sau khi xử lý kiềm và 10 lít nước (có độ sạch theo tiêu chuẩn nước uống theo TCVN 6096-2004) cho vào nồi chiết bằng kim loại inox chịu kiềm; chỉnh pH về 10-12 và đun nóng trong 3 giờ tại nhiệt độ 90°C.

- Hỗn hợp dịch chiết aga và bã rong được lọc thô bằng vải cotton để loại bã thô sau đó dung dịch được ly tâm tại nhiệt độ 80°C với tốc độ 10.000 vòng/phút trong thời gian 15 phút cho thu được 8,5 lít dung dịch aga chất lượng cao.

- Dung dịch chiết aga được rót ra khay làm lạnh và tách nước bằng ép tách nước hoặc làm khô bằng sấy phun, thu được 85g sản phẩm aga và kiểm tra chất lượng của sản phẩm.

Hình 1 thể hiện phổ  $^{13}\text{C}$  NMR của sản phẩm aga được đo tại điều kiện 70°C với chất chuẩn là DSS (axit 4,4-dimetyl-4-silapentan-1-sulfonic).

Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR xác nhận sản phẩm aga thu được theo quy trình theo sáng chế là sản phẩm aga tinh sạch do trên phổ chỉ xuất hiện các tín hiệu thuộc về 2 monome cơ bản của aga là galactosa và 3,6 anhydrogalactosa và tương tự như phổ  $^{13}\text{C}$  NMR của mẫu agaroza của hãng ThermoFisher.

Sản phẩm aga thu được có thành phần chính và tính chất gel như sau:

Hàm lượng tro: 0,9%

Hàm lượng sulfat: 0,5%

Sức đông ( $\text{g}/\text{cm}^2$ ) : 980,0

Nhiệt độ tan gel : 89°C

Nhiệt độ tạo gel : 40°C

Với hàm lượng sulfat, hàm lượng tro nhỏ hơn 1% và sức đông cao, aga theo sáng chế có thể sử dụng trong công nghệ sinh học, đặc biệt là các thử nghiệm về điện di

gen.

*Đánh giá chất lượng aga thu được từ quy trình theo sáng chế ứng dụng trong công nghệ sinh học:*

Tiến hành đổ gel bằng agarosa của hãng Thermo Fisher, và aga theo sáng chế TN1: nồng độ 1% trong đệm TAE, để gel đông trong 30 phút; cho thang chuẩn ADN (St) từ 250 đến 10000bp và mẫu ADN (Sample) vào gel, tiến hành chạy điện di ở 110V, 40 phút. Kết quả được thể hiện ở hình 2. Độ nét của các băng của thang chuẩn ADN trên 2 loại gel thương mại và theo sáng chế là tương đương nhau.

*Hiệu quả có thể đạt được của sáng chế*

Quy trình theo sáng chế đơn giản, không sử dụng bột hỗ trợ lọc và aga thu được từ quy trình theo sáng chế có chất lượng tương đương với gel thương mại, thích hợp sử dụng trong lĩnh vực công nghệ sinh học.

### Tài liệu tham khảo

1. Usov A I (1998) Structure analysis of red seaweed galactan of agar and carrageenan groups. Food Hydrocolloids. 12(2), 301-8
2. R. Perez (1990), La culture des algues marines dans le monde, IFREMER.
3. Critchley A.T, Ohno M (1998), The seaweed resources of world, JICA, Yokosuka, 431 pp
4. Lê Như Hậu (2006), Đặc điểm sinh học và nguồn lợi chi rong câu (*Gracilaria greville*) ở Việt Nam, Luận án tiến sỹ, Viện Hải dương học, 163 trg.
5. Tran Thi Thanh Van, Bui Minh Ly, Ngo Quoc Buu and Chu Dinh Kinh, 2008, Structural characterization of agar extracted from six red seaweed species growing in the coast of Viet Nam, Asean J. on Science and Technology for Development, (ISSN 0217-5460) Vol 25 Issue 2-Pg 395-405.
6. Chokichi Matsuoka, Process for making agar-agar, US Patent số US1399359A, 1921
7. Joseph Francis Byrne, Hove, and Philip Steward Powling, Extraction and preparation of agar, US Patent 2,439,964, 1948.
8. Y. Freile-Pelegrin, D. Robledo, Influence of alkali treatment on agar from *Gracilaria cornea* from Yucatan Mexico, Journal of Applied Phycology 9: 533–539, 1997.
9. Dora Luz Arvizu-Higuera Y. Elizabeth Rodríguez-Montesinos, Effect of alkali treatment time and extraction time on agar from *Gracilaria vermiculophylla*, J Appl Phycol (2008) 20:515–519.
10. Haiyan Li, Jianyu Huang, Yanjuan Xin, Biaoming Zhang, Yan Jin & Wei Zhang, Optimization and scale-up of a new photobleaching agar extraction process from *Gracilaria lemaneiformis*, J Appl Phycol, DOI 10.1007/s10811-008-9358-9
11. Lebbar Rachid, Delmas Michel, Gaset Antoine (1988), Process for producing agar-agar from algae extraction juice, US Patent, N 4 780 534.
12. Lin Kuncheng, Guo Dongxu, Guo Donghuang, Zhang Zhongan, Ultrasound-assisted preparation method of high strength *Gracilaria* agar, 2014-12-10 CN102964469B Grant.
13. Shin Hyun-jae, Kim Yongun, Park In-In, manufacturing method of agar extracted sea string, KR101759282B1, 2017.
14. Подкорытова А.В., Кушева О.А., Кадникова И.А (1997а), Технология гелеобразующих полисахаридов из смеси дальневосточных

красной водорослей, Технология и биотехнология гидробионтов, Владивосток Изд. ТИНРО Т. 120 С. 225 – 229

15. Подкорытова А.В., Кадникова И.А., Кушева О.А., Соколова В. М. (2002), Способ получения высокоочищенного агара и агарозы из красной водоросли анфельции тобучинской, Патент N 2189990-27.09.2002 ИБ N 2
16. Подкорытова Антонина Владимировна, (RU), Игнатова Татьяна Анатольевна (RU), Буй Минь Ли (VN), Тран Тхи Тхан Ван (VN), «Универсальный способ получения агара из красных водорослей (агарофитов)», RU patent 2435443, C1. 10.12.2011.
17. Подкорытова Антонина Владимировна, (RU), Игнатова Татьяна Анатольевна (RU), Буй Минь Ли (VN), Тран Тхи Тхан Ван (VN), способ модификации агара, RU patent 2431787, C1. 10.12.2011.
18. Jiang Zedong, Yang Yuanfan, WangPingping, Wu Ling Chen, Yanhong Du Xiping Xiao Anfeng, Li Lijun Huang, GaolingCai, Huinong Ni Hui, A kind of preparation method of low sulfate radical content agar, Patent CN 105504099 B, 2018.
19. Ni Hui Xie, ShanyuHu, Yang Chen Yanhong, Jiang Zedong, Zhu Yanbing, Li Qingbiao, Gracilaria agar production method based on mathematical model, Patent CN 111499774 A, 2020.

### **Yêu cầu bảo hộ**

1. Quy trình sản xuất aga từ rong câu (*Gracilaria*), trong đó quy trình này bao gồm các bước:

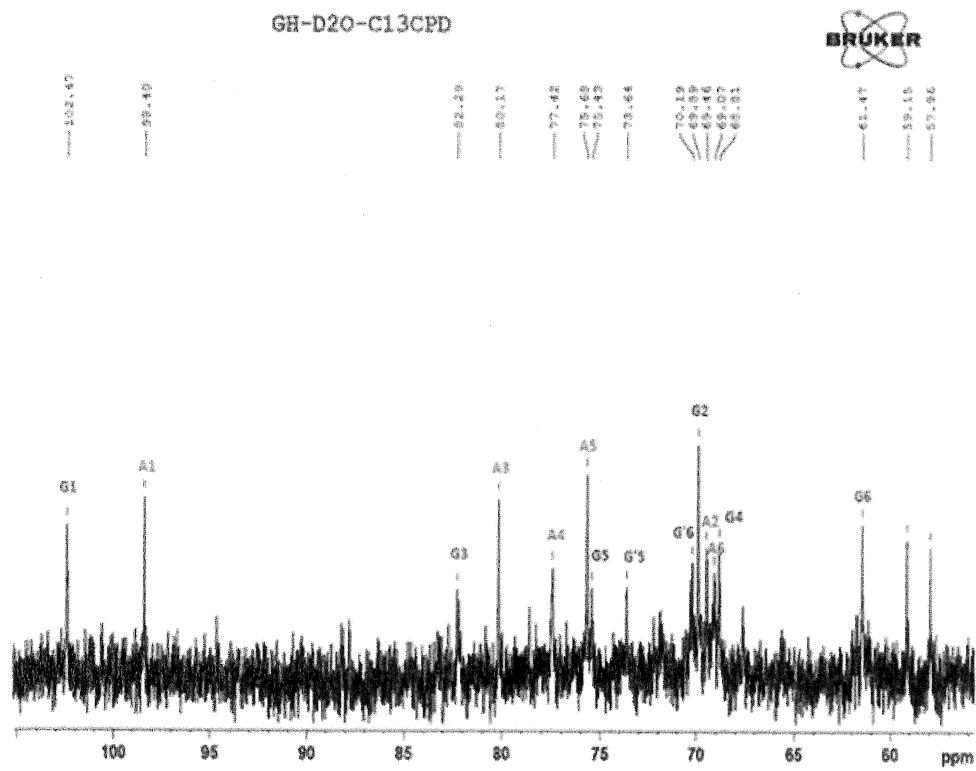
(i) sơ chế nguyên liệu bằng cách rửa sạch rong câu *Gracilaria* sau khi thu hoạch, phơi khô tự nhiên cho đến khi đạt độ ẩm  $< 22\%$ , cắt nhỏ đến kích thước nằm trong khoảng từ 2-5mm;

(ii) tẩy trắng rong câu bằng cách ngâm rong câu được sơ chế ở bước (i) trong nước ở nhiệt độ phòng khi trụng nở hết, vớt ra và ngâm trong hỗn hợp dung dịch chứa axit oxalic nồng độ 1% và axit sulfuric nồng độ 1% trong 30 phút, vớt ra và rửa nước 2 lần để loại axit;

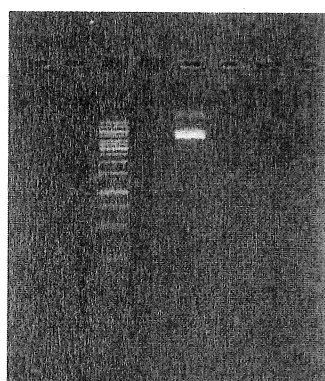
(iii) xử lý kiềm bằng cách cho rong sau khi được tẩy trắng vào dung dịch NaOH nồng độ 10,0% theo tỷ lệ rong câu: dung dịch NaOH là 1:10 (kg/lít), đun nóng trong 3 giờ tại nhiệt độ  $80^{\circ}\text{C}$ , lọc qua vải cotton để thu bã rong và loại dung dịch xử lý kiềm, bã rong được rửa 2 lần bằng nước cho đến khi đạt độ pH=10-12;

(iv) chiết aga bằng cách cho bã rong sau khi xử lý kiềm ở bước (iii) vào nước theo tỷ lệ bã rong:nước là 1:20 (kg/lít) được điều chỉnh đến độ pH=10-12 và đun nóng trong 3 giờ tại nhiệt độ  $90^{\circ}\text{C}$ ; lọc thô bằng lưới kim loại, sau đó ly tâm tại nhiệt độ  $80^{\circ}\text{C}$  với tốc độ 10.000 vòng/phút trong thời gian 15 phút để thu dịch trong; và

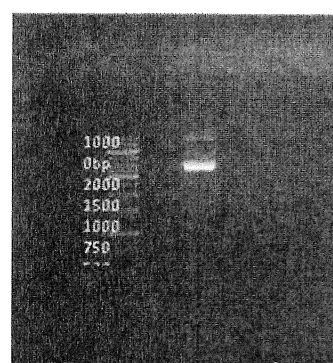
(v) thu aga bằng cách rót dung dịch thu được ở bước (iv) ra khay, làm lạnh và tách nước bằng cách ép nước hoặc làm khô bằng sấy phun để thu được aga thành phẩm.



Hình 1



2A



2B

Hình 2