

NGHIÊN CỨU CHIẾT XUẤT CÁC DƯỠNG CHẤT TỪ RONG MƠ (*Sargassum* sp.) ĐỊNH HƯỚNG SỬ DỤNG LÀM PHÂN BÓN LÁ HỮU CƠ

Trần Nguyễn An Sa*, Trương Bách Chiến, Đỗ Bích Thủy,
Phùng Thị Huyền Trân, Lê Thị Thanh Thương, Nguyễn Thị Thủy Tiên

Trường Đại học Công nghiệp Thực phẩm TP.HCM

*Email: satna@cntp.edu.vn

Ngày nhận bài: 27/7/2018; Ngày chấp nhận đăng: 05/12/2018

TÓM TẮT

Rong mơ (*Sargassum* sp.) là nguồn nguyên liệu sử dụng để chiết xuất fucoidan, alginate và polysaccharide. Ngoài thành phần chính alginate, rong mơ còn chứa lượng lớn các nguyên tố đa lượng, trung và vi lượng và các chất kích thích sinh trưởng như gibberelin, cytokinin... Do đó, rong mơ cũng được dùng như là nguồn bổ sung dưỡng chất cho cây trồng. Nhằm nâng giá trị sử dụng cho rong mơ, nội dung nghiên cứu của báo cáo là khảo sát các điều kiện tối ưu trong quy trình chiết xuất các dưỡng chất từ rong mơ (*Sargassum* sp.) thử nghiệm sử dụng làm phân bón lá hữu cơ. Kết quả nghiên cứu thu được quy trình chiết xuất các dưỡng chất đa lượng, trung và vi lượng từ rong mơ gồm 2 giai đoạn: giai đoạn 1 thực hiện ngâm 24 giờ trong acid, sau đó đun sôi 1 giờ, thu dung dịch 1; giai đoạn 2 thực hiện đun sôi bã rong 1 giờ với Na_2CO_3 thu được dung dịch 2, trộn dung dịch 1 và dung dịch 2 tỷ lệ 1:1 để thu được dung dịch thành phẩm và acid alginic. Kết quả nghiên cứu cũng thu được dung dịch acid thích hợp để chiết xuất có nồng độ phù hợp trong khoảng 0,2–0,5 mol/L và dung dịch Na_2CO_3 tương ứng trong khoảng 0,1–0,25 mol/L; tỷ lệ rong/dung môi phù hợp là 1:5. Ngoài acid HCl, có thể thay thế bằng acid CH_3COOH và H_3PO_4 . Hàm lượng các chất trong dung dịch thành phẩm lần lượt là: nitơ 71,4 mg/100 mL; P_2O_5 11,23 mg/100 mL; K_2O 1,21%; CaO 52,92 mg/100 mL; MgO 71,3 mg/100 mL; Fe 5,41 ppm; Zn 1,3 mg/100 mL; Mn 9,51 ppm.

Từ khóa: Alginate, phân bón lá hữu cơ, rong mơ (*Sargassum* sp.), HCl, Na_2CO_3 .

1. MỞ ĐẦU

Phân bón lá là hỗn hợp gồm các hợp chất dinh dưỡng hòa tan trong nước được phun lên lá để cây hấp thụ. Trong thành phần chất dinh dưỡng của phân bón lá ngoài các nguyên tố đa lượng như đạm, lân (phospho), kali, còn có các nguyên tố trung và vi lượng như Ca, Mg, Fe, Zn, Mn, Cu, B... các nguyên tố này tuy có hàm lượng ít nhưng lại giữ vai trò rất quan trọng vì trong môi trường đất thường thiếu hoặc không có. Do đó, khi bổ sung các chất này trực tiếp qua lá sẽ giúp đáp ứng đủ nhu cầu và cân đối dinh dưỡng cho cây, tạo điều kiện cho cây phát triển đầy đủ trong từng giai đoạn sinh trưởng. Phân bón lá có tác dụng đặc biệt trong những trường hợp cân bổ sung khẩn cấp chất dinh dưỡng đạm, lân, kali hay các nguyên tố trung, vi lượng [1-2]. Hiện nay, các chế phẩm phân bón lá rất phong phú và đa dạng, phân bón lá có thể được sản xuất từ các nguồn nguyên liệu khác nhau có nguồn gốc vô cơ hoặc hữu cơ. Trong thời gian gần đây, trước nhu cầu sử dụng sản phẩm nông nghiệp sạch có nguồn gốc hữu cơ, các sản phẩm phân bón hữu cơ chiết xuất từ rong biển tươi đã và đang được thương mại hóa rộng rãi, nhưng đa số đều được phân phối từ các đơn vị nước ngoài, chưa có sản phẩm nào được sản xuất trực tiếp từ nguồn nguyên liệu trong nước [3-4].

Rong mơ *Sargassum* (Lớp Phaeophyceae) là nguồn tài nguyên sẵn có và dồi dào trong đại dương với hơn 400 loài đã được mô tả [5]. Ở Việt Nam, trong gần 1000 loài rong biển thì ngành rong nâu (*Phaeophyta*) chiếm 143 loài trong đó giống *Sargassum* được phát hiện là 22 loài ở miền Bắc và 13 loài ở miền Nam [6]. Sản lượng rong nâu tự nhiên ước tính hàng năm khoảng 15000–35000 tấn rong khô, chủ yếu là họ rong mơ (*Sargassaceae*) với 2 chi *Sargassum* và *Turbinaria* là nguồn nguyên liệu chủ yếu để chiết xuất fucoidan và alginate, polysaccharide [6-13].

Thành phần hóa học có trong vách tế bào của rong mơ rất có ý nghĩa do chứa lượng lớn acid alginic. Acid alginic là một loại polysaccharide, là loại nguyên liệu quan trọng dùng để sản xuất keo alginate, dùng trong nhiều ngành công nghiệp như công nghiệp giấy, sơn, cao su, phim ảnh, mỹ phẩm, công nghiệp thực phẩm... Keo alginate còn được ứng dụng sản xuất một số dụng cụ (băng gạc, chân tay giả...) trong ngành y [6, 9, 11-13].

Hàm lượng iod trong rong mơ rất cao (0,25–0,35% khối lượng khô) nên rong mơ được sử dụng như một loại thảo dược chữa bệnh bướu cổ, ngoài ra, rong mơ chứa nhiều vitamin, đạm, chất xơ, các nguyên tố đa vi lượng như natri, kali, iod, magie, kẽm, đồng. Rong mơ được sử dụng là nguồn thực phẩm quan trọng ở Nhật Bản và Trung Quốc. Bên cạnh đó, rong mơ cũng được dùng làm nguồn bổ sung dưỡng chất và sử dụng trong nông nghiệp do rong mơ chứa đáng kể lượng chất kích thích sinh trưởng như olialginate, laminaran cùng các hợp chất như auxin, gibberelin, cytokinin [14-15]. Năm 1981, Sumera và Gloria đã chiết xuất và xác định các tính chất đặc trưng của các chất giống auxin từ loài *Sargassum polycystum* C. Ag. [16]. Năm 2000, Chung Thanh Tú, bằng phương pháp sinh trắc nghiệm, đã chứng minh được sự hiện diện của các hoạt chất giống auxin ở nồng độ 20–40 mg/L, lượng nhỏ chất giống gibberellin và chất giống cytokinin (hàm lượng 0,01–0,1 mg/L) trong rong mơ (*Sargassum polycystum* C.Ag.) [17].

Gần đây, trên thế giới đã có nhiều nghiên cứu liên quan đến khả năng phát triển của cây khi sử dụng dịch chiết từ rong mơ làm phân bón, nhưng các dịch chiết rong mơ thu được đều chiết bằng phương pháp đun nóng với nước, và tập trung vào thử nghiệm khả năng phát triển của cây [18-22]. Ở Việt Nam, rong mơ ít được sử dụng làm thực phẩm, rong mơ chủ yếu được sử dụng làm nguyên liệu sản xuất alginate [9-13], làm thức ăn cho gia súc và được xem là nguồn cung cấp khoáng vi lượng quan trọng (P, S, K, Cu, Fe, Mn, Co, Mo...), hoặc sử dụng làm phân bón qua rễ cho các loại cây thuốc lá, khoai lang, hành tỏi, rau xanh, các loại hoa... Đến nay vẫn chưa có công trình nào nghiên cứu về sản xuất phân bón lá từ rong mơ được công bố.

Alginate trong rong mơ cũng đóng vai trò là một trong những chất kích thích sinh trưởng. Tuy nhiên, nếu sử dụng làm phân bón lá, ở hàm lượng cao alginate sẽ tạo thành một màng mỏng bao quanh lá, ngăn cản sự hấp thu dinh dưỡng qua lá. Vì vậy, nhằm khai thác có hiệu quả nguồn hữu cơ thiên nhiên phục vụ cho sản xuất nông nghiệp, góp phần xây dựng quy trình sản xuất các chế phẩm dinh dưỡng hữu cơ để tăng chất lượng nông sản, nội dung của bài báo là nghiên cứu lựa chọn điều kiện thích hợp cho quy trình chiết xuất các dưỡng chất và tách alginate từ rong mơ làm cơ sở để thử nghiệm sản xuất phân bón lá hữu cơ từ rong mơ kết hợp tách thu alginate.

2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu

2.1.1. Nguyên liệu

Mẫu rong mơ được thu nhận từ Vũng Tàu vào tháng 1/2018 và được xử lý sơ bộ bằng cách loại bỏ bùn đất tạp chất và băm nhỏ, phơi khô, là dạng rong thành phẩm có độ ẩm $\leq 22\%$, hàm lượng muối $\leq 0,8\%$.

2.1.2. Hóa chất

Hóa chất sử dụng cho nghiên cứu này bao gồm: acid hydrochloric (Trung Quốc, 36-38%), natri carbonate (Trung Quốc, 97%), acid acetic (Trung Quốc, 99,5%), acid phosphoric (Trung Quốc, 98%), acid sulfuric (Trung Quốc, 98%), acid nitric (Trung Quốc, 68%) và các hóa chất tinh khiết khác dùng trong phân tích N, K, P, kim loại.

2.2. Phương pháp

2.2.1. Các khảo sát chính

Dựa vào các tài liệu tham khảo về quy trình chiết xuất alginate từ rong mơ [9–13], tiến hành thực hiện các khảo sát chính như sau:

- Khảo sát một số thành phần hoá học đa lượng, trung và vi lượng trong rong mơ (hàm lượng nitơ, kali, phospho, kim loại (Ca, Mg, Zn, Fe, Mn)).
- Khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến quy trình chiết xuất các dưỡng chất đa lượng, trung và vi lượng từ rong mơ. Các yếu tố khảo sát bao gồm: ảnh hưởng của môi trường (acid, baz) và điều kiện chiết (ngâm, đun); ảnh hưởng của nồng độ acid và baz; tỷ lệ nguyên liệu/dung môi và của loại acid.
- Phân tích thành phần dưỡng chất trong dịch chiết và sản phẩm thành phẩm.

Trong nghiên cứu này, cơ sở kết quả dựa trên các chỉ số vật lý (độ Brix, pH) và phân tích hàm lượng một số chất (nitơ, kali, phospho, hàm lượng các kim loại (Ca, Mg, Zn, Fe, Mn) để chọn ra các điều kiện thích hợp cho quy trình chiết xuất các dưỡng chất từ rong mơ.

2.2.2. Các phương pháp đánh giá chất lượng thành phẩm

Các phương pháp đánh giá chất lượng thành phẩm theo Bảng 1.

Bảng 1. Các phương pháp đánh giá chất lượng thành phẩm

STT	Chỉ tiêu	Phương pháp xác định
1	Hàm lượng nitơ	Phương pháp Kjeldahl (vô cơ hoá bằng hỗn hợp acid salicylic và acid sulfuric) [23-24].
2	Hàm lượng kali	Phương pháp phát xạ ngọn lửa [24-25]
3	Hàm lượng phospho	Phương pháp quang phổ (xanh molipden - chất khử hydrazine) [24, 26, 27]
4	Hàm lượng kim loại (Ca, Mg, Zn, Fe, Mn)	Phương pháp ICP – OES [24, 28]
5	Độ Brix	Extech – Mỹ (0-40% brix)
6	pH	SI Analytics – Đức

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Thành phần hoá học trong mẫu rong mơ nguyên liệu

Kết quả phân tích thành phần hoá học trong mẫu rong mơ nguyên liệu cho thấy, thành phần chủ yếu trong mẫu rong nguyên liệu ngoài alginate còn có các thành phần đa lượng như N, K, P, trung lượng (Ca, Mg), vi lượng (Fe, Mn, Zn, Cu), trong đó hàm lượng kali là cao nhất (Bảng 2).

Bảng 2. Thành phần hoá học trong mẫu rong mơ nguyên liệu

STT	Tên chỉ tiêu	Đơn vị tính	Hàm lượng (tính trên nguyên liệu khô)
1	N	g/100g	0,579 ± 0,016
2	K ₂ O	g/100g	8,54 ± 0,44
3	P ₂ O ₅	mg/g	0,962 ± 0,062
4	CaO	mg/g	24,51 ± 0,52
5	MgO	mg/g	10,55 ± 0,88
6	Fe	mg/g	0,1995 ± 0,0019
7	Mn	mg/g	0,1374 ± 0,0034
8	Zn	µg/g	12,73 ± 0,14
9	Cu	µg/g	0,813 ± 0,063

3.2. Kết quả nghiên cứu quy trình chiết xuất các dưỡng chất từ rong mơ

3.2.1. Ảnh hưởng của môi trường và điều kiện chiết

Theo nghiên cứu của Trần Văn Ân (1982), Nguyễn Văn Thành và cộng sự (2017), Lê Đức Giang và Lê Thị Thủy (2016) về các quy trình chiết xuất alginate từ rong mơ, thực hiện chiết với dung dịch HCl 1M và Na₂CO₃ 0,5M trong các điều kiện khác nhau (ngâm 24 giờ, đun sôi 1 giờ), lọc thu dung dịch [9-11].

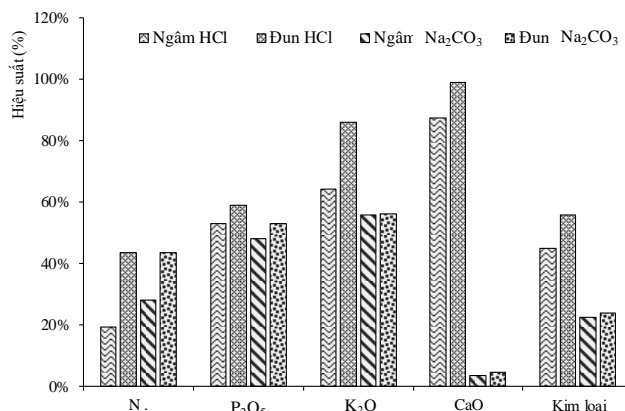
Kết quả phân tích hàm lượng nitơ, phospho, kali và kim loại của dung dịch thành phẩm khi khảo sát ảnh hưởng của môi trường chiết và điều kiện chiết (Bảng 3) cho thấy hàm lượng nitơ thu được ở điều kiện đun trong cả 2 môi trường acid và baz giống nhau về mặt ý nghĩa thống kê và cao hơn so với ngâm trong cùng dung dịch; hàm lượng phospho thu được ở thí nghiệm ngâm trong acid và đun trong baz tương tự nhau về mặt ý nghĩa thống kê, và cao nhất khi đun trong HCl, trong khi đó, hàm lượng kali đều thấp như nhau ở 2 thí nghiệm thực hiện trong môi trường baz, và cao nhất khi đun trong HCl. Tương tự cho hàm lượng kim loại Ca, Mg, Fe, Mn, Zn.

Bảng 3. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của môi trường và điều kiện chiết (chiết 1 lần)

Chỉ tiêu phân tích	1	2	3	4
	Ngâm trong dung dịch HCl 1M	Đun trong dung dịch HCl 1M	Ngâm trong dung dịch Na ₂ CO ₃ 0,5M	Đun trong dung dịch Na ₂ CO ₃ 0,5M
Độ Brix	8	12	10	11
pH	2	3	13	14
N (mg/100 mL)	14,0 ^a ± 1,1	31,5 ^b ± 1,1	20,3 ^c ± 1,1	31,4 ^b ± 1,7
P ₂ O ₅ (mg/100 mL)	6,385 ^a ± 0,024	7,085 ^b ± 0,087	5,774 ^c ± 0,064	6,381 ^a ± 0,048
K ₂ O (mg/100 mL)	687 ^a ± 14	918 ^b ± 29	597 ^c ± 25	599 ^c ± 14
CaO (mg/100 mL)	268,1 ^a ± 6,1	303,8 ^b ± 8,4	10,82 ^c ± 0,60	13,58 ^d ± 0,52
Kim loại (Mg, Fe, Mn, Zn) (mg/100 mL)	61,34 ^a ± 0,79	75,95 ^b ± 0,71	30,27 ^c ± 0,44	31,92 ^d ± 0,15

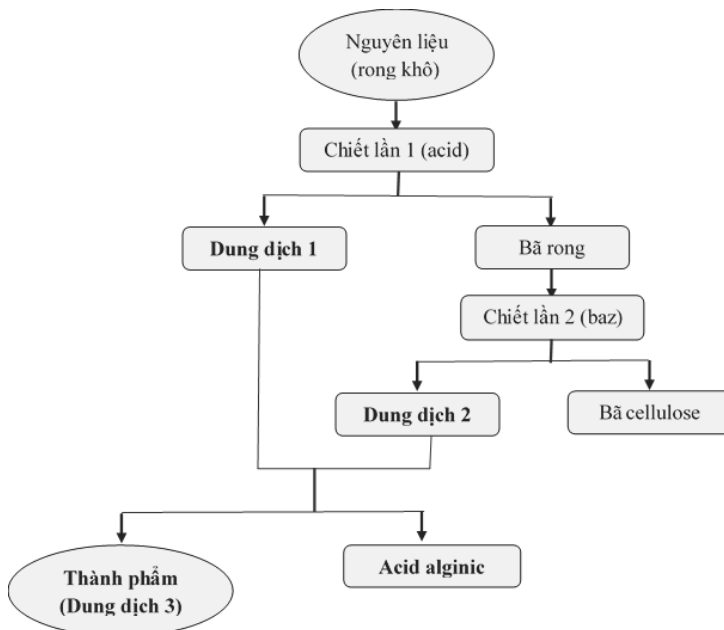
^{a, b, c}: thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức độ tin cậy 95%.

Kết quả so sánh hiệu suất chiết (Hình 1) cho thấy hiệu suất chiết kali trung bình đạt cao nhất ở tất cả các khảo sát, chiết trong điều kiện đun bằng HCl cho hiệu suất cao nhất ở tất cả các chỉ tiêu.



Hình 1. Kết quả hiệu suất chiết nitơ, phospho, kali và kim loại khi thay đổi môi trường và điều kiện chiết (chiết 1 lần)

Do từng môi trường và điều kiện chiết có sự ảnh hưởng khác nhau khi xử lý mẫu rong mơ và do hiệu suất chiết trung bình đều thấp hơn 70%, đồng thời pH dung dịch (Bảng 3) không phù hợp làm phân bón lá, nên tiến hành kết hợp cả 2 môi trường acid (dung dịch 1) và baz (dung dịch 2), điều kiện thực nghiệm như Hình 2 (trộn dung dịch 1 và 2) nhằm thu được alginate và dung dịch thành phẩm (dung dịch 3) có pH phù hợp, hiệu suất chiết cao hơn.



Hình 2. Quy trình chiết xuất các dưỡng chất từ rong mơ

Kết quả phân tích hàm lượng nitơ, phospho, kali và tổng kim loại trong thành phẩm (dung dịch 3) khi trộn dung dịch 1 và 2 ở tỷ lệ 1:1 (Bảng 4) cho thấy hàm lượng kali không khác nhau về ý nghĩa thống kê trong cả 3 trường hợp, hàm lượng kali cao và hiệu suất chiết hơn 95%; hàm lượng các dưỡng chất nitơ ở thí nghiệm ngâm – đun với HCl và ngâm – đun với Na₂CO₃ (Thí nghiệm 7) cao hơn so với các trường hợp khác.

Đối với hàm lượng P_2O_5 , do nguồn nguyên liệu ban đầu có hàm lượng phospho thấp nên dung dịch thành phẩm có hàm lượng phospho thấp nhất so với các chỉ tiêu khác. Kết quả phân tích cho thấy, hàm lượng phospho ở thí nghiệm 5 thấp hơn so với thí nghiệm 6 và 7. Hàm lượng CaO và kim loại ở thí nghiệm 6 và 7 và thấp hơn so với thí nghiệm 5, điều này phù hợp với nghiên cứu của Trần Văn Ân [9] là do điều kiện ở thí nghiệm 7 thu được nhiều alginate nhất, khi trộn dung dịch 1 vào dung dịch 2, mục đích điều chỉnh pH thành phẩm và loại alginate dưới dạng kết tủa acid alginic, acid alginic đã hấp phụ các ion kim loại (II, III) ngược trở lại, làm hàm lượng các chất này giảm mạnh ở dung dịch 3 và giảm nhiều ở thí nghiệm 7.

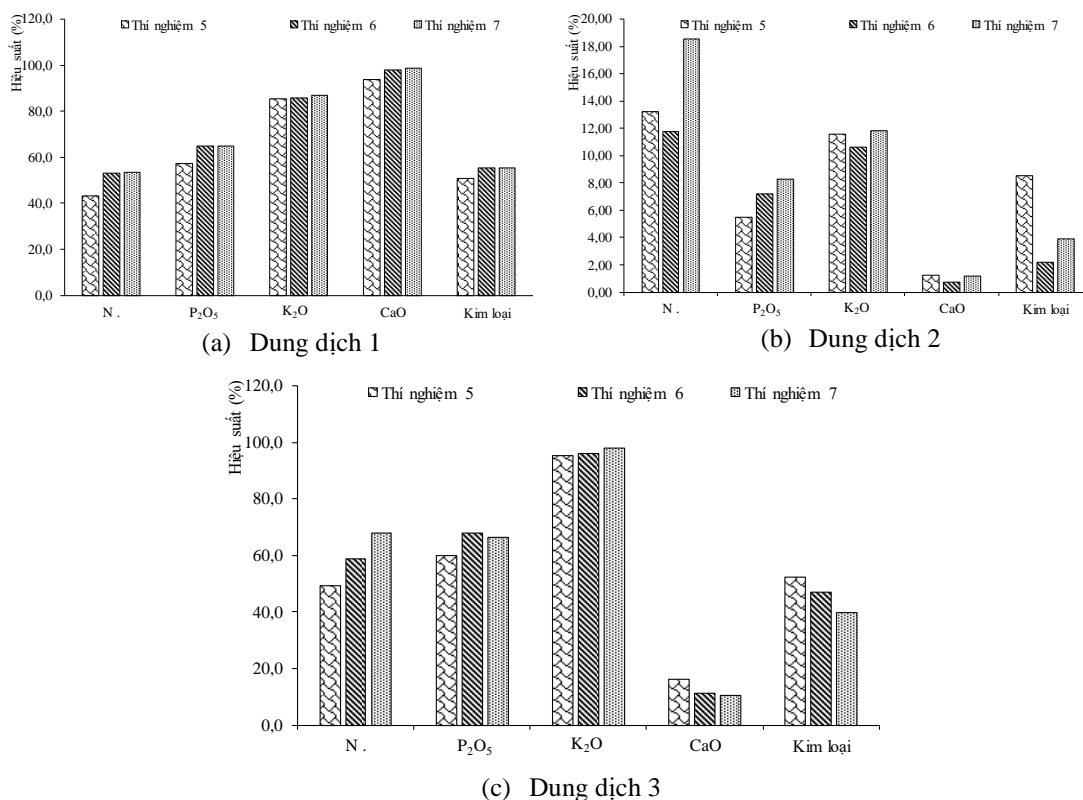
Bảng 4. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của môi trường và điều kiện chiết (chiết kết hợp) dung dịch 3

Chi tiêu phân tích	5	6	7
	Đun trong dung dịch HCl 1M (1) Đun trong Na_2CO_3 0,5M (2)	Ngâm – Đun trong dung dịch HCl 1M (1) Đun trong Na_2CO_3 0,5M (2)	Ngâm – Đun trong dung dịch HCl 1M (1) Ngâm – Đun trong Na_2CO_3 0,5M (2)
Độ Brix	6	9	10
pH	5	6	6
N (mg/100 mL)	20,42 ^a ± 0,63	24,38 ^b ± 0,63	28,12 ^c ± 0,63
P_2O_5 (mg/100 mL)	4,112 ^a ± 0,055	4,676 ^b ± 0,083	4,552 ^c ± 0,048
K_2O (mg/100 mL)	581 ^a ± 25	586 ^a ± 14	597 ^a ± 25
CaO (mg/100 mL)	28,5 ^a ± 1,1	19,68 ^b ± 0,56	18,23 ^c ± 0,72
Kim loại (Mg, Fe, Mn, Zn) (mg/100 mL)	40,8 ^a ± 2,7	36,64 ^b ± 0,18	31,1 ^c ± 1,0

a, b, c: thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức độ tin cậy 95%.

Kết quả so sánh hiệu suất chiết (Hình 3a) cho thấy các dưỡng chất nitơ, phospho, kali, kim loại thu được chủ yếu ở giai đoạn 1 khi chiết với acid; ở giai đoạn 2 (đun tiếp với baz) chỉ thu thêm N và K. Hiệu suất chiết thành phẩm (dung dịch 3) cho thấy, do giai đoạn 2 khi đun với Na_2CO_3 thành tế bào rong mơ bị phá, alginate tạo hệ keo Na – alginate, trộn dung dịch 1 và 2, tạo acid alginic đồng tụ, acid alginic này hấp phụ mạnh Ca, Mg, Fe, Zn làm hiệu suất chiết các nguyên tố này giảm so với dung dịch 1 (Hình 3c).

Dựa vào các kết quả thu được cho thấy, quy trình chiết kết hợp 2 điều kiện môi trường acid và baz là phù hợp nhất, dung dịch thu được khi trộn dung dịch 1 và 2 có pH phù hợp làm phân bón lá, đồng thời tách được alginate dưới dạng acid alginic, đây là 1 trong những chất có ứng dụng rộng rãi trong công nghiệp, điều này tránh được sự lãng phí, tận dụng và nâng cao hiệu quả kinh tế của rong mơ. Kết quả thí nghiệm cũng cho thấy, quy trình chiết theo thí nghiệm 6 (Ngâm – đun trong dung dịch HCl (giai đoạn 1) và đun trong Na_2CO_3 (giai đoạn 2)) là lựa chọn thích hợp nhất trong loạt thí nghiệm khảo sát.



Hình 3. Kết quả hiệu suất chiết khi thay đổi môi trường và điều kiện chiết (chiết 2 lần)

3.2.2. Ảnh hưởng của nồng độ acid và baz

Để khảo sát sự ảnh hưởng của nồng độ các dung dịch chiết (acid, baz) đến quy trình chiết xuất các dưỡng chất đa lượng, trung và vi lượng từ rong mơ, tiến hành trình tự như thí nghiệm 6 (mục 3.2.1) nhưng thay đổi nồng độ HCl và Na₂CO₃. Kết quả phân tích dung dịch 3 (thu được khi trộn dung dịch 1 - chiết với acid và dung dịch 2 - chiết với baz ở tỷ lệ 1:1) thể hiện ở Bảng 5.

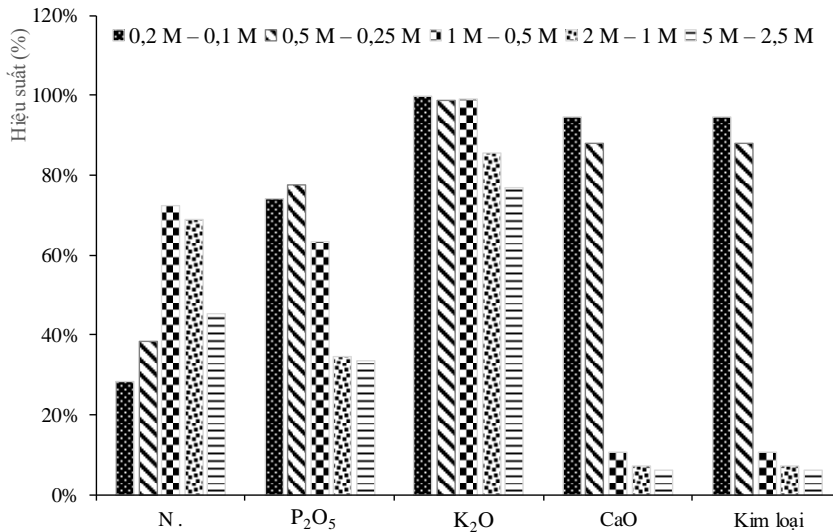
Bảng 5. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của nồng độ acid và baz (chiết kết hợp)

Nồng độ các chất trong thành phẩm (Dung dịch 3)	Nồng độ C _M dung dịch HCl (chiết lần 1) và nồng độ C _M dung dịch Na ₂ CO ₃ (chiết lần 2)				
	0,2 – 0,1*	0,5 – 0,25*	1 – 0,5*	2 – 1*	5 – 2,5*
Độ Brix	6	7	10	13	20
pH	6	4	7	7	8
N (mg/100 mL)	11,67 ^a ± 0,63	15,87 ^b ± 0,63	29,87 ^c ± 0,63	28,47 ^d ± 0,63	18,78 ^e ± 0,63
P ₂ O ₅ (mg/100 mL)	5,079 ^a ± 0,064	5,334 ^b ± 0,021	4,344 ^c ± 0,021	2,378 ^d ± 0,021	2,301 ^e ± 0,052
K ₂ O (mg/100 mL)	607 ^a ± 14	602 ^a ± 14	605 ^a ± 25	522 ^b ± 14	469 ^c ± 25
CaO (mg/100 mL)	165,2 ^a ± 4,2	154,2 ^b ± 5,5	18,6 ^c ± 1,6	12,7 ^d ± 1,5	10,8 ^e ± 1,0
Kim loại (Mg, Fe, Mn, Zn) (mg/100 mL)	46,74 ^a ± 0,29	40,65 ^b ± 0,86	31,25 ^c ± 0,11	28,97 ^d ± 0,25	25,89 ^e ± 0,35

a, b, c, d, e: thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức độ tin cậy 95%; *Nồng độ HCl – Nồng độ Na₂CO₃

Kết quả khảo sát cho thấy khi chiết mẫu rong mơ ở các nồng độ acid và baz khác nhau thì hầu hết hàm lượng các chất thu được trong dịch chiết thành phẩm có sự khác nhau về ý nghĩa thống kê, riêng hàm lượng kali ở các trường hợp nồng độ HCl \leq 1M gần như nhau. Mặc dù ở trường hợp HCl 2M (lần 1) và Na₂CO₃ 1M (lần 2) thì dịch chiết thành phẩm đạt được độ Brix và pH phù hợp nhất. Tuy nhiên, ở trường hợp này hiệu suất chiết các chất đều không đạt mức cao nhất. Ở nồng độ HCl 1M và Na₂CO₃ 0,5M thì hàm lượng nitơ đạt cao nhất, hàm lượng phospho cao nhất khi nồng độ HCl là 1M và Na₂CO₃ là 0,5M; trong khi đó, hàm lượng kim loại cao nhất khi HCl loãng (0,2M).

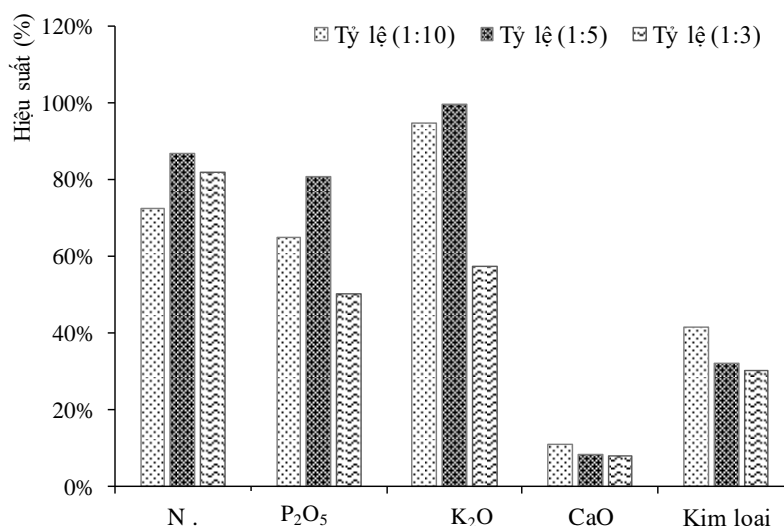
Kết quả so sánh hiệu suất chiết (Hình 4) cho thấy dung dịch acid có nồng độ trong khoảng 0,5–1M và dung dịch Na₂CO₃ có nồng độ trong khoảng 0,25–0,5M phù hợp chiết N, P, K. Tuy nhiên, đối với kim loại, do khi trộn dung dịch 1 và 2 để thu thành phẩm (dung dịch 3), lượng acid alginic kết tủa nhiều, lọc khó, đồng thời acid alginic kết tủa dạng keo, hấp phụ kim loại, dẫn đến hàm lượng kim loại thấp ở nồng độ acid và baz cao, kim loại có nồng độ giảm mạnh khi tăng nồng độ dung dịch dùng chiết là CaO, vì Ca tạo tủa Ca – alginate. Do đó, để thu được thành phẩm có hàm lượng các chất với hiệu suất chiết xấp xỉ 60–80% nồng độ acid HCl phù hợp trong khoảng 0,2–0,5mol/L và nồng độ Na₂CO₃ tương ứng 0,1–0,25 mol/L.



Hình 4. Kết quả hiệu suất chiết khi thay đổi nồng độ acid và baz (chiết kết hợp)

3.2.3. Ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu/dung môi

Để khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu/dung môi đến quy trình chiết xuất các dưỡng chất đa lượng, trung và vi lượng từ rong mơ, tiến hành trình tự như thí nghiệm 6 (mục 3.2.1) nhưng thay đổi tỷ lệ nguyên liệu/dung môi. Kết quả phân tích dung dịch 3 (thu được khi trộn dung dịch 1 – chiết với acid và dung dịch 2 – chiết với baz ở tỷ lệ 1:1) thể hiện ở Bảng 6 và Hình 5. Kết quả khảo sát ảnh hưởng cho thấy, hàm lượng các chất thu được trong dịch chiết thành phẩm đều có sự khác nhau về ý nghĩa thống kê. Đối với tỷ lệ 1:10, hàm lượng các kim loại thu được cao hơn so với các tỷ lệ khác nhưng vẫn còn thấp. Ở tỷ lệ 1:3, mặc dù hàm lượng các chất thu được cao nhưng hiệu suất chiết các chất này thấp do thể tích dịch dùng chiết không đủ để ngập hết mẫu rong mơ. Bên cạnh đó, ở tỷ lệ 1:5 thì hàm lượng nitơ, kali, phospho thu được gần như tối đa (> 80%), đồng thời dịch chiết thành phẩm đạt được độ Brix và pH phù hợp nhất.



Hình 5. Kết quả hiệu suất chiết khi thay đổi tỷ lệ nguyên liệu/dung môi

Bảng 6. Kết quả ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu/dung môi

Chi tiêu phân tích	Tỷ lệ 1:10	Tỷ lệ 1:5	Tỷ lệ 1:3
Độ Brix	12	22	16
pH	7	7	7
N (mg/100 mL)	29,98 ^a ± 0,63	71,87 ^b ± 0,63	135,9 ^c ± 1,3
P ₂ O ₅ (mg/100 mL)	4,459 ^a ± 0,052	11,132 ^b ± 0,055	13,793 ^c ± 0,052
K ₂ O (mg/100 mL)	578 ^a ± 14	1218 ^b ± 25	1401 ^c ± 50
CaO (mg/100 mL)	19,1 ^a ± 1,1	29,19 ^b ± 0,74	55,3 ^c ± 3,6
Kim loại (Mg, Fe, Mn, Zn) (mg/100 mL)	32,4 ^a ± 1,9	50,37 ^b ± 1,9	94,4 ^c ± 2,9

^{a, b, c}: thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức độ tin cậy 95%.

3.2.4. Ảnh hưởng của loại acid

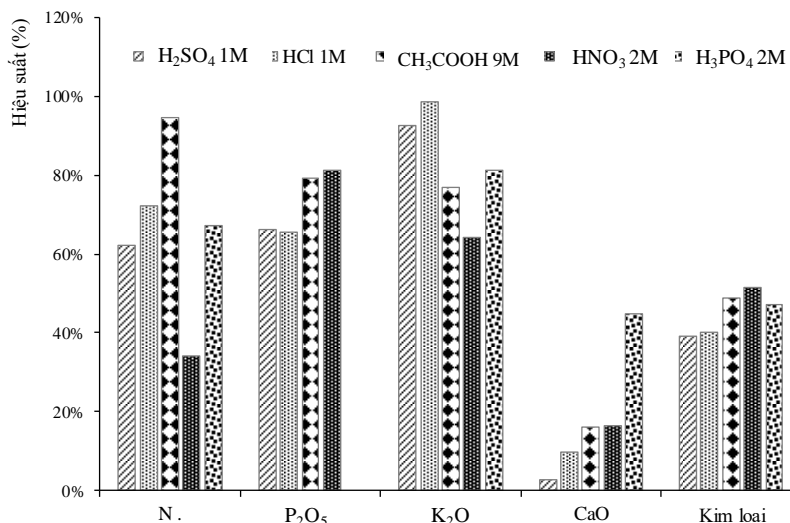
Kết quả khảo sát ảnh hưởng của loại acid đến hàm lượng chất trong thành phẩm (Bảng 7, Hình 6) cho thấy, dung dịch 3 (thành phẩm) thu được khi sử dụng acid CH₃COOH (chiết lần 1) có hàm lượng nitơ cao nhất. Trong khi đó, HCl phù hợp chiết kali và H₃PO₄ phù hợp chiết phospho và kim loại, do H₃PO₄ tạo phức bền với Fe (III), và tạo sự cạnh tranh trong kết tủa với Ca, Mg.

Bảng 7. Kết quả ảnh hưởng của loại acid - dung dịch 3

Chi tiêu phân tích	Dung dịch acid				
	H ₂ SO ₄ 1M	HCl 1M	CH ₃ COOH 9M	HNO ₃ 2M	H ₃ PO ₄ 2M
Độ Brix	8	10	11	8	10
pH	7	7	6	3	6
N (mg/100 mL)	25,67 ^a ± 0,63	29,87 ^b ± 0,63	39,08 ^c ± 0,63	14,12 ^d ± 0,63	27,77 ^e ± 0,63
P ₂ O ₅ (mg/100 mL)	4,557 ^a ± 0,075	4,510 ^a ± 0,021	5,455 ^b ± 0,043	5,590 ^c ± 0,052	2648 ^d ± 71

Chi tiêu phân tích	Dung dịch acid				
	H ₂ SO ₄ 1M	HCl 1M	CH ₃ COOH 9M	HNO ₃ 2M	H ₃ PO ₄ 2M
K ₂ O (mg/100 mL)	565 ^a ± 25	602 ^b ± 14	469 ^c ± 25	392 ^d ± 14	496 ^c ± 14
CaO (mg/100 mL)	5,07 ^a ± 0,19	17,06 ^b ± 0,68	28,35 ^c ± 0,97	28,7 ^c ± 1,0	78,6 ^d ± 5,6
Kim loại (Mg, Fe, Mn, Zn) (mg/100 mL)	30,53 ^a ± 0,36	31,27 ^b ± 0,37	38,2 ^{c,d} ± 1,9	40,1 ^c ± 1,1	36,7 ^d ± 1,8

a, b, c, d, e: thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức độ tin cậy 95%.



Hình 6. Kết quả hiệu suất chiết khi khảo sát ảnh hưởng của loại acid (dung dịch 3)

3.2.5. Nhận xét chung

Kết quả thực nghiệm thu được quy trình chiết dung dịch chứa các dưỡng chất từ rong mơ có pH, hàm lượng dưỡng chất phù hợp làm phân bón lá như sau:

Trình tự thực nghiệm: ngâm 24 giờ, đun sôi 1 giờ trong dung dịch acid thu dung dịch 1. Đun sôi bã trong Na₂CO₃ (1 giờ) thu dung dịch 2. Trộn dung dịch 1 và dung dịch 2 tỷ lệ 1:1 để thu được dung dịch thành phẩm và acid alginic.

Tỷ lệ rong:dung môi thích hợp là 1:5

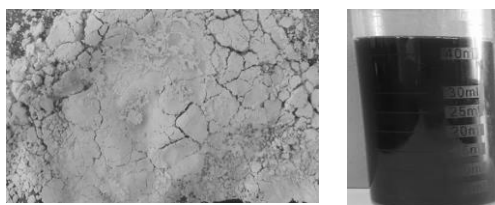
Nồng độ acid HCl thích hợp là 0,5–1 mol/L và Na₂CO₃ thích hợp là 0,25–0,5 mol/L

Có thể sử dụng H₃PO₄ hay CH₃COOH thay thế HCl.

Bã rong sau chiết baz có thể sử dụng chiết alginate.

3.3. Kết quả phân tích thành phần dưỡng chất trong dịch chiết và đánh giá chất lượng sản phẩm

Thành phẩm thu được ở quy trình chiết xuất tối ưu (nên CH₃COOH) được sấy phun thành dạng bột (nhiệt độ 140 °C, áp suất 3 bar, lưu lượng 485 mL/giờ. Với 500 mL thành phẩm, sau khi sấy phun thu được 14,08 g bột thành phẩm. Sản phẩm thu được về cảm quan: dung dịch có màu nâu và mùi thơm của rong; bột có màu xám và có mùi thơm của rong (Hình 7).



Hình 7. Bột rong và dịch rong thành phẩm

Phân tích các chỉ tiêu N, P₂O₅, K₂O, CaO, MgO, Fe, Zn, Mn trong dung dịch thành phẩm (nền CH₃COOH) và bột thành phẩm (nền CH₃COOH). Kết quả phân tích và so sánh thành phần chất trong dung dịch thành phẩm, bột thành phẩm với bột phân bón TEKKA trên thị trường (Theo công bố trên bao bì) và dung dịch phun (pha từ bột tỷ lệ 10 g/16 lít theo khuyến cáo sử dụng của nhà sản xuất) ở Bảng 8 cho thấy dung dịch thành phẩm có hàm lượng các chất tương tự như dung dịch sau pha của Tekka nên có thể dùng phun trực tiếp. Kết quả phân tích cũng cho thấy, hàm lượng các chất trong bột thành phẩm còn thấp, cần nghiên cứu phối trộn thêm dưỡng chất vào bột thành phẩm.

Bảng 8. Kết quả phân tích thành phẩm và so sánh với sản phẩm trên thị trường

Stt	Chỉ tiêu	Dung dịch thành phẩm (nền CH ₃ COOH)	Dung dịch pha từ bột phân bón Tekka	Bột thành phẩm (nền CH ₃ COOH)	Bột phân bón rong biển Tekka
1	Nitơ	71,4 ± 1,1 mg/100 mL	62,22 mg/100 mL	(1,295 ± 0,021)%	1,0%
2	P ₂ O ₅	11,23 ± 0,59 mg/100 mL	124,44 mg/100 mL	(0,00100 ± 0,00016)%	2,0%
3	K ₂ O	(1,214 ± 0,041)%	1,1%	(12,14 ± 0,29)%	18,0%
4	CaO	52,92 ± 0,75 mg/100 mL	49,78 mg/100 mL	(0,232 ± 0,013)%	0,8%
5	MgO	71,3 ± 3,1 mg/100 mL	18,67 mg/100mL	(0,149 ± 0,016)%	0.3%
6	Fe	(5,41 ± 0,62) ppm	186,70 ppm	(27,68 ± 0,30) ppm	3000 ppm
7	Zn	1,300 ± 0,052 mg/100 mL	124,40 ppm	(23,66 ± 0,45) ppm	2000 ppm
8	Mn	(9,51 ± 0,14) ppm	18,67 ppm	(32,33 ± 0,31) ppm	300 ppm

4. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu là tiền đề cho định hướng khai thác có hiệu quả nguồn hữu cơ thiên nhiên phục vụ cho sản xuất nông nghiệp, góp phần xây dựng quy trình sản xuất các chế phẩm dinh dưỡng hữu cơ nhằm tăng chất lượng nông sản. Đồng thời, nâng cao giá trị sử dụng cho rong mơ, sử dụng được cả dung dịch dưỡng chất và alginate. Kết quả nghiên cứu đưa ra được quy trình chiết xuất các dưỡng chất đa lượng, trung và vi lượng từ rong mơ gồm 2 giai đoạn: giai đoạn 1 thực hiện ngâm 24 giờ, sau đó đun sôi 1 giờ với acid, giai đoạn 2 thực hiện đun sôi 1 giờ với Na₂CO₃, trộn dung dịch 1 và dung dịch 2 tỷ lệ 1:1 để thu được dung dịch thành phẩm và acid alginic. Kết quả nghiên cứu cũng thu được dung dịch acid phù hợp để chiết xuất có nồng độ thích hợp trong khoảng 0,2–0,5mol/L và dung dịch Na₂CO₃ tương

ứng trong khoảng 0,1–0,25 mol/L; tỷ lệ rong/dung môi phù hợp là 1:5. Ngoài acid HCl, có thể thay thế bằng acid CH₃COOH và H₃PO₄. Kết quả phân tích trên dung dịch thành phẩm và bột thành phẩm sau khi đối sánh với sản phẩm thị trường cho thấy dung dịch thành phẩm có thể dùng phun trực tiếp. Đối với bột thành phẩm hàm lượng phospho, kim loại Fe, Zn, Mn trong sản phẩm còn thấp so với bột phân bón thị trường.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. <http://nong-dan.com/cach-su-dung-phan-bon-la-tren-cay-trong-1-cach-hieu-qua/>
2. <http://www.dpm.vn/san-pham-dich-vu/Kien-thuc-su-dung-phan-bon/Khai-niem-phan-bon-la>
3. <http://lanviet.vn/san-pham/phan-bon-va-thuoc-cho-lan/phan-bon-cho-lan/phan-huu-co-seaweed-rong-bien/>
4. <http://www.congtyhai.com/phan-bon-la-rong-bien-thien-nhien-tekka-seaweed>.
5. Tseng C.K., Lu B. - Some new species of the holozygocarpic *Sargassum* from the South China Sea. In: Taxonomy of Economic Seaweeds with reference to the Pacific and other locations Volume IX. (Abbott, I.A. & McDermid, K.J. Eds) Vol.9 (2004) 81-92.
6. Phạm Hoàng Hộ - Rong biển Việt Nam (Marine algae from South Vietnam), Trung tâm Học liệu Sài Gòn, 1969, 558 tr.
7. Nguyễn Hữu Đình, Huỳnh Quang Năng, Trần Ngọc Bút và Nguyễn Văn Tiến - Rong biển Việt Nam – Phần phía Bắc, Nhà xuất bản Khoa học Kỹ thuật, 1993, 364 tr.
8. Huỳnh Trường Giang, Dương Thị Hoàng Oanh, Vũ Ngọc Út - Hoạt tính sinh học của hỗn hợp polysaccharide ly trích từ rong mơ *Sargassum mcclurei* bằng các dung môi khác nhau, Tuyển tập Nghiên cứu Biển **19** (2013) 124-133.
9. Trần Văn Ân - Góp phần nghiên cứu chất lượng rong mơ (*Sargassum*) và chiết alginate từ rong mơ ở Hòn Chông - Nha Trang, Luận án Phó Tiến sĩ Khoa học, Học viện Quân y (1982).
10. Nguyễn Văn Thành, Bùi Văn Nguyên, Nguyễn Đình Thuát, Trần Thị Thanh Vân, Vũ Ngọc Bội - Tối ưu hóa quá trình nấu chiết alginate từ bã rong nâu *Turbinaria ornata* (Turner) J. Agardh, Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ **49B** (2017) 116-121.
11. Lê Đức Giang, Lê Thị Thủy - Chiết xuất alginate từ rong nâu (*Sargassum polycystum*) bằng một số phương pháp khác nhau, Tạp chí khoa học Đại học Sư phạm TP.HCM **12** (90) (2016) 52-58.
12. Masakuni Tako, Seiki Kiyuna, Shuntoku Uechi, Fujiya Hongo - Isolation and characterization of alginic acid from commercially cultured *Nemacystus decipiens* (*Itomozuku*), Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry **65** (3) (2001) 654-657.
13. Ali Mohammad Latifi, Ehsan Sadegh Nejad, Hamid Babavalian - Comparison of extraction different methods of sodium alginate from brown alga *Sargassum* sp. localized in the Southern of Iran, Journal of Applied Biotechnology Reports **2** (2) (2015) 251-255.
14. Soad M. Mohy El-Din - Utilization of seaweed extracts as bio-fertilizers to stimulate the growth of wheat seedlings, The Egyptian Society of Experimental Biology **11** (1) (2015) 31-39.
15. Erulan V., Soundarapandian P., Thirumaran G. and Ananthan G. - Studies on the effect of *Sargassum polycystum* (C. Agardh, 1824) extract on the growth and biochemical

- composition of *Cajanus cajan* (L.) Millsp., American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences **6** (4) (2009) 392-399.
16. Sumera F. C., Gloria J. B. Cajipe - Extraction and partial characterization of auxin-like substances from *Sargassum* C. Ag, Botanica Marina **24** (3) (1981) 157-163.
 17. Chung Thanh Tú - Chứng minh sự hiện diện của chất điều hòa sinh trưởng thực vật trong chất trích từ một loài rong biển (*Sargassum polycystum* C.Ag.) bằng phương pháp sinh trắc nghiệm, Tập san Khoa học kỹ thuật Nông Lâm nghiệp số **2** (2000) 43-46.
 18. Sasikala M., Indumathi E., Radhika S., Sasireka R. - Effect of seaweed extract (*Sargassum tenerimum*) on seed germination and growth of tomato plant, International Journal of ChemTech Research **9** (9) (2016) 285-293.
 19. Sutharsan S., Nishanthi S. and Srikrishnah S. - Effects of foliar application of seaweed (*Sargassum crassifolium*) liquid extract on the performance of *Lycopersicon esculentum* Mill. in sandy regosol of Batticaloa District Sri Lanka, American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences **14** (12) (2014) 1386-1396.
 20. Mohamed S. Boghdady, Dalia A. H. Selim, Rania M.A. Nassar, Azza M. Salama - Influence of foliar spray with seaweed extract on growth, yield and its quality, profile of protein pattern and anatomical structure of chickpea plant (*Cicer arietinum* L.), Middle East Journal of Applied Sciences **6** (1) (2016) 207-221.
 21. Mohy El-Din S.M. - Utilization of seaweed extracts as bio-fertilizers to stimulate the growth of wheat seedlings, The Egyptian Journal of Experimental Biology (Botany) **11** (1) (2015) 31-39.
 22. Ganapathy Selvam G., Sivakumar K. - Influence of seaweed extract as an organic fertilizer on the growth and yield of *Arachis hypogea* L. and their elemental composition using SEM– Energy Dispersive Spectroscopic analysis, Asian Pacific Journal of Reproduction **3** (1) (2014) 18-22.
 23. Tiêu chuẩn quốc gia - TCVN 10682:2015, Phân bón - xác định hàm lượng nitrat - phương pháp Kjeldahl, 2015.
 24. Viện Thổ nhưỡng nông hóa - Sổ tay phân tích đất, nước, phân bón, cây trồng, NXB Nông nghiệp, 1998.
 25. Tiêu chuẩn quốc gia - TCVN 8562:2010, Phân bón - phương pháp xác định kali tổng số, 2010.
 26. Samjhana Pradhan, Megh Raj Pokhrel - Spectrophotometric determination of phosphate in sugarcane juice, fertilizer, detergent and water samples by molybdenum blue method, Scientific World **11** (11) (2013) 58-62.
 27. Ganesh S., Fahmida Khan, Ahmed M.K., Velavendan P., Pandey N.K., Kamachi Mudali U. - Spectrophotometric determination of trace amounts of phosphate in water and soil, Water Science and Technology **66** (12) (2012) 2653-2658.
 28. Siwarin Luenam - Analysis of trace elements in fertilizer with Avio 200 ICP-OES, Application note ICP-Optical Emission Spectroscopy, PerkinElmer, 2017.

ABSTRACT

EXTRACTION OF NUTRIENTS FROM BROWN ALGAE (*Sargassum* SP.) USING AS ORGANIC FOLIAR FERTILIZER

Tran Nguyen An Sa*, Truong Bach Chien, Do Bich Thuy,
Phung Thi Huyen Tran, Le Thi Thanh Thuong, Nguyen Thi Thuy Tien
Ho Chi Minh City University of Food Industry
*Email: satna@cntp.edu.vn

Brown alga (*Sargassum* sp.) is a source of materials used to extract fucoidan, alginate, and polysaccharide. In addition to alginate as the main ingredient, *Sargassum* sp. contains large amounts of macronutrients, medium and micronutrients and growth promoters such as ulvoin, laminarin, auxin, gibberellin, and cytokinin. Brown alga is also used as a source of plant nutrients. The research content of the study was investigation of optimum conditions in the extraction of nutrients from brown alga (*Sargassum* sp.), using as organic foliar fertilizer. Results of the study were obtained by extracting the macronutrients, medium and micronutrients from the seaweed in two stages: in the first stage, the brown alga was immersed in 24 hours with acid, then boiled for 1 hour, in the second stage, it was boiled for 1 hour with Na_2CO_3 , mixing solution 1 and 2 at ratio of 1:1 to obtain the final solution and alginic acid. Results of the study also yielded appropriate acid solutions for the suitable concentration of 0.2-0.5 mol/L and Na_2CO_3 solution in the range of 0.1-0.25 mol/L; the suitable ratio of algae to solvent of 1:5. Besides, CH_3COOH and H_3PO_4 can be replaced by hydrochloric acid. The content of substances in the finished product solution included 71.4 mg/100 mL nitrogen, P_2O_5 11.23 mg/100 mL, K_2O 1.21%, CaO 52.92 mg/100 mL, MgO 71.3 mg/100 mL, Fe 5.41 ppm, Zn 1.3 mg/100 mL, Mn 9.51 ppm.

Keywords: Alginate, brown alga (*Sargassum* sp.), organic foliar fertilizer, HCl, Na_2CO_3 .