

Ảnh hưởng của nhiệt độ và ánh sáng LED đến sinh trưởng, hàm lượng sắc tố và hoạt tính sinh học của sinh khối *Spirulina maxima* nuôi nước lợ

Trương Thị Chiên, Nguyễn Thị Hiền, Mai Vũ Hoàng Giang, Trần Văn Quảng, Vũ Xuân Tạo, Trần Bảo Trâm*

Trung tâm Sinh học Thực nghiệm, Viện Ứng dụng Công nghệ

Ngày nhận bài 4/7/2022; ngày chuyển phản biện 7/7/2022; ngày nhận phản biện 28/7/2022; ngày chấp nhận đăng 2/8/2022

Tóm tắt:

Nhiệt độ và ánh sáng là hai yếu tố quan trọng đối với sự sinh trưởng của các vi sinh vật quang tự dưỡng như *Spirulina maxima*. Do đó, việc quản lý tốt các điều kiện này trong nuôi trồng *S. maxima* sẽ giúp nâng cao hiệu quả sản xuất. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm khảo sát ảnh hưởng của điều kiện nhiệt độ (với các dải nhiệt độ khác nhau từ 15 đến 40°C), các loại đèn LED trắng và đỏ đến sinh trưởng, hàm lượng sắc tố và hoạt tính sinh học của sinh khối *S. maxima* được nuôi bằng nước lợ có độ mặn 10‰. Kết quả cho thấy, nhiệt độ thích hợp nhất cho nuôi trồng *S. maxima* là khoảng 25-30°C, việc chiếu sáng bằng đèn LED trắng hay đỏ đều cho sinh khối khô cao nhất sau 10 ngày nuôi trồng, tương ứng đạt 1,705 và 1,891 g/l. Tuy nhiên, khả năng tích lũy các sắc tố phycocyanin, chlorophyll, carotenoid trong sinh khối khô thu được từ dịch nuôi cấy *S. maxima* dưới đèn LED đỏ (tương ứng đạt 152, 6,6 và 3 mg/g) cao hơn so với đèn LED trắng (tương ứng 118, 5,5 và 2,9 mg/g). Đánh giá hoạt tính sinh học sinh khối *S. maxima* cho thấy, khả năng kháng các chủng vi khuẩn gây bệnh kiểm định là *Staphylococcus aureus* VTCC12275 và *Escherichia coli* VTCC12272 cũng như khả năng bắt gốc tự do DPPH của dịch chiết sinh khối nuôi dưới đèn LED đỏ cao hơn so với đèn LED trắng.

Từ khóa: DPPH, kháng khuẩn, LED, nhiệt độ, sắc tố, *Spirulina maxima*.

Chỉ số phân loại: 1.6

Đặt vấn đề

S. maxima là một loài vi khuẩn lam thuộc chi *Arthrospira* (*Spirulina*) được ứng dụng phổ biến trong ngành công nghiệp thực phẩm, được mỹ phẩm do chứa hàm lượng protein cao (50-70%) và nhiều chất có hoạt tính sinh học như phycocyanin, carotenoid, chlorophyll. Trong đó có phycocyanin, một phức sắc tố protein thuộc họ phycobiliprotein chiếm khoảng 40% tổng số protein hòa tan của tế bào [1] đóng vai trò hấp thụ ánh sáng mặt trời. Phycobiliprotein tồn tại ở 3 dạng là C-phycocyanin (C-PC), allophycocyanin (APC) và phycoerythrin (PE) [2]. Trong đó, C-PC và PE đặc biệt có lợi cho sức khỏe con người nhờ tác dụng chống oxy hóa, kháng viêm và hỗ trợ điều trị ung thư [3]. Do có giá trị ứng dụng cao nên nhu cầu về các sản phẩm từ *Spirulina* trên thế giới ngày càng tăng, đặc biệt như phycocyanin đang được coi là hoạt chất rất có tiềm năng trong điều trị ung thư [4].

Nhiệt độ và ánh sáng là các yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến khả năng sinh trưởng cũng như thu nhận các sắc tố từ quá trình quang hợp của vi khuẩn lam nuôi ngoài tự nhiên [5, 6]. Ở quy mô công nghiệp, hầu hết việc nuôi sinh khối đều tận dụng nguồn năng lượng ánh sáng mặt trời. Tuy nhiên, để sản xuất các hoạt chất sinh học có giá trị như các loại sắc tố (phycocyanin, chlorophyll, carotenoid) thì việc sử dụng các nguồn sáng nhân tạo như đèn LED là cần thiết. Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng, ánh sáng xanh và đỏ có ảnh hưởng quan trọng đối với quá trình quang hợp của thực vật [7]. So với các hệ thống chiếu sáng

khác, đèn LED có chi phí đầu tư không cao, thiết kế linh hoạt, hoạt động với điện áp thấp (<4 V) và dòng điện thấp hơn 700 mA [2]. Ngoài ra, chúng có phát xạ quang phổ hẹp có thể phát ra ở các bước sóng đã chọn cho hiệu quả hấp thụ ánh sáng tối đa. Diốt phát quang (đèn LED) là một công nghệ có tiềm năng cải thiện hiệu suất bức xạ, chất lượng ánh sáng và quang phổ ánh sáng để tăng năng suất và chất lượng của vi khuẩn lam [8]. Nghiên cứu của M.B. Bachchhav và cs (2017) [9] cho thấy, sử dụng nguồn sáng LED trong sản xuất phycocyanin từ *Spirulina* giúp tăng một cách đáng kể hàm lượng sắc tố phycocyanin so với ánh sáng trắng. Ánh sáng đỏ kích thích tăng trưởng, tăng hàm lượng sắc tố chlorophyll, phycocyanin trong nuôi sinh khối vi khuẩn lam. Tuy nhiên, các nghiên cứu trên hầu hết đều tập trung trên đối tượng *S. platensis* nuôi nước ngọt, còn với loài *S. maxima* nuôi nước lợ thì những nghiên cứu về ảnh hưởng của các điều kiện nuôi trồng như nhiệt độ và ánh sáng LED tới sự sinh trưởng và chất lượng còn khá mới ở Việt Nam.

Việt Nam có đường bờ biển dài, chịu ảnh hưởng của khí hậu nhiệt đới gió mùa với số giờ nắng trong năm ở miền Bắc khoảng 1500-1700 giờ, miền Trung và miền Nam khoảng 2000-2600 giờ [10], đây là điều kiện khá phù hợp cho vi khuẩn lam sinh trưởng và phát triển. Việc đánh giá ảnh hưởng của nhiệt độ và nguồn chiếu sáng đèn LED đến sinh trưởng và khả năng tích lũy hoạt chất (phycocyanin, carotenoid, chlorophyll) của *S. maxima* nuôi nước lợ được đặt ra với định hướng sử dụng nguồn nước biển sẵn có của nước ta cho nuôi trồng thương mại *Spirulina*.

*Tác giả liên hệ: Email: trantram_74@yahoo.com

Effect of temperature and LEDs on the growth, pigment content and biological activities of *Spirulina maxima* cultured in brackish water

Thi Chien Truong, Thi Hien Nguyen, Vu Hoang Giang Mai, Van Quang Tran, Xuan Tao Vu, Bao Tram Tran*

Center of Experimental Biology,
National Center for Technological Progress

Received 4 July 2022; accepted 2 August 2022

Abstract:

Temperature and light are important factors for the growth of photoautotrophic microorganisms such as *Spirulina maxima*; therefore, proper control of these conditions in *S. maxima*'s culture will help to enhance production efficiency. This study aims to determine the effect of temperature (in the range of 15-40°C) and LED lights (white and red) on the growth, pigment content and biological activities of *S. maxima* biomass. The findings showed that the most suitable temperature range for growing *S. maxima* was about 25-30°C. After ten days of cultivating with both white and red LEDs, the highest dry weight biomass reached 1.705 and 1.891 g/l, respectively. However, the ability to accumulate pigments like phycocyanin, chlorophyll, and carotenoids in the dry biomass cultured under the red LEDs was 152.0, 6.6, and 3.0 mg/g, respectively, which are higher than that under the white LEDs (118.0, 5.5, and 2.9 mg/g, respectively). In addition, *S. maxima* extracts from the biomass cultured under the red LEDs exhibited antibacterial activity against two pathogenic strains *Staphylococcus aureus* VTCC12275 and *Escherichia coli* VTCC12272, as well as the ability to scavenge free radicals by DPPH, are also better than those grown under the white LEDs.

Keywords: antibacterial activity, DPPH, LED, pigments, *Spirulina maxima*, temperature.

Classification number: 1.6

Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

Vật liệu

Chủng vi khuẩn lam *S. maxima* SH chịu mặn và các chủng vi sinh vật kiểm định gồm *S. aureus* VTCC12275, *E. coli* VTCC12272 được lưu giữ tại Trung tâm Sinh học Thực nghiệm, Viện Ứng dụng Công nghệ.

Đèn chiếu sáng (kích thước 1200x17 mm, điện áp hoạt động là 150-250 V) do Trung tâm R&D chiếu sáng Rạng Đông

(Công ty Cổ phần bóng đèn phích nước Rạng Đông) cung cấp, gồm: đèn LED trắng công suất 16 W, phổ ánh sáng 420-660 nm (đỉnh 460 nm) và đèn LED đỏ công suất 25 W, phổ ánh sáng 580-720 nm (đỉnh 660 nm).

Địa điểm và thời gian nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện trong phòng thí nghiệm có kiểm soát nhiệt độ tại Trung tâm Sinh học Thực nghiệm (C6 Thanh Xuân Bắc, Thanh Xuân, Hà Nội). Thời gian từ tháng 4/2021 đến tháng 4/2022.

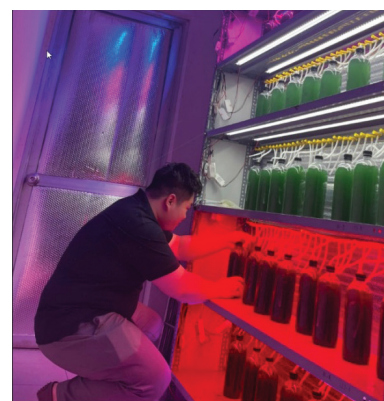
Thiết bị sử dụng trong nghiên cứu

Máy quang phổ Hach DR2800 (Mỹ), máy đo cường độ ánh sáng Spectrum Technologies 3415FXSE (Mỹ), máy thổi khí Veratti GB-370 (Trung Quốc), cân phân tích độ ẩm BEL Engineering i-Thermo 163M (Ý), máy sấy bơm nhiệt Mactech MSL300 (Việt Nam), máy ly tâm lạnh Hettich MIKRO 220R (Đức), tủ lạnh âm sâu EVERmed LDF 270S (Ý), tủ ẩm Memmert INB400 (Đức).

Phương pháp nghiên cứu

Môi trường nuôi cấy: *S. maxima* được nuôi trong các chai nhựa PET 1 lít với mật độ giống (mật độ quang đo ở bước sóng 560 nm - OD₅₆₀) ban đầu là 0,2, sử dụng nước biển có độ mặn 10‰ bổ sung môi trường Zarrouk cải tiến (nước biển được xử lý bằng cách lọc và pha loãng với nước ngọt đến độ mặn 10‰).

Điều kiện chiếu sáng và sục khí: Giàn nuôi được bố trí từng tầng ánh sáng LED trắng và đỏ riêng biệt, khoảng cách từ nguồn sáng tới bình nuôi là 20 cm, cường độ sáng của mỗi tầng đạt 150-160 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. Thiết kế hệ điều khiển tự động sục khí và chiếu sáng cùng chu kỳ hoạt động 8 giờ/ngày với lưu lượng 5 lít/chai/phút (hình 1).

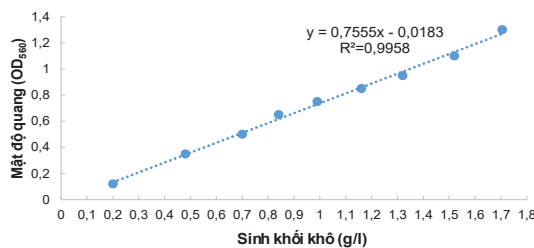


Hình 1. Sử dụng đèn LED trắng và đỏ trong nghiên cứu.

Bố trí thí nghiệm: (1) Đánh giá ảnh hưởng của nhiệt độ đến sinh trưởng của *S. maxima* ở các mức 15, 20, 25, 30, 35 và 40°C ($\pm 2^\circ\text{C}$) (ký hiệu là T1 đến T6) với từng loại đèn LED trắng và đỏ; (2) Đánh giá ảnh hưởng của ánh sáng LED trắng và đỏ đến chất lượng sinh khối của *S. maxima* (thu được ở ngưỡng nhiệt

độ cho sinh trưởng tốt nhất), thể hiện ở: (i) Khả năng tích lũy các sắc tố phycocyanin, chlorophyll và carotenoid trong sinh khối *S. maxima*; (ii) Hoạt tính chống oxy hóa và kháng khuẩn của dịch chiết từ sinh khối khô *S. maxima*.

Xác định tốc độ sinh trưởng và sinh khối khô của dịch nuôi cấy vi khuẩn lam *S. maxima*: tốc độ sinh trưởng của *S. maxima* được xác định bằng cách lấy mẫu dịch nuôi cấy hàng ngày và đo OD₅₆₀ [11]. Sinh khối khô được xác định bằng cân phân tích độ ẩm. Xác định mối tương quan giữa OD₅₆₀ và sinh khối khô bằng phương trình tuyến tính dạng $y = ax + b$ (với hệ số tương quan R) dựa trên đường chuẩn được xác lập giữa các giá trị OD₅₆₀ (ở các nồng độ pha loãng dịch nuôi khác nhau) với giá trị sinh khối khô (g/l) thu được tương ứng như ở hình 2.



Hình 2. Mối tương quan giữa mật độ quang OD₅₆₀ và sinh khối khô (g/l).

Thu hoạch sinh khối *S. maxima* khô: sau 10 ngày nuôi (thời điểm được xác định đạt OD₅₆₀ cao nhất), tiến hành thu sinh khối bằng cách lọc và sấy khô ở 40°C (đến độ ẩm đạt ≤8%).

Xác định hàm lượng các sắc tố:

Phycocyanin: Ngâm 1 g sinh khối *S. maxima* khô với 50 ml đệm photphat 0,05 M, pH 7, để qua đêm ở 4°C. Tiến hành ly tâm với tốc độ 10.000 vòng/phút trong 10 phút ở 4°C và thu dịch nổi. Hàm lượng phycocyanin (PC) trong mẫu được đo độ hấp thụ quang ở các bước sóng 620, 652 nm và xác định theo công thức sau [12]:

$$PC \text{ (mg/ml)} = [A_{620} - 0,474 \times A_{652}] / 5,34$$

Chlorophyll và carotenoid: 2 g sinh khối *S. maxima* khô được nghiền trong 15 ml hỗn hợp acetone và nước theo tỷ lệ thể tích 9:1, bổ sung 0,01% butylated hydroxytoluene, 1% Na₂SO₄ và 1% NaHCO₃. Dung dịch mẫu được đặt trong đá lạnh và phá bằng sóng siêu âm 3 lần, mỗi lần 2 phút và cách nhau 5 phút, sau đó ly tâm với tốc độ 6.000 vòng/phút ở 4°C trong 10 phút và thu dịch nổi. Hàm lượng Chl_a, Chl_b, carotenoid tổng số (C_t) trong mẫu được đo độ hấp thụ quang ở các bước sóng 645, 662, 470 nm và xác định theo các công thức sau [13]:

$$Chl_a \text{ (μg/ml)} = 11,24 \times OD_{662} - 2,04 \times OD_{645}$$

$$Chl_b \text{ (μg/ml)} = 20,13 \times OD_{645} - 4,19 \times OD_{662}$$

$$C_t \text{ (μg/ml)} = (1.000 \times OD_{470} - 1,90 \times Chl_a - 6,31 \times Chl_b) / 214$$

Hàm lượng Chl_a, Chl_b, C_t cuối cùng được quy đổi và tính theo lượng sinh khối khô (mg/g).

Ký hiệu các công thức mẫu xác định hàm lượng sắc tố của sinh khối vi khuẩn lam nuôi bằng đèn LED đỏ và trắng tương ứng là ST_d và ST_t.

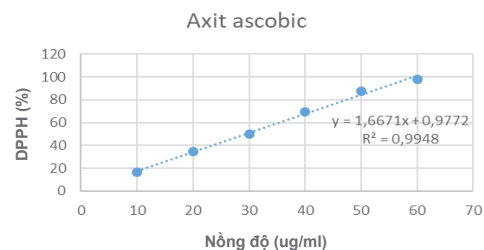
Xác định hoạt tính chống oxy hóa và kháng khuẩn của dịch chiết sinh khối *S. maxima*:

Chuẩn bị dịch chiết: 5 g sinh khối khô *S. maxima* được bổ sung 100 ml nước cất và làm lạnh đông ở -15°C trong 3 giờ. Sau đó nhiệt độ được nâng đột ngột lên 40°C trong thời gian 5 phút. Dịch chiết được ly tâm với tốc độ 10.000 vòng/phút trong 10 phút ở 4°C và thu dịch nổi [14]. Ký hiệu các công thức dịch chiết thu được từ sinh khối *S. maxima* nuôi bằng đèn LED đỏ và trắng tương ứng là DC_d và DC_t.

Hoạt tính chống oxy hóa được xác định bằng phương pháp DPPH [15]: Chuẩn bị dung dịch DPPH bằng cách hòa tan 23,66 mg DPPH với 100 ml ethanol và bảo quản ở 4°C trước khi sử dụng. Mẫu thử gồm 500 μl dịch chiết được bổ sung 500 μl dung dịch DPPH và 3 ml ethanol. Mẫu đối chứng gồm 500 μl dung dịch DPPH và 3 ml ethanol. Các mẫu sau đó được trộn đều và để trong tối 30 phút. Đo độ hấp thụ tại bước sóng 517 nm. Axit ascorbic với nồng độ 10-60 μg/ml được sử dụng làm chất chuẩn chống oxy hóa tham chiếu như ở hình 3. Xác định hoạt tính chống oxy hóa dựa trên đường chuẩn của axit ascorbic, DC_d, DC_t và nồng độ ức chế 50% (IC₅₀). Kết quả DPPH được tính theo công thức sau:

$$DPPH \text{ (%) } = \frac{A_{dc} - A_t}{A_{dc}} \times 100$$

trong đó: A_{dc} là độ hấp thụ của dịch chiết không chứa DPPH; A_t là độ hấp thụ của dịch chiết chứa DPPH.



Hình 3. Tương quan giữa khả năng kháng oxy hóa và nồng độ axit ascorbic.

Hoạt tính kháng khuẩn được xác định bằng phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch: vi khuẩn *E. coli*, *S. aureus* được nuôi cấy 18 giờ trong môi trường LB (pepton 10 g/l, nấm men 5 g/l, NaCl 5 g/l) ở điều kiện 30°C, lắc 150 vòng/phút. Cây trái đều 50 μl dịch nuôi vi khuẩn lên bề mặt đĩa chứa môi trường thạch LB. Bổ sung 50 μl dịch chiết vào giếng đã được khoan lỗ trên đĩa thạch, đĩa được giữ ở 4°C trong 2 giờ để dịch chiết khuếch tán đều vào môi trường, sau đó chuyển đĩa sang tủ nuôi cấy ổn nhiệt 30°C để vi khuẩn phát triển trong 24 giờ. Khả năng kháng khuẩn được thể hiện qua đường kính vòng kháng khuẩn. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần, mỗi lần thực hiện trên 3 đĩa khác

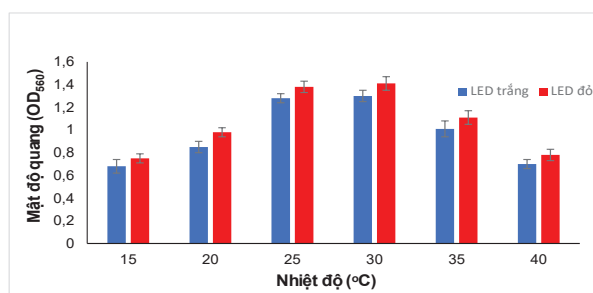
nau. Thí nghiệm được tiến hành tương tự với đối chứng âm (nước cất) và đối chứng dương (kháng sinh kanamycin nồng độ 30 µg/ml).

Kết quả và bàn luận

Ảnh hưởng của nhiệt độ và ánh sáng LED đến sinh trưởng của *S. maxima*

Nhiệt độ là một trong những yếu tố được quan tâm hàng đầu trong nuôi trồng vi khuẩn lam *Spirulina* [16]. Tuy nhiên, đối với mỗi chủng giống có nguồn gốc khác nhau lại có yêu cầu về điều kiện nuôi trồng như ánh sáng, nhiệt độ, dinh dưỡng khác nhau. Trong sản xuất sinh khối thương mại *Spirulina* trên thế giới hiện nay, hầu hết các mô hình vẫn sử dụng nuôi bể hở trong điều kiện tự nhiên nhằm giảm thiểu chi phí so với hệ thống quang sinh kín có kiểm soát [17].

Đối với chủng *S. maxima* SH, Trần Bảo Trâm và cs (2021) [18] đã xác định trong số các loại ánh sáng LED thử nghiệm, sử dụng đèn LED đơn sắc (trắng hoặc đỏ) đều hiệu quả đối với sinh trưởng (hàm lượng protein đạt $\geq 60\%$ sinh khối khô). Vì vậy trong nghiên cứu này, để lựa chọn được điều kiện nhiệt độ thích hợp trong nuôi trồng chủng *S. maxima* SH, nhóm tác giả thực hiện nghiên cứu nuôi cấy chủng *S. maxima* SH ở các dải nhiệt độ khác nhau với 2 loại đèn LED trắng và đỏ. Kết quả được thể hiện ở hình 4.



Hình 4. Ảnh hưởng nhiệt độ và ánh sáng LED đến sinh trưởng của *S. maxima* SH.

Kết quả hình 4 cho thấy, ở các ngưỡng nhiệt độ thí nghiệm 15, 20, 25, 30, 35 và 40°C, chủng *S. maxima* SH sinh trưởng dưới đèn LED trắng (OD₅₆₀ tương ứng đạt 0,68, 0,85, 1,28, 1,30, 1,01 và 0,7) đều kém hơn so với đèn LED đỏ (OD₅₆₀ tương ứng đạt 0,75, 0,98, 1,38, 1,41, 1,11 và 0,78). Đồng thời có thể thấy, trong cùng điều kiện chiếu sáng LED trắng hoặc đỏ, chủng *S. maxima* SH đều phát triển tốt nhất ở nhiệt độ 25-30°C (OD₅₆₀ tương ứng đạt 1,30 và 1,41), ở các ngưỡng nhiệt độ thấp hoặc cao hơn khoảng nhiệt độ trên, chủng *S. maxima* SH sinh trưởng đều kém hơn.

Ở khoảng nhiệt độ thích hợp 25-30°C, mật độ sinh trưởng của chủng *S. maxima* SH OD₅₆₀ đạt cao nhất khi nuôi dưới đèn LED đỏ là 1,41, tương đương với sinh khối khô đạt 1,891 g/l ở

ngày nuôi thứ 10. Kết quả này cũng tương đồng với nghiên cứu của R.A. Soni và cs (2019) [19] là sinh khối *S. platensis* đạt cao nhất vào cuối mùa xuân và đầu mùa hè với nhiệt độ dao động trong khoảng 25-30°C. So sánh với các nghiên cứu trên thế giới như Thái Lan và Mexico là những nước nằm ở vĩ độ thấp, có nhiệt độ tương tự như Việt Nam việc sản xuất *Spirulina* tập trung vào thời gian có nhiệt độ dao động trong khoảng 25-35°C, còn những tháng có nhiệt độ cao hơn có thể tạm dừng sản xuất để vệ sinh khu nuôi trồng [20]. Kết quả thu được của nghiên cứu cũng tương tự như công bố của Nguyễn Đức Bách và cs (2021) [21] khi nuôi *S. platensis* trong bể hở dưới đèn LED đỏ vào thời gian khoảng tháng 3-4 và tháng 10-11 ở miền Bắc cũng cho hiệu quả thu hoạch tốt nhất.

Như vậy, nghiên cứu này đã xác định được nhiệt độ thích hợp cho sinh trưởng của chủng *S. maxima* SH nuôi nước lợ là khoảng 25-30°C. Sinh khối thu được từ dịch nuôi cấy chủng *S. maxima* SH ở khoảng nhiệt độ này ở điều kiện chiếu sáng LED trắng và đỏ được sử dụng cho các nghiên cứu tiếp theo.

Ảnh hưởng của ánh sáng LED đến hàm lượng các sắc tố trong sinh khối *S. maxima*

Ánh sáng không những tác động đến sinh trưởng mà còn ảnh hưởng đến quá trình quang hợp cũng như sự tích lũy các loại sắc tố của tế bào vi khuẩn lam *Spirulina* [18]. Trong nghiên cứu này, 2 loại đèn LED đơn sắc trắng và đỏ được sử dụng nhằm đánh giá ảnh hưởng của ánh sáng LED đến khả năng tích lũy một số loại sắc tố chính trong sinh khối *S. maxima* gồm phycocyanin, chlorophyll và carotenoid. Kết quả thu được được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Ảnh hưởng của ánh sáng LED đến khả năng tích lũy sắc tố trong sinh khối *S. maxima*.

Sắc tố	Đơn vị	ST _t	ST _d
Phycocyanin	mg/g khô	118±2,5	152±3,1
Chlorophyll	mg/g khô	5,5±1,3	6,6±1,8
Carotenoid	mg/g khô	2,9±0,5	3,0±0,58

Ở vi khuẩn lam, phycocyanin là một hoạt chất quan trọng với nhiều tiềm năng ứng dụng [3], do vậy hàm lượng phycocyanin được coi là một chỉ tiêu để đánh giá chất lượng sinh khối trong nuôi trồng *Spirulina*. Kết quả cho thấy, sinh khối chủng *S. maxima* SH được nuôi cấy bằng đèn LED đỏ có hàm lượng phycocyanin cao hơn 28,81% so với LED trắng. Các loại sắc tố chlorophyll và carotenoid khác biệt không nhiều so với được nuôi bằng đèn LED trắng. Sự khác biệt này có thể liên quan tới loại ánh sáng có tác dụng kích thích sinh tổng hợp phycocyanin do sắc tố này hấp thụ ánh sáng ở bước sóng 620 và 652 nm - là các bước sóng nằm trong phổ sáng và gần với bước sóng của ánh sáng đỏ ($\lambda=660$ nm). Kết quả này cũng tương đồng với nghiên cứu của F. Tian và cs (2018) [7] khi sử

dùng ánh sáng LED đỏ để tăng khả năng tích lũy phycocyanin ở *Spirulina*. Nghiên cứu của C.Y. Wang và cs (2007) [22] cũng đã cho thấy đèn LED đỏ thúc đẩy tốc độ tăng trưởng sinh khối *S. platensis*.

Đánh giá hoạt tính chống oxy hóa và kháng khuẩn của dịch chiết sinh khối *S. maxima*

Trong nghiên cứu này, dịch chiết được chuẩn bị bằng phương pháp sốc nhiệt có tác dụng phá vỡ thành tế bào vi khuẩn lam, khi đó toàn bộ các hợp chất trong màng tế bào được giải phóng ra ngoài và thu được tối đa các thành phần có hoạt chất do không hoặc ít bị biến tính ở nhiệt độ thấp. Dịch sau ly tâm loại cặn và thu được dịch chiết tổng có chứa các thành phần có hoạt tính sinh học trong sinh khối *S. maxima* như hỗn hợp các loại sắc tố, các hợp chất phenol [23]. Dữ liệu về khả năng chống oxy hóa và kháng khuẩn của dịch chiết sinh khối *S. maxima* là cơ sở cho việc định hướng ứng dụng phát triển các sản phẩm chăm sóc sức khỏe từ sinh khối *Spirulina*. Kết quả đánh giá hoạt tính chống oxy hóa và kháng khuẩn của dịch chiết sinh khối *S. maxima* được thể hiện ở bảng 2 và hình 5.

Bảng 2. Khả năng chống oxy hóa DPPH (%) của dịch chiết sinh khối *S. maxima*.

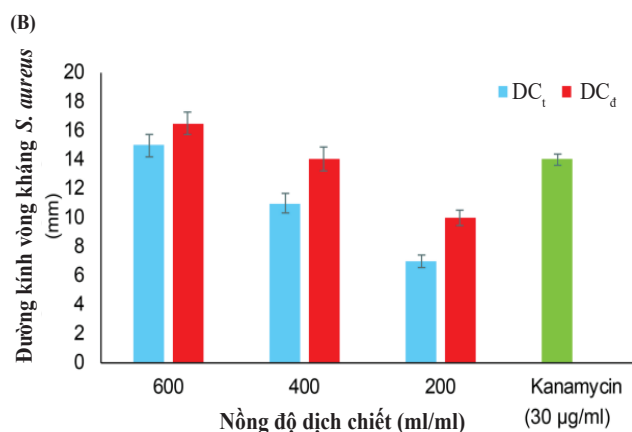
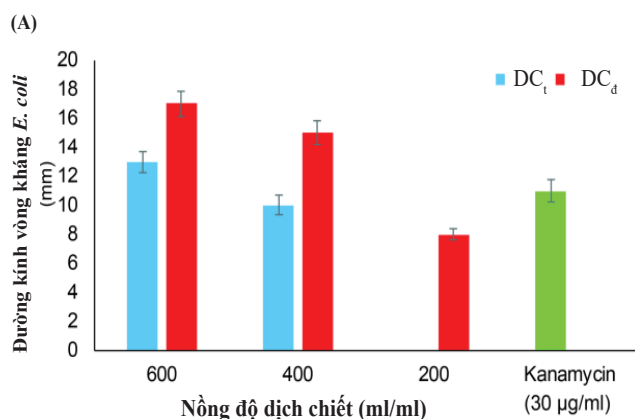
Mẫu	Nồng độ (μl/ml)				
	20	40	60	80	100
DC _t	3,09±0,11	18,49±0,92	40,47±1,61	53,75±2,22	82,90±3,98
DC _d	12,04±0,32	23,37±0,98	43,57±1,93	62,79±2,98	89,82±4,02
IC ₅₀ DC _t	69,21±1,56				
IC ₅₀ DC _d	63,78±1,12				
IC ₅₀ axit ascorbic	29,40±0,84				

Kết quả bảng 2 cho thấy, dịch chiết sinh khối *S. maxima* được nuôi dưới đèn LED trắng và đỏ đều thể hiện hoạt tính chống oxy hóa với giá trị IC₅₀ lần lượt là 63,78 và 69,21 μl/ml. Khả năng quét gốc oxy hóa tự do của dịch chiết sinh khối *S. maxima* được nuôi với ánh sáng LED đỏ cao hơn so với ánh sáng LED trắng, nhưng đều thấp hơn đối chứng dương là axit ascorbic khoảng 2,2-2,4 lần. Nghiên cứu của R. Safari và cs (2020) [24] cũng cho thấy dịch chiết từ sinh khối *S. platensis* thể hiện khả năng kháng oxy hóa tốt.

Khả năng kháng các chủng vi khuẩn gây bệnh là *S. aureus* (gram dương) và *E. coli* (gram âm) của dịch chiết sinh khối *S. maxima* được thể hiện ở hình 5 cho thấy, dịch chiết sinh khối *S. maxima* nuôi trồng sử dụng đèn LED đỏ thể hiện hoạt tính kháng khuẩn mạnh hơn so với dịch chiết sinh khối được nuôi với đèn LED trắng. Có sự khác nhau này là do các sắc tố phycocyanin, carotenoid, chlorophyll trong dịch chiết sinh khối khi nuôi bằng ánh sáng LED đỏ cao hơn LED trắng. Tuy các nghiên cứu trước đã đề cập tới khả năng kháng khuẩn của dịch chiết *Spirulina* [25, 26], nhưng nghiên cứu này đã cho thấy rõ hơn việc sử dụng đèn LED đỏ trong nuôi trồng *S. maxima* giúp làm tăng hoạt tính kháng khuẩn của dịch chiết sinh khối vi khuẩn lam. Kết quả bước đầu này cho thấy tiềm năng của việc ứng dụng ánh sáng LED đỏ giúp tăng hiệu quả tích lũy các hoạt tính sinh học trong nuôi trồng sinh khối *S. maxima*.

Kết luận

Với điều kiện nuôi nước lợ sử dụng ánh sáng LED đỏ ở nhiệt độ 25-30°C, chủng *S. maxima* SH sinh trưởng và thu được hàm lượng các sắc tố cao hơn so với LED trắng. Sau 10 ngày nuôi dưới đèn LED đỏ, sinh khối khô đạt 1,891 g/l, hàm lượng các sắc tố phycocyanin, chlorophyll, carotenoid tích lũy trong sinh khối khô tương ứng đạt 152, 6,6 và 3 mg/g. Dịch chiết sinh khối *S. maxima* thể hiện hoạt tính chống oxy hóa thông



Hình 5. Khả năng kháng khuẩn của dịch chiết sinh khối *S. maxima*. (A) Khả năng kháng *E. coli* VTCC12272; (B) Khả năng kháng *S. aureus* VTCC12275.

qua khả năng loại bỏ gốc tự do (IC_{50}) và có khả năng kháng lại các chủng vi khuẩn gây bệnh là *S. aureus* VTCC12275 và *E. coli* VTCC12272.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được thực hiện với sự hỗ trợ kinh phí từ nhiệm vụ khoa học và công nghệ cấp Bộ năm 2021-2022: “Nghiên cứu ứng dụng công nghệ chiếu sáng đèn LED và thiết bị đo sinh khối ứng dụng công nghệ xử lý ảnh trong nhân nuôi tảo *Spirulina maxima* nhằm nâng cao năng suất và chất lượng” của Viện Ứng dụng Công nghệ. Các tác giả xin trân trọng cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] S. Sekar, M. Chandramohan (2008), “Phycobiliproteins as a commodity: Trends in applied research, patents and commercialization”, *Journal of Applied Phycology*, **20**(2), pp.113-136.
- [2] G. Markou (2014), “Effect of various colors of light-emitting diodes (LEDs) on the biomass composition of *Arthrospira platensis* cultivated in semi - continuous mode”, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, **172**(5), pp.2758-2768.
- [3] H. Khatoon, et al. (2018), “Effects of different light source and media on growth and production of phycobiliprotein from freshwater cyanobacteria”, *Bioresource Technology*, **249**, pp.652-658.
- [4] L. Jiang, et al. (2018), “C-Phycocyanin exerts anti-cancer effects via the MAPK signaling pathway in MDA-MB-231 cells”, *Cancer Cell International*, **18**(1), DOI: 10.1186/s12935-018-0511-5.
- [5] G. Torzillo, A. Vonshak (1994), “Effect of light and temperature on the photosynthetic activity of the cyanobacterium *Spirulina platensis*”, *Biomass and Bioenergy*, **6**(5), pp.399-403.
- [6] R. Chaiklahan, et al. (2007), “Response of *Spirulina platensis* C1 to high temperature and high light intensity”, *Kasetsart Journal - Natural Science*, **41**, pp.123-129.
- [7] F. Tian, et al. (2018), “Effect of red and blue LEDs on the production of phycocyanin by *Spirulina platensis* based on photosynthetically active radiation”, *Journal of Science and Technology in Lighting*, **41**, DOI: 10.2150/jstl.IEIJ160000597.
- [8] A. Amoozgar, et al. (2017), “Impact of light - emitting diode irradiation on photosynthesis, phytochemical composition and mineral element content of lettuce cv. Grizzly”, *Photosynthetica*, **55**(1), pp.85-95.
- [9] M.B. Bachchhav, et al. (2017), “Enhanced phycocyanin production from *Spirulina platensis* using light emitting diode”, *Journal of the Institution of Engineers (India)*, **98E**(1), pp.41-45.
- [10] Nhà xuất bản Thống kê (2020), *Niên giám thống kê 2020*.
- [11] Nguyễn Đức Bách và cs (2020), “Nghiên cứu ảnh hưởng của đèn LED đến sinh trưởng, hàm lượng sắc tố và khả năng thích ứng của một số chủng tảo xoắn *Arthrospira platensis* trong mùa đông ở miền Bắc Việt Nam”, *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*, **18**(8), tr.637-648.
- [12] H.H. Abd El-Baky, G.S. El-Baroty (2012), “Characterization and bioactivity of phycocyanin isolated from *Spirulina maxima* grown under salt stress”, *Food & Function*, **3**(4), pp.381-388.
- [13] W.S. Park, et al. (2018), “Two classes of pigments, carotenoids and C-phycocyanin, in *Spirulina* powder and their antioxidant activities”, *Molecules*, **23**(8), DOI: 10.3390/molecules23082065.
- [14] B.H. Han, et al. (2003), *Denatured Spirulina and Manufacturing Method Thereof*, <https://patents.google.com/patent/WO2003080811A1/en>.
- [15] Viện Dược liệu (2006), *Phương pháp nghiên cứu tác dụng dược lý của thuốc từ dược thảo*, Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, tr.279-293.
- [16] K.H. Ogbonda, et al. (2007), “Influence of temperature and pH on biomass production and protein biosynthesis in a putative *Spirulina* sp.”, *Bioresource Technology*, **98**(11), pp.2207-2211.
- [17] A.E.K. El-Sayed, E.S. Mostafa (2018), “Outdoor cultivation of *Spirulina platensis* for mass production”, *Notulae Scientia Biologicae*, **10**(1), pp.38-44.
- [18] Trần Bảo Trâm và cs (2021), “Ảnh hưởng của ánh sáng LED đến sinh trưởng và chất lượng sinh khối tảo *Spirulina maxima*”, *Báo cáo khoa học Hội nghị Công nghệ sinh học toàn quốc 2021*, tr.1088-1093.
- [19] R.A. Soni, et al. (2019), “Influence of temperature and light intensity on the growth performance of *Spirulina platensis*”, *International Journal on Emerging Technologies*, **10**(2), pp.19-22.
- [20] A. Vonshak (1997), *Spirulina platensis (Arthrospira): Physiology, Cell-Biology and Biotechnology*, 252pp, Taylor & Francis.
- [21] Nguyễn Đức Bách và cs (2021), “Nghiên cứu ứng dụng đèn LEDs để kéo dài nuôi tảo xoắn *Spirulina (Arthrospira platensis)* ở miền Bắc Việt Nam”, *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Việt Nam*, **63**(7), tr.57-64.
- [22] C.Y. Wang, et al. (2007), “Effects of using light-emitting diodes on the cultivation of *Spirulina platensis*”, *Biochemical Engineering Journal*, **37**(1), pp.21-25.
- [23] H.H. Abd El-Baky, et al. (2009), “Production of phenolic compounds from *Spirulina maxima* microalgae and its protective effects”, *African Journal of Biotechnology*, **8**(24), pp.7059-7067.
- [24] R. Safari, et al. (2020), “Antioxidant and antibacterial activities of C-phycocyanin from common name *Spirulina platensis*”, *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, **19**(4), pp.1911-1927.
- [25] Y.S. Mohite, et al. (2015), “Antimicrobial activity of C- phycocyanin from *Arthrospira platensis* isolated from extreme haloalkaline environment of Lonar lake”, *Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology*, **1**(4), pp.40-45.
- [26] M. Muthulakshmi, et al. (2012), “Extraction, partial purification, and antibacterial activity of phycocyanin from *Spirulina* isolated from fresh water body against various human pathogens”, *Journal of Algal Biomass Utilization*, **3**(3), pp.7-11.